

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMETRİOZİS TANISINDA MİNİMAL İNVAZİV BİR
YÖNTEM OLARAK ENDOMETRİAL BİYOPSİ
ÖRNEKLERİNDE SİNİR LİFLERİNİN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Çağatayhan ÖZTÜRK

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

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Bülent BERKER**

**ANKARA
ARALIK 2014**

KABUL VE ONAY

Düzenleme tarihi: 24/12/2014


ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

| I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN | |
|--|-------------------------------|
| Adı, Soyadı | : Çağatayhan ÖZTÜRK |
| Anabilim/Bilim Dalı | : Kadın Hastalıkları ve Doğum |
| Tez Danışmanı | : Prof.Dr.Bülent BERKER |
| Sınav tarihi: 06 / 01 / 2015 | |

| II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER | |
|--|--|
| Tezin Başlığı: Endometriozis tanısında minimal invaziv bir yöntem olarak endometrial biyopsi örneklerinde sinir liflerinin varlığını araştırılması. | |
| Tezin Niteliği: | <input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi <input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi |
| Kaçıncı tez sınavı olduğu: | <input checked="" type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 |

| III. KARAR | |
|---|--|
| Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Kabulüne | |
| <input type="checkbox"/> Reddine | |
| <input type="checkbox"/> Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Oy birliği <input type="checkbox"/> Oy çokluğu ile karar verilmiştir. | |

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


Prof.Dr.Bülent BERKER
Jüri Başkanı

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı


Prof.Dr.Ruşen AYTAÇ
Jüri Üyesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Doç.Dr.Zehra Candan İLTEMUR
Jüri Üyesi
Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın
Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Uzun uğraşlar sonucunda ortaya çıkan bu tezin yürütülmesinde ve sonuçlanmasında emeği geçen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Bülent Berker başta olmak üzere Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD’da ihtisasım boyunca bana sabırla eğitim veren değerli hocalarıma, tecrübelerinden her zaman faydalandığım uzmanlarıma, yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarıma ve tüm çalışanlarına, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD’ndan Yrd. Doç. Dr. Duygu Kankaya’ya, Yrd. Doç. Dr. Saba Kiremitçi’ye, hayatımın her döneminde yanımda olan aileme ve eşime teşekkürü borç bilirim.

Dr. Çağatayhan ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

| | |
|---|------|
| KABUL VE ONAY | ii |
| ÖNSÖZ | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. TANIM | 3 |
| 2.2. EPİDEMİYOLOJİ | 3 |
| 2.3. PATOFİZYOLOJİ | 5 |
| 2.3.1. Retrograd menstruasyon ve implantasyon teorisi | 5 |
| 2.3.2. Çolomik metaplazi teorisi..... | 6 |
| 2.3.3. Lenfatik ve vasküler disseminasyon teorisi | 7 |
| 2.3.4. İndüksiyon teorisi | 7 |
| 2.5. KLİNİK SEMPTOMLAR..... | 8 |
| 2.5.1. Ağrı (Kronik pelvik ağrı, Dismenore, Disparoni...) | 8 |
| 2.5.2. İnfertilite | 13 |
| 2.6. ENDOMETRİOZİS SINIFLANDIRMASI | 14 |
| 2.7. TANI..... | 15 |
| 2.7.1. Fizik muayene..... | 16 |
| 2.7.2. Laboratuar Testleri..... | 16 |
| 2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri | 17 |
| 2.7.3.1. Ultrasonografi (USG) | 17 |
| 2.7.3.2. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) | 19 |
| 2.7.4. Tanısal Laparoskopi..... | 19 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 23 |
| 3.2. YÖNTEM | 23 |
| 3.3. İMMUNOHİSTOKİMYAL İNCELEME..... | 24 |
| 3.4. ETİK KURUL KARARI | 25 |
| 3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ..... | 25 |
| 4. BULGULAR..... | 26 |
| 5. TARTIŞMA | 33 |
| 6. SONUÇLAR..... | 39 |

| | |
|--------------------|----|
| ÖZET | 40 |
| SUMMARY | 41 |
| 7. KAYNAKLAR | 42 |

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

| | | |
|-----------------|--|----|
| Tablo 1. | Endometrioziste epidemiyolojik faktörler | 4 |
| Tablo 2. | Sinir lifleri tiplendirmesi | 10 |
| Tablo 3. | Endometriozis ayırıcı tanıları..... | 13 |
| Tablo 4. | Sinir liflerinin immünreaktifler ile boyanması..... | 24 |
| Tablo 5. | İmmunohistokimyasal incelemede kullanılan antikorların teknik detayları..... | 25 |
| Tablo 6. | Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri açısından karşılaştırılması. | 27 |
| Tablo 7. | PGP9.5'in endometriozis saptanmasındaki duyarlılık, özgüllük, PPV ve NPV değerleri | 28 |
| Tablo 8. | Çalışmamızdaki sinir lifi varlığı ve tiplendirilmesi. | 29 |
| Tablo 9. | Çalışmamızda PGP 9.5 pozitiflik oranlarının, menstürel faz ve operasyon endikasyonlarına göre karşılaştırması..... | 31 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

| | |
|---|----|
| Şekil 1. Endometriozisin anatomik yerleşimleri..... | 8 |
| Şekil 2. ASRM'e göre endometriozis evrelemesi..... | 14 |
| Şekil 3. Laparoskopik endometrioma görüntüsü | 18 |
| Şekil 4. TV-USG'de endometrioma görüntüsü | 18 |
| Şekil 5. MRI'da endometrioma görüntüsü (T1 ve T2 kesitlerde)..... | 19 |
| Şekil 6. İntraoperatif endometriozisin çeşitli görünümleri | 21 |
| Şekil 7. Endometrioma kapsülü ve histopatolojik görünümü | 21 |
| Şekil 8.. Gruplar arasında yaş dağılımı..... | 26 |
| Şekil 9. Landis ve Koch (1977) elde edilen κ değerlerinin yorumlanması. | 28 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | | |
|----------------------------|---|--|
| PGP 9.5 | : | Protein Gene Product |
| NF | : | Neuroflament |
| VİP | : | Vasointestinal Polypeptide |
| CGRP | : | Calcitonine Gene Related Peptide |
| NPY | : | Neuropeptide Y |
| SP | : | Substance P |
| Ach | : | Asetilkolin |
| TH | : | Tyrosine Hydroxylase |
| ASRM. | : | American Society for Reproductive Medicine |
| α | : | Alfa |
| β | : | Beta |
| γ | : | Gama |
| δ | : | Delta |
| κ | : | Kappa |

1. GİRİŞ

Endometriozis, endometrial gland ve stromanın uterus dışında bulunması olarak tanımlanan, benign, kronik ve yaygın bir jinekolojik hastalıktır (1). Endometriozis ile ilgili yapılmış birçok çalışma olmasına rağmen, prevalansı, patogenezi, doğal seyri ve optimal tedavisi ile ilgili hala çelişkili görüşler bulunmaktadır.

Endometriozisin üreme çağındaki kadınlarda tahmini prevalansı %3 ila %10 olarak bildirilmektedir. Ancak hastalığın bazı kişilerde non-spesifik klinik tablolar halinde görülmesi veya asemptomatik olarak kalabilmesi, görüntüleme yöntemlerinin tanıda duyarlılıklarının düşük oluşu genel popülasyondaki prevalansının kesin olarak bilinmesini mümkün kılmamaktadır (2).

Ektopik endometrial implantlar vücudun çeşitli yerlerinde olabildiği gibi en fazla pelvik organlarda, pelvik organlardan da en fazla overlerde izlenir. Endometriozis genellikle yerleştiği bölgeye göre klinik belirti ve bulgu veren bir hastalıktır. Değişik derecelerde pelvik ağrı, subfertilite, anormal adet kanaması, hematuri, rektal kanama gibi semptomlar endometriozisli hastalarda görülebilen çeşitli semptomlardır. Bu semptomlar endometriozise özgü semptomlar olmayıp, genital organları etkileyen herhangi başka bir hastalıkta da sıklıkla görülebilen non-spesifik semptomlardır. Tüm bu semptomların yanı sıra hastaların bir kısmı da asemptomatik kalabilmektedir (2). Bu durum endometriozis tanısında gecikmelere yol açabilmektedir.

Spesifik bir fizik muayene bulgusu veya laboratuvar testi olmayan endometriozisin tanısında altın standart yöntem, implantların laparoskopi ile gözlenmesi ve histopatolojik olarak tanının doğrulanmasıdır. Ancak laparoskopinin intraabdominal cerrahi bir prosedür olduğu, hasta için komplikasyon riski taşıdığı ve rölatif olarak pahalı bir tanısal yöntem olduğu bilinmektedir. Endometriozis tanısında invaziv olmayan herhangi bir yöntemin mevcut olmaması sebebiyle semptomlarının başlangıcından tanı konulup cerrahi tedavi uygulanıncaya kadar geçen süre uzun sürebilmektedir. Tanıdaki ve tedavideki bu gecikme sebebiyle hastaların hayat

kaliteleri azalmakta, hastalık ilerlemekte, nedeni bilinmeyen ağrı ve infertilite gibi medikal problemler ve bunların finansal yükleri ile karşılaşmaktadır (3). Bu sebeplerden 10. Dünya Endometriozis kongresinde de belirtildiği gibi non-invaziv, basit uygulanabilir bir test endometriozis tanısında esas önceliklerdendir (4).

Tanı testlerinde hangi yöntem olursa olsun önemli olan nokta yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasıdır. Endometriozis tanısında birçok non-invaziv test araştırılmış duyarlılık ve özgüllüklerinin yetersizlikleri sebebiyle kullanıma girmemiştir (3). Endometrioziste ağrı mekanizmasını açıklamak için yapılan son araştırmalar endometriozisli kadınların endometrial dokularının hasta olmayan kadınlardan histopatolojik olarak farklılıklar içerdiğini göstermiş (5,6), endometriozisli kadınların fonksiyonel endometrial tabakalarında küçük miyelinsiz sinir liflerinin yüksek yoğunlukta mevcut olduğu saptanmış ve bu sinir liflerinin sadece endometriozisli hastalarda mevcut olduğu saptanmış yüksek sensitivite ve spesifitesi olmasından dolayı endometriozis tanısında kullanılabileceği öne sürülmüştür (7).

Bizde bu çalışmamızda, endometriozisli kadınlarda minimal invaziv bir yöntem olan endometrial biyopsi ile fonksiyonel endometrial tabakadaki sinir liflerinin varlığının ve tiplerinin endometriozis tanısındaki etkinliğini saptamayı amaçladık. Böylece tanıdaki gecikmeyi, laparoskopiye bağlı komplikasyonları azaltmayı ve endometriozisin sebep olduğu ağrı, infertilite gibi medikal problemleri ve bunların getirdiği finansal yükü azaltmak mümkün olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TANIM

Endometriozis, endometrial gland ve stromanın uterus dışında bulunması olarak tanımlanan, bening, kronik ve yaygın bir jinekolojik hastalıktır. Endometriotik odaklar ilk olarak 19. Yüzyılın ortalarında Von Rokitansky tarafından tanımlanmıştır fakat 1921'de "çikolata kisti" olarak adlandırdığı bir seri hemorajik over kistini tanımlayan ve peritoneal implantları adlandırmak için 'endometriozis' deyimini bulan John Sampson tarafından adlandırılmıştır (8). Endometriozis, östrojen bağımlı bir hastalık olup sonuç olarak en sık üreme çağındaki kadınlarda görülür.

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Endometriozisin gerçek yaygınlığı bilinmemektedir. Bu, temelde cerrahinin endometriozis tanısında tek güvenilir yöntem olmasından ve genellikle güçlü bir şekilde hastalığa isaret eden belirti ya da klinik bulguları olmayan hastalara cerrahi uygulanmamasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle de, yaygınlık hesaplamaları cerrahi tedavi endikasyonuna göre değişkenlik göstermektedir. Asemptomatik endometriozis sıklığı elektif sterilizasyon yapılan kadınlarda %1-7, üreme çağında pelvik ağrısı olan kadınlarda %12-32, infertil kadınlarda %9-50 ve kronik pelvik ağrı ve dismenoresi olan adölesanlarda %50'dir (9,10). Üreme çağındaki kadınlarda endometriozisin genel yaygınlığı muhtemelen %3-10 arasındadır (11,12,13).

Endometriozis tanısının cerrahi olarak konulmasından dolayı tanı alma yaşı ortalama olarak 25-35 yaş arasında değişmektedir. Endometriotik odakların varlığı ve büyümesi östrojen bağımlıdır. Dolayısıyla doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen bir hastalık olup menarş öncesinde veya menopoz sonrasında nadir olarak izlenir. Endometriozis için cerrahi tedavi gerektiren hastaların %5'inden azı post-menapozal çağıdadır ve çoğu östrojen tedavisi almıştır (14,15). Asemptomatik

endometriozis yaygınlığı Kafkas ırkı ile kıyaslandığında Asyalılarda daha yüksek ve siyah ırkta daha düşüktür (16).

Erken menarş ve kısa menstrüel sikluslar artmış endometriozis riski ile ilişkili bulunmuştur. Hastalık riski ile adet miktarı ve süresi arasındaki ilişki daha az belirgindir (17). İlginç şekilde, endometriozis yaygınlığı ile vücut kitle indeksi arasında ters orantılı bir ilişki vardır. Gebeliğin zamanla azalan bir koruyucu etkisi vardır; parite ve uzamış laktasyon dönemleri ile risk azalırken, son doğumdan sonra geçen süre arttıkça hastalık riski de artmaktadır (18,19). Monozigotik ya da dizigotik ikizlerde hastalık sıklıkla iki kardeşte de görülmektedir ve ikiz olmayan etkilenmiş kardeşlerde ise benzer yaşlarda başlamaktadır. Endometriozis, etkilenmiş kadınların birinci derece akrabalarında genel topluma göre 6-7 kat dahayaygındır. Tüm bu gözlemler, endometriozisin genetik bir kökeni olduğunu ve hastalığa yatkınlığın karmaşık bir genetik geçiş ile aktarıldığını düşündürmektedir (20,21). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar fazla miktarda alkol ve kafein tüketiminin de riski arttırabileceğini, düzenli egzersiz ve sigara kullanımının endometriozis riskini azaltabileceğini düşündürmektedir (22). Primatlardan elde edilen veriler poliklorine bifenil (PCB) ya da dioksin maruziyetinin endometriozis ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür ancak kadınlardaki çalışmalar tutarsız sonuçlar vermiştir.²³ Diğer bazı veriler in utero maruziyetlerin hastalık gelişiminde etkili olabileceğine işaret etmektedir; prenatal dietilstilbestrolle maruz kalan hastalarda endometriozis sıklığı artmaktadır (23). Endometriozis oluşumu ile ilişkili risk faktörleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Endometrioziste epidemiyolojik faktörler

| Artıran faktörler | Azaltan faktörler |
|--|-----------------------------|
| Erken Menarş | Sigara |
| BMI↓ | BMI↑ |
| Ailesel yatkınlık | Düzenli egzersiz |
| Çevresel faktörler (PCB, dioksin, kafein, alkol) | Gebelik ve laktasyon süresi |
| İrk (Asya>Kafkas>Siyah) | |
| Dietilstilbestrol (prenatal maruziyet) | |

2.3. PATOFİZYOLOJİ

Endometriozisin patogenezi ile ilgili genel olarak kabul görmüş bir teori bulunmamaktadır. Patogenezi retrograd menstruasyon ve implantasyon, çöломik metaplazi, doğrudan transplantasyon ve vasküler disseminasyon gibi pekçok mekanizma öne sürülmüştür.

2.3.1. Retrograd menstruasyon ve implantasyon teorisi

Menstruasyon sırasında dökülen endometrial dokuların fallop tüpleri aracılığıyla periton boşluğuna taşındığını ve pelvik organların yüzeylerine implante olduğunu öne sürmektedir. Pek çok kanıt implantasyon teorisinin endometriozis patogeneziinde temel mekanizma olduğunu desteklemektedir.

- Adet sırasında laparoskopi yapıldığında, fallop tüpleri açık olan kadınların %75- 90'ında periton boşluğunda kan gözlenebilmektedir (24).
- Adet sırasında peritoneal sıvıdan elde edilen canlı endometrial hücreler hücre kültüründe yetiştirilebilmekte ve peritonun mezotelyal yüzeyine tutunup penetre olabilmektedir (25).
- Menstrüel akışı engelleyen mülleryan anomalileri olan kadınlarda endometriozis yaygınlığı akışı engellemeyen anomalileri olan kadınlara kıyasla daha fazladır (26).
- İnsan olmayan primatlarda cerrahi ile oluşturulmuş peritoneal menstruasyon veya menstrüel endometriyumun retroperitoneal enjeksiyonu (27) ile ve kadınlarda, kendi menstrüel dokularının peritona enjekte edilmesi ile deneysel olarak endometriozis oluşturulabilmektedir (28).

2.3.2. Çöloomik metaplazi teorisi

Pariyetal peritonun pluripotent bir doku olduğunu ve histolojik olarak normal endometriumdaki ayırt edilemeyecek şekilde metaplastik değişime uğradığını öne sürer. Sampsonun kendisi de orijinal yazısında peritoneal endometriozis odaklarının kist içeriğinde yer alan ve peritoneal endotelde metaplaziye neden olarak yapı ve işlev açısından tipik endometrial dokuya dönüşümünü uyaran irritan bir faktöre bağlı olabileceğini kabul etmiştir (29). Bazı gözlemler, endometriozisin en azından bazı olgularda çöloomik metaplazi sonucu gerçekleştiğini düşündürmektedir.

- Endometriozis menarş öncesi dönemdeki bir kızda, hiç adet görmemiş kadınlarda tanımlanmıştır ve göreceli olarak az sayıda menstrüel siklusu olan adölesanlarda da görülmektedir (30).
- Anatomik bir bozukluk yokluğunda sağlam endometrial hücrelerin toraksa erişimleri bulunmadığı için, implantasyon teorisi pulmoner (hemen her zaman sağ tarafta görülür) ve plevral endometriozisi açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Plevranın (periton ve mülleryan kanallar gibi çöloomik epitelden köken almaktadır) metaplazisinin, dejenere endometrial hücreler tarafından peritoneal sıvıya (sağ hemi-diyafraam yoluyla toraks boşluğu ile iletişim halindedir) salınan kimyasal uyarılar veya steroid hormonlar tarafından indükleniyor olması daha mantıklı bir açıklamadır (31).
- Yanlış entegre olmuş çöloomik epitelde (erken embriyogenez esnasında mezenşimal ekstremiter tomurcukları ile yakın komşuluk halindedir) oluşan metaplazi, ekstremiteler (baş parmak, uyluk, diz) gibi alışılmamış bölgelerdeki endometriozisi açıklayabilmektedir (32).
- Yüksek doz östrojen ile tedavi edilen bazı erkeklerde nadir endometriozis olguları tanımlanmıştır (mesane, karın duvarı) (33).
- Kollajen ağ içerisinde östradiol ile kültüre edilen over yüzey epiteli ve stromal hücreler endometrial bez ve stroma oluşturmaktadır (34).

2.3.3. Lenfatik ve vasküler disseminasyon teorisi

Endometrial dokunun anormal lenf ve damar yoluyla ekstrauterin dokulara yayıldığını öne sürer. Perine, kasık, abdominal insizyonlara yayılım bu teori ile desteklenmektedir. Pelvik endometriozisli hastaların otopsi serilerinde pelvik lenf nodlarında %29 oranında endometriozise rastlanmıştır ayrıca retroperitoneal bölgenin lenfatik açıdan zengin oluşu izole retroperitoneal lezyon saptanan hastalarda yayılımın lenfatik yolla olduğunu düşündürür (35). Akciğer ve perikarddaki endometriozisin ise kan damarları aracılığıyla geliştiği savunulmaktadır.

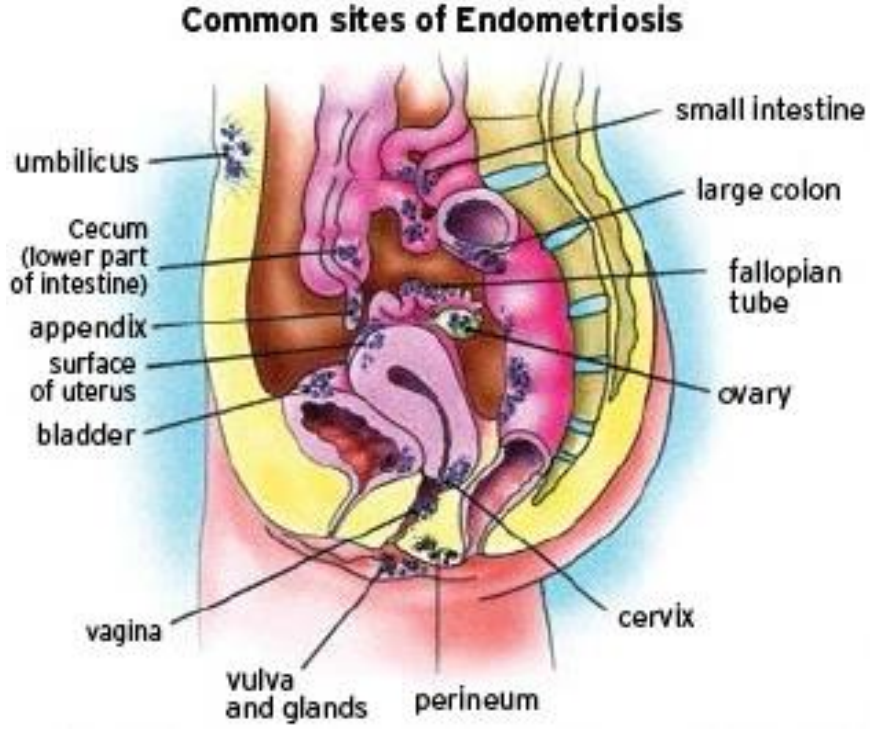
2.3.4. İndüksiyon teorisi

Çölomik metaplazi teorisinin bir varyantı olarak sunulmuştur. Bazı hormonal veya biyolojik faktörlerin, farklılaşmamış hücrelerin endometrium dokusuna farklılaşmasına neden olduğu ileri sürülmüştür. Bu maddelerin eksojen veya endometriumdan salınan faktörler olduğu düşünülmektedir (36).

Bahsedilen hiçbir teori tüm endometriozis olgularını tek başına açıklayamamaktadır ve muhtemelen her biri belli ölçülerde patogeneze katkıda bulunmaktadır. Buna rağmen açıklanamayan durumlar için immün işlevler ve genetik üzerine yapılan araştırmalar ile cevap verilmeye çalışılmaktadır.

2.4. ANATOMİK YERLEŞİMLER

Endometriozis en fazla pelvik organlarda, pelvik organlardan da en fazla overlerde izlenir. Overlerin haricinde azalan sıklıkta anterior ve posterior kul-de-sak, posterior broad ligament, uterosakral ligament, uterus, fallop tüpleri, sigmoid kolon, appendiks ve round ligamentler üzerinde izlenir. Daha nadir olarak da vajina, serviks, rektovajinal septum, çekum, ileum, inguinal kanal, abdominal veya perineal skar dokuları, mesane, üreter ve umblikusta izlenebilir. Çok daha nadir olarak da böbrekler, üretra, ekstremiteler, vertebra, kemikler, periferel sinirler, akciğerler, dalak, diyafram ve santral sinir sisteminde izlenebildiği bildirilmiştir (37).



Şekil 1. Endometriozisin anatomik yerleşimleri

2.5. KLİNİK SEMPTOMLAR

Endometriozis genellikle yerleştiği bölgeye göre klinik belirti ve bulgu veren bir hastalıktır. Değişik derecelerde pelvik ağrı, subfertilite, anormal adet kanaması, hematuri, rektal kanama gibi semptomlar endometriozisli hastalarda görülebilen çeşitli semptomlardır. Bu semptomlar endometriozise özgü semptomlar olmayıp genital organları etkileyen herhangi başka bir hastalıkta da sıklıkla görülebilen non-spesifik semptomlardır. Bu durum endometriozis tanısındaki gecikmelere yol açabilen bir durumdur. Tüm bu semptomların yanı sıra hastaların bir kısmı da asemptomatik kalabilir (2).

2.5.1. Ağrı (Kronik pelvik ağrı, Dismenore, Disparoni...)

Ağrı endometriozis ile ilişkili en sık görülen belirtidir ve sıklığı endometriozisli hastalarda %50'dir. Ağrı oluşumunda rol oynayan mekanizmaların

saptanması bazı nedenlerden dolayı güçtür. Ağrının kendisinin ölçülmesi, özellikle de kronik olduğu zaman, güç bir iştir. Hormonal çevre ağrı algısını etkilemektedir. Ağrı üzerine plasebo etkisi mevcuttur ve çalışmalar arasında değişkenlik göstermektedir. Kronik pelvik ağrı zamanla çevre organ sistemlerini de tutmaya meyillidir. Ağrı algısı ve toleransı da kadınlar arasında büyük değişkenlik göstermektedir (38).

Endometriozis ile ilişkili ağrı üç temel mekanizmaya bağlanmıştır.

- Endometriotik implantlardaki bölgesel kanamanın doğrudan ve dolaylı etkileri (39). (Minimal veya Hafif hastalık)
- Periton boşluğundaki inflamatuvar sitokinlerin etkisi (40). (Minimal veya Hafif hastalık)
- Pelvik tabandaki sinirlerin irritasyonu ya da doğrudan infiltrasyonu (41). (İleri evre endometriozis)

Bu mekanizmalara rağmen ağrı şiddeti ile endometriozisin evresi arasında korelasyon olmaması sebebi ile peritoneal implantlar ve adezyonlar incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu implantlar ve adezyonlarda sinir liflerinin varlığı tespit edilmiştir (42,43).

Yapılan çalışmalarda yaygın dismenore ve derin disparoni şikayeti olan rektovajinal nodulu olan hastalarda sinir liflerinin varlığı ve bu liflerin non-spesifik S-100 proteini ile immunohistokimyasal olarak boyandığı tespit edilmiştir (41). Yine aynı şekilde peritoneal adezyonlarda anti-calcitonin gene related peptide (CGRP), anti-substance P (SP), anti-vasointestinal polypeptide (VIP), anti-tyrosine hydroxylase (TH), anti-neurofilament (NF) immünreaktif sinir liflerinin varlığı tespit edilmiştir (44). Myometrial tabakada yapılan çalışmalarda SP ve CGRP immünreaktif sinir liflerinin varlığı tespit edilmiş ve SP'nin myometriumda uterin kontraksiyonları tetiklediği CGRP'nin ise bu kontraksiyonları inhibe ettiği saptanmıştır. Endometriozisli hastaların bazal uterin tonuslarının mens sırasında daha yüksek frekansa ve amplitude sahip olduğu belirtilmiştir fakat bu çalışmaların hiçbiri fonksiyonel endometrial tabakada yapılmamıştır (45).

Endometriozisin patogenezinde en fazla kabul gören teori olan retrograd menstruasyon ve implantasyon teorisine göre bu sinir liflerinin kaynağının endometriumun fonksiyonel tabakası olabileceği düşünülmüştür (7).

Tokushige ve arkadaşları (7) tarafından yapılan bir çalışmada; fonksiyonel endometrial tabaka, bazal endometrial tabaka ve myometrium anti-protein gene product (PGP 9.5) (yüksek spesifitede pan nöronal marker myelinli ve myelinsiz lifler için; A α , A β , A γ , A δ , B ve C lifleri) ve NF (myelinli lifler için spesifik marker; A α , A β , A γ , A δ , B lifleri) ile immünohistokimyasal olarak boyanmıştır. Vucutta ağrı, A δ ve C lifleri ile iletilir. A δ lifleri, küçük myelinli liflerdir ve keskin lokalize edilebilen ağrıyı iletir, C lifleri ise küçük myelinsiz liflerdir ve künt, net lokalizasyon gösterilemeyen ağrıyı iletir (Tablo 2).

Tablo 2. Sinir lifleri tiplendirmesi

| Sinir liflerinin tipleri | Görevleri |
|---------------------------------|--|
| A alfa (A α) | İskelet kası motor sinirleri, proprioseptif lifler |
| A beta (A β) | Kuvvetli dokunma, basınç ve motor lifler |
| A gama (A γ) | Kas içciklerine giden motor lifler |
| A delta (A δ) | Akut ağrı, soğuk duyusu, hafif dokunma, hafif basınç lifleri |
| B grubu (İnce çaplı myelinli) | Preganglionik otonomik lifler |
| C grubu (İnce çaplı myelinsiz) | Kronik ağrı, sıcaklık, post ganglionik sempatik lifleri |

Çalışmada endometriozisli hastalar ve diğer jinekolojik endikasyonlarla opere edilen endometriozisi olmayan hastalar olmak üzere 2 grup değerlendirilmiş, endometriozis grubundaki tüm hastalar dismenore ve ağrı sebebiyle opere edilmiş. Endometriozisi olan bütün hastalarda fonksiyonel endometrial tabakada PGP 9.5 ile pozitif boyanma saptanmış, NF ile boyanma olmamış, endometriozis olmayan grupta ise fonksiyonel endometrial tabakada hiçbir hastada hiçbir sinir lifi ile boyanma olmamış. Fonksiyonel tabakadaki bu sinir liflerinin PGP 9.5 ile boyanıp NF ile boyanmaması bu liflerin küçük myelinsiz sinir lifleri olduğu göstermiştir.

Endometriozisli hastaların bazal endometrial tabakasında ve myometriumda da endometriozisi olmayanlara göre çok daha fazla ve yoğun olarak sinir lifleri saptanmıştır.

Sinir liflerine spesifik nörotransmitterlerin ve nöropeptidlerin görevleri net olarak bilinmemekle beraber;

SP; myometriumda kontraksiyonları indüklediği (46).

CGRP; SP'nin indüklediği kontraksiyonları özel bir endopeptidaz yardımıyla inhibe ettiği ve spontan myometrial kontraksiyonları inhibisyonuyla ilişkilidir (47).

NPY;sempatik vazokonstriktör sinir liflerinde noradrenalin ile beraber bulunurlar, vasküler tonusun düzenlenmesinde ve myometrial kontraksiyonları inhibe edici etkisi bulunmaktadır (48).

VİP; uterin arterin potent vazodilatatörüdür, non-vasküler ve vasküler düz kas dokusunun relaksasyonu, ovarian steroidogenez ve ovulasyon, endometrial glandüler sekresyon, myometrial kan akımı artışı ile ilişkilidir (48).

Nörotensin; myometriumda kontraksiyonları tetiklediği ve indüklediği gösterilmiştir (49).

Asetil kolin (ACh); myometrium ve vasküler düz kasta kontraksiyonları tetiklediği ve VİP'in bu kontraksiyonları inhibe ettiği bilinmektedir (50).

Tokushige ve arkadaşlarının (52) yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise sinir liflerinin varlığı ve tipleri belirlenmeye çalışılmış, PGP 9.5, NF sinir lifi varlığı araştırmak için, VİP (duyusal ve kolinerjik sinir liflerinin markerları), NPY (duyusal ve adrenerjik liflerinin markerı), CGRP ve SP (A δ ve C liflerinin markerları), TH (adrenerjik liflere spesifik), VAcHT (kolinerjik liflere spesifik) sinir liflerini tiplendirmek için kullanılmıştır.

Çalışmanın sonucunda endometriozisli hastaların hepsinde fonksiyonel endometrial tabakası PGP 9.5 ile boyanmış fakat NF ile boyanmamıştır. Bu sonuçtan anlaşılmıştır ki fonksiyonel endometrial tabakadaki sinir lifleri myelinsiz sinir lifleridir. Ayrıca sinir liflerini tiplendirmek için kullanılan diğer markerlardan SP,

CGRP, VİP ve NPY ile pozitif boyanma saptanmıştır. TH ve VACHT ile pozitif boyanma saptanmamıştır. Boyanmalar yoğunluk (mm'ye düşen sinir lifi) açısından değerlendirilmiş ve SP ve CGRP ile boyanma VİP ve NPY ile boyanmaya göre yoğunluğu daha az saptanmıştır. Bu bilgilere dayanarak endometrium fonksiyonel tabakasındaki liflerin duyusal C lifi ağırlıklı olduğu ve değişik tipte duyusal lifler içerdiği sonucuna ulaşılmıştır. Endometriozisi olmayan hastaların hiçbirinde fonksiyonel endometrial tabakada hiçbir marker ile boyanma olmamıştır. Çalışmada ayrıca bazal endometrium ve myometriumdaki değerlendirilmiş, endometriozisli hastaların bazal endometriumlarında PGP 9.5, NF, SP, CGRP, TH, VİP, NPY ile pozitif boyanma olmuştur fakat endometriozisi olmayan hastaların çok azında PGP 9.5, SP, CGRP, VİP ve NPY ile düşük yoğunlukta pozitif boyanma olmuştur. Myometrial tabakada tüm hastalar için tüm immünohistokimyasal markerlar ile boyanma olmuş fakat PGP 9.5 ve NF ile pozitif boyanma endometriozisli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yoğun olduğu görülmüş, bazal tabakadaki ve myometriumdaki immünreaktif boyanan bu liflerin duyusal C, duyusal Aδ ve adrenerjik sinir lifleri olduğu saptanmış kolinerjik liflerin sadece myometriumdaki bulunduğu tespit edilmiş ve özellikle fonksiyonel tabakada bulunan bu liflerin ağrı oluşum mekanizmasında rolleri olabilecekleri belirtilmiştir.

Peritoneal lezyonlardaki sinir liflerinin endometrium fonksiyonel tabakasındaki sinir lifi progenitorleri tarafından veya büyüme faktörleri tarafından tetiklenerek gelişebileceği öne sürülmüştür (41). Yaygın pelvik ağrıya hangi nöral stimülasyonun sebep olduğu net bilinmemekle beraber sinir liflerini uyarabilecek moleküller (TNF- α , PG-I2, PG-E2 ve F2 α , NGF) peritoneal endometrial plaklar tarafından salınabileceği veya bu nöral büyüme faktörlerinin fonksiyonel olarak anormal olan endometriumdaki programlanarak sekrete edilebileceği, myelinsiz sinir liflerinin gelişiminin ve ağrı semptomlarının bu şekilde açıklanabileceği belirtilmiştir.

2.5.2. İnfertilite

Subfertilitesi olan kadınlarda endometriozis sıklığı %20 ila %40 arasındadır. İnfertilitesi olan kadınlarda fertil kontrollere göre daha fazla sıklıkta endometriozis saptanmış (%33-%13) ayrıca ileri evre endometriozis prevalansının da daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Endometriozis ile ilişkili subfertilite iki temel mekanizmaya bağlanmıştır:

- 1) Ovulasyonu takiben yumurtanın yakalanmasını önleyecek ya da inhibe edecek şekilde bozulmuş pelvik anatomi (53). (İleri evre endometriozis)
- 2) Folikül gelişimi, fertilizasyon ve implantasyon bozukluklarına yol açacak şekilde ovaryen, tubal ya da endometrial işlevleri bozan prostaglandinlerin, metalloproteinazların, sitokin ve kemokinlerin yüksek düzeylerde üretimi neticesinde gelişen kronik inflamasyon (54,55). (Minimal veya Hafif hastalık hastalık)


Endometriozise bağlı yakınmaların spesifik olmaması sebebiyle birçok hastalığı taklit edebilmektedir. Endometriozis, cerrahi bir tanı olması sebebiyle cerrahi öncesi ayırıcı tanılar düşünülmelidir (Tablo 3).

Tablo 3. Endometriozis ayırıcı tanıları

| Jinekolojik | Non-jinekolojik |
|--|---------------------------------|
| PID (salpenjit, endometrit, tubo-ovaryen apse) | İntersitisyel sistit |
| Hemorajik over kisti | Kronik İYE |
| Over torsiyonu | İnflamatuvar bağırsak hastalığı |
| Primer dismenore | Divertikülit |
| Dejenere myom | Mezenterik lenfadenit |
| | İrritablil bağırsak sendromu |

2.6. ENDOMETRİOZİS SINIFLANDIRMASI

Endometriozisin yayılımını objektif olarak değerlendirmek için bir sınıflandırma sistemi şarttır çünkü endometriozisi olan kadınlarda hem prognoz hem de tedavi bir ölçüde hastalığın yayılımına göre belirlenmektedir. Günümüzde Amerikan Üreme Tıbbı Derneğinin (American Society for Reproductive Medicine=ASRM) 1996'da revize ettiği evreleme sistemi kullanılmaktadır. Bu evreleme sisteminde evre I: minimal, evre II: hafif, evre III: orta, evre IV: ciddi hastalık olarak sınıflandırılmıştır (56).



**THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS**

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

| ENDOMETRIOSIS | PERITONEUM | | |
|---------------|------------|-------|------|
| | <1cm | 1-5cm | >5cm |
| Superficial | 1 | 2 | 4 |
| Deep | 2 | 4 | 6 |
| R Superficial | 1 | 2 | 4 |
| R Deep | 4 | 16 | 20 |
| L Superficial | 1 | 2 | 4 |
| L Deep | 4 | 16 | 20 |

| POSTERIOR CULDESAC OBILITERATION | PERITONEUM | |
|----------------------------------|------------|----------|
| | Partial | Complete |
| | 4 | 40 |

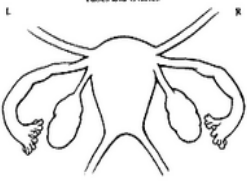
| ADHESIONS | PERITONEUM | | |
|-----------|----------------|-------------------|----------------|
| | <1/3 Enclosure | 1/3-2/3 Enclosure | >2/3 Enclosure |
| R Filmy | 1 | 2 | 4 |
| R Dense | 4 | 8 | 16 |
| L Filmy | 1 | 2 | 4 |
| L Dense | 4 | 8 | 16 |
| R Filmy | 1 | 2 | 4 |
| R Dense | 4* | 8* | 16 |
| L Filmy | 1 | 2 | 4 |
| L Dense | 4* | 8* | 16 |

| TUBE | PERITONEUM | | |
|---------|----------------|-------------------|----------------|
| | <1/3 Enclosure | 1/3-2/3 Enclosure | >2/3 Enclosure |
| R Filmy | 1 | 2 | 4 |
| R Dense | 4* | 8* | 16 |
| L Filmy | 1 | 2 | 4 |
| L Dense | 4* | 8* | 16 |


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

Additional Endometriosis: _____ Associated Pathology: _____


To Be Used with Normal Tubes and Ovaries



To Be Used with Abnormal Tubes and/or Ovaries



STAGE I (MINIMAL)




PERITONEUM
Superficial Endo 1-3cm 2

Right OVARY
Superficial Endo <1cm 1
Filmy Adhesions 1/3 1

TOTAL POINTS 4

STAGE II (MILD)




PERITONEUM
Deep Endo >3cm 6

Right OVARY
Superficial Endo <1cm 1
Filmy Adhesions <1/3 1

Left OVARY
Superficial Endo <1cm 1

TOTAL POINTS 9

STAGE III (MODERATE)




PERITONEUM
Deep Endo >3cm 6

CULDESAC
Partial Obliteration 4

Left OVARY
Deep Endo 1-3cm 16
1-3cm 16

TOTAL POINTS 26

STAGE III (MODERATE)



PERITONEUM
Superficial Endo >3cm 4

Right TUBE
Filmy Adhesions <1/3 1


Right OVARY
Filmy Adhesions <1/3 1

Left TUBE
Dense Adhesions <1/3 16*

Left OVARY
Deep Endo 1-3cm 4
Dense Adhesions <1/3 4

TOTAL POINTS 30

STAGE IV (SEVERE)



PERITONEUM
Deep Endo >3cm 6

CULDESAC
Complete Obliteration 40

Right OVARY
Deep Endo 1-3cm 16
Dense Adhesions <1/3 4


Left TUBE
Dense Adhesions >2/3 16

Left OVARY
Deep Endo 1-3cm 16
Dense Adhesions >2/3 16

TOTAL POINTS 114

*Point assignment changed to 16

STAGE IV (SEVERE)



PERITONEUM
Superficial Endo >3cm 4

Left OVARY
Deep Endo <1cm 32**
Dense Adhesions <1/3 8**

Left TUBE
Dense Adhesions <1/3 8**

TOTAL POINTS 52

** Point assignment doubled

Şekil 2. ASRM'e göre endometriozis evrelemesi

Bu sınıflandırmacerrahi bulgulara dayalı bir evrelendirme sistemi olarak hazırlanmıştır. Bu sistemde hastalıkla ilişkili yapışıklıklar ile lezyonların boyutları,

14

derinlikleri ve yerleşimlerine dayanarak puan verilmekteydi. Bu sistem, endometriozisin değişken morfolojisini tanımlayabilmek ve infertilite ve ağrısı olan kadınlarda, skortlama ile prognostik değeri arasında tutarlılık sağlamaya çalışılmış fakat halen infertilite açısından ciddi sınırlamaları bulunmaktadır (57).

Klinik pratikte en çok kullanılan endometriozis sınıflandırması tanımlayıcıdır ve göreceli olarak basittir:

- Minimal endometriozis—belirgin yapışıklıkların bulunmadığı, periton yüzeylerindeki izole yüzeyel hastalık.
- Hafif endometriozis—belirgin yapışıklıkların bulunmadığı periton yüzeylerinde ve overlerde toplam 5 cm'den daha küçük bir küme oluşturan dağınık yüzeyel hastalık.
- Orta şiddette endometriozis—fallop tüpleri ve/veya overlerle ilişkili yapışıklıkların olabildiği hem yüzeyel hem de invaziv, birden fazla odakta görülen hastalık
- Şiddetli endometriozis—genellikle kul de sak, fallop tüpleri ve overlerle ilişkili ince ya da yoğun olabilen yapışıklıkların olabildiği, büyük ovaryen endometriomaları da içerebilen hem yüzeyel hem derin, birden fazla odakta görülen hastalık

2.7. TANI

Endometriozis tanısında, altın standart yöntem laparoskopidir. Klasik olarak ektopik endometrial bez ve stromasının histolojik olarak gösterilmesini gerektirmektedir, ancak doku tanısı genellikle gereksizdir çünkü hastalığın fizik özellikleri iyi tanımlanmıştır ve kolayca tanınabilmektedir fakat tanı için laparoskopiyeye alternatif olabilecek güvenilir bir non-invaziv tanı yöntemi halen yoktur.

2.7.1. Fizik muayene

Endometriozisi olan kadınların fizik muayene bulguları çok çeşitlilik göstermektedir ve bulunduğu zaman da, hastalığın yerleşimi ve yaygınlığı ile ilişkilidir. İncelemede, dış genital organlar tipik olarak normaldir nadir olarak epizyotomi veya insizyon hattında endometriozis izlenebilmektedir. Bazen spekulum incelemesinde, genellikle her ikisi de arka fornikste yer alan, mavi renkli tipik implantlar ya da temas edilince kanayan kırmızı proliferatif lezyonlar görülebilmektedir (58). Rektovajinal septumu tutan derin infiltratif endometriozis sıklıkla bimanuel muayenede ele gelse de, genellikle görülebilir değildir ve belirgin bir bulgusu yoktur (59). Uterus genellikle retroverttir ve hareketinde azalma ya da fiksasyon gösterebilmektedir. Ovaryen endometriomasi olan kadınlarda ağrılı, fikse bir adneksiyal kitle hissedilebilmektedir. Sakrouterin ligamanlarda kalınlaşma, endüriasyon, nodülerite ve fokal hassasiyet en sık ve genellikle tek fizik bulgudur (60,61). Fizik muayene en yüksek tanısal duyarlılığına menstruasyon sırasında yapıldığında ulaşmaktadır, ama o zaman bile normal bir muayene tanımı dışlamamaktadır (62). Genel olarak, fizik muayene altın standart olan cerrahi tanı ile karşılaştırıldığında, göreceli olarak düşük duyarlılığa, özgüllüğe ve prediktif değere sahiptir (63).

2.7.2. Laboratuvar Testleri

Endometriozis tanısında, birçok serum belirteci araştırılmış fakat hiçbir uygun duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmaması sebebiyle araştırmaların dışında kullanılamamıştır. Bu belirteçlerden en bilineni şüphesiz ki CA125'dir. CA125 endometrium da dahil olmak üzere çölyom epiteli türevlerinden eksprese edilen bir hücre yüzey antijenidir. CA-125 düzeyleri ileri evre endometriozisi olan kadınlarda sıklıkla yükselmiştir (64,65) ancak aynı zamanda erken gebelik, normal menstruasyon, akut pelvik inflamatuvar hastalık ya da leiomyom gibi durumlarda da düzeyleri yükselebilmektedir. Serum CA-125 değerleri menstrüel siklus süresince bir miktar değişkenlik göstermektedir ve genelde menstruasyon sırasında en yüksek

düzeylede iken, foliküler fazın ortasında ve ovulasyondönemlerinde en düşük düzeylerine inmektedir (66,67).

Artmış CA125 düzeylerinin endometriozis şiddeti ile pozitif ilişkili olduğu görülmüştür ancak yeterli özgüllük göstermesine rağmen, ölçümlerin hafif endometriozisli olguları saptamadaki duyarlılığı düşük saptanmıştır. Yapılan meta-analizlerde CA125'in duyarlılığı %30'un altında, özgüllüğü %90 olarak saptanmıştır (67).

Serum CA-125 düzeyleri, özellikle de transvajinal ultrasonografi ile birlikte kullanıldığında, ovaryen endometriomaları diğer benign kistlerden ayırt etmedefaydalı olabilmektedir (68,69). Serum CA-125 düzeyleri tedavinin etkinliğini öngörmeye genel olarak güvenilir olmasa da (70,71), cerrahi tedavi sonrasında serum CA-125 düzeylerinde devam eden bir yükseklik nispeten kötü prognoz göstergesidir (72).

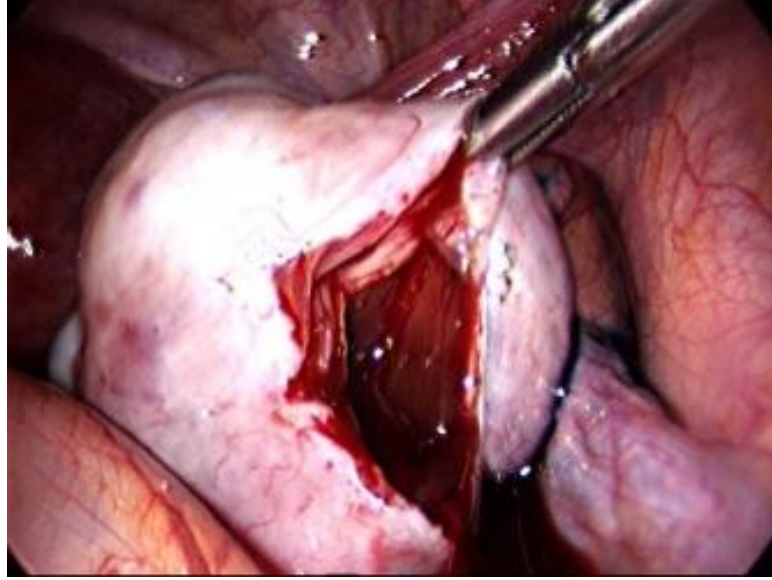
Diğer serum belirteçlerinden CA19-9'un endometriozis şiddeti ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir. Serum plasental protein 14 (PP14; glikodelin A), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi diğer değişik serum belirteçlerinin yetersiz özgüllük ve duyarlılıkları sebebiyle araştırmalar dışında kullanımları uygun görülmemiştir (73).

2.7.3. Görüntüleme Yöntemleri

2.7.3.1. Ultrasonografi (USG)

Transvajinal ultrasonografi endometriozis tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. İleri evre endometriozisi olan kadınların saptanmasında yardımcı olabilmekendometriomaları doğru ve güvenilir olarak saptayabilmektedir, ancak pelvik yapışıklıklarına da peritondaki yüzeysel hastalık odaklarını görüntülemeye yetersizdir. Endometriomaların çeşitli ultrasonografik görünümüleri olabilmektedir, ancak tipik olarak parlak bir ekojenik kapsül ile çevrili, yaygın ve düşük düzeyde internal ekolar içeren kistik yapılar olarak görünmektedirler. Bazılarında internal septasyonlar ya da kalınlaşmış nodüler duvarlar mevcuttur (74,75). Karakteristik

görünümleri bulunduğu zaman, transvajinal ultrasonografi endometriomaları saptamada %90 ya da daha yüksek duyarlılığa ve neredeyse %100 özgüllüğe sahiptir (75,76). Derin infiltratif hastalığın mesane, sakrouterin ligamanlar ya da rektovajinal septum tutulumundan şüphelenildiği durumlarda, transvajinal ya da transrektal ultrasonografi özellikle faydalıdır (77,78).



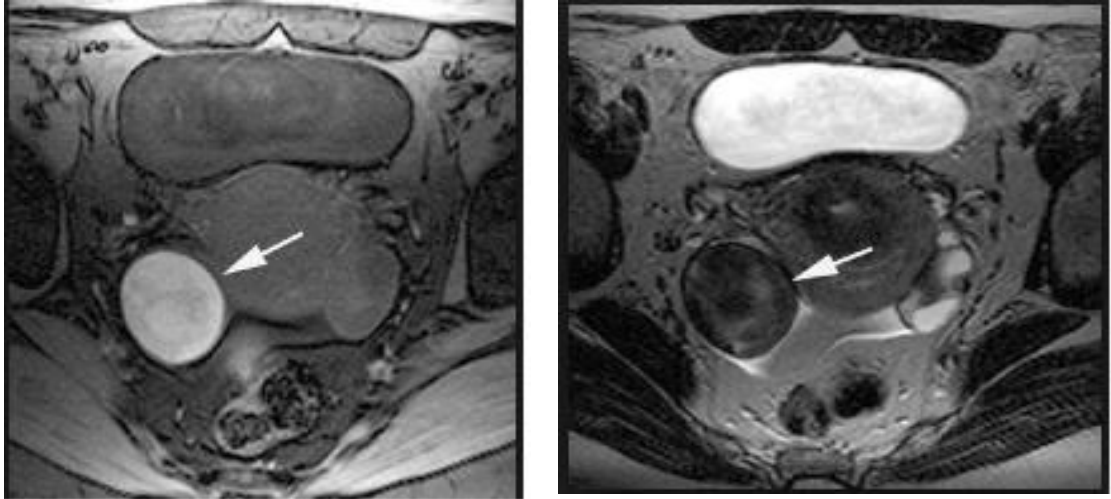
Şekil 3. Laparoskopik endometrioma görüntüsü



Şekil 4. TV-USG’de endometrioma görüntüsü

2.7.3.2. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

Transvajinal ultrasonografi gibi, manyetik rezonans görüntüleme de (MRG) ovaryen endometriomaların saptanması ve diğer kistik yapılardan ayırt edilmesinde yardımcı olabilmektedir, ancak küçük peritoneal lezyonları güvenilir bir şekilde görüntüleyememektedir (79,80). Peritoneal implantların saptanmasında MRG transvajinal ultrasonografiden daha üstündür, ancak yine de, cerrahide saptanan peritoneal lezyonların sadece %30-40'lık bir bölümünü gösterebilmektedir. Histopatolojik olarak kanıtlanmış hastalığın saptanmasında, MRG yaklaşık %70 duyarlılık ve %75 özgüllüğe sahiptir (81). MRG'nin transvajinal ultrasonografiye temel üstünlüğü, akut kanama ve dejenere olmuş kan ürünlerini daha güvenilir bir şekilde ayırt etmesidir.



Şekil 5. MRI'da endometrioma görüntüsü (T1 ve T2 kesitlerde)

2.7.4. Tamsal Laparoskopi

Eksize edilen lezyonların histolojik incelemesi ile birlikte laparoskopi, endometriozis tanısı için altın standarttır. Tanının atlanmasını önlemek için cerrahi, hormonal tedavi sırasında ya da 3 ay sonrasına kadar uygulanmamalıdır.²⁶⁷ Endometriotik lezyonların farklı görünimleri olabileceği konusundaki farkındalığın artması, dikkatli ve sistematik bir inceleme yapıldığında, laparoskopi sırasında tanı alan endometriozis olgularının iki katına çıkmasını sağlamıştır (82,83).

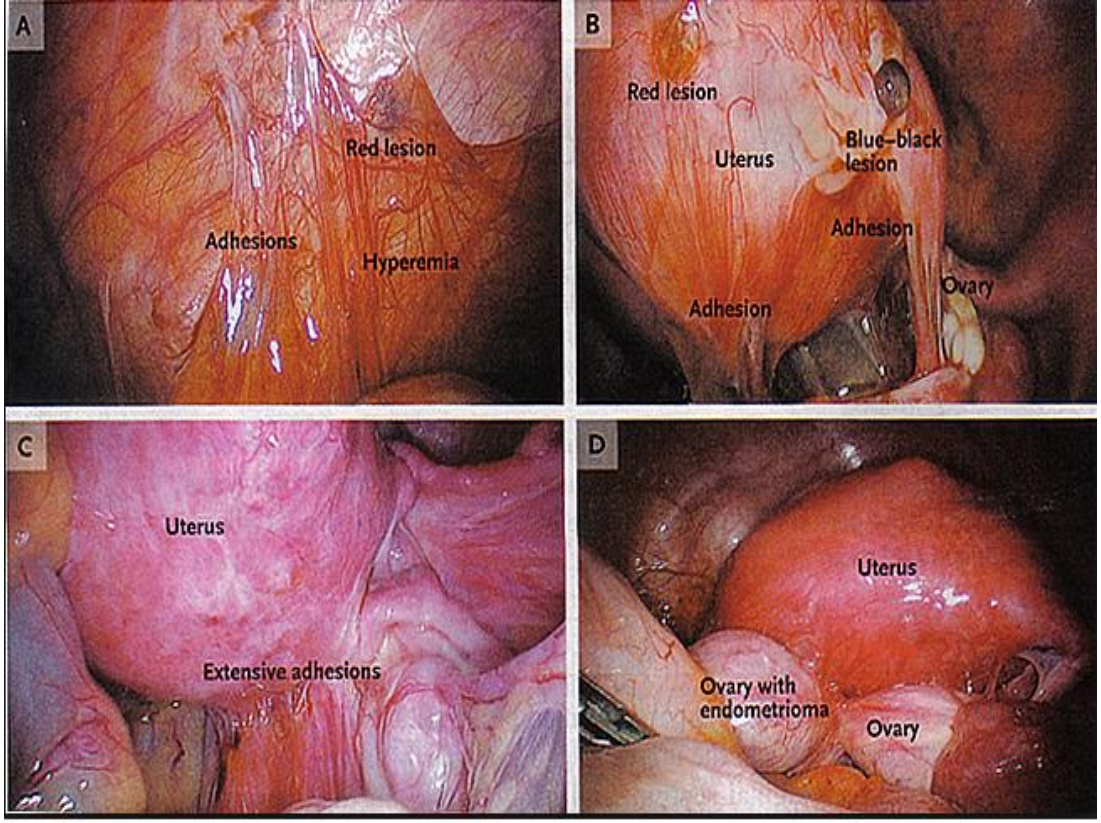
Klasik peritoneal implant tipik olarak overlerde, kul de sakın periton yüzeylerinde, sakrouterin ligamanlarda ve ovaryen fossada görülen, çeşitli miktarlarda fibrozis ile çevrelenmiş mavi siyah renkli “barut yanığı” (hemosiderin depozitleri içerir) lezyonudur (84). Bununla beraber, implantların çoğu beyaz ya da opak, kırmızı ve alev benzeri ya da veziküler lezyonlar gibi atipik görünümündedir. Daha nadir olarak hastalık ovaryen yapışıklılarda, sarı-kahverengi yamalar şeklinde peritoneal defektlerde ya da apendiks tutulumu ile birlikte bulunabilmektedir (85). Kırmızı lezyonlar proliferatiftir, damarlanmaları fazladır ve hastalığın erken dönemini yansıtmaktadır (86). Pigmente lezyonlar yerleşmiş ya da ileri evre hastalığı temsil etmektedir. Her ikisi de metabolik olarak aktiftir ve belirtilerle daha sık olarak ilişkilidir. Beyaz lezyonların damarlanması daha azdır, daha az aktiftir ve daha nadir olarak belirti vermektedir (87). Seri laparoskopilerin incelendiği çalışmalar, endometriotik lezyonların görünümünün zamanla doğal bir ilerleme gösterdiğini düşündürmüştü ve bir hastada herhangi bir zamanda çeşitli lezyonların görülebileceğini göstermiştir (88,89).

Katı histolojik kriterler, eksize edilen lezyonların yaklaşık %50-65’inde endometriozisin cerrahi tanısını doğrulayacaktır (90,91). Tanı şüpheli olduğunda, yanlış tanıyı engellemek ve uygun olmayan ya da gereksiz tedavinin önlenmesi için şüpheli alanlardan biyopsi alınmalıdır.

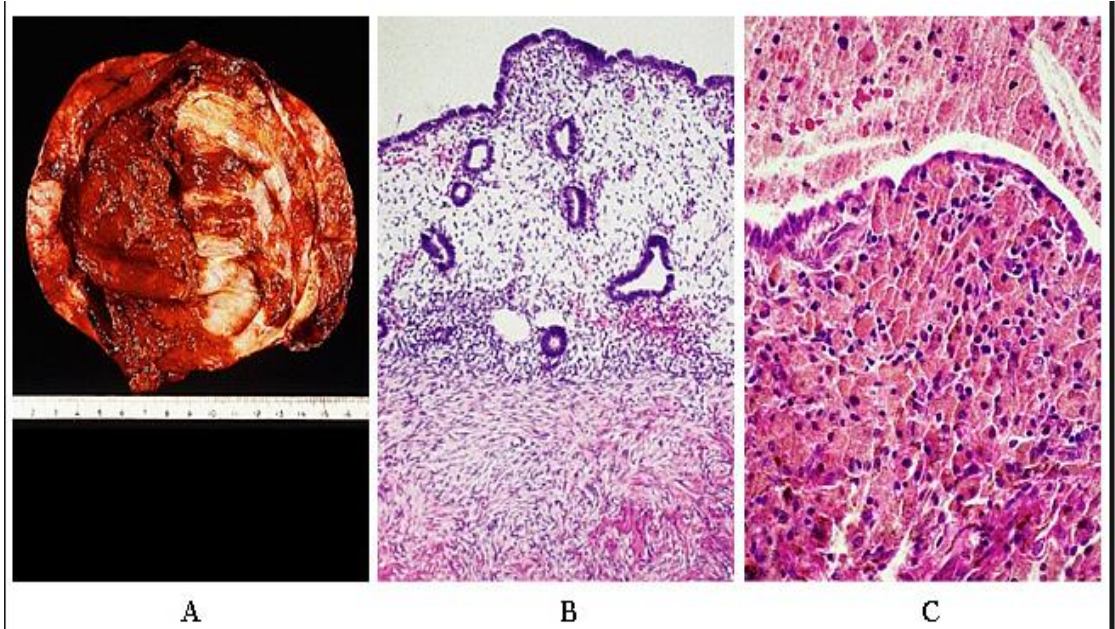
Zıt olarak, negatif bir laparoskopi endometriozisin dışlanmasında oldukça güvenilirdir (92).

Endometriomalar genellikle tipik olarak yapışıklarla ilişkili, koyu kahverengi çikolata benzeri bir sıvı içeren, düzgün, koyurenkli kistler olarak görünmektedir (93). Daha büyük endometriomalar sıklıkla multiloküledir. Overlerin görsel olarak dikkatli bir şekilde incelenmesi, endometriomaların saptanmasında oldukça güvenilirdir (94),

Derin infiltratif endometriozis büyük ölçüde retroperitonealdir, sıklıkla kolayca gözlenmemektedir ve izole halde sık bulunmaktadır.



Şekil 6. İntraoperatif endometriozisin çeşitli görünümleri



Şekil 7. Endometrioma kapsülü ve histopatolojik görünümü

Endometriozis tanısında laparoskopi altın standart yöntem olmasına rağmen, laparoskopinin cerrahi bir prosedür olduğu, hasta için komplikasyon riski taşıdığı (minör komplikasyon riski %3, majör komplikasyon riski %0,5'dir (95).) ve rölatif olarak pahalı bir tanısal yöntem olduğu bilinmektedir. Endometriozis tanısının cerrahi olması sebebiyle ve birçok hastada non-spesifik semptomlarla veya asemptomatik kalabilmesi hastalığın başlangıcından tanı konuluncaya kadar geçen süre uzun olabilmekte yapılan çalışmalarda bu sürenin ortalama olarak 6-10 yıl sürebildiği belirtilmektedir (96). Bu süreçte hastaların hayat kaliteleri azalmakta, hastalık ilerlemekte, nedeni bilinmeyen ağrı ve infertilite gibi medikal problemler ve bunların finansal yükleri ile karşılaşmaktadır. Bu sebeplerden 10. Dünya Endometriozis kongresinde de belirtildiği gibi non-invaziv, basit uygulanabilir bir test endometriozis tanısında esas önceliklerdendir (4). Bu amaçla periferik kanda birçok serum belirteci araştırılmış fakat hiçbirinin tanı testi olarak kullanımı için yeterli duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmadığı görülmüştür (3).

Ağrı mekanizmasını araştıran Tokushige ve arkadaşlarının (7) yaptıkları çalışmalarda endometriozisli hastaların endometrial dokularında sinir liflerinin varlığı dikkat çekmiş endometriozisi olmayanlarda hiç saptanmayan sinir liflerinin tanı için kullanımının uygun olabileceği düşünülmüştür.

Al-Jefout ve arkadaşları (97) tarafından yapılan bir pilot çalışmada 37 hastadan (20 endometriozisli, 17'si endometriozisi olmayan hastalar) alınan endometrial biopsiler sinir lifi varlığı ve yoğunlukları açısından karşılaştırılmış endometriozis grubunun hepsinde PGP 9.5 pozitif boyanma bulunmuş, endometriozisi olmayan 17 hastanın hiçbirinde boyanma olmamış testin endometriozis tanısında duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak belirtilmiştir.

Bizde çalışmamızda; endometriozisli hastalarda endometrial biopsi ile sinir liflerinin varlığı ve tiplerinin endometriozis tanısındaki etkinliğini saptamayı ve laparoskopiye alternatif yeni bir tanı yönteminin mevcut olup olmadığını araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA SEÇİMİ

Haziran 2013 - Aralık 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvurmuş, üreme çağındaki kadınlardan (20-50 yaş), son 3 ay içinde hormon tedavisi almamış; Endometriozis sebebi ile veya herhangi bir jinekolojik endikasyon ile rahimi alınmış (histerektomi yapılmış) ve rastlantısal olarak endometriozis saptanan hastalar, endometriozis cerrahisi geçirmiş, infertilite veya başka bir jinekolojik neden ile endometrial biopsisi alınmış olan hastalar ve endometriozis dışında herhangi bir jinekolojik endikasyon ile hem laparoskopi/laparotomi hem de endometrial biopsi planan hastalar veya preoperatif dönemde tanısal amaçlı endometrial biopsi uygulanmış ve takiben laparoskopi/laparotomi yapılmış hastalar seçilmiştir. Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalında yapılan çalışma sonucunda 20 endometriozisi olmayan kontrol grubu ve 20 endometriozisli hasta grubu olmak üzere toplam 40 hasta dahil edilmiştir. Alınmış olan endometrial biopsi örnekleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı izni ve yardımıyla 5 adet marker kullanılarak (PGP 9.5, VIP, CGRP, NPY, NF) immünohistokimyasal yöntemle boyanmıştır. Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınmıştır.

3.2. YÖNTEM

20 endometriozisli (hasta grubu), 20 endometriozisi olmayan (kontrol grubu) toplam 40 hastadan alınan endometrial biopsi örnekleri, sinir liflerinin varlığını göstermek için PGP 9.5 ile, sinir liflerini tiplendirmek için ise; PGP 9.5, NF, NPY, VIP ve CGRP immünreaktifleri ile boyanmıştır. İmmünreaktifler ve boyadıkları sinir lifleri aşağıda verilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Sinir liflerinin immünreaktifler ile boyanması

| İmmünreaktif Tipi | Sinir Lifi Tipi |
|-------------------|--|
| PGP 9.5 | Yüksek spesifitede pan nöronal marker myelinli ve myelinsiz lifler için; A α , A β , A γ , A δ , B ve C lifleri |
| NF | Yüksek spesifitede myelinli lifler için spesifik marker; A α , A β , A γ , A δ , B lifleri |
| VIP | Duyusal ve Kolinerjik sinir lifleri |
| NPY | Duyusal ve Adrenerjik lifleri |
| CGRP | A δ ve C lifleri |

3.3. İMMUNOHİSTOKİMYAL İNCELEME

Endometriozis tanısı almış 20 hasta ve endometriozisi olmadığı bilinen 20 hastanın (kontrol grubu) endometrial biyopsisinde, immünohistokimyasal olarak Vazoaktif İntestinal Polipeptid (VIP), Protein Gen Ürünü 9.5 (PGP9.5), Nörofilaman (NF), Nöropeptid Y (NPY), “Calcitonine Gene-Related Peptid” (CGRP) ekspresyonu araştırılmıştır. Dokulara ait bir parafin bloktan hazırlanan 5 μ m’lik kesitlerde, Streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak, “Ventana otomatik immünboyama cihazında” (BenchMark XT Staining Module, Ventana Medical Systems) boyama yapılmıştır. Antikorlarla ilgili detay Tablo 1’de gösterilmiştir. Antijenik özelliklerin ortaya çıkartılmasında (antigen retrieval); CC1 (EDTA, ph:8) veya CC2 (sitrata, ph:6) solüsyonları (Ventana Medical Systems), zemin boyaması için Mayer hematoksilen, kromojen olarak diamino benzidin kullanılmıştır. Her boyama seansında antikorlar için firmalar tarafından önerilen pozitif kontrol dokuları da boyanarak, “pozitif kontrol” olarak değerlendirilmiştir. İHK değerlendirmeleri sırasında “iç-kontrol” negatifliği veya yetersizliği tesbit edilen preparatlarda boyamalar tekrarlanmıştır.

Değerlendirme yapılırken fonksiyonel endometrium stromasında fibriler boyanma şeklinde izlenen periferik sinir boyanması “pozitif” olarak kabul edilmiş, bu şekilde boyanma göstermeyen vakalar “negatif” olarak kaydedilmiştir.

Tablo 5. İmmunohistokimyasal incelemede kullanılan antikorların teknik detayları

| Antikor | Klon | Dilüsyon | Antijen “retrieval” (dakika) | Ticari kaynak |
|----------------|-------------|-----------------|-------------------------------------|----------------------|
| PGP9.5 | Poliklonal | 1:3000 | CC2 (60’) | Abcam |
| CGRP | SP17 | 1:200 | CC2 (60’) | Abcam |
| Nöropeptid Y | Poliklonal | 1:1500 | CC1 (60’) | Abcam |
| Nörofilaman | 2F11 | 1:100 | CC1 (60’) | Cell Marque |
| VIP | Poliklonal | 1:20 | CC1 (90’) | Abcam |

3.4. ETİK KURUL KARARI

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 16-625-13 No’lu karar ile onaylanmıştır.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi SPSS for Windows 15 paket programında yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler dağılımı normal olan değişkenler için ortalama \pm standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için median (min – maks), nominal değişkenler ise vaka sayısı ve (%) olarak gösterilecektir.

Grup sayısı iki olduğunda gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği t testi ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği Mann-Whitney U testi ile araştırılmıştır. Nominal değişkenler Pearson Ki-Kare veya Fisher’s exact testi ile değerlendirilmiştir.

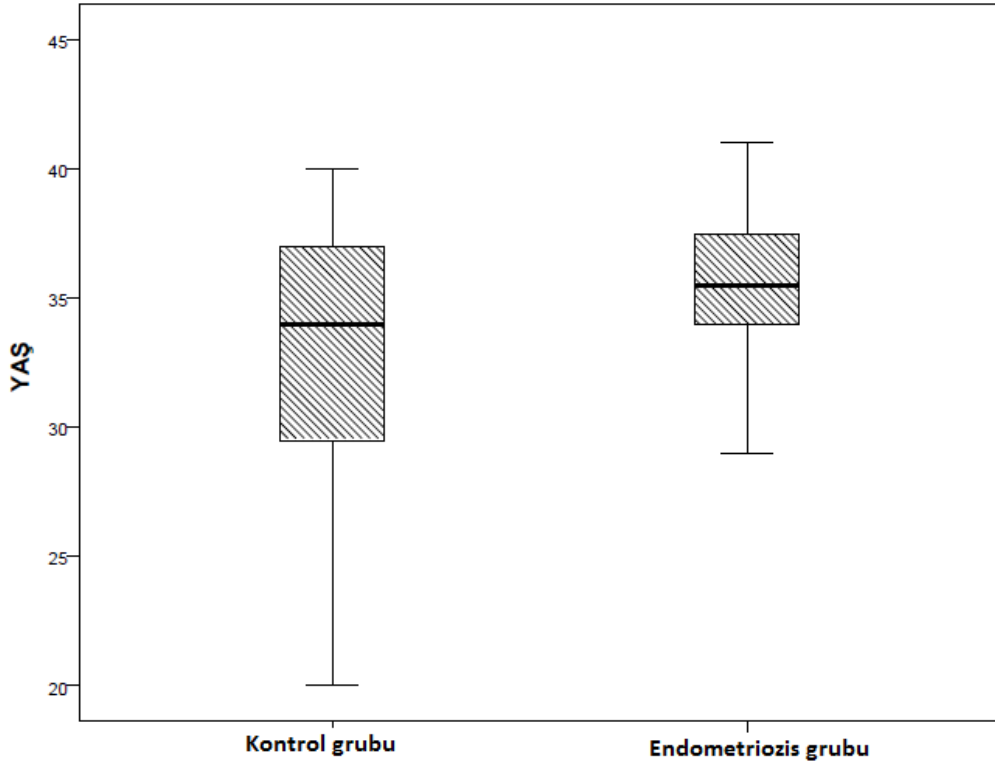
İki yöntemin sınıflanmış değerleri arasındaki uyumu araştırırken kappa uyum katsayısı ve anlamlılığı hesaplanmıştır. Duyarlılık, seçicilik, negatif olabilirlik oranı (npv), pozitif olabilirlik oranı (ppv) ve bunlara ilişkin %95 güven aralıkları hesaplanmıştır.

$p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya, araştırmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan 20'si operasyon sırasında ve histopatolojik olarak endometriozis tanısı almış, 20'si operasyon sırasında endometriozis odağı izlenmeyen ve diğer jinekolojik endikasyonlar sebebi ile opere edilmiş, endometrial örnekleme yapılmış 40 kişi seçildi. Endometriozis grubundaki hastaların operasyon endikasyonları infertilite ve ağrıydı. Hastalar ASRM Endometriozis sınıflandırmasına göre evre III-IV hastalar idi. Kontrol grubunun operasyon endikasyonları ise infertilite, ağrı ve diğer (myoma uteri, over kisti, tanısal laparoskopi ve laparoskopik tüp ligasyonu) olarak ayrıldı.

Endometriozis grubunun yaş ortalaması $35,05 \pm 3,804$, kontrol grubunun ise $32,8 \pm 5,625$ (23-40 yaş) idive aralarında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı ($p=0,147$).



Şekil 8. Gruplar arasında yaş dağılımı

Gruplar arasında gravide, parite yönünden anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,221$ ve $p=0,221$) (Tablo 6).

Tablo 6. Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri açısından karşılaştırılması.

| | Endometriozis grubu | Kontrol grubu | P değeri |
|----------------|----------------------------|----------------------|-----------------|
| Yaş | 35,05±3,804 | 32,8±5,625 | $p=0,147$ |
| Gravide | 1 (0-5) | 1 (0-5) | 0,221 |
| Parite | 1 (0-3) | 0 (0-3) | 0,221 |

Parametreler Student's T testi veya Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmış olup, değerler ortalama±standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) şeklinde verilmiştir. $P<0,005$ anlamlı kabul edilmiştir.

Endometrial biopsinin histopatolojik olarak alındığı menstrual döneme göre gruplar değerlendirilmiştir. Buna göre; endometriozis grubunda 17 hasta (%85) proliferatif fazda, 3 (%15) hasta sekretuar fazda boyanmıştır. Kontrol grubunda ise; 11 hasta (%55) proliferatif fazda, 9 hasta (%45) sekretuar fazda boyanmıştır. Endometriozis grubunda anlamlı olarak proliferatif fazda daha fazla hasta boyanmıştır ($p=0,038$).

Endometriozis grubunda, infertilite sebebiyle 4 hasta, ağrı sebebiyle 16 hasta opere edilmiştir. Kontrol grubunda ise, 12 hasta infertilite sebebiyle, 5 hasta ağrı sebebiyle, 3 hasta diğer endikasyonlardan opere edilmiştir.

Gruplar sinir lifi varlığı açısından PGP 9.5 immünreaktifi ile boyanmıştır.

Tüm çalışma grubunda PGP 9.5 ile boyanma 40 örneğin 25'inde (%62,5) pozitif bulunmuştur. Endometriozis grubunda 16 (%80) örnekte, kontrol grubunda ise 9 (%45) örnekte boyanma pozitif saptanmıştır. Endometriozis grubunda PGP9.5 ile boyanma anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,022$).

Çalışmanın altın standart yöntem olan laparoskopiyeye göre duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %55 olarak saptanmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. PGP9.5'in endometriozis saptanmasındaki duyarlılık, özgüllük, PPV ve NPV değerleri

| | | Laparoskopide endometriozis varlığı | |
|----------------------------|--------------|-------------------------------------|-----|
| | | Var | Yok |
| PGP 9.5 pozitifliği | <i>Evet</i> | 16 | 9 |
| | <i>Hayır</i> | 4 | 11 |
| Duyarlılık | | %80 | |
| Özgüllük | | %55 | |
| PPV | | %64 | |
| NPV | | %73 | |

Çalışmanın altın standart tanı testine uyumunu göstermek için kullanılan kappa (K) uyum istatistiği değeri 0,35 olarak saptanmıştır.

| κ | Yorum |
|-------------|----------------------------------|
| < 0 | Hiç uyuşma olmaması |
| 0.0 — 0.20 | Önemsiz uyuşma olması |
| 0.21 — 0.40 | Orta derecede uyuşma olması |
| 0.41 — 0.60 | Ekseriyetle uyuşma olması |
| 0.61 — 0.80 | Önemli derecede uyuşma olması |
| 0.81 — 1.00 | Neredeyse mükemmel uyuşma olması |

Şekil9.Landis ve Koch (1977)elde edilen κ değerlerinin yorumlanması.

Çalışmamız sinir liflerini tiplendirmek için değerlendirildiğinde;

Toplamda 25 preparat PGP 9.5 ile boyanmış, bunların 16'sı endometriozis grubunda, 9'u ise kontrol grubundadır. Endometriozis grubunda PGP 9.5 ile boyanma istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,022)

NF ile toplamda 7 preparat boyanmış, pozitif boyanmaların hepsi kontrol grubunda gerçekleşmiştir.

Endometriozis grubunda PGP 9.5 ile boyanan preparat sayısı 16, NF ile boyanan preparat sayısı 0'dır. Bu sonuçtan endometriozis grubunda boyanan sinir liflerinin miyelinsiz sinir lifleri olduğu anlaşılmaktadır.

Preparatlar sinir liflerini tiplendirmek için CGRP, NPY ve VIP ile boyanmıştır.

Endometriozis veya kontrol grubunda hiçbir preparat CGRP immünreaktifi ile boyanmamıştır.

VIP ile toplam 12 preparat boyanmıştır. PGP 9.5 ile boyanan endometriozis grubu hastalarının 8'i VIP ile boyanmıştır.

NPY ile 13 preparat boyanmıştır ve PGP 9.5 ile boyanan endometriozis grubu hastalarının 8'i NPY ile boyanmıştır.

Tablo 8. Çalışmamızdaki sinir lifi varlığı ve tiplendirilmesi.

| | Endometriozis grubu | Kontrol grubu | P Değeri |
|----------------|----------------------------|----------------------|-----------------|
| PGP 9.5 | %80 (16/20) | %45 (9/20) | 0,022 |
| NF | %0 (0/20) | %35 (7/20) | 0,046 |
| VIP | %40 (8/20) | %20 (4/20) | 0,117 |
| CGRP | %0 (0/20) | %0 (0/20) | - |
| NPY | %40 (8/20) | %25 (5/20) | 0,102 |

Tablo 8’de görüldüğü üzere CGRP immünreaktifi ile duyuşal Aδ ve C liflerini, VIP immünreaktifi ile duyuşal ve kolinerjik sinir liflerini, NPY immünreaktifi ile duyuşal ve adrenerjik sinir liflerini boyamaktadır.

Bu sonuçlardan endometriozis grubunda boyanan sinir liflerinin miyelinsiz, adrenerjik ve kolinerjik lifler olduğu saptanmıştır.

Grupların, menşrüel dönemlere göre PGP 9.5 ile boyanmaları arasında fark saptanmamıştır. Endometriozis grubunda proliferatif fazda alınan endometrial örnek sayısı 17 olup 14’ (%82,4)ü PGP 9.5 ile pozitif boyanmıştır, sekretuar dönemde ise 3 örnek alınmıştır ve 2’ (%66,7)si PGP 9.5 ile pozitif boyanmıştır. Kontrol grubunda ise alınan örneklerin 11’i proliferatif fazda alınmıştır ve 5’ (%45,5)i PGP 9.5 ile pozitif boyanmıştır, sekretuar dönemde 9 örnek alınmış ve 4’ (%44,4)ü PGP9.5 ile pozitif boyanmıştır. Endometrial biopsilerin alınan menşrüel dönemlerine göre boyanmaları arasında, endometriozis veya kontrol grubunda, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,509/p=0,311$).

Grupların, infertilite sebebiyle opere edilen hastalarından alınan biopsiler arasında PGP 9.5 ile boyanmaları arasında fark saptanmamıştır. Endometriozis grubunda infertilite sebebiyle opere edilen 4 hastanın hepsinde endometrial biopsiler PGP 9.5 ile boyanmıştır. Kontrol grubunda ise infertilite sebebiyle opere edilen 12 hastadan alınan biopsilerden 4’ (%33,3)ü PGP 9.5 ile boyanmıştır ($p=0,159$).

Grupların, ağrı sebebiyle opere edilen hastalarından alınan biopsiler arasında PGP 9.5 ile boyanmaları arasında fark saptanmamıştır. Endometriozis grubunda ağrı sebebiyle opere edilen 16 hastadan alınan biopsilerden 12’ (%75)si PGP 9.5 ile boyanmıştır. Kontrol grubunda ise ağrı sebebiyle opere edilen 5 hastadan alınan biopsilerden 3’ (%60)si PGP 9.5 ile boyanmıştır ($p=0,376$).

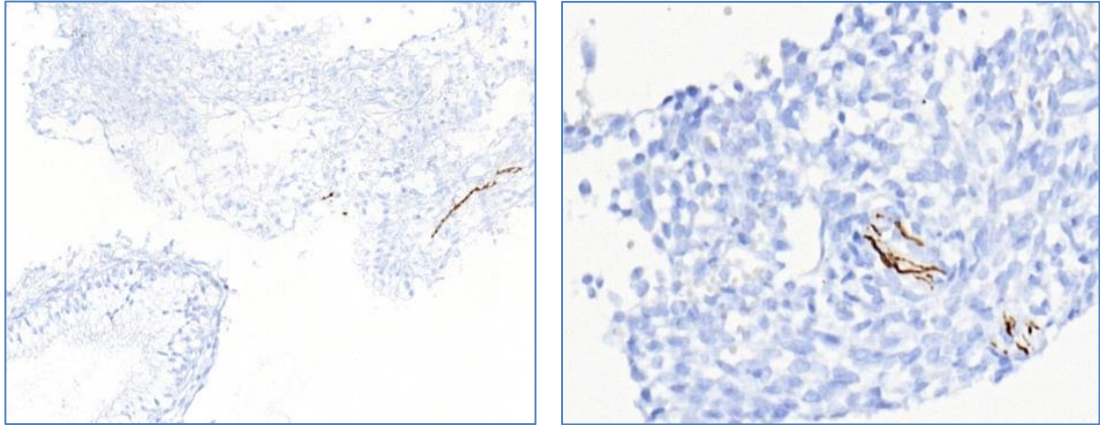
Ağrı sebebiyle opere edilen hastalardan alınan biopsilerin PGP 9.5 ile boyanmaları karşılaştırıldığında toplamda 21 örneğin 15’i (%71) pozitif olarak boyanmıştır.

İnfertilite sebebiyle opere edilen hastalardan alınan biopsilerin PGP 9.5 ile boyanmaları karşılaştırıldığında toplamda 16 örneğin 8'i (%50) pozitif olarak boyanmıştır.

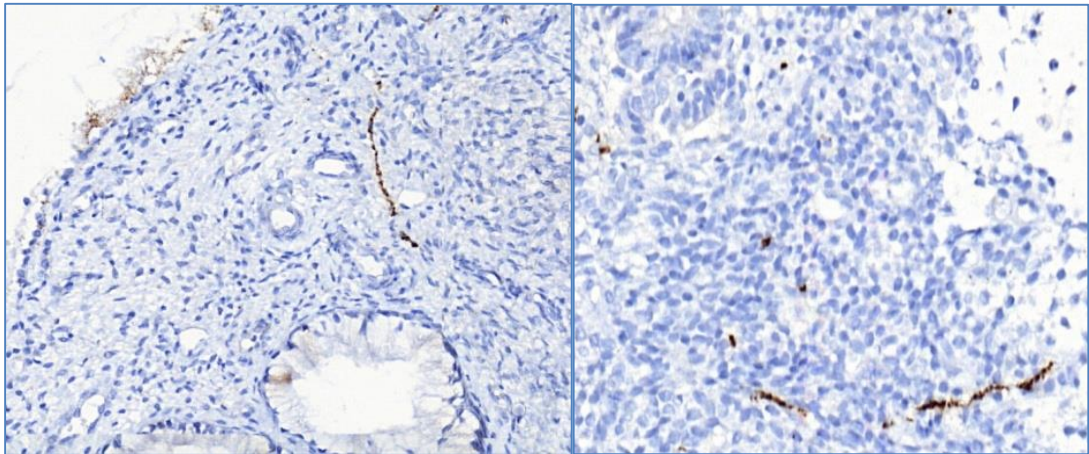
Kontrol grubunda diğer endikasyonlarla opere edilen 3 hastadan hiçbirinde PGP 9.5 ile boyanma olmamıştır (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışmamızda PGP 9.5 pozitiflik oranlarının, menstürel faz ve operasyon endikasyonlarına göre karşılaştırması.

| | Endometriozis grubu PGP 9.5 pozitiflik oranı | Kontrol grubu PGP 9.5 pozitiflik oranı | P Değeri |
|----------------------------|---|---|-----------------|
| Menstürel faz | | | |
| <i>Sekretuar</i> | %66 (2/3) | %44,4 (4/9) | 0,509 |
| <i>Proliferatif</i> | %82,4 (14/17) | %45,5 (5/11) | 0,311 |
| Endikasyon | | | |
| <i>Ağrı</i> | %75 (12/16) | %60 (3/5) | 0,376 |
| <i>İnfertilite</i> | %100 (4/4) | %33 (4/12) | 0,159 |
| <i>Diğer endikasyonlar</i> | (0/0) | %0 (0/3) | - |



PGP9.5 x 212 Neurofilaman x 400



Neuropeptid Y x 231 Anti VIP x 400

5. TARTIŞMA

Endometriozis hakkında birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen prevalansı, patogenezi, optimal tedavisi hala netlik kazanmamıştır. Bu netliğin sağlanması endometriozis tanısının hastalığın başında, hızlı, kolay uygulanabilir, ucuz, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir testin mevcudiyeti ile mümkündür.

Endometriozis tanısında altın standart yöntem laparoskopidir. Laparoskopinin, cerrahi bir prosedür olduğu, hasta için komplikasyon riski taşıdığı (minör komplikasyon riski %3, majör komplikasyon riski %0,5'dir (95).) ve rölatif olarak pahalı bir tanısal yöntem olduğu bilinmektedir.

Endometriozis tanısı için periferik kanda birçok belirteç taranmış fakat hiçbir serum belirtecinin tanı için yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığı saptanmış ve deneysel aşamalarda kalmışlardır (3).

Endometriozis patogenezi net olarak anlaşılamamış retrograd menstruasyon ve implantasyon teorisi, çöломik metaplazi, lenfatik ve vasküler disseminasyon, induksiyon teorisi...vb. birçok mekanizma ile açıklamaya çalışılmış fakat sonunda her bir teorinin patogenezi de rol oynadığı tek bir teori ile açıklanamayacağı belirtilmiştir. Bu teoriler arasında en fazla kabul göreni retrograd ve implantasyon teorisi dir. Bu teoride, peritoneal endometrial lezyonların endometrial doku parçalarının fallop tüplerinden geri akımı sonucu peritoneal yüzeye ve pelvik organlara implante olup büyüdüğü, pelvik adezyonların, endometrial plakların ve endometriomaların bu şekilde oluştuğusavunulmaktadır (42,43).

Endometriozis ile ilişkili en sık semptomun ağrı olması ve endometriozisin evresi ile ağrının şiddetinin korelasyon göstermemesi sebebiyle peritondaki endometrial plaklar ve abdominal yapışıklıklar değerlendirilmiş, lezyonlardaki sinir liflerinin varlığı ve gelişimleri dikkati çekmiştir (41,44,45).

Yapılan araştırmalar sonucu endometriozisli hastaların endometrial dokuları endometriozisi olmayan kadınlar ile karşılaştırıldığında biyokimyasal olarak birçok farklılık (yapısal, hücre çoğalması, apoptoz mekanizması, immun sistem elemanları, hücre adezyon molekülleri, proteazlar ve inhibitörleri, gen ekspresyonları, protein

sentezi, anjiogenez, steroid ve sitokin sentezi ve bunların cevabı) içerdiği saptanmıştır (6).

Peritoneal implantlar ve pelvik adezyonlardaki sinir liflerinin kaynağının endometriozisli hastalardaki biyolojik olarak farklı olan endometrial dokudan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (7).

Bizde çalışmamızda, endometriozisli hastalarda biyolojik olarak farklı olan endometrial tabakadaki sinir liflerinin varlığını, tiplerini ve tanıdaki değerini araştırdık.

Çalışmamızda endometriozisli olan 20 hastadan ve diğer jinekolojik nedenlerle opere edilmiş 20 hastadan alınmış olan endometrial biopsi materyallerini sinir liflerine spesifik immünreaktifler ile İHK olarak boyanmıştır. Sinir liflerinin varlığını araştırmak için miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri için yüksek spesifitesi olan pan-nöronal marker PGP 9.5 kullanılmıştır.

Endometriozis grubundaki 20 hastadan 16'sının (%80) endometrial örnekleri PGP 9.5 ile pozitif boyanmıştır. Kontrol grubunda ise 20 hastanın 9'unda (%45) pozitif boyanma olmuştur. Bu verilerle çalışmamızın tanıdaki duyarlılığı %80, özgüllüğü ise %55 olarak saptanmıştır. Endometriozis grubunda istatistiksel olarak anlamlı PGP 9.5 pozitif boyanma farklılığı saptanmıştır. Endometriozis grubunda operasyon endikasyonları ağrı ve infertilite olarak ikiye ayrılmış, ağrı sebebiyle opere edilen 16 hastanın 12'sinde (%75), infertilite sebebiyle 4 hasta opere edilmiş ve 4'ünde de (%100) PGP 9.5 ile pozitif boyanma bulunmuş bu iki grup arasında boyanmaları arasında fark saptanmamıştır. Kontrol grubunda ise ağrı sebebiyle opere edilen 5 hastanın 3'ünde (%60) pozitif boyanma olurken, infertilite sebebiyle opere edilen 12 hastanın ise 4'ünde (%33) pozitif boyanma olmuştur. Endometriozis grubundaki infertil hastaların istatistiksel olarak anlamlı olmasa da %100 olarak boyanması dikkat çekicidir.

Tokushige ve arkadaşlarının (7) endometrioziste ağrı mekanizmasını açıklayabilmek için yaptıkları çalışmalarda PGP 9.5'in duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuş sekretuar fazda alınan örneklerin daha yoğun sinir lifleri içerdiği belirtilmiştir. Bu çalışmalarda amaç sinir lifi varlığını ve tipini belirlemek

olduğu için sadece ağrısı olan hastalar çalışmaya dahil edilmiş ve bu sebepten çalışmanın genişletilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Dikkat çeken bu çalışma sonucunda Al-Jefout ve arkadaşlarının (97) yaptıkları bir pilot çalışmada PGP 9.5 ile pozitif boyanmanın endometriozis tanısında %100 duyarlılık ve özgüllükte olduğunu tekrarlamış fakat çalışmanın sonucunda endometrial biopsinin dikkatli bir şekilde alınması gerektiğini, dar bir alandan alınan örneğin sinir liflerini atlayabileceğini bu sebeple endometrial örneklerin küretajla küçük, parçalanmış örnekler olmamasına özen gösterilmesi gerektiği, gerekirse 2-3 preparatın incelenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Çalışmada endometrial örnekleme için 'Endosampler' (Medgyn Products, Inc, Lambard, IL) kullanılmış ve endometrial küretajla karşılaştırılmış istatistiksel olarak anlamlı olmasa da endosampler ile alınan örneklerde sinir lifi yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Diğer ağrı sebebi olabilecek jinekolojik nedenlerin değerlendirilmemesinin çalışmalarının zayıf yönü olduğu belirtilmiştir.

Al-Jefout ve arkadaşları (98) çift kör olarak çalışmayı tekrarlamışlardır. Çalışmada sinir liflerinin yoğunluğu da incelenmiştir. Çalışmaya ağrı ve infertilite sebebiyle endometriozis cerrahi geçiren hastalar ve diğer jinekolojik nedenlerle opere edilen hastalar dahil edilmiş. Endometrial örnekleme 'Endosampler' (Medgyn Products, Inc, Lambard, IL) ile yapılmış biopsi materyalleri kalitelerine göre sınıflandırılmıştır. Tanı laparoskopisi ile konulmuş histopatolojik olarak endometriozis doğrulanmamıştır. Endometriozis evrelemesi ASRM'ye göre yapılmış. Çalışmanın sonunda PGP 9.5 ile pozitif boyanmanın endometriozis tanısındaki duyarlılığını %83, özgüllüğünü ise %98 olarak saptamışlardır. Sinir lifi yoğunluğunun örneğin alındığı menstrüel faza göre, alınan örneğin kalitesine göre veya endometriozis evresi ile değişmediğini saptamışlardır. Fakat çalışmada diğer pelvik ağrıya sebep olan diğer jinekolojik hastalıklar değerlendirilmemiş, yayınlanmamış verilerine göre myoma uteri, adenomyosis, endometrial polip, kronik endometritli hastalar değerlendirilmiş fakat sinir liflerine rastlamadıkları belirtilmiştir. Örneklerinin %65'inin endometriozisli hastalardan oluşması duyarlılığın ve özgüllüğün artmasına sebep olan diğer bir negatif faktördür.

A.Bokor ve arkadaşlarının (99) yapmış olduğu bir çalışmada ise infertilite ve/veya ağrı semptomları ile endometriozisli ve endometriozisli olmayan hastaları sinir liflerinin varlığı ve tipleri açısından karşılaştırmışlar. Fakat bu çalışmada sadece sekretuar fazda örnek alınmış, çalışmaya sadece evre I-II endometriozisli hastalar seçilmiş çünkü ileri evrede zaten tanınan semptomlar ve görüntüleme yöntemleri konulabileğini belirtmişlerdir, endometriozis tanısı laparoskopik ve histopatolojik olarak konulmuş hastalar dahil edilmiş, gruplar arasında dismenore, disparoni ve kronik pelvik ağrı bakımından fark yokmuş. Çalışma değerlendirildiğinde endometriozisli hastaların %90'ında (18/20) PGP 9.5 pozitif saptanmış, kontrol grubunun ise %40'ında (8/20) PGP 9.5 ile boyanma saptanmıştır, PGP 9.5, VIP, SP kombine edilerek duyarlılık ve özgüllüğü değerlendirildiğinde duyarlılığı %95'e, özgüllüğü ise %100'e yükselmektedir. Çalışmada sinir lifi yoğunluğu Al-Jefout ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre 6 kat daha az olarak saptanmış sebebini ise tüm preparatların incelenmesine bağlamışlardır.

Leslie ve arkadaşlarının (100) yaptığı bir çalışmada ise endometriozisi olan hastaların sadece %19'unda (9/47) PGP 9.5 ile pozitif boyanma saptamışlar sonuçlarının diğer çalışmalara göre bu kadar farklı çıkmasının sebebini ise diğer çalışmalarda örnekleminin 'Endosampler' (Medgyn Products, Inc, Lambard, IL) kullanılarak özenli bir şekilde yapılmasına, çoğu patoloji laboratuvarında bulunmayan fotomikrografi ve görüntü analizlerinin yapılmamasına, değerlendirmelerinin son 3 ayda hormon tedavisi alan hastalarıda içermesine bağlanmış. Çalışmanın esas önemli kısmının ise özgüllüğünün (endometriozis olmayan grupta 6/21 pozitif boyanma saptanmış) düşük saptanmasının olduğu vurgulanmış çünkü ağrısı olan hastalarda sinir liflerinin saptandığı, PGP 9.5 ile boyanmanın yani sinir lifi varlığının endometriozise spesifik olmadığı belirtilmiştir.

Yapılan çalışmaların hepsinde son 3 ay içerisinde tedavi almamış hastalar seçilmiş çünkü endometriozis tedavisi sonrası sinir liflerinin azaldığı bilinmektedir. Yapılan tüm çalışmaların eksik kaldığı nokta ise, ağrı semptomu olan diğer jinekolojik nedenler çalışmaya dahil edilmemiş veya yayınlamadıkları verilere göre sinir lifi olmadığı belirtilmiştir. Bu konuda Zhang ve arkadaşlarının (101) yaptığı bir çalışmada sinir liflerinin varlığının endometriozisli hastalara özgü olmadığını, ağrı

sebebiyle sinir liflerine rastlandığını, jinekolojik semptomu ağrı olan tüm tanılarda sinir liflerine rastlanabileceğini belirtmiştir. Çalışmalarında endometriozisli, myoma uterisi olan, adenomyozisli ve hem adenomyozis hemde endometriozisi olan hastalar değerlendirilmiştir. Sinir lifi ağrısı olan tüm hastalarda saptanmış ve sinir lifi yoğunluğu açısından fark saptanmamış, ağrısı olmayan hastalarda PGP 9.5 ile pozitif boyanma olmamıştır.

Çalışmamıza dahil edilen endometriozisli hastaların hepsi ASRM evrelemesine göre evre III-IV endometriozisli hastalardır. Örnekler 'Endosampler' (Medgyn Products, Inc, Lambard, IL) kullanılarak alınmış ve patologlar tarafından alınan doku örneklerinin boyanma için yeterli olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda değişik menstrüel dönemlerde (proliferatif ve sekretuar dönemler) endometrial örnekleme yapılmıştır. Gruplar arasında örneğin alındığı döneme göre pozitif boyanmaları arasında istatistiksel fark saptanmamıştır. Aldığımız örneklerde bir parafin bloktan alınan bir kesit değerlendirilmiş, sinir liflerinin atlanmış olabileceğini, çalışmanın duyarlılığının diğer çalışmalara göre daha düşük bulunmasının buna bağlı olabileceği düşünmekteyiz. Sinir liflerinin yoğunluğu her bir preparat için sadece 1-2 lif boyanması saptandığından sinir lifi yoğunluğu değerlendirilmemiştir. Hasta seçiminde belirttiğimiz üzere hastalarımızın hiçbirisi son 3 ay içerisinde hormon tedavisi almamıştır. Çalışmamızın özgüllüğü diğer çalışmalara göre düşük çıkmıştır çünkü kontrol grubumuzda ağrı sebebiyle opere edilen 5 hastanın 3'ünde PGP 9.5 pozitifliği saptanmıştır. Bu hastaların operasyon endikasyonları ise dermoid kist ve myoma uteri idi. Bu durum Zhang ve arkadaşlarının (101) belirttiği üzere sinir liflerinin endometriozise özgü olmadığı, sinir liflerinin ağrı sebebiyle saptandığını doğrular niteliktedir.

Ayrıca çalışmamızda sinir liflerini tiplendirmeyi istedik (tablo 4) bu amaçla, sinir liflerini miyelinli-miyelinsiz liflerin ayrımı için PGP 9.5 ve NF ile İHK boyama yapıldı. Endometriozis grubunda NF ile boyanma olmazken 16 preparat PGP 9.5 ile boyandı yani boyanan lifler miyelinsiz sinir lifleri idi.

Duyusal, adrenerjik ve kolinerjik liflerin ayrımı için ise sırasıyla; NPY, VIP ve CGRP ile boyanmalar gerçekleştirildi. CGRP ile boyanan hiçbir preparat yok iken, NPY ve VIP ile boyanan preparatlarda gruplar arasında anlamlı fark yok idi.

Buradan ulaşacağımız sonuç ise bu liflerin miyelinsiz kolinerjik ve adrenerjik lifler olduğudur.

Tokushige ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, endometriozisli hastalarda sinir lifi varlığı ve tiplendirmesi için PGP 9.5, NF, VİP, NPY, SP, CGRP, TH ve VAcHt immünreaktifleri kullanılmış. Burada SP duyuşal Aδ ve C liflerini boyamak için, TH adrenerjik lifler için spesifik marker, VAcHt'nin ise kolinerjik lifler için spesifik olduğu belirtilmiştir. Çalışmada endometrial fonksiyonel tabakada TH ve VAcHt ile boyanma saptanmamış, VİP ve CGRP ile boyanma SP ve CGRP 'ye göre daha yoğun olduğu görülmüş, hasta grubundaki seçimlerinde tüm hastalarının ağrı semptomunun olmasından dolayı net olmayarak bu liflerin miyelinsiz duyuşal Aδ ve C, adrenerjik ve kolinerjik lifler olduğunu düşündüklerini belirtmişlerdir.

Bizim alışmamızda CGRP ile boyanmanın olmaması bize bu liflerin duyuşal Aδ ve C lifler olmadığını göstermiştir. Fakat daha spesifik markerlar kullanılarak, tanıda anlattığımız üzere başka kesitler değerlendirerek ve hasta sayımızı artırarak bu liflerin ağrıda rolü olup olmadığı araştırılabilir.

Bu bilgilerin dayanarak, çalışmamızın düşük sensitivitesi sebebiyle sinir lifi varlığının endometriozis tanısında kullanışlı olmadığını görülmektedir. Çalışmanın altın standart tanı testine uyumunu göstermek için kullanılan kappa (K) uyum istatistiği değer 0,35 olarak saptanmıştır. Bu da çalışmanın orta derecede kullanılabilir bir test olduğunu göstermektedir. Hasta sayısını genişleterek ve ağrı semptomu gösteren diğer jinekolojik hastalıklar eklenerek yapılması gerekmektedir.

Halen laparoskopinin altın standart yöntem olmasına rağmen retroperitoneal, derin endometriozisli hastalarda yanlış negatifik vermesi, duyarlılığının yeterli olmadığını göstermekte çalışmamızın ağrısı olmayan endometriozisli hastalardaki etkinliği infertilite sebebi ile hayat kaliteleri azalan, laparoskopi ile tanı konulamayan hastalara yardımcı olabilecektir fakat daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda, endometrial dokudaki sinir liflerinin varlığının ve tiplerinin endometriozis tanısında altın standart yöntem olan laparoskopiye göre tanı koymadaki başarısı incelendi.

Bir testin tanı testi olabilmesi için ucuz, kolay uygulanabilir, yüksek duyarlılık ve özgüllükte olması gerekmektedir.

Endometriozis için halen non-invaziv bir tanı yöntemi mevcut değildir.

Endometriozisli hastaların endometrial dokularının biyolojik farklılıklar içermesi, endometrial lezyonların fonksiyonel endometrial tabakadan geliştiğini, bu sebepten tanıda incelenmesi gereken yerin burası olduğunu düşündürmüştür.

Endometrioziste ağrı mekanizmasını araştırmak için yapılan çalışmalarda myometrium ve bazal endometrial tabakada sinir liflerinin varlığı dikkat çekmiş fakat fonksiyonel endometrial tabakayı inceleyen az çalışma mevcuttur.

Yapılan çalışmalarda, fonksiyonel endometrial tabakadaki sinir liflerinin varlığının ağrıyı açıklayabileceği fakat daha da önemlisi bu liflerin endometriozis tanısında kullanılabilmesi endometriozis tanısında yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğu belirtilmiştir.

Bizde çalışmamızda benzer bir duyarlılık oranı yakaladık fakat çalışmanın özgüllüğünü düşük saptadık ve sebebinin kontrol grubumuzdaki ağrı yapan diğer jinekolojik hastalıklara bağlı olduğunu, ağrıya bağlı sinir liflerinin varlığının saptandığını daha geniş bir hasta grubunda daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini, sinir liflerinin ise duyuşal lifler olmadığını fakat daha spesifik İHK markerlar kullanılarak daha net belirlenebileceğini saptadık.

ÖZET

Endometriozis tanısında minimal invaziv bir yöntem olarak endometrial biyopsi örneklerinde sinir liflerinin varlığının araştırılması

Amaç: Endometriozis tanısı halen cerrahi bir tanıdır. Non-invaziv bir tanı yöntemi mevcut değildir ve bu tanı almayı geciktirmektedir. Çalışmamızda, endometriozis için minimal invaziv bir yöntem olan endometrial biopsi ile sinir liflerini varlığının ve tiplerinin tanı koymadaki etkinliği saptamayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: 20 endometriozisli, 20 endometriozisi olmayan toplam 40 hasta çalışmaya dahil edildi. 40 hastadan alınmış olan endometrial biopsiler İHK yöntemle sinir lifi varlığını araştırmak için PGP 9.5 ile boyandı. Takiben tiplendirmek için PGP 9.5, NF, VİP, NPY ve CGRP immünreaktifleri ile tiplendirme yapıldı.

Sonuçlar: Endometriozis grubunda PGP 9.5 ile boyanma kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0,022$). PGP 9.5 ile boyanmanın altın standart yöntem laparoskopiye göre duyarlılığı %80 özgüllüğü ise %55 olarak değerlendirildi. Gruplar arasında örneğin alındığı menstrüel döneme göre, operasyon endikasyonuna göre boyanmaları arasında anlamlı fark saptanmadı. Endometriozis grubunda infertilite sebebiyle opere edilen tüm hastalar pozitif boyanmıştır. Kontrol grubundan ağrı ve diğer endikasyonlarla opere edilen hastalarda yüksek oranda (%60) pozitif boyanmalar tespit edildi. Tiplendirilen sinir lifleri ise miyelinsiz, kolinerjik ve adrenerjik sinir lifleri olduğu tespit edildi.

Yorum: Çalışmanın özgüllüğünün düşük oluşu tanıdaki değerini kısıtlamaktadır. Endometriozis grubunda ağrısı olmayanlarda yüksek duyarlılığı dikkat çekicidir. Ağrı semptomu veren diğer jinekolojik hastalıkların çalışmalara eklenmesi, sinir liflerini tiplendirmek için daha spesifik immünreaktiflerin kullanımı gerekmektedir. Daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: endometriozis tanısı, sinir lifleri, endometrial biopsi, minimal invaziv yöntem

SUMMARY

Evaluation of presence of nerve fibers in endometrial biopsy samples as a minimally invasive diagnostic method in endometriosis.

Aim: Diagnosis of endometriosis still depends on surgery. Currently, there is no non-invasive diagnostic method and this results in delayed diagnoses. In this study we aimed to evaluate the efficacy and accuracy of detecting presence and types of nerve fibers in endometrial biopsy samples as a minimal invasive diagnostic method for endometriosis.

Materials and methods: This study was conducted on a total of 40 patients. Twenty of them was proved to have endometriosis and 20 patients free from endometriosis. Endometrial samples obtained from these 40 patients were stained with PGP 9.5 with immuno-histo-chemical techniques to evaluate the presence of nerve fibers. Subsequently, nerve fiber types were determined by NF, VIP, NPY and CGRP immuno-reactive stains.

Results: Positive staining with PGP 9.5 was found significantly higher in women with endometriosis ($p=0,022$). Sensitivity and specificity of positive PGP 9.5 staining in comparison to current gold standard diagnostic method laparoscopy, were found %80 and %55 respectively. No significant differences were observed amongst groups' staining patterns in terms of menstrual phases at sampling time and operation indications. All patients operated with "infertility" indication were stained positive for PGP 9.5. A high rate of staining was observed amongst women operated with indications of "pain" and "other" within control group (%60). Nerve fibers were found to be un-myelinated, cholinergic and adrenergic fibers consequent to nerve fiber type assessment.

Conclusion: Low specificity limits the value of this method as a diagnostic tool. High sensitivity in women without pain in endometriosis group was remarkable. Patients with other gynecologic disorders associated with pain should be included in studies and more specific immunoreactive agents should be used to assess the types of nerve fibers. Further studies needed to clarify this issue.

Key Words: diagnosis of endometriosis, nerve fibers, endometrial biopsy, minimal invasive method

7. KAYNAKLAR

1. Milingos S, Protopapas A, Drakakis P, Liapi A, Loutradis D, Kallipolitis G, Milingos D, Michalas S. Laparoscopic management of patients with endometriosis and chronic pelvic pain. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 997:269– 273
2. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. Reproductive history and endometriosis among premenopausal women. *Obstet Gynecol* 2004; 104:965.
3. D’Hooghe TM, Mihalyi AM, Simsa P, Kyama CK, Peeraer K, De Loecker P, Meeuwis L, Segal L, Meuleman C. Why we need a noninvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis with a high sensitivity. *Gynecol Obstet Invest* 2006;62:136–138
4. Rogers PAW, D’Hooghe TM, Fazleabas A, et al. Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop. *Reprod Sci* 2009;16:335–46.
5. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W and Strom BL (1994) Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79,643–649.
6. Healy DL, Rogers PA, Hii L and Wingfield M (1998) Angiogenesis: a new theory for endometriosis. *Hum Reprod Update* 4,736–740.
7. Tokushige N, Markham R, Russell P, et al. High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2006;21:782–7.
8. Sampson JA, Perforating hemorrhagic cysts (chocolate cyst) of the ovary: their importance and especially their relation to pelvic adenomas of the endometrial type, *Arch Surg* 3:245, 1921.

9. Epidemiology of endometriosis-associated infertility, *J Reprod Med* 34:41, 1989.
10. Mahmood TA, Templeton A, Prevalence and genesis of endometriosis, *Hum Reprod* 6:544, 1991.
11. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C, Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved?, *Seminars Reprod Med* 21:243, 2003.
12. Cramer DW, Missmer SA, The epidemiology of endometriosis, *Ann N Y Acad Sci* 955:11, 2002.
13. Bulun SE, Endometriosis, *New Engl J Med* 360:268, 2009.
14. Postmenopausal endometriosis, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 11:195, 1980.
15. Djursing H, Petersen K, Weberg E, Symptomatic postmenopausal endometriosis, *Acta Obstet Gynecol Scand* 60:529, 1981.
16. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ, Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors, *Am J Epidemiol* 160:784, 2004.
17. Darrow SL, Vena JE, Batt RE, Zielezny MA, Michalek AM, Selman S, Menstrual cycle characteristics and the risk of endometriosis, *Epidemiology* 4:135, 1993.
18. Gruppo Italiano per lo Studio Dell'Endometriosi, Risk factor for pelvic endometriosis in women with pelvic pain or infertility, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 83:195, 1999.
19. Moen MH, Is a long period without childbirth a risk factor for developing endometriosis?, *Hum Reprod* 6:1404, 1991.

20. Treloar SA, O'Connor DT, O'Connor VM, Martin NG, Genetic influences on endometriosis in an Australian twin sample, *Fertil Steril* 71:701, 1999.
21. Kennedy S, Genetics of endometriosis: a review of the positional cloning approaches, *Seminars Reprod Med* 21:111, 2003.
22. Rier S, Foster WG, Environmental dioxins and endometriosis, *Seminars Reprod Med* 21:145, 2003.
23. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Michels KB, Hunter DJ, In utero exposures and the incidence of endometriosis, *Fertil Steril* 82:1501, 2004.
24. Liu DTY, Hitchcock A, Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea, and tubal pathology, *Br J Obstet Gynaecol* 93:859, 1986.
25. Witz CA, Monotoya-Rodriguez IA, Schenken RS, Whole explants of peritoneum and endometrium: a novel model of the early endometriosis lesion, *Fertil Steril* 71:56, 1999.
26. Olive DL, Henderson DY, Endometriosis and müllerian anomalies, *Obstet Gynecol* 69:412, 1987.
27. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, De Jonge I, Lauweryns JM, Koninckx PR, Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (*Papio cynocephalus* and *Papio anubis*), *Am J Obstet Gynecol* 173:125, 1995.
28. Ridley J, Edwards I, Experimental endometriosis in the human, *Am J Obstet Gynecol* 76:783, 1958.
29. Suginami H, A reappraisal of the coelomic metaplasia theory by reviewing

- endometriosis occurring in unusual sites and instances, *Am J Obstet Gynecol* 165:214, 1991.
30. Schifrin BS, Erez S, Moore JG, Teen-age endometriosis, *Am J Obstet Gynecol* 116:973, 1973.,
 31. Foster DC, Stern JL, Buscema J, Rock JA, Woodruff JD, Pleural and parenchymal pulmonary endometriosis, *Obstet Gynecol* 58:552, 1981.
 32. Gruenwald P, Origin of endometriosis from the mesenchyme of the coelomic walls, *Am J Obstet Gynecol* 44:470, 1942.
 33. Martin JD, Jr, Hauck AE, Endometriosis in the male, *Am Surg* 51:426, 1985.
 34. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H, Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model, *Gynecol Obstet Invest* 47 (Suppl 1):18, 1999.
 35. Moore JG, Binstock MA, Growdon WA. The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1988 Jun;158 (6 Pt 1):1291-8.
 36. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001 May;96 (1):21-34.
 37. Suginami H. A reappraisal of the coelomic metaplasia theory by reviewing endometriosis occurring in unusual sites and instances. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165 (1):214-218.
 38. Anaf V, Simon P, El Nakadi I, Fayt I, Buxant F, Simonart T, Peny MO, Noel JC, Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules, *Hum Reprod* 15:1744, 2000.

39. Riley JL, 3rd, Robinson ME, Wise EA, Price DD, A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle, *Pain* 81:225, 1999.
40. Tran LV, Tokushige N, Berbic M, Markham R, Fraser IS, Macrophages and nerve fibres in peritoneal endometriosis, *Hum Reprod* 24:835, 2009.
41. Anaf V, Simon P, El Nakadi I, Fayt I, Buxant F, Simonart T, PenyMO, Noel JC, Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules, *Hum Reprod* 15:1744, 2000.
42. Berkley KJ, Dmitrieva N, CurtisK and Papka RE (2004) Innervation of ectopic endometrium in a rat model of endometriosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 101,11094–11098.
43. Tamburro S, Canis M, Albuisson E, Dechelotte P, Darcha C and Mage G (2003) Expression of transforming growth factor beta1 in nerve fibres is related to dysmenorrhoea and laparoscopic appearance of endometriotic implants. *Fertil Steril* 80,1131–1136.
44. Sulaiman H, Gabella G, Davis MSc C, Mutsaers SE, Boulos P, Laurent GJ and Herrick SE (2001) Presence and distribution of sensory nerve fibers in human peritoneal adhesions. *Ann Surg* 234,256–261.
45. Bulletti C, De Ziegler D, Polli V, Del Ferro E, Palini S and Flamigni C (2002) Characteristics of uterine contractility during menses in women with mild to moderate endometriosis. *Fertil Steril* 77,1156–1161.
46. Samuelson UE, Dalsgaard CJ, Lundberg JM, Hokfelt T. Calcitonin gene related peptide inhibits spontaneous contractions in human uterus and fallopian tube. *Neurosci Lett* 1985;62:225–30.

47. Le Greves P, Nyberg F, Terenius L, Hokfelt T. Calcitonin gene-related peptide is a potent inhibitor of substance P degradation. *Eur J Pharmacol* 1985;115:309–11.
48. Lundberg JM, Franco-Cereceda A, Hemsén A, Lacroix JS, Pernow J. Pharmacology of noradrenaline and neuropeptide tyrosine (NPY)-mediated sympathetic cotransmission. *Fundam Clin Pharmacol* 1990;4: 373–91.
49. Bajo AM, Juarranz MG, Valenzuela P, Martínez P, Prieto JC, Guijarro LG. Expression of vasoactive intestinal peptide (VIP) receptors in human uterus. *Peptides* 2000;21:1383–8.
50. Lebrun I, Camargo AC, Correa FM. Pharmacological effects and metabolism of neurotensin and bradykinin in the isolated rat uterus. *Eur J Pharmacol* 1988;148:231-7.
51. Stjernquist M, Owman C. Interaction of noradrenaline, NPY and VIP with the neurogenic cholinergic response of the rat uterine cervix in vitro. *Acta Physiol Scand* 1987;131:553–62
52. Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. Different types of small nerve fibers in eutopic endometrium and myometrium in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2007;88:795– 803.
53. Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M, Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer, *Fertil Steril* 73:344, 2000.
54. Marcoux S, Maheux R, Berube S, Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis, *New Engl J Med* 337:217, 1997.

55. Jansen RP, Minimal endometriosis and reduced fecundability: prospective evidence from an artificial insemination by donor program, *Fertil Steril* 46:141, 1986.
56. American Society for Reproductive Medicine, Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996, *Fertil Steril* 67:817, 1997.
57. Damario MA, Rock JA, Classification of endometriosis, *Seminars Reprod Endocrinol* 15:235, 1997.
58. Fauconnier A, Chapron C, Dubuisson JB, Vieira M, Dousset B, Breart G, Relation between pain symptoms and the anatomic location of deep infiltrating endometriosis, *Fertil Steril* 78:719, 2002.
59. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, Di Nola G, Parazzini F, Pain symptoms associated with endometriosis, *Obstet Gynecol* 79:767, 1992.
60. Matorras R, Rodriguez F, Pijoan JI, Soto E, Perez C, Ramon O, Rodriguez-Escudero F, Are there any clinical signs and symptoms that are related to endometriosis in infertile women?, *Am J Obstet Gynecol* 174:620, 1996.
61. Ripps BA, Martin DC, Correlation of focal pelvic tenderness with implant dimension and stage of endometriosis, *J Reprod Med* 37:620, 1992.
62. Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, Cornillie FJ, Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma CA-125 concentration, *Fertil Steril* 65:280, 1996.
63. Spaczynski RZ, Duleba AJ, Diagnosis of endometriosis, *Seminars Reprod Med* 21:193, 2003.

64. Barbieri RL, Niloff JM, Bast Jr RC, Schaetzl E, Kistner RW, Knapp RC, Elevated serum concentrations of CA-125 in patients with advanced endometriosis, *Fertil Steril* 45:630, 1986.
65. Pittaway DE, Fayeze JA, The use of CA-125 in the diagnosis and management of endometriosis, *Fertil Steril* 46:790, 1986.
66. Pittaway DE, Fayeze JA, Serum CA-125 antigen levels increase during menses, *Am J Obstet Gynecol* 156:75, 1987.
67. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PM, The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis, *Fertil Steril* 70:1101, 1998.
68. Cheng YM, Wang ST, Chou CY, Serum CA-125 in preoperative patients at high risk for endometriosis, *Obstet Gynecol* 99:375, 2002.
69. Pittaway DE, Fayeze JA, Douglas JW, Serum CA-125 in the evaluation of benign adnexal cysts, *Am J Obstet Gynecol* 157:1426, 1987.
70. Chen FP, Soong YK, Lee N, Lo SK, The use of serum CA-125 as a marker for endometriosis in patients with dysmenorrhea for monitoring therapy and for recurrence of endometriosis, *Acta Obstet Gynecol Scand* 77:665, 1998.
71. Pittaway DE, The use of serial CA-125 concentrations to monitor endometriosis in infertile women, *Am J Obstet Gynecol* 163:1032, 1990.
72. Pittaway DE, Rondinone D, Miller KA, Barnes K, Clinical evaluation of CA-125 concentrations as a prognostic factor for pregnancy in infertile women with surgically treated endometriosis, *Fertil Steril* 64:321, 1995.
73. Tseng JF, Ryan IP, Milam TD, Murai JT, Schriock ED, Landers DV, Taylor RN, Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic

- endometrial stromal cells from women with endometriosis, *J Clin Endocrinol Metab* 81:1118, 1996.
74. Mais V, Guerriero S, Ajossa S, Angiolucci M, Paoletti AM, Melis GB, The efficiency of transvaginal ultrasonography in the diagnosis of endometrioma, *Fertil Steril* 60:776, 1993.
 75. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E, ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis, *Hum Reprod* 20:2698, 2005.
 76. Abrao MS, Goncalves MO, Dias JA, Jr, Podgaec S, Chamie LP, Blasbalg R, Comparison between clinical examination, transvaginal sonography and magnetic resonance imaging for the diagnosis of deep endometriosis, *Hum Reprod* 22:3092, 2007.
 77. Bazot M, Malzy P, Cortez A, Roseau G, Amouyal P, Darai E, Accuracy of transvaginal sonography and rectal endoscopic sonography in the diagnosis of deep infiltrating endometriosis, *Ultrasound Obstet Gynecol* 30:994, 2007.
 78. Bazot M, Lafont C, Rouzier R, Roseau G, Thomassin-Naggara I, Darai E, Diagnostic accuracy of physical examination, transvaginal sonography, rectal endoscopic sonography, and magnetic resonance imaging to diagnose deep infiltrating endometriosis, *Fertil Steril* 92:1825, 2009.
 79. Arrive L, Hricak H, Martin MC, Pelvic endometriosis: MR imaging, *Radiology* 171:687, 1989.
 80. Togashi K, Nishimura K, Kimura I, Tsuda Y, Yamashita K, Shibata T, Nakano Y, Konishi J, Konishi I, Mori T, Endometrial cysts: diagnosis with MR imaging, *Radiology* 180:73, 1991.

81. Stratton P, Winkel C, Premkumar A, Chow C, Wilson J, Hearn-Stokes R, Heo S, Merino M, Nieman LK, Diagnostic accuracy of laparoscopy, magnetic resonance imaging, and histopathologic examination for the detection of endometriosis, *Fertil Steril* 79:1078, 2003.
82. Martin DC, Hubert GD, Vander Zwaag R, el-Zeky FA, Laparoscopic appearances of peritoneal endometriosis, *Fertil Steril* 51:63, 1989.
83. Jansen RPS, Russell P, Nonpigmented endometriosis: clinical, laparoscopic and pathologic definition, *Am J Obstet Gynecol* 155:1154, 1986.
84. Stegmann BJ, Sinaii N, Liu S, Segars J, Merino M, Nieman LK, Stratton P, Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women, *Fertil Steril* 89:1632, 2008.
85. Gustofson RL, Kim N, Liu S, Stratton P, Endometriosis and the appendix: a case series and comprehensive review of the literature, *Fertil Steril* 86:298, 2006.
86. Nisolle M, Paindaveine B, Bourdon A, Berlière M, Casanas-Roux F, Donnez J, Histologic study of peritoneal endometriosis in infertile women, *Fertil Steril* 53:984, 1990.
87. Moen MH, Halvorsen TB, Histologic confirmation of endometriosis in different peritoneal lesions, *Acta Obstet Gynecol Scand* 71:337, 1992.
88. Redwine DB, Age-related evolution in color appearance of endometriosis, *Fertil Steril* 48:1062, 1987.
89. Wiegerinck MA, Van Dop PA, Brosens I, The staging of peritoneal endometriosis by the type of active lesion in addition to the revised American Fertility Society classification, *Fertil Steril* 60:461, 2001.

90. Walter AJ, Hentz JG, Magtibay PM, Cornella JL, Magrina JF, Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy, *Am J Obstet Gynecol* 184:1407, 2001.
91. Winkel CA, Evaluation and management of women with endometriosis, *Obstet Gynecol* 102:397, 2003.
92. Wykes CB, Clark TJ, Khan KS, Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review, *Br J Obstet Gynaecol* 111:1204, 2004.
93. Vercellini P, Vendola N, Bocciolone L, Rognoni MT, Carinelli SG, Candiani GB, Reliability of the visual diagnosis of ovarian endometriosis, *Fertil Steril* 56:1198, 1991.
94. Nezhat F, Nezhat C, Allan CJ, Metzger DA, Sears DL, Clinical and histologic classification of endometriomas. Implications for a mechanism of pathogenesis, *J Reprod Med* 37:771, 1992.
95. Kontoravdis A, Chryssikopoulos A, Hassiakos D, et al. The diagnostic value of laparoscopy in 2365 patients with acute and chronic pelvic pain. *Int J Gynaecol Obstet* 1996;52: 243–8.
96. Hadfield R, Mardon H, Barlow D, Kennedy S. Delay in the diagnosis of endometriosis: a survey of women from the USA and the UK. *Hum Reprod* 1996;11:878 – 880.
97. Al-Jefout M, Andreadis N, Tokushige N, Markham R, Fraser I. A pilot study to evaluate the relative efficacy of endometrial biopsy and full curettage in making a diagnosis of endometriosis by the detection of endometrial nerve fibers. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:578 e1 – 4.

98. Al-Jefout M, Dezarnaulds G, Cooper M, Tokushige N, Luscombe GM, Markham R, Fraser IS. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod.* 2009 Dec;24 (12):3019-24.
99. Bokor A, Kyama CM, Vercruyssen L, Fassbender A, Gevaert O, Vodolazkaia A, De Moor B, Fülöp V, D'Hooghe T. Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Hum Reprod.* 2009 Dec;24 (12):3025-32.
100. Leslie C, Ma T, McElhinney B, Leake R, Stewart CJ. Is the detection of endometrial nerve fibers useful in the diagnosis of endometriosis? *Int J Gynecol Pathol.* 2013 Mar;32 (2):149-55.
101. Zhang X¹, Lu B, Huang X, Xu H, Zhou C, Lin J. *Fertil Steril.* Endometrial nerve fibers in women with endometriosis, adenomyosis, and uterine fibroids. 2009 Nov;92 (5):1799-801.