



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

**DENEYSEL FARE MODELİNDE ENDOMETRİOTİK İMPLANTLAR
ÜZERİNDE LÖPROLİD ASETAT VE TİNZAPARİN SODYUMUN
WNT/BETA KATENİN YOLAĞI TEMELLİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Yasemin ALBAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

SIVAS
2021



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

**DENEYSEL FARE MODELİNDE ENDOMETRİOTİK İMPLANTLAR
ÜZERİNDE LÖPROLİD ASETAT VE TİNZAPARİN SODYUMUN
WNT/BETA KATENİN YOLAĞI TEMELLİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Yasemin ALBAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

PROF. DR. ALİ ÇETİN
TEZ DANIŞMANI

SIVAS
2021

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Ali ÇETİN

(Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D)

Üye: Prof. Dr. Meral ÇETİN

(Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D)

Üye: Doç. Dr. Asker Zeki ÖZSOY

(Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D)

Bu tez, tarih vesayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

..../..../2021

DEKAN VEKİLİ

Prof. Dr. Hilmi ATASEVEN

...../...../2021

DEKAN VEKİLİ

Prof. Dr. Hilmi ATASEVEN



Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir. Bu tez bu yönetmelik hükümlerine göre yazılmıştır.

TEŞEKKÜR

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Ali ÇETİN'e, ayrıca asistanlık eğitimimde bilgi ve becerilerimin gelişmesinde kıymetli desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ali YANIK, Prof. Dr. Ayşe Gonca YENİCESU, Prof. Dr. Meral ÇETİN ve Doç. Dr. Çağlar YILDIZ 'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez hazırlığım ve çalışmalarımın her aşamasında desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Sevgi Daştan hocama ve sayın Dr. Öğr. Ahmet Şevki Taşkiran' a çok teşekkür ederim .

Kadın hastalıkları ve doğum bölümünde birlikte çalıştığım diğer tüm hocalarıma asistan hemşire ebe personel ve ameliyathane arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren, tıp eğitimim ve asistanlık dönemim boyunca büyük fedakarlıklar gösteren başta rahmetli babam Hayri ALBAK'a ve her zaman destekcim olan annem Yüksel ALBAK'a ve saygıdeğer abilerime ablalarıma sevgi ve saygılarımı sunar, sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Yasemin ALBAK

Ocak 2021, Sivas

ÖZET

Deneysel Fare Modelinde Endometriotik İmplantlar Üzerinde Löprolid Asetat Ve Tinzaparin Sodyumun Wnt/Beta Katenin Yolağı Temelli Etkilerinin Araştırılması
Dr. Yasemin ALBAK, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sivas, 2021

Amaç: Endometriozis, ektopik endometriyal implantların varlığı ile karakterize östrojene bağlı iyi huylu ve çoğunlukla üreme çağındaki kadınlarda sık görülen inflamatuvar bir hastalıktır. Çalışmanın amacı insanlarda endometriozis tedavisinde kullanıma potansiyeli olan, hücre çoğalmasında önemli bir öge olan WNT/beta-katenin yolağı temelli etkileri incelenmiş, non-steroidal yeni ilaçların tanımlanmasıdır.

Yöntemler: Çalışmaya 40 adet erişkin fare dahil edildi. Farelerde cerrahi olarak endometriotik odaklar oluşturulduktan sonra tüm fareler rastgele beş gruba ayrıldı:1-kontrol, 2- Pr-löprolid asetat grubu (löp1g), 3-Pr-tinzaparin sodyum grubu (tnz1g), 4-Tr-löprolid asetat grubu (löp7g), 5-Tr-tinzaparin sodyum grubu (tnz7g). Löp1g ve tnz1g gruplarına post op 24. saatten itibaren ilaç dozları profilaktik amaçla uygulandı. Löp7g ve tnz7g gruplarına ise post op 8. günden itibaren ilaç dozları tedavi amacı ile uygulandı. Post op 14. günde eksizye edilen endometriotik odaklar üzerinden total RNA izolasyonu ve gen ekspresyon analizleri yapıldı.

Bulgular: Grupların genel olarak gen ifadenme katsayısına olan etkileri incelendiğinde Löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubunun hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha,*HIF1a*) gen ifadenme katsayısı diğer kontrol, löprolid asetat 1.gün, tinzaparin sodyum 1. gün ve tinzaparin 7. gün gruplarının katsayılarından anlamlı olarak yüksek bulundu (5,94±1,66 katsayısına karşı sırasıyla 1,23±0,22, 2,31±0,75, 2,30±0,45 ve 2,80±0,42 katsayıları).(p<0,05). Tinzaparin sodyum 1. gün grubunun *Beclin2* gen ifadenme katsayısı diğer kontrol , löprolid asetat 1. gün, löprolid asetat 7. gün ve tinzaparin sodyum 7. gün gruplarının gen ifadenme katsayılarından istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu.(5,53±1,69 değerleri ile, 1,00±0,04, 3,12±0,69, 1,79±0,23 ve2,41±0,86 değerleri) (p<0,05).

Tinzaparin sodyum 1 gün grubunun transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadenme katsayısı diğer kontrol, löprolid asetat 1.gün, löprolid asetat 7. gün ve tinzaparin 7. gün gruplarının katsayılarından anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($31,37 \pm 4,17$ değeri ile , $1,28 \pm 0,27$, $12,35 \pm 3,95$, $14,67 \pm 4,92$ ve $11,01 \pm 3,86$ değerleri) ($p < 0,05$).

Sonuç: Çalışmamızın sonucu ilaçların WNT /beta katenin yolağı ile ilişkili bazı genlerin ekspresyonları üzerinde etkili olabildiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Löprolid asetat, tinzaparin sodyum, endometriotik odak, wnt b-katenin yolağı



SUMMARY

Investigation Of Wnt / Beta Catenin Road Based Effects Of Leoprolid Acetate And Thinzaparine Sodium On Endometriotic Implants In The Experimental Mouse Model

Dr. Yasemin ALBAK, Sivas Cumhuriyet University, Department of Obstetrics and Gynecology, Sivas, 2021

Indroduction: Endometriosis is a benign estrogen-dependent inflammatory disease, characterized by the presence of ectopic endometrial implants, and is mostly seen in women of reproductive age. The aim of the study is to define new non-steroidal drugs whose effects based on the WNT / beta-catenin pathway, which is an important element in cell proliferation and have potential to be used in the treatment of endometriosis in humans.

Methods: Forty adult mice were included in the study. After surgically forming endometriotic foci in mice, all mice were randomly divided into five groups: 1-control, 2-Pr-leuprolide acetate group (löp1g), 3-Pr-tinzaparin sodium group (tnz1g), 4-Tr-leuprolide acetate group (lup7g), 5-Tr-tinzaparin sodium group (tnz7g). Drug doses were administered for prophylactic purposes to the Löp1g and tnz1g groups from the 24th hour post op. In the Löp7g and tnz7g groups, drug doses were administered for therapeutic purposes from the 8th day post op. Total RNA isolation and gene expression analyzes were performed on the endometriotic foci excised on the postoperative 14th day.

Results: When the effects of the groups on gene expression coefficient in general were examined, hypoxia inducible factor (hypoxia inducible factor I alpha, HIF1a) gene expression coefficient of leuprolide acetate 7th day (leup7g) group, other control, leuprolide acetate 1st day, tinzaparin sodium 1st day and tinzaparin 7 It was found to be significantly higher than the coefficients of the .day groups (1.23 ± 0.22 , 2.31 ± 0.75 , 2.30 ± 0.45 and 2.80 ± 0.42 , respectively, versus Beclin2 gene expression coefficient of Tinzaparin sodium 1st day group was found to be statistically significant and higher than the other control, leuprolide acetate 1st day, leuprolide acetate 7th day and tinzaparin sodium 7th day groups. (5.53 ± 1.69 values)

values of 1.00 ± 0.04 , 3.12 ± 0.69 , 1.79 ± 0.23 and 2.41 ± 0.86) ($p < 0.05$). the coefficient of 5.94 ± 1.66 . coefficients). ($p < 0.05$). The transcription factor (TCF) gene expression coefficient of the tinzaparin sodium 1 day group was found to be significantly higher than the coefficients of the other control, leuprolide acetate 1st day, leuprolide acetate 7th day and tinzaparin 7th day groups (31.37 ± 4.17 . values, 1.28 ± 0.27 , 12.35 ± 3.95 , 14.67 ± 4.92 and 11.01 ± 3.86 values) ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of our study have shown that drugs can affect the expression of some genes related to the wnt / beta catenin pathway.

Keywords: Leuprolide acetate, tinzaparin sodium, endometriotic focus, wnt b-catenin pathway



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
SUMMARY	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endometriozis Tanımı ve Oluşum Teorileri.....	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Oluşum Teorileri	3
2.2. Endometriozis İnsidansı ve Risk Faktörleri	4
2.3. Endometriozisin Etyopatogenezi.....	5
2.3.1 Hormonal Faktörler	5
2.3.2. İmmünoloji	6
2.3.3. Genetik Faktörler.....	7
2.3.4. Kanser Biyolojisi Ve Endometriozis	7
2.3.5. Çevresel Faktörler ve Oksitadif Stres.....	8
2.4. Endometriozisin Tanısı ve Sınıflandırılması.....	10
2.4.1. Semptomlar	10
2.4.2. Bulgular	10
2.4.3. Görüntüleme Yöntemler.....	11
2.4.4. Sınıflandırılması	12

2.5. Endometriozisin Tedavi Yöntemleri	12
2.5.1. İzlem Tedavisi	12
2.5.2. Medikal Tedavi	13
2.5.3. Cerrahi Tedavi.....	14
2.5.4. Endometriozisin Güncel Tedavi Yöntemleri.....	15
2.6. Wnt Sinyali ve Wnt/ / β -katenin Yolağı.....	15
2.6.1. Wnt/ β -katenin Yolağı.....	16
2.6.2. Wnt/PCP Yolağı.....	18
2.6.3. Wnt/ Ca^{2+} Yolağı	18
2.7. Tinzaparin Sodyum	19
2.7.1. Tinzaparin Sodyum Antitrombotik Etkisi ve Farmokinetiği.....	19
2.7.2. Klinik Kullanım Alanları	20
2.8. Löprolid Asetat (Leuprolide Asetat)	20
2.8.1. Löprolid Asetat (Leuprolid asetat) Etki Mekanizması Ve Farmakolojisi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Hayvan Deneylerinin Yapılması	22
3.1.1. Birinci Laparotomi	22
3.1.2. İkinci Laparotomi	23
3.2. Total RNA İzolasyonu	23
3.3. Total RNA Çözeltilisinin Kalite Kontrolü	24
3.4. cDNA Eldesi.....	25
3.5. Gen Expresyon Analizleri	26
3.6. Gen Expresyonları İçin Realatif Kantitasyonun Hesaplanması	28
3.7. İstatiksel Analiz.....	29

4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	70
EKLER	70



SİMGELER VE KISALTMALAR

WNT/B -katenin:	wingless- type MMTV integration site family member /beta catenin
GnRH	: gonadotropin releasing hormone
SLE	: sistemik lupus eritematozus
StAR	: steroidogenic acute regulatory protein
SF-1	: steroidogenic factor-1
PGE2	: prostaglandin E2
cAMP	: siklik adenzin monofosfat
COX-2	: siklooksijenaz tip 2
NK	: natural killer
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
GADD	: Growth arrest and DNA damage-inducible protein
PIG11	: P53-induced gene 11
P53	: Tumor protein P53
TNF-a	: Tumor necrosis factor-alpha
IL	: İnterlökin
EAOC	: Endometriosis-Associated Ovarian Cancer
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2, anti apoptotik protein 2
ROS	: Reaktif oksijen türleri
CA-125	: Kanser antijeni 125
USG	: Ultrasonografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
ASRM	: American Society for Reproductive Medicine
NSAID	: Non- Steroidal Anti-İnflamatuar İlaçlar
OKS	: Oral Kontraseptifler

NETA	: noretindron asetat
CPA	: siproteron asetat
MPA	: medroksiprogesteron asetat
LNG	: Levonorgestrel
RIA	: rahim içi araç
LH	: luteinleştirici hormon
KOK	: kombine oral kontraseptif
PCP	: kanonik olmayan düzlemsel hücre polaritesi
Fzd	: Frizzled hücre reseptörü
LRP	: lipoprotein reseptör ilişkili protein
APC	: adenomatöz polipoz koli
Gsk3	: aksin, glikojen sentaz kinaz 3
CK1α	: kazein kinaz 1 α
Dvl	: Disheveled proteini
Tcf	: T hücre faktörü
LEF	: lenfosit arttırıcı faktör
RhoA	: Rho GTPazlar
jNK	: c-jun N-terminal kinaz
NLK	: nemo benzeri kinaz
PLC	: fosfolipaz C
DAG	: 1,2 diaçilgliserol
IP3	: inositol 1,4, 5- trifosfat
CaMKII	: kalsiyum kalmodulin bağımlı protein kinaz II
NFAT	: Nuclear factor of activated T-cells
CaN	: protein fosfataz kalsinurini
UFH	: unfraksiyone heparin
DMAH (LMWH)	: düşük molekül ağırlıklı heparin
anti-Xa	: anti-faktör Xa

TFPI	: Tissue factor pathway inhibitor
TF	: Tissue factor
BMI	: body mass index
CPP	: central precocious puberty
AD	: alzheimer's disease
PCOS	: polycystic ovary syndrome
PMS	: premenstrual syndrome
FSH	: follicle stimulating hormone
BMD	: bone mineral density
RNA	: Ribo Nükleik asit
qPCR	: Quantitative Polymerase Chain Reaction
N	: azot
ACTB	: Actin, beta
mRNA	: messenger Ribo Nükleik asit
Löp	: Löprolid asetat
Tnz	: tinzaparin sodyum
HIF1a	: hypoxia inducible factor I alpha
ATG	: autophagy related gene
β-catenin, cateninB	: beta katenin
GSK3b	: glycogen synthase kinase 3 beta
LC3BII	: light chain 3 beta
TCF	: transcription factor
MMP-9	: matrix metalloproteinases 9
SSEA-1	: Stage-specific embryonic antigen-1
SOX9	: SRY-Box Transcription Factor 9
SRC-1	: steroid receptor coactivator-1
CBP	: CREB-binding Protein.
SCDH	: synaptic plasticity associated with central sensitization

GAG : glikozaminoglikan
ERK :ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz
VEGF : Vascular endothelial growth factor
PECAM-1 : Trombosit endotel adezyon molekülü-1
AI : Aromataz inhibitörü



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Endometriozis patogenezi için özet model.	9
Şekil 2. Wnt / β -catenin sinyal yolu. A).....	17
Şekil 3. HIF1a	31
Şekil 4. ATG5	32
Şekil 5. ATG12	33
Şekil 6. Beclin2	34
Şekil 7. Beclin1	36
Şekil 8. CateninB	37
Şekil 9. GSK3b	38
Şekil 10. LC3BII.....	39
Şekil 11. TCF	41
Şekil 12. WNT2	42
Şekil 13. WNT10a.....	43
Şekil 14. WNT7a.....	45

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Endometriozisin etiyopatogenezinde rol alan faktörler	5
Tablo 2. WizScript™ cDNA Synthesis Kiti bileşenleri ve reaksiyon ortamında bulunması gereken çözelti miktarları.	25
Tablo 3. Reverz transkripsiyon sıcaklık koşulları ve bekletme süreleri.....	26
Tablo 4. Real Time qPCR için kullanılan içerik bilgisi	27
Tablo 5. Real Time PCR cihazı gen ekspresyonu için sıcaklık koşulları ve döngü sayıları.	27
Tablo 6. Ekspresyon Analizi İçin Kullanılan Primer Gen Bilgileri	28

1. GİRİŞ ve AMAÇ

En yaygın iyi huylu jinekolojik bozukluklardan biri olan endometriozis, uterus kavitesinin dışında endometriyal ve stromal dokunun çoğalmasını içeren kronik, inflamatuvar ve östrojene bağımlı bir hastalıktır (1). Endometrioziste farklılaşmış immün hücre cevabı, inflamasyon, neoanjyogenez, over ve uterusda fonksiyon bozukluğu görülmektedir (2). Semptomlar, siklik kanamaların çevre dokularda meydana getirdiği inflamasyon, skar ve adezyonlar sonucu ortaya çıkar. Semptom ve bulgular; ağrılı adet görme (dismenore), adet dönemleri dışındaki pelvik ağrı, ağrılı koit (disparoni), idrar yaparken ağrı (dizüri), ağrılı barsak hareketleridir (diskezia) (3).

Endometriyozis, sadece ektopik implantlarla sınırlı olmayıp, bütün reproduktif sistemi etkileyen karmaşık bir patolojiyi içermektedir (2). Yapılan bir çok araştırmalara rağmen hastalığın etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Patogenezine yönelik çalışmalar sıklıkla anatomik, hormonal, immunolojik ve genetik faktörlere yoğunlaşmıştır (4, 5, 6).

Bu hastalık, tüm üreme çağındaki kadınların yaklaşık % 10'unda teşhis edilirken, yaygınlığı infertil kadınlarda % 50'ye yükselir (7). Endometriozis, infertilite veya pelvik ağrının bir parçası olarak görülüyor ve tanı koyabilmek için cerrahi gerektiğine yönelik kesin bir prevalans halen belirlenememiştir (8). Hastalığın yüksek prevalansına rağmen, endometriozis tanısı patogenezin karmaşıklığı, semptomların çeşitliliği ve zamanında invaziv olmayan bir teşhis aracının olmaması nedeniyle 7-10 yıl gecikmektedir (9, 10).

Endometriozis tedavisinde temel amaç, semptomların kontrolü ve hastalığın ilerlemesinin durdurulması ve fertilitenin korunmasıdır. Endometriozisin uzun yıllardır etyolojisi ve tedavi yöntemleri tartışılmaktadır. Etik problemler yüzünden etyoloji ve tedavi yöntemlerinin araştırılması için insan yerine rat modelleri kullanılmaktadır (11).

Biz bu çalışmada insanlara özgün endometriozis hastalığının patogenezinin ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında kullanılan fare endometriozis modelini kullandık ve fare endometriozis modelinde tinzaparin sodyum ve löprolid asetat (leuprolide acetate) ilaçlarının hem profilaktik hem de tedavi amaçlı etkilerini,

WNT/beta-katenin yolağı temelli olarak incelemek ve insanlarda klinik uygulamaya sokulabilecek tinzaparin ve benzer moleküllü ilaçlar için yeni ilaç endikasyonlarının geliştirilmesinin önünü açmayı planladık. Bu seçimin temel amacı insanlarda özellikle infertilite ve kronik pelvik ağrı nedeniyle başvuran olguların tedavisine yönelik çıkarımlar elde etmektir

Tinzaparin klinik uygulamada düşük moleküllü heparin tedavisi ile profilaksi yapılması gereken çok sayıda gebe ve gebelik dışı kullanımları yanında yeni çalışmalarda kanser hücrelerine karşı WNT/beta-katenin yolağını da etkileyerek başarı ile sitotoksik olduğu in vitro olarak gösterilmeye başlanmış bir ilaç olması yönü ile seçilmiştir (12). Tinzaparin bu özellikleri temelli olarak endometriozis de WNT/beta-katenin yolağının rolünün incelenmesi açısından uygun ilaç olduğu görülmüştür. Çalışmada bu yolağın endometriozisteki aldığı rollerin spesifik olarak incelenmesi araştırmanın özgün yönlerinden biri olacaktır.

Löprolid asetat endometriozis, uterin leiomyom, çocuklarda merkezi erken ergenlik tedavisi ve ileri prostat kanseri tedavisinde kullanılan FDA onaylı gonadotropin salgılatıcı hormon (gonadotropin releasing hormone, GnRH) agonistidir (13, 14).

Araştırma ilacı olarak daha çok bilinen GnRH analogu löprolid asetat gonadotropik hormon baskılanması sonucunda östrojen hormonu baskılanması ve nihayetinde endometriozisin baskılanması, önlenmesi ve yok edilmesi için seçilmiştir. Löprolid asetatın bu yolağın mekanizmalarını ne ölçüde kullandığı endometrioziste yeteri kadar incelenmiş değildir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Endometriozis Tanımı ve Oluşum Teorileri

2.1.1. Tanımı

Endometriozis, ilk kez 1860 yılında Von Rokitansky tarafından tanımlanan, endometrial bez ve stromanın uterin kavite ve kas tabakası dışında fonksiyon gördüğü, klinik ve patolojik bir olaydır (15). Günümüzdeki tanımı ile endometriozis, pelvik ağrı ve infertilite ile seyreden, estrogen bağımlı, benign, kronik ve sık görülen jinekolojik bir hastalıktır.

2.1.2. Oluşum Teorileri

Endometriozisin gelişimi, son zamanlarda başka yerlerde ayrıntılı olarak açıklanan birbiri ile etkileşen endokrin, immünolojik, proinflamatuvar ve proanjiojenik süreçleri içerir (16). Bu faktörlerin patojenik (nedensel) olup olmadığı veya sadece semptom başlangıcından yıllar sonra ölçülen patofizyolojik sürecin bir özelliğini temsil edip etmediği belirsizdir. Endometriozisin patogenezi açıklamak için çeşitli teoriler mevcuttur.

2.1.2.1. Retrograd Menstruasyon (İmplantasyon) Teorisi

En sık kabul gören implantasyon ya da Sampson teorisi olarak da bilinen retrograd menstruasyon teorisi endometrial hücrelerin menstruasyon sırasında transtubal olarak periton boşluğuna doğru geçmesi ve bunun sonucunda endometrial hücrelerin ekilme veya implantasyonu ile endometriozis oluştuğu düşüncesine dayanır (17).

2.1.2.2. Çölemik Metaplazi Teorisi

Yirminci yüzyıl başlarında öne sürülen Meyer'in bu teorisine göre endometriozis, pelvik peritonu döşeyen hücrelerin enfeksiyöz, hormonal veya diğer uyaranlarla metaplazisi ile gelişmektedir (18).

2.1.2.3. İndüksiyon Teorisi

İndüksiyon teorisi çölemik metaplazi teorisinin bir uzantısı olmakla beraber bu teoriye göre endojen biyokimyasal ve immünolojik faktörler ile primitif hücrelerin endometrial hücrelere dönüştüğü varsayılmaktadır (19).

2.1.2.4. Embriyonik Kalıntı Teorisi

Embriyonik kalıntı teorisi Von Recklinghausen ve Russell tarafından 1890'larda ortaya sunulan bir teoridir. Bu teoriye göre müller sisteminin kalıntısı olan hücreler spesifik uyarılarla aktive olarak endometrial hücrelere farklılaşmaktadır (20).

2.1.2.5. Lenfatik ve Vasküler Metastaz Teorileri

1920'lerde endometriozisin lenfatik ve hematojen yolla endometrial hücrelerin yayılımı sonucunda olabileceği düşünülmüştür. Sampson, adenomyozisi olan kadınların uterin venlerinde endometrial doku saptamıştır (21). Kemik, kas, beyin, sinir, akciğer parankimi, vertebra ve ekstremiteler gibi az yerlerde görülen endometriozis vakalarının patogenezi açıklama noktasında lenfatik ve vasküler metastaz teorisi yardımcıdır.

2.2. Endometriozis İnsidansı ve Risk Faktörleri

Endometriozis tanısının cerrahi olarak konulması sebebiyle kesin bir insidans belirlenememiştir. Endometriozisin görülme sıklığı üreme çağında kadınlarda %5-10, infertil olgularda %25-35 olduğu tahmin edilmektedir. Adölesan ve hormon replasman tedavisi alan postmenapozal kadınlarda da olduğu rapor edilmiştir (22).

Endometriozis genel olarak üreme çağındaki kadınların hastalığıdır. Endometriozisin risk faktörleri arasında infertilite, erken menarş (özellikle 11 yaş ve daha küçük yaşlarda mens olma), geç menopoz, endojen östrojene uzun süre maruziyete sebep olan kısa menstrüel döngü (27 günde bir veya daha az sürede mens olma), hipermenore, nulliparite, birinci derece akrabada endometriozis olması, uzun boy, vücut kitle indeksinin düşük olması, Müllerian anomali gibi anatomik sebeplere bağlı menstrüel kanın akış bozukluğu olan durumlar, intrauterin diethylstilbestrol maruziyeti, dioxin maruziyeti, komorbid hastalıklar (hipo ve hipertoridi, SLE gibi romatolojik hastalıklar vb. durumlar), immun bozukluklar, alkol ve kafein tüketimin fazla olması, yağlı ve kırmızı et tüketimin fazla olması, çocukluk veya adölesan dönemde ciddi fiziksel veya cinsel istismara maruz kalma, geçirilmiş endometriozis cerrahisi öyküsü ve önceden alınmış endometriozis medikal tedavisi bulunmaktadır (23, 24).

2.3. Endometriozisin Etyopatogenezi

Endometriozisin etyolojisi tam olarak netlik kazanmamıştır. Endometriozisin etyolojisinde birden fazla etkenin yer aldığı, multifaktöryel bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Güncel bilgiler doğrultusunda endometriozis konusunda aşağıdaki şekilde bir nedenler grubu oluşturabiliriz:

Tablo 1. Endometriozis etyopatogenezinde rol alan faktörler

1- Hormonal Faktörler
2- Bağışıklık sistemi
3- Genetik faktörler
4- Kanseri biyolojisi
5- Çevresel faktörler ve oksitadif stres

2.3.1 Hormonal Faktörler

Östrojen, endometriozis gelişiminde rol aldığı kesin olarak gösterilmiş tek faktördür [25]. Kadınlardaki östrojenin çoğunluğu direkt olarak overlerde üretilir. Östrojen, over ve adrenal kaynaklı androjenlerin aromatisasyonu sonucunda periferik dokularda da oluşur. Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Endometriotik dokuların istilasından veya gelişmesinden sadece over veya adrenal kaynaklı östrojen sorumlu değildir. Yapılan çeşitli çalışmalarda endometriotik dokularda yüksek miktarda östrojen üretildiği gösterilmiştir (26, 27). Östrojen üretiminde steroidojenik akut düzenleyici protein (steroidogenic acute regulatory protein, StAR) ve aromataz iki önemli basamakta yer alırlar. StAR kolesterolün sitozolden mitokondri içerisine girmesini kolaylaştırmaktadır (28). Sitokrom P450 aromataz enzimi ise steroid sentezinin son basmağını katalize eder. Endometrioziste aromataz gerek ektopik gerekse ötopik endometrial dokularda stroma hücreleri tarafından üretilmektedir. Normal endometriumda ise aromataz bulunmadığından normal endometrium östrojen sentezi yapma özelliğine sahip değildir. Endometriozisli hastaların endometriumunda ve endometriotik dokularında aromataz sentezinde rol oynayan

transkripsiyon faktörleri de bulunur. Ancak normal endometriumda bu faktörler mevcut değildir. Örneğin, steroidojenik faktör 1 (steroidogenic factor-1, SF-1) endometriozisli hastaların endometriumunda ve özellikle endometriotik dokularda bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. Normal endometriumda ise SF-1 üretimi yoktur (29). Ektopik endometrial implantlarda, androstenedionun östrona dönüşümünü sağlayan aromataz ve östronun östradiole dönüşümünü sağlayan 17- β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip 1 enzimlerini eksprese ettiği tespit edilmiştir. Fakat östrojeni metabolize eden 17- β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip 2 enzimi endometriotik odaklarda bulunmaz (30). İmplantlar sürekli olarak östrojenik bir ortama maruz kalırlar. Endometriotik dokularda bulunan SF-1 özellikle aromataz ve StAR olmak üzere steroidogenezden sorumlu genleri prostaglandin E2 (PGE2) ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) bağımlı olarak harekete geçirdiği açıklanmıştır (26). Prostaglandin E2 (PGE2) endometriumun stromal hücrelerinde en güçlü aromataz aktivite uyarıcısıdır (31). Artmış aromataz aktivitesine yanıt olarak üretilen östradiol, uterus endotel hücresinde siklooksijenaz tip 2 (COX-2) enzimini uyararak PGE2 üretimini artırır. Bu durumda pozitif feedback döngü oluşur ve östrojen arttıkça implantlar çoğalır, implantlar çoğaldıkça östrojen artar. Ayrıca endometriozisli kadınlarda ötopik ve ektopik endometrial dokuda progesterona karşı endometrial duyarlılığın azaldığı gösterilmiştir (32).

2.3.2. İmmünoloji

Retrograd menstrüasyon kadınlarda sık olmakla birlikte retrograd menstrüasyonu olan bütün kadınlarda endometriozis görülmez. Endometriozisli kadınlarda otoimmün hastalık sıklığının fazla görülmesi, endometriozis patogeneğinde defektif immün yanıtın sebep olabileceğini düşündürmektedir (33). Endometriozisli kadınlarda aktive makrofaj konsantrasyonunda artma, hücrel immünite ve baskılanmış doğal öldürücü (natural killer, NK) hücre fonksiyonunda azalma saptanmaktadır (34). Endometrioziste gözlenen immün bozukluk hem hücrel hem de hümorale immünitede olan değişiklikler nedeni ile oluşmaktadır (35). Hücrel immünitedeki azalmanın endometriotik hücrelerin peritoneal implantasyonuna kolaylaştırdığı düşünülmektedir (36). İmmünojik faktörlerin endometrial dokuların büyümesinde ve semptomların ortaya çıkmasında rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır (37). Endometrioziste hem peritoneal

boşlukta, hem de endometrial lezyonlarda inflamatuvar bir cevap görülür (38). Endometriozisli insanlarda peritoneal inflamasyonun en büyük sebebi ektopik implantlar ve menstrüasyon sırasında oluşan ve retrograd akımla peritona dökülen sitokinler olabilir (39). Salgılanan prostaglandinler, proinflamatuvar sitokinler (40) ve aktive komplementlerin endometriozis oluşumunda ve devamlılığında etkisi olduğu düşünülmektedir.

Endometriozisin oluşmasında temizleyici sistemin gelen retrograd kanı karşılamakta yetersiz kalması ve immünolojik sistemin cevabının yetersiz olmasının sebep olabileceği düşünülmektedir (41).

2.3.3. Genetik Faktörler

Endometriozis, endometriozis görülen kadınların birinci derece akrabaları arasında genel popülasyona oranla 6–7 kat daha sık görülür (42). Tek yumurta ikizlerinde ise risk %75 olarak saptanmıştır (43).

Bireyin endometriozise duyarlılığını, genetik faktörlerin etkilediği düşünülmektedir. Somatik kromozomlardaki genetik değişimler ve tümör süpresör genlerini inaktive eden deoksiribo nükleik asit (DNA) delesyonları, endometriozisin başlangıcı, devamı ve ilerlemesine sebep olabilir (44). Endometriozisli hastaların değişmiş gen ekspresyon profili için 2003'te yapılan bir çalışmada, endometriozisli kadınlarda 97 upregüle edilmiş ve 337 down regüle edilmiş genler bulunmuştur. Apoptozis ilgili genler (Growth arrest and DNA damage-inducible protein. 34, 45A,45B, GADD34, GADD45A, GADD45B, P53-induced gene 11, PIG11) ve tümör süpresör geni p53'ün endometriotik dokularda down regüle olduğu tespit edilmiştir. Endometriozisli kadınların apoptozis ile ilişkili gen ekspresyonundaki değişimler, bu hastalığa olan bireysel hassasiyeti açıklamakta yol gösterici olmaktadır (45).

2.3.4. Kanser Biyolojisi Ve Endometriozis

Endometriozis lezyonunun normal histolojisi nedeniyle iyi huylu bir durum olmasına rağmen, kanserle patofizyolojik özellikleri paylaşır. Malign hastalıklar gibi, endometriotik implantlar da yerel ve uzak bölgelere yayılabilir. Endometriotik lezyonlar diğer dokulara yapışabilir, istila edebilir ve nüfuz edebilir. Bununla birlikte, malign lezyonlardan farklı olarak, endometriozis sürekli proliferatif veya

katabolik duruma neden olmaz ve nadiren ölümcüldür (46). Endometriozis inflamatuvar bir durumdur ve inflamasyon uzun zamandır kanser riski ile ilişkilendirilmiştir. Rudolf Virchow ilk olarak 150 yıl önce bu ilişkiyi belgeledi ve veriler artmaya devam ediyor. Durumun döngüsel doğası nedeniyle, endometriozis hem akut hem de kronik inflamasyon ile ilişkilidir. Moleküler çalışmalar, endometriozisli kadınlardan elde edilen pelvik sıvının, makrofaj ve enflamatuvar sitokinlerin, özellikle tümör nekrozis faktör alfa (Tumor necrosis factor-alpha, TNF-a) ve interlökin 6, 10 ve 15 (IL-6, 10 ve 15) konsantrasyonlarının arttığını, aynı sitokinlerin, epitelyal hücre kanserindeki hücre kültürlerinde önemli ölçüde daha yüksek konsantrasyonlarda bildirildiğini kaydetmiştir. Dolaşımdaki östrojen ve enflamasyonun neden olduğu artan hücresel proliferasyon, endometriozisin atipik endometriozise ve daha sonra endometriozise bağlı yumurtalık kanserine (EAO: Endometriosis-Associated Ovarian Cancer) ilerlemesinde önemli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır. Çalışmalar, endometriozis ve epitelyal yumurtalık kanseri arasındaki ilişkinin, alt hücreye göre değiştiğini, endometriozis ile bir arada bulunma olasılığı en düşük alt tipler olarak berrak hücreli karsinom ve endometrioid karsinomla değiştiğini göstermektedir (47). Endometriozis ve diğer maligniteler arasındaki ilişkilere ilişkin mevcut epidemiyolojik bulguları gözden geçirmiş ve endometriozisli hastaların meme kanseri, kutanöz melanom ve yumurtalık karsinomu riski daha yüksek olduğunu bildirmiştir (48).

Endometriumun döngüsel değişikliklerinde programlı hücre ölümü (apoptozis) rol oynar. Kanser biyolojisinde görüldüğü gibi endometrium dokusunda apoptozise olan duyarlılığın azalması endometriozis etiyopatogenezinde görev aldığı görüşü hakimdir. Endometriozis olgularında anti apoptotik protein Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) ve makrofaj sayılarında artış görülmektedir (49) .

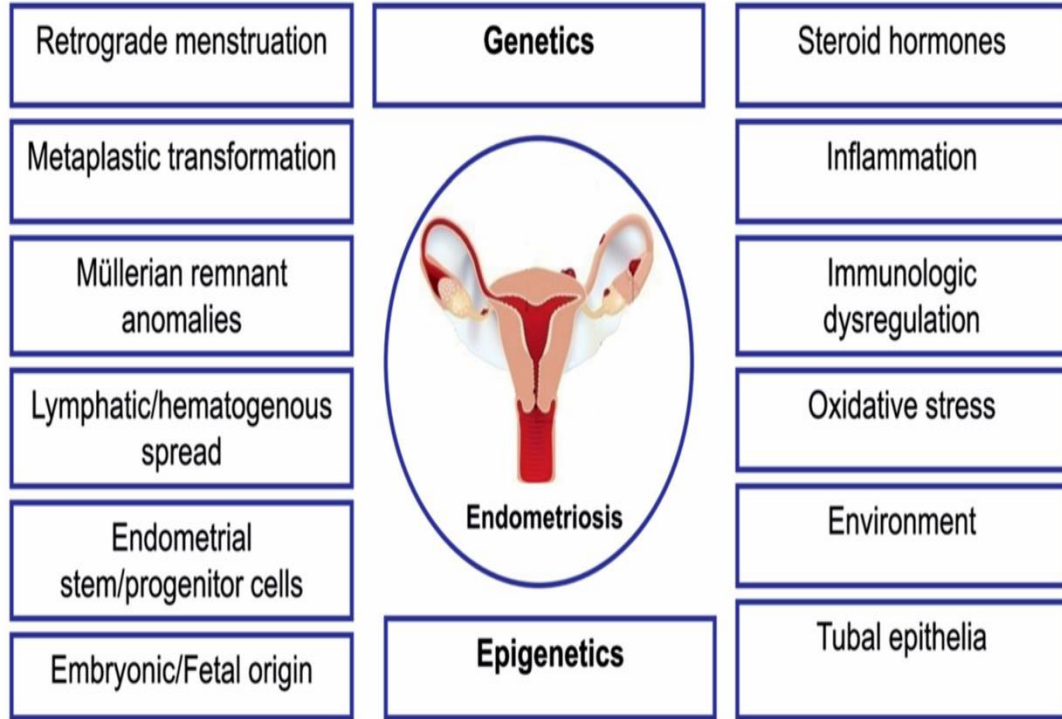
2.3.5. Çevresel Faktörler ve Oksitadif Stres

Çevresel kimyasallar ve endometriozis istilasını arasındaki ilişkilerin altında yatan varsayılan bir mekanizma olarak, matriks metaloproteinaz sistemi düzenlemesi ile ilgili östrojen ve progesteron etkisinin bozulması önerilmiştir (50). Sonuç olarak, endometriozis, anormal genetik ve / veya epigenetik mutasyonların bir kombinasyonundan kaynaklanabilir: kökenleri farklı olan birincil hücrelerin aşırı

büyümesi, benzersiz genetik arka planla tetiklenebilir ve hastalığın farklı klinik formları epigenetik etkilerin sonucu olabilir. Özellikle, dioksin gibi çevresel faktörler, epigenetik modifikasyonların proinflamatuvar mikro çevrenin nedenleri veya etkileri olarak kabul edilip edilemeyeceğini açıkça gösterebilecek sağlam kanıtlar olmasa bile, uterus endometriozisin başlangıcına yol açan epigenomu ve progesteron direncini etkileyebilir (51). Bu bağlamda, epigenom ve hormonal / immün durum birbirini etkiler ve hastalığın gelişimine katkıda bulunur.

Koninckx ve arkadaşlarına göre, endometriozisin kalıtsal yönleri veya endometriyotik hastalığına yatkınlık doğumda aktarılan genetik ve epigenetik olaylar dizisi ile açıklanabilir (52).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidanlar arasında bir dengesizlik olarak tanımlanan oksidatif stresin, periton boşluğunda genel bir inflamatuvar yanıtı neden olan endometriozun patofizyolojisinde rol oynayabileceği artık yaygın olarak kabul edilmektedir (53).



Şekil 1. Endometriozis patogenezi için özet model.

2.4. Endometriozisin Tanısı ve Sınıflandırılması

Diğer jinekolojik ve gastrointestinal sistem hastalıklarıyla benzer semptomlara sahip olması nedeniyle endometriozisin kesin tanısı çoğunlukla zor olmaktadır. Diğer yandan bir grup hasta ise asemptomatik seyretmektedir. Endometriozis odaklarından laparoskopi ile alınan biyopsi örneklerinin histolojik incelemesi kesin tanı açısından "altın standart" olarak kabul edilmektedir (54).

2.4.1. Semptomlar

Üreme çağındaki endometriozis hastaları genellikle pelvik ağrı, dismenore, disparoni, infertilite veya ovaryan kitle ile başvururlar (55). Ayrıca hastalar farklı endikasyonlar ile yapılan görüntüleme veya cerrahi sonucu tesadüfen teşhis edilebilirler. Çünkü hastaların bir kısmında endometriozis asemptomatik seyredebilir (56).

Semptomlar hafif ağrıdan yaşam kalitesini ciddi düzeyde bozacak şiddete kadar uzanabilir. Endometriozis pelvik ağrının sık bir nedenlerinden biridir ve etkilenen kadınlarda ağrı şiddeti oldukça değişken olup siklik veya kronik şekilde olabilir (57). Endometriozis ilişkili disparoni; rektovajinal septum veya uterosakral ve kardinal ligamentlerde, douglasta, posterior vajinal fornikte ve anterior rektal duvarda yerleşmiş ektopik endometrial lezyonlar ile ilişkilidir (58). Pelvis dışı organ tutulumları da endometrioziste görülebilir. Siklik hematüri, yan ağrısı, rektal kanama, ishal, konstipasyon, hemoptizi, dispne, cilde yerleşmesi durumunda menstrüasyon sırasında oluşan şişlik, hassasiyet, kanama görülebilir (59). Göğüs ağrısı, pnömotoraks veya hemotoraks, hemoptizi, skapular veya servikal ağrı torasik endometriozisli kadınlarda saptanabilir (60) .

Bağırsak ve mesane fonksiyon bozuklukları, anormal uterin kanama, bel ağrısı veya kronik yorgunluk daha az görülen endometriozis semptomlarını oluşturmaktadır (55).

2.4.2. Bulgular

İnfertilite, dismenore ve disparoni şikayeti olan her kadında endometriozisten şüphelenilmelidir. Endometriozisli birçok kadında klinik inceleme sırasında hiçbir

anormallik saptanmaz. Dış genital organların fizik muayenesi genellikle normaldir. Pelvik muayenede olası endometriozis bulguları; uterosakral ligament veya cul-de-sac'ta nodülerite ve hassasiyet, uterosakral skar oluşumu nedeni ile serviksin laterale doğru yer değiştirmesi, rektovajinal septumda ağrılı şişme ve unilateral ovaryen büyümedir (61). Daha ileri endometrioziste pelvik organların mobilitesinin iyice azaldığı ve fikse olduğu tespit edilebilir. Koit yaşamamış ve endometriozis benzeri şikayetleri olan kadınlarda rektal muayene de bimanuel muayene kadar etkili olabilmektedir (62).

Endometriozise özgü tanısal bir laboratuvar testi yoktur. Kanser antijeni 125 (CA-125)'in serum konsantrasyonu, endometriozisli kadınlarda 35 U/ml'den büyük olabilir (63). Bununla birlikte, CA125 seviyeleri, endometriyal lezyonlar için düşük duyarlılık ve özgüllük nedeniyle izolasyonda bir biyobelirteç olarak kullanılamaz. Bir biyobelirteç olarak CA-125 kullanımının en büyük endişelerinden biri, diğer jinekolojik patolojilerde de yüksek serum seviyelerinin tespit edilmiş olmasıdır (64).

2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri,

Ultrasonografi (USG): Ovaryen endometrioma ve rektovajinal endometriozisin tanısında kullanılan en kıymetli yöntem transvajinal ve transrektal ultrasonografidir (65). Ultrasonografide endometrioma; homojen, hipoekoik, genelde septasız ve doppler ultrasonografide kist içi doppler aktivite gözlenmeyen bir kitle olarak görüntülenebilir (66). İçerik tipik olarak hipoekoik buzlu cam görünümünde olup kist duvarı çoğunlukla kalın ve düzensizdir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Oldukça yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip bir görüntüleme yöntemidir. Derin infiltratif endometriozis ve renal sistem tutulumu düşünülen endometriozis olgularında MRG oldukça yararlıdır (67).

Bilgisayarlı Tomografi (BT) : Bu görüntülemenin tanıda yararı sınırlıdır. Ekstrapelvik lezyonların teşhisinde ise yarar sağlar (68).

Laparoskopik İnceleme: Tipik lezyonların laparoskopik olarak makroskopik görünümü ; aşırı damarlanmış ,sarı-kahverengi pigmente alanlar , peteşial lezyonlar pseudoperitoneal cepler , özellikle over arka yüzünde ve ovaryen fossada adezyonlar ve over yüzeyindeki endometriotik odaklar (endometrioma) şeklinde sıralanabilir (69).

Bu teknikler arasında en ucuz, en yararlı ve en yaygın kullanılan ultrasonografidir.

2.4.4. Sınıflandırılması

Fertilite çalışmalarında, ilk kez 1979 da yayınlanan ve 1996 ve 1997 de iki kez revize edilen, Amerikan Doğurganlık Derneği daha sonra Amerikan Toplum Derneği Üreme Tıbbı (American Society for Reproductive Medicine ,ASRM) olarak adlandırılan ASRM sınıflandırması en yaygın kullanılan sınıflandırmadır (70). Revize edilmiş ASRM sınıflandırması implantların lokalizasyonuna, boyutuna ve adezyonların yapışma derecesine dayalı bir puanlama sistemidir. Aşama I-IV olarak sınıflandırılmaktadır (71) .

ASRM'nin cerrahi evreleme skorum sistemi;

Evre 1: İzole implantlar, önemli bir adezyon olmaması ile karakterize minimal hastalık

Evre 2: Periton ve overlerde seyrek 5cm'den küçük agregatlar oluşturan superfisyal implantlardan oluşan hafif derece hastalık

Evre 3: Superfisyal ve derin infiltrasyonlar içeren multipl implantlar ve peritubal ve periovaryan belirgin adezyon izlenen orta derece hastalık

Evre 4: Büyük endometriomaları da kapsayan multipl superfisyal ve derin implantlar içeren invaziv yoğun adezyonlar içeren ciddi hastalık şeklindedir (70).

2.5. Endometriozisin Tedavi Yöntemleri

Endometriozis tedavisinde temel amaç, semptomların kontrolü ve hastalığın ilerlemesinin durdurulması ve fertilitenin korunmasıdır. Endometriozis tedavisi genellikle ilaçları veya cerrahi içerir (72).

2.5.1. İzlem Tedavisi

Bu tedavi yalnızca minimal ve hafif endometriozisi olan, kısa infertilite süresine sahip (<4 yıl) ve çocuk arzusu olan kadınlarda kullanılmalıdır (73).

2.5.2. Medikal Tedavi

Endometriotik implantların çoğunda östrojen, androjen ve progesteron reseptörleri bulunur. Bu reseptörlerin uyanması ile endometrioziste hormonal tedavi mümkün olmaktadır. Endometriotik implantlar hormon tedavisine endometrium gibi yanıt verirler. Bununla birlikte implantların %5 kadarı hiçbir steroid reseptörü içermez ve hormonal tedaviye dirençlidir (74).

2.5.2.1. Non- Steroidal Anti-İnflamatuvar İlaçlar (NSAID)

Endometriozise bağlı hafiften orta dereceye kadar ağrı şikayeti olan kadınlarda ilk tercih edilen tedavi Non- Steroidal Anti-İnflamatuvar İlaçlar (NSAID)'dır. Bu ilaçlar pelvik ağrıyı tetiklediği düşünülen prostaglandinlerin üretimini azaltarak etki göstermektedir (75).

2.5.2.2. Oral Kontraseptifler (OKS)

Endometriozis ilişkili pelvik ağrı ve dismenorenin tedavisinde ilk tercih tedavilerdir. Genel olarak bakıldığında hormonal tedavilerin ortak etkisi menstrüel siklus üzerine yarattıkları değişim ve bu sayede hastalarda yalancı bir gebelik, yalancı bir menopoz hali ya da kronik anovulasyon oluşturmalarıdır. Endometriozise bağlı ağrı şikayetleri oral kontraseptifler (OKS) ile %75-90 azalır (76). OKS'ler gonadotropin salınımını engelleyerek menstrüel kan miktarını azaltırlar, ektopik endometrial dokuda desidualizasyon yaparlar. Endometriozise bağlı ağrının tedavisinde OKS'ler siklik veya devamlı olarak kullanılabilir. Siklik yerine, devamlı kullanım tedavide daha etkili olmaktadır. Tedavide önerilen süre 6-12 aydır (74).

2.5.2.2.1. Progestinler

Yaygın oral tedavi seçenekleri noretindron asetat (NETA), siproteron asetat (CPA), dienogest, intramuskuler tedavi seçenekleri medroksiprogesteron asetat (MPA) ve intrauterin yoldan uygulanan levonorgestrel (LNG) salgılayan rahim içi araç (RİA) şeklindedir (77).

2.5.2.2.2. Androjenik ajanlar

Danazol, 17-etinil testosteron derivesidir. Danazol pulsatil gonadotropik salgılayıcı hormon (GnRH) paternlerini etkileyerek, midsiklus luteinleştirici hormon (LH) pikini bozar ve kronik anovulasyon oluşturur (78). Neticede hipöstrojenik,

hiperandrojenik bir ortam oluşur buna bağlı olarak da ektopik endometrium dokularında atrofi meydana gelir (79). Sıklıkla 6 aylık tedavi kullanılır. Dismenorede % 90'a varan iyileşme bildirilse de kronik pelvik ağrıya etkisi azdır (80).

2.5.2.2.3. Gonadotropik Salgılayıcı Hormon (GnRH) Agonist ve Antagonistleri

Gonadotropik salgılayıcı hormon (GnRH) agonistleri geçici bir menopoz tablosuna neden olur. Ön hipofizden gonadotropin sekresyonunu baskılayıp, ovaryen hormon sekresyonunu durdurarak etki gösterdiği için endometriozis tedavisinde kullanılmaktadır. Böylece hipogonadotropik hipogonadizm ortamı oluştururlar. Pelvik ağrı, dismenore ve diğer semptomlarda rahatlama sağladığı için kullanılmaktadır. Löprolid asetat, goserelin asetat, nafarelin asetat bu ilaç grubundan birkaçıdır. Tedavinin bırakılmasını takiben endometriozis semptomları genellikle 9-12 ay içerisinde geri döner (80). GnRH analoglarının kullanımını sonrasında tedavi süresine bağlı olarak kemik mineral dansitesinde bazen geriye dönmeyen kayıp olabilir (81) .

GnRH antagonistleri, hipofizdeki GnRH reseptörlerinin kompetitif blokerleridir. GnRH antagonistleri setroreliks, ganireliks, degareliksdir. GnRH antagonistleri ile yapılan tedavide add-back tedaviye ihtiyaç yoktur (82) .

2.5.2.2.4. Antiprogestinler

Mifepriston, anti-progesteron, anti-glukokortikoid ve anti-östrojenik özellikleri olan steroidal bir ajandır. Progesteron reseptörlerine progesterondan daha uzun süreli bağlanır ve amenoreye neden olur. Mifepriston (RU-486) hem ovulasyonu inhibe eder hem de endometrial bütünlüğü bozar. Bu nedenle endometriozis tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda yapılan ilk çalışma 9 hasta ile yapılmış ve hastalara 6 ay boyunca günde 50 mg mifepriston verilmiştir. Hastalarda amenore gelişmiş ve pelvik ağrılarında azalma saptanmıştır (83).

2.5.3. Cerrahi Tedavi

Cerrahi, endometriozisin hem tanısında hem de tedavisinde uygulanır. Medikal tedavinin endikasyonları, minimal ve hafif endometriozisli ve kombine

tedavi uygulanan hastalarla sınırlı kalırken, cerrahi yöntemler daha sık evre III-IV hastalarda kullanılmaktadır. Hastanın yaşı, yaşam kalitesine olan etkileri, fertilité istemi, lezyonların yerleşim yeri ve büyüklüğü, cerrahi prosedürlerin kâr-zarar durumu ve malign transformasyonlar öngörülerine göre hastalar cerrahi tedavi açısından değerlendirilmelidir (84).

2.5.3.1. Konservatif Cerrahi

3-6 ay medikal tedaviye rağmen ağrı şikayeti gerilemeyen ve endometrioma olabilecek adneksiyal kitlesi olan hastalarda endikedir. Burada temel amaç endometriotik odakların hepsinin destrüksiyonu veya ortadan kaldırılması, adezyonların giderilmesi ve normal anatomik yapının oluşturulmasıdır. Bir diğer hedef ise bu adezyonların tekrar oluşmasını ve endometriozisin rekürrensini önlemektir (73). Konservatif cerrahi sonrası semptom ve lezyonların rekürrensini önlemek için içeriğindeki progestin tipi farketmeksizin 2 yıl kombine oral kontraseptif (KOK) kullanımı önerilmektedir (85).

2.5.3.2. Radikal Cerrahi

Hastanın uterusunun, overlerinin ve endometriozis implantlarının alınmasıdır (74). Bugün için fertilitésini tamamlamış, tedaviye yanıtız ağrıları olan ve konservatif cerrahinin başansız olduğu hastalarda uygulanır. Definitif cerrahi, medikal tedaviye kıyasla ağrının hızlı ve uzun vadeli tedavisini sağlar.

2.5.4. Endometriozisin Güncel Tedavi Yöntemleri

GnRH antagonistleri (elagolix) ve ulipristal gibi hormonal reseptör modölatörleri güncel spesifik ilaçlardır. Antiöstrojenlerin rolü ve resveratrol gibi doğal kaynaklı maddeler, anti-aromatazlar, anti-anjiyojenik moleküller ve immünomodölatörlerin rolü ise açık değildir (75).

2.6. Wnt Sinyali ve Wnt / β -katenin Yolağı

Wnt / β -katenin sinyalleme, ilk anaerobik metazoanlara dayanan armadillo proteinleri adı verilen bir protein sınıfı etrafında gelişen geniş bir fonksiyonel ağına daldır. Wnt / β -katenin sinyali kök hücre biyolojisi, gelişimsel biyoloji ve yetişkin organ sistemleri dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik sistemlerde yer alır.

Wnt sinyali embriyonik gelişim ve normal yetişkin homeostazı için gerekli olan çok sayıda temel süreçte yer alır. Başlangıçta farelerde (86) proto-onkogen “Int-1” olarak keşfedilen Wnt ailesinin ilk üyesi, beş yıl sonra *Drosophila melanogaster* segment polaritesinin ana düzenleyicilerinden biri olan “kanatsız” genin homologu olarak bulundu (87). “Wnt” terimi, bu iki gen isminin kaynaşmasıyla yaratılmıştır. Wnt ailesi, diğer organizmalarda *Drosophila*'dan Wnt1'in ektopik ekspresyonu ile gösterildiği gibi, oldukça gelişimsel olarak korunmuş bir protein ailesidir ve ciddi gelişimsel sorunlara neden olur (88). İnsan Wnt ailesi, 15'ten fazla reseptör veya yardımcı reseptör için ligand görevi gören on dokuz farklı sistein bakımından zengin glikoproteinden oluşur (89). Bu sinyal yolunun, hücre çoğalması, hayatta kalma, kendini yenileme / farklılaşma vb. dahil olmak üzere normal organ gelişimi için gerekli olan birçok hücre fonksiyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (90). Yolun keşfinden çok hızlı bir şekilde, çoklu işlev bozukluklarının ve bu yolların mutasyonunun metabolik (örn. Tip II diyabet (91) , dejeneratif hastalıklar (örneğin Parkinson (92), Alzheimer (93)) ve özellikle kanserler (hepatokarsinom (94), kolon kanseri (95), lösemiler (96)) dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

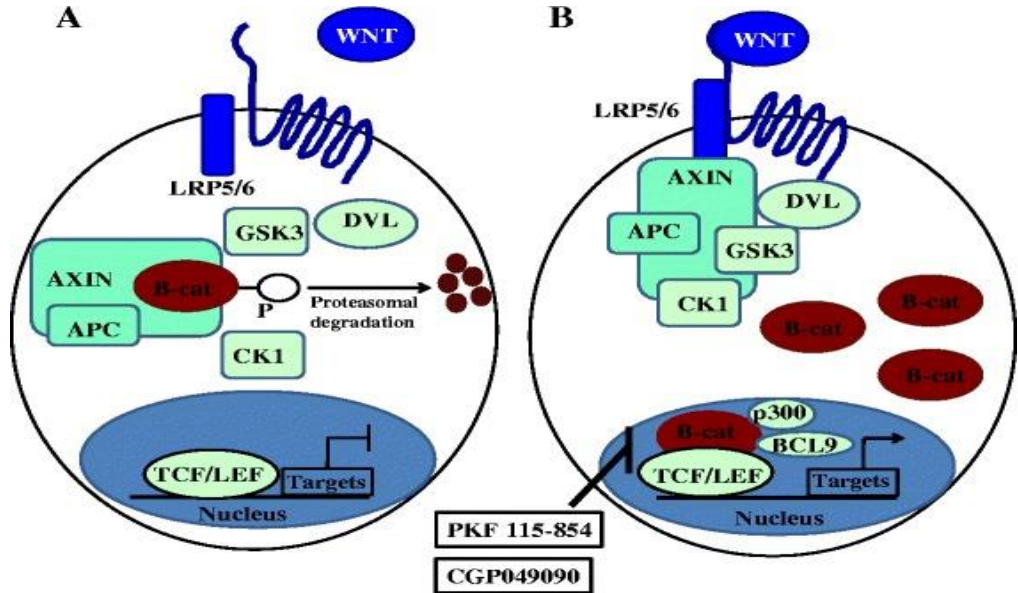
Wnt sinyal yolu yoğun bir şekilde incelenmiş ve gözden geçirilmiştir (97). Bu yol genellikle üç alt yola ayrılır: kanonik Wnt / β -katenin sinyal yolu , kanonik olmayan düzlemsel hücre polaritesi (PCP) yolu ve kanonik olmayan Wnt/ kalsiyum yolu.

2.6.1. Wnt/ β -katenin Yolağı

Kanonik Wnt yolu olarak da bilinen Wnt / β -katenin sinyalleşmesinin yapısının üç ana bileşeni zar proteinleri, bozunma (imha) kompleksi ve β -katenin proteini olarak gruplandırılabilir. Hücre zarında, Wnt proteinleri için lokalize Frizzled (Fzd) reseptörleri vardır. Fzd reseptörlerinin yanında, lipoprotein reseptör ilişkili protein 5 ve 6 (Lrp5 ve Lrp6) genleri tarafından kodlanan düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör ilişkili protein grubuna (LRP) ait lokalize ligandlar bulunur (98). İmha kompleksi, adenomatöz polipoz koli (APC), aksin, glikojen sentaz kinaz 3 (Gsk3), kazein kinaz 1 α (CK1 α) ve Disheveled (Dvl) proteinlerinden oluşur (99). Wnt /-katenin yolu aktif olmadığında, imha kompleksi ubiquitin parçacıklarının

eklendiği β -katenin proteini etrafında oluşur. Bu süreçte axin ve APC, CK1 α ve Gsk3 kinazlar tarafından fosforile edilir. Wnt / β -katenin yolağının aktif olduğu durumda, CK1 α ve Disheveled'den Gsk3, fosforilasyon reaksiyonunun katalizasyonu için β katenin'e bağlanır (99).

Wnt / β -katenin sinyalinin deregölasyonu, dejeneratif hastalıklar, metabolik hastalıklar ve kanser gibi çok çeşitli hastalıklarda görülür (100 , 101). Wnt / β -katenin yolu, embriyonik gelişimde, dokunun kendini yenilemesinde ve çeşitli hastalıklarda önemli rol oynar . Wnt ligandlarının yokluğunda ("kapalı" durum), β -katenin APC / Axin / GSK-3 β kompleksi tarafından parçalanır . Wnt ligandlarının Frizzled transmembran reseptörlerine ve bunların LRP ortak reseptörlerine ("açık" durum) bağlanması, GSK-3 β 'nin etkisizleşmesine ve sitoplazmada β -katenin birikmesine neden olur. Daha sonra, yüksek sitozolik β -katenin, çekirdeğe yer değiştirebilir, burada T hücre faktörü / lenfosit arttırıcı faktör (Tcf / LEF)transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek, Wnt-yanıt veren genlerin transkripsiyonel aktivasyonuna yol açar. Birçok Wnt'ye cevap veren gen, hücre proliferasyonu, göç ve istilada kritik rol oynar (102). Bu süreçler endometrioziste de yaygındır (1).



Şekil 2. Wnt / β -catenin sinyal yolu.

A) Wnt1, Wnt3a ve Wnt8 ("kapalı" durum) gibi Wnt ligandlarının yokluğunda, β -katenin APC / Axin / GSK-3 β kompleksi tarafından bozulur. B) Wnt ligandlarının Frizzled transmembran reseptörlerine ve bunların LRP ko-reseptörlerine ("açık" durumu) bağlanması, GSK-3 β 'nin inaktivasyonuna ve sitoplazmada β -katenin birikmesine yol açar. Daha sonra, yüksek sitozolik β -katenin, çekirdeğe yer değiştirebilir ve burada Tcf / LEF transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girerek Wnt'ye yanıt veren genlerin transkripsiyonel aktivasyonuna yol açar.

2.6.2. Wnt/PCP Yolağı

Wnt düzlemsel hücre polaritesi PCP sinyal yolunun yapısı ayrıca transmembran reseptörleri Fzd ve Wnt proteinlerine dayanmaktadır. Bununla birlikte, β -katenin'in katılımı yoktur. Temel PCP mekanizması altı proteinden oluşur (103). Tüm bu moleküller, son sitoplazmik efektör molekülleri aktive eder: küçük Rho GTPazlar (RhoA), c-jun N-terminal kinaz (jNK) ve nemo benzeri kinaz (NLK) (104, 105). Düzlemsel hücre polaritesi (PCP), doku modelleme organizasyonunu ve morfogenezi yönlendiren bir yoldur. Bu, epitel düzleminde polarizasyonu ve apikal-bazal polarizasyonu ile tanımlanan epitelinin önemli bir özelliğidir. Aynı yol, dokulardaki hücre göçü sırasında epitelyal olmayan hücrelerde de polariteyi düzenleyebilir (106).

2.6.3. Wnt/Ca²⁺ Yolağı

Kanonikal olmayan kalsiyuma bağımlı Wnt yolu, β -kateninden bağımsızdır, ancak Fzd ve Wnt proteinleri, sinyalizasyonunda güçlü bir şekilde rol oynar. Moleküler önemi, hücre içi kalsiyum birikimi ile gen ekspresyonunu kontrol etmektir. Wnt kalsiyum sinyal yolağında, Fzd proteini trimerik G protein ile bağlanır. Trimerik G proteini sinyali fosfolipaz C'ye (PLC) ve Wnt kalsiyum yolunun ana bileşenleri olan 1,2 diaçilgliserol (DAG), inositol 1,4, 5- trifosfat (IP3) ve kalsiyum kalmodulin bağımlı protein kinaz II (CaMKII) gibi kalsiyumla ilgili proteinlere aktarır. Kalsiyum Wnt yolunun moleküler mekanizması, PCP yolağından biraz farklıdır, çünkü kilit yönü hücre içi kalsiyum seviyesinin düzenlenmesidir. IP3 tarafından mobilize edilen kalsiyum iyonları, sitoplazmik protein T hücreleri aktive eden nükleer faktörü (Nuclear factor of activated T-cells, NFAT) aktive eden protein

fosfataz kalsinurini (CaN) aktive edebilir. Aktive edilmiş NFAT, nöronlarda, kalp ve iskelet kası hücrelerinde ve lenfositlerdeki proinflamatuvar genlerde çeşitli genlerin ekspresyonunu artırabilir (107, 108).

2.7. Tinzaparin Sodyum

2.7.1. Tinzaparin Sodyum Antitrombotik Etkisi ve Farmokinetiği

Flavobacterium heparinum heparinazın kullanılması yoluyla domuz bağırsak mukozasından unfraksiyone heparinin (UFH) enzimatik depolimerizasyonu, 6500 Da'lık (5500 ila 7500 Da arasında değişen) ortalama moleküler kütlesi olan bir düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) olan tinzaparin sodyum (Innohep) üretir (109).

Tinzaparin, kan fibrin pıhtıları oluşumu dahil pıhtılaşmaya neden olan reaksiyonları inhibe ederek etki eder (110). UFH ve DMAH'lerin antikoagülan aktivitesinin bir kısmı faktör-Xa ve faktör-IIa'nın (trombin) inaktivasyonunu hızlandıran antitrombine bağlanma ve konformasyonel bir değişikliğe neden olma yetenekleri ile ilgilidir (111). Tinzaparinin antitrombotik etkilerini tanımlamak için kullanılan birincil biyolojik belirteç, anti-faktör Xa (anti-Xa) aktivitesidir (112). UFH ile karşılaştırıldığında, DMAH'ler azalmış anti faktör-IIa aktivitesine ve artmış anti faktör-Xa aktivitesine sahiptir. Artan kanıtlar gösteriyor ki, tinzaparin ve diğer DMAH'lerin antirombotik aktiviteleri anti-faktör Xa (anti-Xa) aktivitesine ek olarak, vasküler endotelyumdan doku faktör yolu inhibitörünün (Tissue factor pathway inhibitor, TFPI) salınmasıyla da ilişkilidir (113). TFPI, antikoagülan etkisini faktör-Xa aktivitesini inhibe ederek ve doku faktörü/ faktör 7a (tissue factor, TF / faktör-VIIa) kompleksinin aktivitesini azaltarak gösterir (114). Tinzaparin doku faktörü yolu inhibitörünün (TFPI) endotelden salımını uyarır. TFPI nin faktör Xa'ya bağlanması ile oluşan kompleks tromboplastin faktör VIIa kompleksine bağlanır ve sonuçta , koagülasyonun ekstrinsik yolağının inaktivasyonuna yol açar (110).

Tinzaparinin subkutan uygulamasından sonra, mutlak biyoyararlanım, anti-faktör Xa aktivitesi temelinde % 86,7'dir. Tepe plazma anti-faktör Xa aktivitesine dört ila beş saat sonra ulaşılır; anti-faktör Xa aktivitesinin antifaktör IIa aktivitesine oranı ortalama 1,9-2,8: 1'dir. Bu oran UFH'deki orandan daha yüksektir (UFH de anti faktör Xa / antifaktör II a oranı yaklaşık 1,2: 1). Tinzaparin'in dağılım hacmi 3.1–5.0 L'dir ve 3,9 saatlik bir eliminasyon yarı ömrü vardır. Tinzaparin'in yarı ömrü

daha UFH'den daha uzundur. Bu daha uzun yarı ömür , daha yüksek biyoyararlanım ve plazma proteinlerine daha az bağlanma ile birlikte,günde bir kez uygulanmaya izin verir. UFH'den farklı olarak tinzaparin öncelikle doymamış bir renal mekanizma yoluyla elimine edilir ve klirens hızı dozdan bağımsızdır (110).

2.7.2. Klinik Kullanım Alanları

Venöz tromboembolizm tedavisi ve profilaksisi,akut koroner sendromlar ve akut iskemik ataklar, obez hastalar vücut kitle indexi (body mass index, BMI) 26–61 kg/m² olan ,yaşlı ve böbrek fonksiyonları iyi olmayan hastalar, hemodiyaliz hastaları gebeler ve kanser hastaları klinik kullanımları arasındadır.

Tinzaparin sodyum, antikoagülan yeteneklerinin yanı sıra, çeşitli prelinik modellerde gösterildiği gibi, birçok de novo antikanser etkisine sahiptir (115).

2.8. Löprolid Asetat (Leuprolide Asetat)

Löprolid (leuprolide) asetat, prostat kanseri, endometriozis tedavisi, uterin fibroidleri, santral puberte prekoks ve in vitro fertilizasyon teknikleri gibi çeşitli klinik uygulamalar için kullanılan güçlü bir gonadotropin salgılayıcı hormon reseptörü (gonadotropin releasing hormone receptor, GnRHR) agonisti olan sentetik bir nonapeptiddir. Löprolid asetat, cerrahi kastrasyon ve östrojen tedavisine alternatif olarak prostat kanserinin tedavisi için 1985 yılında piyasaya sürüldü (116, 117). Daha sonra, son 20 yılda löprolid asetat, endometriozis ,uterin fibroidler ve santral erken ergenlik (central precocious puberty, CPP) tedavisi için ve in vitro fertilizasyon (in vitro fertilization, IVF) teknikleri kullanımı için köklü bir ilaç haline gelmiştir. Ayrıca bu ilaç artık Alzheimer hastalığı (alzheimer's disease, AD), polikistik yumurtalık sendromu (polycystic ovary sendrome, PCOS), fonksiyonel bağırsak hastalığı, boy kısalığı, premenstrüel sendrom (premenstrual sendrome, PMS) ve hatta alternatif olarak doğum kontrolü için potansiyel bir terapötik olarak araştırılmaktadır (13).

2.8.1. Löprolid Asetat (Leuprolid asetat) Etki Mekanizması Ve Farmakolojisi

Gonadotropin salgılayıcı hormon (gonadotropin releasing hormone, GnRH) ve analogları hipofiz bezi üzerindeki gonadotropin reseptörlerine yüksek afinite

göstererek etki ederler (118). GnRH salımının genliği (pulsatif salınım) ve frekansı doğrudan luteinize hormonun (luteinizing hormone, LH) ve folikül stimule edici hormonun (follicle stimulating hormone, FSH) üretimini düzenler (119). Pulsatil olmayan GnRH uygulaması veya uzun süreli GnRH agonistleri kullanımı gonadotropin salgılayıcı hormon reseptörünü (gonadotropin releasing hormone receptor, GnRHR) duyarsızlaştırır, böylece hipofiz tarafından LH ve FSH salınımının azaltılması / inhibe edilmesi gerçekleşir (120). Bir agonist olarak tanımlanan löprolid asetat, sürekli olarak terapötik dozlar içinde uygulandığında gonadotropin sekresyon inhibitörü olarak fonksiyon gösterir. Hem hayvan hem insan çalışmaları, löprolid asetatın ilk olarak hipofiz salgısında ve serum FSH ve LH seviyelerinde keskin bir artışa ve daha sonrasında tedavinin ilk 3 gün içinde serum seks steroidlerinde artışa neden olarak çalıştığını göstermektedir. Bununla birlikte, hipofizin GnRH agonistlerinin kronik uygulamasıyla sürekli uyarılması hipofiz GnRH reseptörlerinin "aşağı regülasyonu" nedeniyle hipofiz-gonadal eksenin inhibisyonuna, hipofiz gonadotroflarının duyarsızlaşmasına ve dolaşımdaki LH, FSH ve seks steroid seviyelerinin 2-4 hafta içinde baskılanmasına neden olur (121). GnRH ve GnRH analoglarının uzun süre kullanımına bağlı oluşan genel yan etkiler menopoz ve andropoz sırasında yaşananlar ile karşılaştırılabilir (122). Bu semptomlar mide bulantısı, amenore, kemik mineral yoğunluğundaki (bone mineral density, BMD) değişiklikler, libido azalması, depresyon, sıcak basması / terleme, uykusuzluk, baş ağrısı, kilo alımı ve iktidarsızlıktır. Bahsedilen bu genel yan etkilerden en büyük risk löprolid asetat kullanımı ile ortaya çıkan potansiyel BMD kaybıdır (123).

Löprolid asetatın birçok farklı dozda ve formda uygulamaları mevcuttur. Bu süper agonist, GnRH reseptörler için artan afinitesi nedeniyle doğal GnRH peptidinden daha güçlüdür ve daha uzun yarı ömre sahiptir (~ 3 saate karşılık 3 - 4 dk endojen GnRH ile karşılaştırıldığında) (124). Biyoyararlanımı hem intravenöz hem de deri altı kullanımı için benzerdir. Son olarak, resmi bir çalışma yapılmamasına rağmen, hiçbir ilaç-ilaç etkileşimi olmadığı speküle edilmektedir (125).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yürütülmüş olup çalışma öncesinde Sivas Cumhuriyet Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulundan onay alınmıştır (Karar numarası:307 Onay Tarihi: 03.09.2019). Ek olarak bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje ID: T879). Çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Üreme Merkezinden temin edilen, toplam 40 adet genç, yetişkin, 20-25 gr ağırlığında fareler kullanıldı. Yaşam ortamı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi hayvan laboratuvarında 21 ± 2 °C derecede, ortam nemlilik % 60 ± 5 oranında, gün ışığı 12 saat gündüz, 12 saat gece şeklinde düzenlendi. Hayvanlara istedikleri kadar fare yemi ve istedikleri kadar su verildi. Ortam koşulları günlük olarak kontrol edildi. Fareler haftalık olarak tartıldı ve genel sağlık kontrolü yapıldı. Bu çalışmadaki tüm deneyler, Cumhuriyet Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Kılavuzuna göre yapıldı.

Biz bu çalışmada literatürde en çok tercih edilen, Vernon ve Wilson tarafından tarif edilen, uterusun periton boşluğuna doku ototransplantasyonu sonucu indüklenen endometriosisiz modelini kullandık (11).

3.1. Hayvan Deneylerinin Yapılması

3.1.1. Birinci Laparotomi

Tüm farelere, 1 mL ketamin (50 mg / mL, Ketalar1; Eczacıbaşı Warner-Lambert, İstanbul, Türkiye) ve 1 mL ksilazin (20 mg / mL, (Rompun1, Bayer, İstanbul, Türkiye) kombinasyonunun intramüsküler uygulamasıyla anestezi uygulandı. Deneysel prosedür için, fareler sırtüstü yatırıldı ve dezenfeksiyon için karınlarına iyot uygulandı. Bir bisturi kullanılarak 2 cm'lik bir kesi yapıldı. Deri altı ve kas tabakaları ayrıldı ve karın boşluğu açıldı. Sağ uterus boynuzu bağlandı ve rezeke edildi. 15 mm'lik bir doku parçası microscissors kullanılarak kesildi. Bu bölüm saline yerleştirildi, uzunlamasına açıldı ve endometriyum tabakası miyometriyumdan ayrıldı. Endometriyumun kırılmış parçası, serozal yüzey yerleştirilip sabitlenerek USP 4/0 poliglaktin suture kullanılarak bir damarın hemen yanından (Lactasorb PGLA®, Orhan Boz, Türkiye) karın duvarının iç yüzeyine

nakledildi. Abdomen kas tabakaları USP 3/0 poliglaktin sütürler (Lactasorb PGLA®, Orhan Boz, Türkiye) kullanılarak kapatıldı.

1. laparotomi sonrası fareler ilaç tedavisi için her grupta 8 adet olmak üzere 5 gruba ayrıldı:

1. Grup: kontrol grubu, ilaç yok

2. Grup: Pr-löprolid asetat grubu (profilaksi grubu), 100 mikrogram/gün löprolid asetat (KT Lucrin 5 mg /ml Abb-vie Türkiye) subkutan dozunda post op 24. saatte başlandı. 14 gün boyunca aynı dozda uygulandı.

3. Grup: Pr-tinzaparin grubu (profilaksi grubu), tinzaparin sodyum (Innohep 10000 IU 0.5 ml ABDIIBRAHİM Türkiye) 10 mg/kg subkutan dozunda post op 24. saatte başlandı. 14 gün boyunca aynı dozda uygulandı.

4. Grup: Tr-löprolid asetat grubu (tedavi grubu), 100 mikrogram/gün subkutan dozunda postop 8. gün vermeye başlandı. Post op 14. güne kadar aynı dozda uygulandı.

5. Grup: Tr-tinzaparin grubu (tedavi grubu), tinzaparin 10 mg/kg subkutan postop 8. gün başlandı. Post op 14. güne kadar aynı dozda uygulandı

3.1.2. İkinci Laparotomi

Farelerin 14 gün boyunca izlemi yapıldı. Ardından post op 14 günde eksangiunasyon yöntemi ile ötanazi sağlandı ve 2. laparotomiye geçildi. Endometriotik odaklar eksize edildi. Elde edilen dokular, daha önceden steril edilmiş ve etiketlenmiş 1.5 mL'lik eppendorf tüpe alındı ve üzerlerine 1 mL Ribo Saver (Gene All, Seoul, Korea) çözeltisi eklendi. Total RNA izolasyonu yapıncaya kadar -80 °C de saklandı.

3.2. Total RNA İzolasyonu

Total RNA izolasyonu için GeneAll® Hybrid-R™ Kit kullanıldı (GeneAll® Hybrid-R™ - Seoul, Korea. **Cat. No. :** 305-101- **Lot. No. :** 30519L09056). Çalışmaya başlamadan önce RNA izolasyonunda kullanılacak laboratuvar ekipmanları otoklavlanıp sterilize edildi. Tüm örnekler etiketlendi. -80 °C de eppendorf tüp içerisinde bulunan doku örnekleri oda ısısında çözündürüldü,

RNAlater (GeneAll RiboSaver, Seoul, Korea. **Cat. No. :** 351-001- **Lot. No. :** 35119K20013) çözeltisi uzaklaştırıldı. Dokular steril lam üzerinde bistüri ile küçük parçalara ayrıldı, etiketlenmiş temiz ependorf tüple içine alındı. Üzerine 1mL Riboex™ solüsyonu eklendi. (100 mg doku için 1mL Riboex™) 5 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Manyetik bilye kullanılarak mekanik homejenizasyon ile fiziksel parçalama işlemi tamamlandı. Her tüpe 200 µL kloroform eklendi. 15 saniye vorteksenerek 2 dk oda ısısında bekletildi. 12000 g de 15 dk 4°C’de santrifüj edildi. Süpernatant steril yeni bir tüp içerisine alındı, üzerinde süpernatantın hacmi kadar RBI tamponu eklenerek vortekslendi. Elde edilen 700 µL kadar karışım, kit içerisinde bulunan kolon tüplere aktarıldı ve 10000 g de 30 sn santrifüj edilip alttaki toplama tüpü atıldı. Kolon ise yeni temiz bir toplama tüpü içine yerleştirildi. Geri kalan örnekler için aynı işlemler gerçekleştirildi. Kolon üzerine 500 µL SWI çözeltisi eklendi. 10000 g de 30 sn oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Toplama tüpü atıldı, kolon yeni bir toplama tüpü üzerine yerleştirildi. Kolon içine 500 µL RNW çözeltisi eklendi. 10000 g de 30 sn oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Alttaki toplama tüpü içindeki faz dökülerek, kolon içinde kalan sıvının tamamen uzaklaştırılması için tekrar 1 dk 10000g de santrifüj yapıldı. Toplama tüpleri atıldı, kolonlar steril 1,5 mL lik ependorf tüplere transfer edilerek üzerine 100 µL of RNase-free water eklendi. 1 dk. oda sıcaklığında bekletildi. Çalışmamızda daha sonra gerekli olan tüm mRNA’ların eldesi için 10000 g de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj yapıldı. Total RNA örnekleri bir sonraki adım için -80°C’ ye kaldırılarak saklandı.

3.3. Total RNA Çözeltisinin Kalite Kontrolü

Elde edilen örneklerin µL`sinde kaç nanogram RNA olduğunu hesaplamak için ve saflık kontrolü yapmak için spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirildi (Denovix DS,) ve konsantrasyon tayinleri yapıldı. Yaklaşık olarak her bir örnek için 20-40 ng aralığında total RNA olduğu görüldü. RNA saflığını doğrulamak için A260/280 oranı kullanıldı. Sonraki basamaklarda ekspresyon analizleri için kullanılacak nitelikte kalitede saf RNA’ ların oranınının 1.8 -2.2 arasında olmasına dikkat edildi.



Resim 1. Denovix DS-11+ Microvolüm Spectrophotometer

3.4. cDNA Eldesi

cDNA eldesi için WizScript™ cDNA Synthesis Kit (South Korea) kullanıldı. Bu kit içerisinde yer alan bileşenler aşağıda belirtildi (Tablo 2).

Tablo 2. WizScript™ cDNA Synthesis Kiti bileşenleri ve reaksiyon ortamında bulunması gereken çözelti miktarları.

Bileşenler		Hacim
10X Reaction Buffer		2 µL
20X dNTP mix		1 µL
Random hexamer		2 µL
WizScript™ RTase		1 µL
RNase Inhibitor		0.5 µL
RNase free Water		3.5 µL
Total		10 µL

Her bir örnek için yukarıdaki ölçülerde hazırlanan X Reverse transcriptaz master mix tüm örneklerle yetecek şekilde stok halinde hazırlandı. Sonra stok master mix, her bir örneğin konulacağı mikro tüplere 10 µL olacak şekilde dağıtıldı. Önceden elde edilen RNA örneklerinden de, etiketlenmiş mikro tüplere uygun olacak şekilde, 10 µL total RNA çözeltisi eklenerek pipetleme yapıldı. Bileşenlerin daha iyi karışması ve hava kabarcıklarını engellemek için mikro santrifüjde hızlıca bir spin

yapıldı. cDNA sentezi için gerekli bileşenler mikrotüpler içinde birleştirildikten sonra, revers transkripsiyonun gerçekleşmesi için sıcaklık koşulları ve süreler aşağıdaki gibi olacak şekilde reaksiyon ayarlandı (Tablo 3).

Tablo 3. Reverz transkripsiyon sıcaklık koşulları ve bekletme süreleri

	Adım 1	Adım 2	Adım 3
Sıcaklık (°C)	25	37	85
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk

Reaksiyon tamamlandıktan sonra elde edilen cDNA' lar gen ekspresyonu analizlerinin yapılması için Real-Time qPCR de kullanılmak üzere -20 °C ye kaldırıldı.

3.5. Gen Ekspresyon Analizleri

Gen ekspresyon analizleri için Applied Biosystem Step One Plus real time PCR (USA) cihazı kullanıldı. Real Time qPCR aşamasında GeneAll Real Amp TM SYBR master mix (Seoul, Korea) kullanıldı. Sentezlenen cDNA örneklerinin kantitatif analizi için SYBR Green ve pasif referans boyası ROX kullanılarak, boyaların floresan ışığa özelliklerinden yararlanarak real-time PCR gerçekleştirildi. Real Time qPCR aşamasında reaksiyon ortamı toplamda 10 µL hacimde hazırlanmış olup, bileşenleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Real Time qPCR için kullanılan içerik bilgisi

Bileşenler	Miktar
Master mix (2X)	5 µL
ROX (50X)	0,2 µL
İleri yönlü primer (10pmol)	0,4 µL
Geri yönlü primer(10pmol)	0,4 µL
Nuclease free water	3 µL
Kalıp DNA(cDNA)	1 µL
Toplam hacim	10 µL

Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan Real Time PCR mixi Applied Biosystem qPCR 96 well mikroparka'ya dağıtıldı ve dikkatlice pipetlendi. Mikroparka üzeri optik yapışkan film ile kaplandı. Mikro plaka Real time PCR cihazına yerleştirildi ve daha sonra real-time PCR cihazında reaksiyonlar için sıcaklık koşulları ayarlandı. Her bir gen bölgesi için Real time PCR aşamasındaki sıcaklık koşulları, primerlerin taşıdığı N'lu organik bazların miktarına ve çeşidine göre ayarlanmakta olup, aşağıdaki gibi düzenlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Real Time PCR cihazı gen ekspresyonu için sıcaklık koşulları ve döngü sayıları.

Başlangıç Denatürasyonu	95°C	10 dk
Denatürasyon	95°C	15 sn
Bağlanma / Uzama	60 °C	1 dk
Erime		

Bu çalışma kapsamında gen ekspresyonları (ifadeleri) araştırılan gen bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan primerlere ait bilgiler aşağıda verildi (Tablo 6). Real Time qPCR aşamasında house keeping gen olarak ACTB geni primerleri kullanıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra veriler kaydedilerek analizler gerçekleştirildi.

Tablo 6. Ekspresyon Analizi İçin Kullanılan Primer Gen Bilgileri

Ekspresyon analizi için kullanılan primer bilgileri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Primer Adı	Primer Dizisi	Sentezleyen Firma
LC3BII-F	TTATAGAGCGATACAAGGGGGAG	Oligomer
LC3BII-R	CGCCGCTCTGATTATCTTGATGAG	Oligomer
Beclin1-F	ATGGAGGGGTCTAAGGCGTC	Oligomer
Beclin1-R	TCCTCTCTGAGTTAGCCTCT	Oligomer
ATG5-F	AGCCAGGTGATGATTCACGG	Oligomer
ATG5-R	GGCTGGGGGACAATGCTAA	Oligomer
ATG12-F?	TCCCCGGAACGAGGAACTC	Oligomer
ATG12-R?	TTCGCTCCACAGCCCATTTC	Oligomer
Beclin2-F	TCAGCCGGAGACTCAAGGT	Oligomer
Beclin2-R	CACAGCGGGTGATCCACATC	Oligomer
HIF1a-F	ACCTTCATCGGAAACTCCAAAG	Oligomer
HIF1a-R	ACTGTTAGGCTCAGGTGAACT	Oligomer
CateninB-F	ATGGAGCCGGACAGAAAAGC	Oligomer
CateninB-R	CTTGCCACTCAGGGAAGGA	Oligomer
GSK3b-F	TGGCAGCAAGGTAACCACAG	Oligomer
GSK3b-R	CGGTTCTTAAATCGCTTGTCCTG	Oligomer
TCF-F	CGCACCAGCAGTACAGATGAG	Oligomer
TCF-R	CAGCTTGGTCTGCGCCTTA	Oligomer
WNT7a-F	TCAGTTTCAGTTCGAAATGGC	Oligomer
WNT7a-R	CCCGACTCCCCACTTTGAG	Oligomer
WNT10a-F	GCTCAACGCCAACACAGTG	Oligomer
WNT10a-R	CGAAAACCTCGGCTGAAGATG	Oligomer
WNT2-F	CTCGGTGGAATCTGGCTCTG	Oligomer
WNT2-R	CACATTGTACACATCACCTT	Oligomer
ACTB-F	GGCTGTATTCCCCTCCATCG	Oligomer
ACTB-R	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT	Oligomer

3.6. Gen Ekspresyonları İçin Realatif Kantitasyonun Hesaplanması

Her bir gen bölgesi için mesajcı RNA (haberci, mRNA) ekspresyonu miktarlarının belirlenmesinde, *Aktin Beta* (ACTB) referans geni ekspresyonu referans olarak kullanıldı. Mesajcı RNA ekspresyonunun kantitasyonları için ACTB transkripti referans olarak kullanılıp kontrol grubuna göre normalize edildi. Realatif kantifikasyon hesaplanmasında “Delta delta Ct Yöntemi ($\Delta\Delta Ct$)” kullanıldı. $\Delta\Delta Ct$ yönteminin hesaplaması aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi.

1. Hem hedef grupta (ilaç uygulanan gruplar) hem de referans grupta (kontrol grubu) her bir örneğin hem hedef mRNA (araştırılan genler) hem de referans mRNA (house keeping gen; ACTB) için Real Time PCR

sonucunda Ct değerleri elde edildi. Her bir örnek 3 tekrarlı olarak yapıldığından her bir örnek için her bir gen bölgesine ilişkin 3 farklı Ct değeri bulundu. Teknik tekrarlı çalışmalarda Ct değerlerinin ortalaması alınarak hesaplamaya devam edildi. (Her bir örnek için Ortalama: mean Ct hesaplanmış oldu).

2. Hedef grupta hedef mRNA Ct değerinden, referans RNA Ct değeri çıkarılarak hedef grup Δ Ct değerleri elde edildi.
3. Referans grupta hedef mRNA Ct değerinden referans mRNA Ct değeri çıkarılarak referans grup Δ Ct değerleri elde edildi.
4. Hedef grup Δ Ct değerlerinden referans grup Δ Ct değerleri çıkarılarak $\Delta\Delta$ Ct değerleri elde edildi.
5. $\Delta\Delta$ Ct değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ şeklinde işleme alınarak, ekspresyon seviyesinin kat değişimi (Fold Change) hesaplanması yapıldı.
6. Fold change değerinin 1'in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu mRNA ekspresyonunun, referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmaktadır. Fold change değerinin 1'in altında çıkması durumunda ise hedef grubu mRNA ekspresyonunun, referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlanmaktadır.

3.7. İstatiksel Analiz

Tüm veriler normal dağılımdadır ve istatistiksel analiz GraphPad Prism 5 kullanılarak gerçekleştirilmiştir; sonuçlar ortalama \pm SEM olarak ifade edildi. Gen ifadelenme katsayılarının istatistiksel karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin $<0,05$ olması anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu.

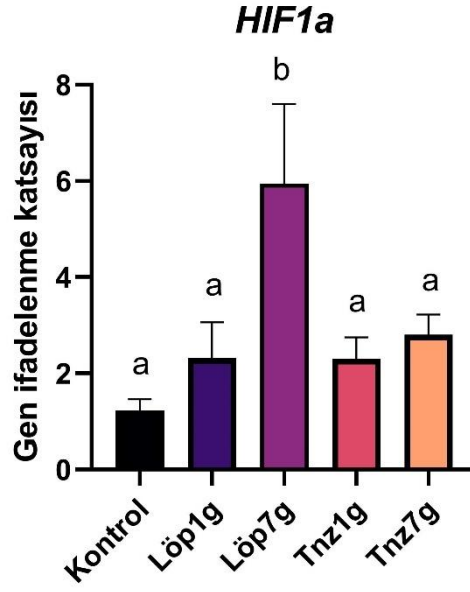
4. BULGULAR

Fare endometriozis modelinde tinzaparin sodyum ve löprolid asetat ilaçlarının hem profilaktik hem de tedavi amaçlı etkilerinin WNT/beta-katenin yolağı temelli olarak incelenmesinin amaçlandığı bu çalışma kapsamında toplamda 40 adet fare kullanılmıştır. Fareler körlemesine her grupta 8 adet olmak üzere 5 gruba ayrıldı. 40 farenin hepsinde endometriotik odaklar cerrahi olarak oluşturuldu. Profilaksi gruplarına post op 24. saatte ilaç verilmeye başlandı ve 14 gün boyunca devam edildi. Tedavi gruplarına ise post op 8. günde tedaviye başlandı ve 2. operasyona kadar uygulamaya devam edildi. Post operatif dönemde herhangi bir komplikasyon izlenmedi.

Bu tez kapsamında endometriosiz hastalığı oluşturulmuş kontrol ve endometriotik odakları için ilaç uygulaması yapılan fare gruplarının uygulanan ilaçlar sonucunda 12 farklı genler üzerindeki gen ifadenme (ekspresyon) katsayısına olan etkileri gösterilmiştir.

GEN İFADE KATSAYILARI

Şekil 3'de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin 7. gün (tnz7g) gruplarının hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha, *HIF1a*) gen ifadenme katsayıları gösterildi. Grupların hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha, *HIF1a*) gen ifadenme katsayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). Löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubunun hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha, *HIF1a*) gen ifadenme katsayısı diğer kontrol, löprolid asetat 1.gün (löp1g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin 7. gün (tnz7g) gruplarının katsayılarından anlamlı olarak yüksek bulundu. (5,94±1,66 katsayısına karşı sırasıyla 1,23±0,22, 2,31±0,75, 2,30±0,45 ve 2,80±0,42 katsayıları). ($p < 0,05$).

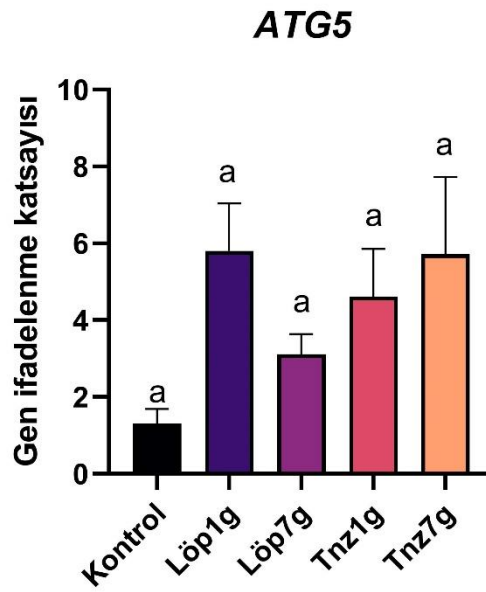


Şekil 3. HIF1a

Şekil 3. Kontrol, löprolid asetat 1.gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha, *HIF1a*) gen ifadelenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadelenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadelenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 4’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 5, *ATG5*) gen ifadelenme katsayıları gösterildi. Çalışma gruplarının otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 5, *ATG5*) gen ifadelenme katsayıları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında anlamlı fark bulunmadı ancak tüm çalışma gruplarının gen ifadelenme katsayıları kontrol grubundan daha yüksek olarak bulundu. ($p > 0,05$). Löprolid 1. gün (löp1g) grubunun otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 5, *ATG5*) gen ifade katsayısı sırasıyla kontrol löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz 1g) ve tinzaparin 7. gün (tnz 7g) gruplarının katsayıları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en yüksek olarak bulundu. ($5,80 \pm 1,2$, katsayı ile $1,30 \pm 0,37$,

3,11±0,52, 4,61±1,24 ve 5,72±2,00 katsayıları). (p>0,05). Löprolid 7 gün (löp7g) grubunun otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 5 , *ATG5*) gen ifadenme katsayısı çalışma grupları içerisinde en düşük katsayıya sahip olsa da kontrol gurubundan daha yüksek olarak bulundu (3,11±0,52 değeri ile 1,30,0,37 değeri). (p>0,05). Tinzaparin 7. gün (tnz7g) ile tinzaparin 1. gün (tnz1g) gruplarının *ATG5* gen ifade katsayıları birbirleri ile yakın değerlerde ve istatikel olarak anlamlı olmasa bile kontrol grubunun katsayısından daha yüksek bulundu (5,72±2,00, 4,61±1,24 değerleri ile 1,30±0,37 değeri). (p>0,05).

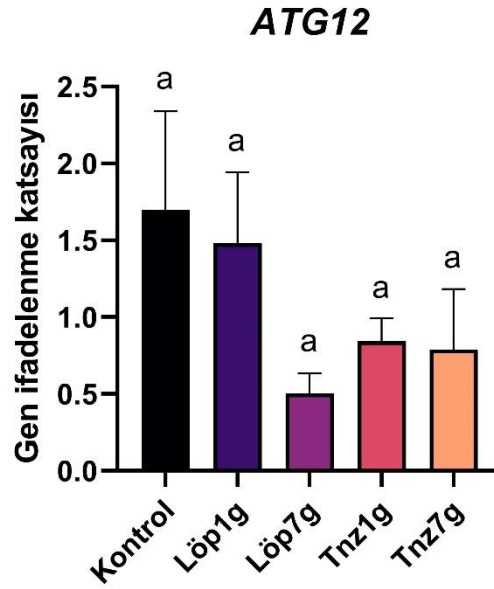


Şekil 4. *ATG5*

Şekil 4. Kontol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 5, *ATG5*) gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 5’de kontol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 12, *ATG12*) gen ifadenme

katsayıları gösterilmiştir. Çalışma grupları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Tüm grupların otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 12 , *ATG12*) gen ifadelenme katsayıları kontrol gurubunun gen ifade katsatısından daha düşük bulundu. Löprolid 1 gün (löp1g) grubunun otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 12 , *ATG12*) gen ifadelenme katsayısı istatistiksel olarak anlamlı olmasa da löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının gen ifadelenme katsayısından daha yüksek bulundu (1,48±0,46 katsayı ile, 0,50±0,13, 0,84±0,15 ve 0,78±0,39 katsayıları).($p>0,05$). Ancak löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubu otafaji ile ilişkili gen (autophagy related 12 , *ATG12*) gen ifadelenme katsayısı kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g) ,tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) grupları içinde en düşük katsayı olarak bulundu.(0,50±0,13 değeri ile 1,69±0,64, 1,48±046, 0,84±0,15 ve 0,78±0,39 değerleri) ($p>0,05$). tinzaparin sodyum1 gün (tnz1g) ile tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının gen ifadelenme katsayıları istatistiksel olarak anlamlı olmasa da birbirlerine yakın değerlerde ancak kontrol grubundan düşük olarak bulundu.(0,84±0,15 ve 0,78±0,39 değerleri ile 1,69±0,64 değeri). ($p>0,05$).

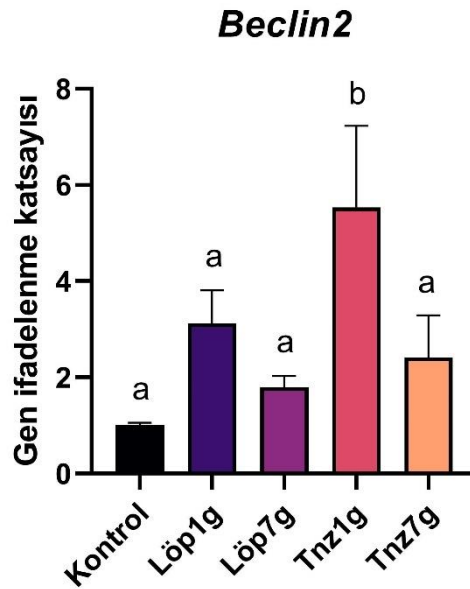


Şekil 5. ATG12

Şekil 5. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz 1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz 7g) gruplarının

otafaji ile ilişkili (autophagy related 12 , *ATG12*) gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

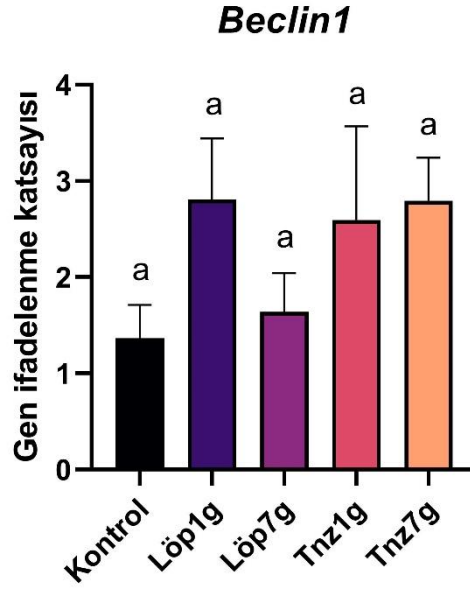
Şekil 6'da kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *Beclin 2* gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. Çalışma gruparı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) grubunun *Beclin2* gen ifadenme katsayısı diğer kontrol , löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının gen ifadenme katsayılarından istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu.($5,53\pm 1,69$ değerleri ile, $1,00\pm 0,04$, $3,12\pm 0,69$, $1,79\pm 0,23$ ve $2,41\pm 0,86$ değerleri) ($p<0,05$). Löprolid 1 gün (löp1g), löprolid 7. gün (löp7g) ve tinzaparin 7.gün (tnz 7g) gen gruplarının *Beclin2* gen ifadenme katsayıları istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubunun gen ifadenme katsayısından yüksek bulundu.($3,12\pm 0,69$, $1,79\pm 0,23$ ve $2,41\pm 0,86$ değerleri ile $1,00\pm 0,04$ değeri).



Şekil 6. Beclin2

Şekil 6. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *Beclin 2* gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 7’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *Beclin 1* gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. Çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. ($p>0,05$). Tüm grupların *Beclin1* gen ifadenme katsayıları istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubundan yüksek bulundu. ($p>0,05$). Löprolid asetat 1. gün (löp1g) grubunun gen ifadenme katsayısı kontrol, löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *Beclin 1* gen ifadenme katsayılarına kıyasla anlamlı olmasa da en yüksek olarak bulundu. (2,80±0,63 değeri ile, 1,36±0,34, 1,63±0,40, 2,59±0,97 ve 2,79±0,44 değerleri) ($p>0,05$). Löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubunun *Beclin 1* gen ifadenme katsayısı anlamlı olmasa da löprolid 1. gün (löp1g), tinzaparin sodyum 1 gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) grupların katsayılarından daha düşük olarak bulundu. (1,63±0,40 değeri ile 2,80±0,63, 2,59±0,97 ve 2,79±0,44 değerleri.) ($p>0,05$). Tinzaparin 7. gün (tnz7g) grubunun *Beclin 1* gen ifadenme katsayısı anlamlı olmasa da löprolid asetat 1. gün (löp1g) grubunun gen ifadenme katsayısına yakın olmasına rağmen ondan daha düşük olarak bulundu (2,79 ±0,44 değeri ile 2,80±0,63). ($p>0,05$). Tinzaparin sodyum 1. (tnz1g) gün grubunun *Beclin 1* gen ifadeelenme katsayısı anlamlı olmasa da kontrol grubundan yüksek ancak tinzaparin sodyum 7 . gün (tnz7g) grubunun gen ifadenme katsayısından düşük bulundu (2,59±0,97 değeri ile ,1,36±0,34 ve 2,79±0,44 değerleri). ($p>0,05$).

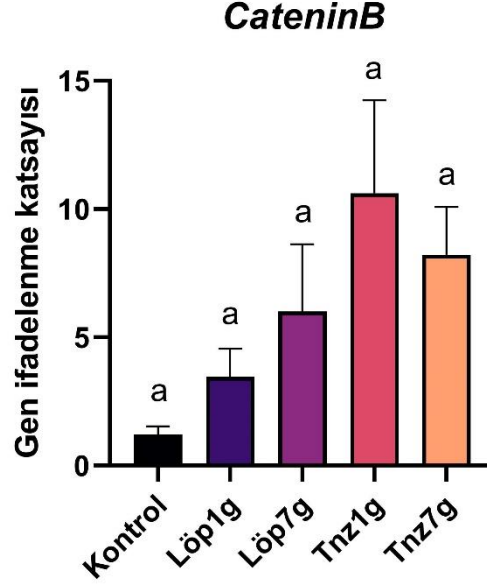


Şekil 7. Beclin1

Şekil 7. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *Beclin 1* gen ifadelenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadelenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadelenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 8’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *beta katenin* (β -catenin, cateninB) gen ifadelenme katsayıları gösterilmiştir. Çalışma grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Bütün grupların gen ifadelenme katsayıları anlamlı olmasa da kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu. ($p>0,05$). Tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) grubunun *beta katenin* (β -catenin, cateninB) gen ifadelenme katsayısı anlamlı olmamasına rağmen kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının *beta katenin* (β -catenin, cateninB) gen ifadelenme katsayısından yüksek bulundu ($10,62 \pm 3,62$ değeri ile, $1,21 \pm 0,32$, $3,45 \pm 1,10$, $6,00 \pm 2,63$ ve $8,21 \pm 1,18$ değerleri) ($p>0,05$). Löprolid asetat 1. gün (löp1g) grubunun *beta katenin* (β -catenin, cateninB) gen ifadelenme sayısı

l6prolid asetat 7. g6n (l6p7g), tinzaparin sodyum 1. g6n (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7 g6n (tnz7g) grupları arasında en d6ş6k gen ifadenme katsayısına sahip olarak bulundu.(3,45±1,10 değeri ile 6,00±2,63, 10,62±3,62 ve 8,21±1,87 değerleri) (p>0,05)

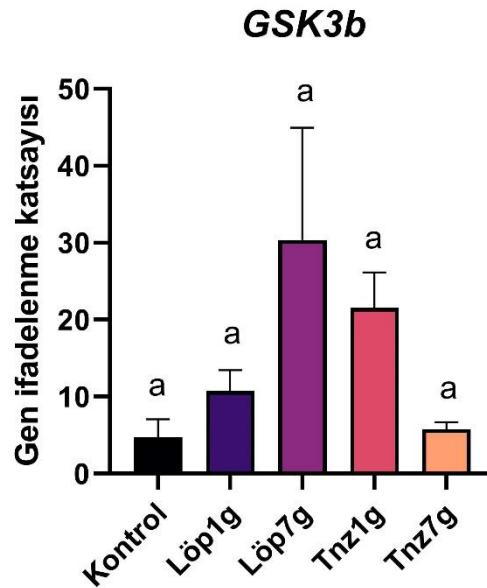


Şekil 8. CateninB

Şekil 8. Kontrol, l6prolid asetat 1. g6n (l6p1g), l6prolid asetat 7. g6n (l6p7g), tinzaparin sodyum 1. g6n (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. g6n (tnz7g) gruplarının *beta katenin* (β -catenin, cateninB) gen ifadenme katsayıları Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 9 'da kontrol, l6prolid asetat 1. g6n (l6p1g), l6prolid asetat 7. g6n (l6p7g), tinzaparin sodyum 1. g6n (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. g6n (tnz7g) gruplarının glikojen sentaz kinaz 3 beta (glycogen synthase kinase 3 beta, *GSK3b*) gen ifadenme katsayıları g6sterilmiştir. Çalışma grupları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında anlamlı fark bulunmadı (p>0,05). B6t6n grupların gen ifadenme katsayıları kontrol grubuna kıyasla y6ksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05). Kontrol, l6prolid asetat 1. g6n (l6p1g), tinzaparin sodyum 1. g6n (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. g6n (tnz7g) gruplarına kıyasla en

yüksek glikojen sentaz kinaz 3 beta (glycogen synthase kinase 3 beta, *GSK3b*) gen ifadelenme katsayısı anlamlı olmasa da löprolid asetat 7 gün (löp7g) grubuna ait olarak bulundu.(4,72±2,33, 10,72±2,69, 21,52±4,63 ve 5,78±0,88 değerlerine karşılık, 30,37±14,57 değeri ile) (p>0,05). Tinzaparin sodyum 1 gün (tnz1g) grubu glikojen sentaz kinaz 3 beta (glycogen synthase kinase 3 beta, *GSK3b*) gen ifadelenme katsayısı löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubundan daha düşük olmasına rağmen anlamlı olmasa da kontrol , löprolid asetat 1 gün (löp1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarından daha fazla gen ifadelenme katsayısına sahip olarak bulundu (21,52±4,63 değeri ile, 4,72±2,33, 10,72±2,69 ve 5,78±0,88 değerleri) (p>0,05). Tinzaparin sodyum 7. gün grubu ise kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen tüm gruplar (löp1g, löp7g ve tnz1g) arasında en düşük gen ifadelenme katsayısına sahip olarak bulundu (5,78±0,88 değeri ile 4,72±2,33, 10,72±2,69, 30,37±14,57 ve 21,52±4,63 değerleri) (p>0,05).

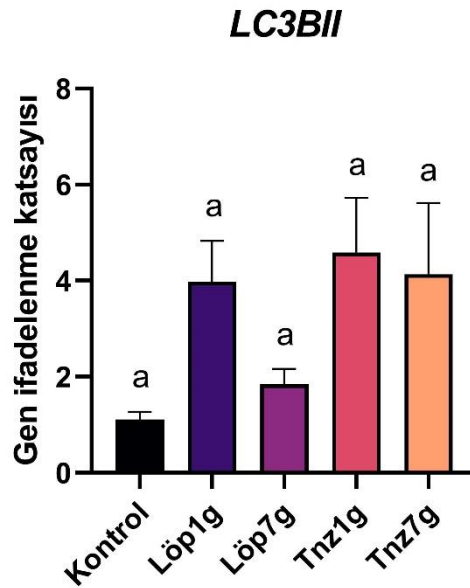


Şekil 9. GSK3b

Şekil 9. Kontol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının glikojen sentaz kinaz 3 beta (glycogen synthase kinase 3 beta, *GSK3b*) gen ifadelenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadelenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadelenme katsayıları

anlamli farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamli farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

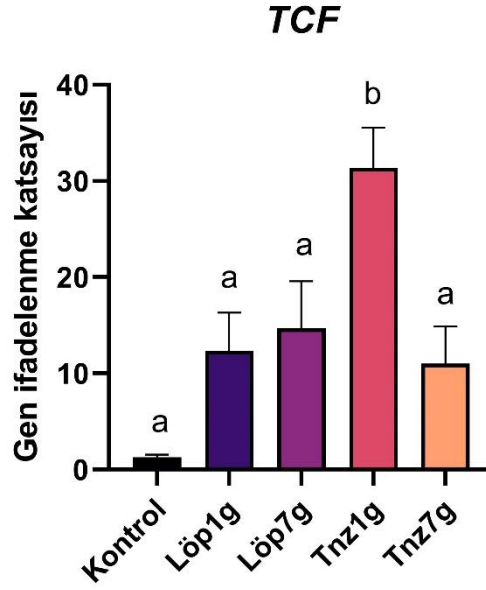
Şekil 10'da kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının ince zincir 3 beta (light chain 3 beta, *LC3BII*) gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. çalışma grupları kıyaslandığında genel olarak aralarında anlamli istatikselsel bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) grubu kontrol, löprolid asetat 1 gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin sodyum 7.gün (tnz7g) gruplarına kıyasla en yüksek ince zincir 3 beta (light chain 3 beta, *LC3BII*) gen ifadenme katsayısına sahip olarak bulundu ($4,58\pm1,13$ değeri ile, $1,10\pm0,16$, $3,97\pm0,85$, $1,84\pm0,31$ ve $4,13\pm1,48$ değeri) ($p>0,05$). Tinzaparin 7. gün (tnz7g) grubu ile löprolid asetat 1 gün (löp1g) gruplarının ince zincir 3 beta (light chain 3 beta, *LC3BII*) gen ifadenme katsayıları anlamli olmasa da birbirlerine benzer ve kontrol grubundan yüksek bulundu ($4,13\pm1,48$ ve $3,97\pm0,85$ değeri ile $1,10\pm0,16$ değeri) ($p>0,05$). Kontrol grubuna göre daha yüksek gen ifadenme katsayısına sahip olmasına rağmen löprolid 7 gün (löp7g) gurubunun ince zincir 3 beta (light chain 3 beta, *LC3BII*) gen ifadenme katsayısı diğer gruplardan çok daha düşük olarak bulundu. ($1,84\pm0,31$ değerine karşılık $1,10\pm0,16$, $3,97\pm0,85$, $4,58\pm1,13$ ve $4,13\pm1,48$ değeri). ($p>0,05$).



Şekil 10. LC3BII

Şekil 10. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının ince zincir 3 beta (light chain 3 beta, *LC3BII*) gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 11'de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. Çalışma grupları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$). Tinzaparin sodyum 1gün (tzn1g) grubunun transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadenme katsayısı diğer kontrol, löprolid asetat 1.gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin 7. gün (tzn7g) gruplarının katsayılarından anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($31,37 \pm 4,17$ değeri ile , $1,28 \pm 0,27$, $12,35 \pm 3,95$, $14,67 \pm 4,92$ ve $11,01 \pm 3,86$ değerleri) ($p < 0,05$). Löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadenme katsayıları istatistiksel olarak anlamlığa ulaşmasa da kontrol grubunun gen ifade katsayısından daha yüksek olarak bulundu ($12,35 \pm 3,95$, $14,67 \pm 4,92$ ve $11,01 \pm 3,86$ değerleri ile $1,28 \pm 0,27$ değeri).

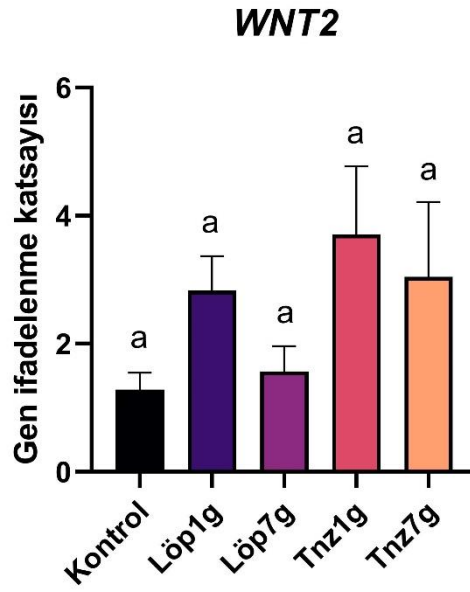


Şekil 11. TCF

Şekil 11. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadelenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadelenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin $<0,05$ olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadelenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 12’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 2 (wingless-type MMTV integration site family member 2, *WNT2*) gen ifadelenme katsayıları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Tüm grupların gen ifadelenme katsayıları kıyaslandığında anlamlı olmasa da kontrol grubundan daha yüksek olduğu bulundu ($p>0,05$). Tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) grubunun kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 2 (wingless-type MMTV integration site family member 2, *WNT2*) gen ifadelenme katsayısının kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının katsayılarından daha yüksek olduğu bulundu ($31,70 \pm 1,06$).

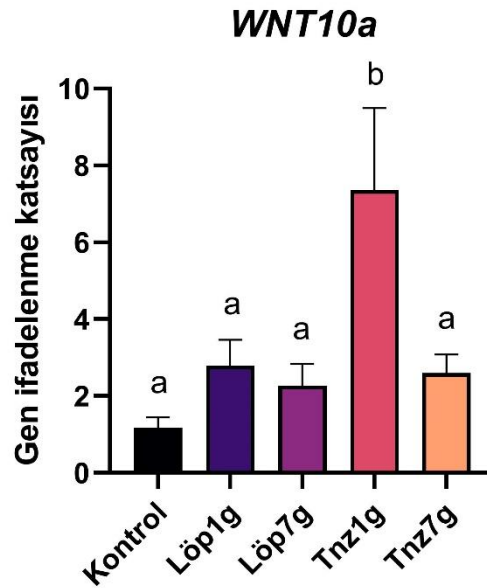
değeri ile ,1,28±0,26, 2,82±0,53, 1,56±0,39 ve 3,04±1,17 değeri) ($p>0,05$). Löprolid asetat 7 gün (löp7g) grubunun kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 2 (wingless- type MMTV integration site family member 2, *WNT2*) gen ifadenme katsayısı anlamlı olmasa da kontrol grunundan yüksek olmasına rağmen löprolid asetat 1. gün (löp1g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) grupları arasında en düşük katsayıya sahip olarak bulundu (1,56±0,39 değeri ile ,1,28±0,26, 2,82±0,53, 3,70±1,06 ve 3,04±1,17 değeri) ($p>0,05$).



Şekil 12. WNT2

Şekil 12. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tnz1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tnz7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 2 (wingless- type MMTV integration site family member 2, *WNT2*) gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin $<0,05$ olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

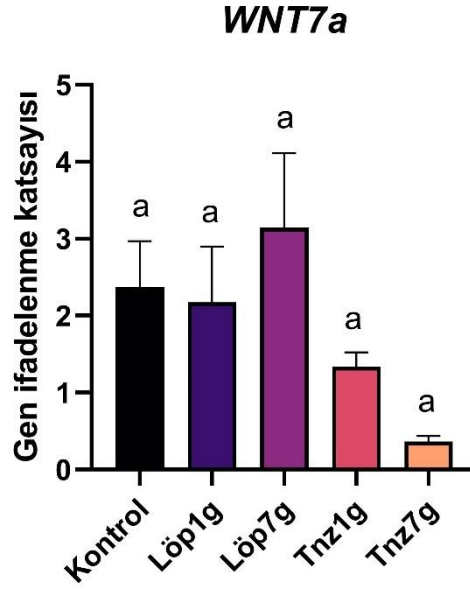
Şekil 13’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 10 alpha, *WNT10a*) gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. Çalışma gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 10 alpha, *WNT10a*) gen ifadenme katsayıları karşılaştırıldığında genel olarak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$).). Tinzaparin sodyum 1gün (tzn1g) grubunun kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 10 alpha, *WNT10a*) gen ifadenme katsayısı diğer kontrol, löprolid asetat 1.gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin 7. gün (tzn7g) gruplarının katsayılarından anlamlı olarak yüksek bulundu.($7,36\pm 2,13$ değeri ile $1,17\pm 0,26$, $2,78\pm 0,67$, $2,27\pm 0,56$ ve $2,59\pm 0,48$ değerleri)($p<0,05$). Löprolid asetat 1.gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g) ve tinzaparin 7. gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 10 alpha, *WNT10a*) gen ifadenme katsayıları istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmasa da kontrol grubunun katsayısından daha yüksek olarak bulundu ($2,78\pm 0,67$, $2,27\pm 0,56$ ve $2,59\pm 0,48$ değerleri ile $1,17\pm 0,26$ değeri).



Şekil 13. WNT10a

Şekil 13. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 10 alpha, *WNT10a*) gen ifadenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

Şekil 14’de kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 7 alpha, *WNT7a*)gen ifadenme katsayıları gösterilmiştir. çalışma gurpları kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Löprolid asetat 7. gün (löp7g) grubunun kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 7 alpha, *WNT7a*) gen ifadenme katsayısı kontrol, löprolid 1gün (löp1g), tinzaparin sodyum 1 gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7 gün (tzn7g) gruplarının katsayılarından anlamlı olmasa da yüksek bulundu ($3,14\pm 0,96$ değeri ile $2,36\pm 0,59$, $2,17\pm 0,72$, $1,33\pm 0,18$ ve $0,36\pm 0,07$ değerleri).($p>0,05$). Löprolid asetat 1. gün (löp1g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7 gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 7 alpha, *WNT7a*) gen ifadenme katsayıları kontrol grubunun katsayısından daha düşük ve istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($2,17\pm 0,72$, $1,33\pm 0,18$ ve $0,36\pm 0,07$ değerleri ile $2,36\pm 0,59$ değeri) ($p>0,05$).



Şekil 14. WNT7a

Şekil 14. Kontrol, löprolid asetat 1. gün (löp1g), löprolid asetat 7. gün (löp7g), tinzaparin sodyum 1. gün (tzn1g) ve tinzaparin sodyum 7. gün (tzn7g) gruplarının kanatsız tip-MMTV entegrasyon sitesi ailesi üyesi 10 alfa (wingless- type MMTV integration site family member 7 alpha, *WNT7a*) gen ifadelenme katsayıları. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Gen ifadelenme katsayılarının karşılaştırılması ANOVA ve devamında Tukey testleri ile yapıldı. P değerinin <0,05 olması anlamlı kabul edildi. Gen ifadelenme katsayıları anlamlı farklı bulunmayan gruplar benzer harf ile işaretlenir iken anlamlı farklı bulunan gruplar farklı harf ile işaretlendi.

5. TARTIŞMA

En yaygın iyi huylu jinekolojik bozukluklardan biri olan endometriozis, uterus kavitesinin dışında endometriyal ve stromal dokunun çoğalmasını içeren kronik, inflamatuvar ve östrojene bağımlı bir hastalıktır (1). Endometriozis, sadece ektopik implantlarla sınırlı olmayıp, bütün reproduktif sistemi etkileyen karmaşık bir patolojiyi içermektedir (7) . Endometriozis, infertilite veya pelvik ağrının bir parçası olarak görülüyor ve endometriozis tanısı patogenezin karmaşıklığı, semptomların çeşitliliği ve zamanında invaziv olmayan bir teşhis aracının olmaması nedeniyle 7-10 yıl gecikmektedir (9, 10). Yapılan bir çok araştırmalara rağmen hastalığın etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Son 25 yıldır endometriozisin patogenezinde moleküler ve hücrel birçok keşifler yapıldı. Eski tedavi yöntemlerinin çoğu endometriozisin semptomlarına yöneliktir. Yeni tedavi yöntemleri ise semptomlara değil hastalığın patogenezine odaklanmaktadır.

Biz bu çalışmada insanlara özgün endometriozis hastalığının patogenezinin ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasında kullanılan fare endometriozis modelinde tinzaparin sodyum ve löprolid asetat ilaçlarının hem profilaktik hem de tedavi amaçlı etkilerinin, endometriozis patogenezinde yer aldığı düşünülen ve embriyogenez, doku yenilenmesi ve hücre çoğalması gibi yaşamın temel olaylarında önemli görevi olan WNT/beta-katenin yolağı üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Bu sayede insanlarda endometriozis tedavisinde kullanılma potansiyeli olan, etkili olduğu önemli sinyal yolakları tanımlanmış, non-steroidal yeni ajanların bulunabilirliğini hipotez etmekteyiz.

Wnt / β -katenin yolu, embriyonik gelişimde, dokunun kendini yenilemesinde ve çeşitli hastalıklarda önemli rollere sahiptir (126, 102). Literatüre bakıldığında birçok çalışma, Wnt/ β -katenin yolağının anormal aktivasyonunun endometriozisin patofizyolojisinde rol oynayabileceğini öne sürmüştür (127, 128). Endometriozisin patogenezi belirsizliğini korumasına rağmen, implantasyon teorisi en yaygın kabul gören teoridir (1). İmplantasyon teorisine göre, endometriozis oluşumu için iki işlem kritik görünmektedir: göç ve invazyon (1, 129). Wnt'ye yanıt veren birçok gen, hücre çoğalması, göçü ve istilasında önemli rollere sahiptir (126, 102). Bu süreçler endometrioziste de yaygındır (1). MMP-9, T hücreli faktör (t cell factor, Tcf) Tcf/-

catenin hedef genlerinden biridir. MMP-9 aktivitesinin hücre istilasına karıştığı bilinmektedir (130, 131). Son çalışmalar, MMP-9'un gizli bir formunun hücre göçünde önemli bir rol oynayabileceğini açıkça göstermiştir (132, 133). Bu bulgular, Wnt /-katenin yolağının anormal aktivasyonunun, endometriozisli hastaların menstrüel endometriyal hücrelerinin artan göçü ve invazyonu ile sonuçlanabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak, bir Tcf / β -katenin hedef geni olan Cyclin D1'in mRNA ekspresyonu, orta sekretuar fazda endometriozisi olmayan hastalara kıyasla, endometriozisli hastaların endometrial epitel hücrelerinde anlamlı olarak daha yüksektir (130).

Çalışmamızda inclediğimiz transkripsiyon faktör (transcription factor, *TCF*) gen ifadenme katsayısının tinzaparin 1 gün grubunda (profilaksi) istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca tnz1g dışındaki tüm ilaç gruplarının kontrol grubuna göre anlamlı olmasa da yüksek olduğu görülmüştür.

Çeşitli organizmalarda yapılan birden fazla çalışma Wnt sinyal iletiminin programlanmış hücre ölümünü birçok farklı yollardan regüle ettiğini göstermiştir. Yakın tarihli bir çalışma, aktive edilmiş TNF α – MMP-9-SRC-1 ekseninin ektopik endometriumu proinflamatuvar sitokin aracılı apoptozdan koruduğunu göstermiştir (134). Endometriotik hücreler anormal apoptotik düzenleme sergiler (135). Wnt /-katenin sinyal yolunun anormal aktivasyonu, endometriotik stromal hücrelerin TNF α -MMP-9 eksenini yoluyla apoptoza direncinde de rol oynayabilir.

Wnt-Frizzled sinyal yolağı nöron, endotel, vasküler düz kas ve kardiyomyosit gibi çeşitli hücre popülasyonlarında hem gelişim hem de hasar (injury) süreçlerinde apoptozu kontrol etmektedir (136). Hücrelerin büyümesi sürecinde, Wnt sinyal iletimi var olan çevresel uyaranlara bağlı olarak apoptozu kolaylaştırır veya engeller (137).

Biz çalışmamızda literatüre bakıldığında wnt yolağı üzerinden etki ettiği kanıtlanan tinzaparin sodyumun profilaksi dozu uygulanan grubun (Tnz1g) otofaji ile ilişkili olan beclin2 geni üzerinde kontrol grubuna göre gen ifadenme katsayısında istatistiksel olarak anlamlı yükseklik yaptığını saptadık.

Ağrı, endometriozisli hastalarda önemli bir klinik sorundur (138). Ancak, altta yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Berkley grubu, endometriozisdeki ağrı hipersensitivitesinin altında yatanın santral sensitizasyon ile ilişkili olduğunu gösterdiler (139). Omurilik dorsal boynuzundaki merkezi sensitizasyonla ilişkili sinaptik plastisite (SCDH), kronik ağrı gelişimine kritik bir şekilde katkıda bulunur (140). Son zamanlarda yapılan bir hayvan deneyi, sinir hasarının hızlı başlayan ve uzun süren Wnt ekspresyonuna ve birincil duyu nöronlarında, SCDH nöronlarında ve astrositlerde Wnt / Frizzled / β -katenin sinyalinin aktivasyonuna neden olduğunu gösterdi (141).

Endometriozisin neden olduğu ağrı için mevcut tedaviler yetersizdir ve NSAID'lerden ve hormonal modalitelerden oluşur (142). Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalık olduğundan dolayı medikal tedaviler östrojenik ve enflamatuar durumu azaltmaya yöneliktir. Bu çeşitli tedavilerin örnekleri arasında GnRHa, GnRH antagonistleri (GnRH-ant), sentetik androjenler ve AI'ler bulunur. Östrojenler endometriozisin büyümesini sağlarken, progesterinler farklılaşmaya, desidualizasyona neden olur ve proliferasyonu önler. Hormonal tedaviler, yalancı gebelik veya psödomenopoz yoluyla östrojenin etkisini azaltmayı amaçlar. Ne yazık ki, endometriozis genellikle progesterin tedavisine dirençlidir ve progesterin tedavisi genellikle başarısız olur. Endometriozise bağlı kronik ağrı tedavisinde gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) agonistleri, daha etkili bir tedavidir (143). GnRH agonistleri endometrioziste en çok tercih edilen ve en etkili ilaçlardır. GnRH agonistleri hipoöstrojenik bir tabloya yol açarak etki gösterirler (74). GnRH agonistleri pitüiter bez üzerinde etki göstermektedir. GnRHa tedavisi, gonadotropin reseptörlerini aşağı düzenler ve vücudu gonadotropinlere karşı duyarsızlaştırır. Bir agonist olarak tanımlanan löprolid asetat, sürekli olarak terapötik dozlar içinde uygulandığında gonadotropin sekresyon inhibitörü olarak fonksiyon gösterir. hipofizin GnRH agonistlerinin kronik uygulamasıyla sürekli uyarılması hipofiz GnRH reseptörlerinin "aşağı regülasyonu" nedeniyle hipofiz-gonadal eksenin inhibisyonuna, hipofiz gonadotroflarının duyarsızlaşmasına ve dolaşımdaki LH, FSH ve seks steroid seviyelerinin 2-4 hafta içinde baskılanmasına neden olur (121). Bu etkisinin yanı sıra immün hücrelerin süpresyonunda ve sitokin seviyesinin regülasyonunda da rol oynadığına dair yayınlar mevcuttur (144). Ancak GnRH

agonisleri ile de tam kür sağlanamamaktadır. GnRH agonistleri ile tedavi edilen hastalarda, tedaviden beş yıl sonra minimal hastalık için %37, şiddetli hastalık için %74 rekürrens bildirilmiştir. Tedavi sonrası, dismenorenin 6 ay içinde süratle geri döndüğü, pelvik ağrı ve disparoninin ise 12 aya kadar geri döndüğü bildirilmiştir (74). GnRH kullanımıyla ilgili ciddi bir yan etki de azalmış kemik mineral yoğunluğudur (BMD).

GnRH agonistlerinin endometriozise bağlı kronik pelvik ağrı üzerindeki tedavi edici etkisi gösterilmiş ancak literatüre bakıldığında ağrı mekanizmasında ve endometriozis oluşumunda yeri olabilecek olan WNT/ beta katenin yolağı ile ilişkisi araştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda ise löprolid asetatın tedavi dozu verilen grubun (löp7g) hipoksi uyarılabilir faktör (hypoxia inducible factor I alpha, *HIF1a*) geni üzerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak gen ifadenme katsayısında anlamlı yükseklik saptandı. Löp7g grubu dışındaki tüm ilaç gruplarının da kontrol grubuna kıyasla anlamlı olmasa da gen ifadenme katsayısında artış yaptıklarını bulduk. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde hif a genindeki artışın VEGF artışına sebep olduğu ve anjijenesiz ile ilişkilendirildiği görülmüştür.

Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) olan tinzaparin sodyum, kan fibrin pıhtıları oluşumu dahil pıhtılaşmaya neden olan reaksiyonları inhibe ederek etki eder (145, 110). Antitrombotik profilaksi veya onkolojideki hastaların tedavisi için klinik kılavuzlara göre, düşük moleküler ağırlıklı heparin (DMAH) tercih edilen ilaçtır (146). Düşük molekülü heparin tedavisi ile profilaksi yapılması gereken çok sayıda gebe ve gebelik dışı kullanımları yanında yeni çalışmalarda kanser hücrelerine karşı WNT/beta-katenin yolağını da etkileyerek başarı ile sitotoksik olduğu in vitro olarak gösterilmiştir (12).

Tinzaparinin kanserli hastalarda rolünü değerlendiren ilk çalışma, 2006 yılında Hull ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (147). Tinzaparin sodyum, antikoagülan yeteneklerinin yanı sıra, çeşitli prelinik modellerde gösterildiği gibi, birçok de novo antikanser etkisine sahiptir. 2015 yılında Pfankuchen ve arkadaşları (148) tinzaparin'in antikanser özelliklerinin öncü bir yönünü ortaya çıkardı; yetişkinlerdeki terapötik antitrombotik dozajına karşılık gelen bir dozda tinzaparin kullanarak, insan yumurtalık kanseri A2780 hücre dizilerinin wnt yolağı

üzerinden cisplatin direncini tersine çevirmeyi başardılar. Başka bir yerde incelendiği üzere tinzaparin hem antimetastatik hem de anti-anjiyojenik yetenekler sergilemiştir.

Preklinik çalışmalardan, heparinin metastatik tümör yayılma sürecini inhibe etme kabiliyetine sahip olduğuna dair biriken kanıtlar vardır (149). Açıktır ki, heparinin glikozaminoglikan (GAG) yapısı tarafından tetiklenen LMWH'ler, metastatik kaskadın çeşitli aşamalarına müdahale edebilir ve böylece tümör hücresi adezyonunu, büyüme faktörü aktivitesini, anjiyogenezi, enzimatik heparanaz aktivitesini ve trombin kaynaklı prometastatik sinyali zayıflatır (150, 151) . Bununla birlikte, DMAH'nin katı tümörlerin sitostatik tedavisinin etkinliğini etkileyip etkilemediği bilinmemektedir, bu sadece birkaç çalışmada açıkça ele alınmıştır. Pankreas kanseri (152) veya küçük hücreli akciğer kanseri olan hastaların, sitostatiklerin LMWH ile kombinasyonundan fayda gördükleri gösterilmiştir (153, 154).

Endometriozis lezyonun normal histolojisi nedeniyle iyi huylu bir durum olmasına rağmen, kanserle patofizyolojik özellikleri paylaşır. Malign hastalıklar gibi, endometriotik implantlar da yerel ve uzak bölgelere yayılabilir. Endometriotik lezyonlar diğer dokulara yapışabilir, istila edebilir ve nüfuz edebilir. Dolaşımdaki östrojen ve enflamasyonun neden olduğu artan hücresel proliferasyon, endometriozisin atipik endometriozise ve daha sonra endometriozise bağlı yumurtalık kanserine (EAOC:Endometriosis-Associated Ovarian Cancer) ilerlemesinde önemli risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (47).

Tinzaparinin antimetastatik etkisi, farelerde bir B16 melanom hücresi akciğer metastazı modelinde de öngörülmüştür. Melanom hücrelerinin IV infüzyonundan 4 saat önce subkutan tinzaparin uygulaması, kontrollere kıyasla % 89 oranında akciğer tümörü oluşumunu indükledi ($P < .001$). İlk dozdan sonraki 14 gün boyunca ilave günlük tinzaparin uygulaması, akciğer tümörü oluşumunda % 96'lık bir orana ulaşan bir azalma sağlamıştır (115).

Angiogenesis, lokal tümör büyümesi ve metastatik ilerlemede önemli bir adımdır. Solid tümörler kendilerine uygun bir proanjiyojenik arka plan oluştururlar. Tümör kaynaklı anjiyogenezi, hipoksiye bağlı faktör-1 (HIF-1) -bağımlı veya bağımsız bir şekilde tetiklenebilir. Katı bir tümör oluşturmak için hızlı habis

hücre proliferasyonu, oksijen arzı ve talebi arasındaki yerel dengeyi bozarak intratümoral hipoksiye neden olur ve bu da HIF-1 üretimini uyarır. Ek olarak, onkojenlerdeki ve tümör baskılayıcı genlerdeki kanserojen genetik değişiklikler, HIF-1'in artan çıkışı veya azalan proteazomal bozunması için temel uyarıcı sağlar. Bu nedenle HIF-1 birikimi, VEGF-a ekspresyonunu yukarı regüle ederek anjiyogenez ile sonuçlanır (155). Kötü huylu hücreler ayrıca, doku faktörü (TF) faktör VII komplekslerinin kendiliğinden veya hipoksiye bağlı sentezini ve birleşmesini teşvik edebilir. Tinzaparin, TFPI salınımının aracılık ettiği bir antianjiyojenik potansiyele sahiptir. Mousa ve Mohamed bu potansiyelin doza bağımlı olduğunu, ancak bir civciv koryoallantoik membran tümör implant modelinde hem in vitro hem de in vivo uyarandan bağımsız olduğunu gösterdi (156). Tinzaparin ve rekombinant TFPI, yukarıdaki modelde kolon karsinomu, insan fibrosarkomu ve insan akciğer karsinomu tümörlerinin büyümesini azalttı.

Anjiyogenez, yeni kan damarlarının oluşumudur ve daha sonra, endometriotik lezyonların oluşturulması / sürdürülmesi için ektojik menstrüel dokuya fonksiyonel kan damarları oluşturmak için anahtar bir süreçtir. VEGF protein ailesi, anjiyogenez, vaskülogenez ve lenfanjiyogenezdeki rolleriyle iyi bilinir. VEGF'nin endometrioziste anjiyogenezi tetiklediğini göstermektedir. Ayrıca, insan ve hayvan modellerinden elde edilen bu sonuçlar, VEGF'nin endometriozis için uygun bir işaretçi olarak açıkça deşifre edilmesinin zorluklarını göstermektedir.

Tinzaparin klinik uygulamada düşük molekülü heparin tedavisi ile profilaksi yapılması gereken çok sayıda gebe ve gebelik dışı kullanımları yanında yeni çalışmalarda kanser hücrelerine karşı WNT/beta-katenin yolağını da etkileyerek başarı ile sitotoksik olduğu in vitro olarak gösterilmeye başlanmış bir ilaç olması yönü ile seçilmiştir (12). Tinzaparinin bu özellikleri göz önünde tutulduğunda endometrioziste WNT/beta-katenin yolağının rolünün incelenmesi açısından uygun ilaç olduğunu düşünmekteyiz. Literatüre bakıldığında tinzaparin sodyumun antimetastatik , antianjiyojenik etkilerinin olduğu ve wnt yolağı üzerinde etkili olduğu gösterilmiş olsa bile oluşumu sırasında metastatik ve anjiyojenik özellikler gösteren endometriozis üzerinde etkisinin olup olmadığı ayrıntılı bir şekilde araştırılmamıştır.

Çalışmamızın sonuçları ilaçların wnt /beta katenin yolağı ile ilişkili incelediğimiz bazı genlerin ifadenme katsayılarında değişiklik yapabildiğini göstermiştir. Ancak gen üzerindeki bu etkilerin hücre düzeyinde oluşturduğu etkilerin belirlenebilmesi için daha çok moleküler düzeyde yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır. Çünkü wnt yolağı incelendiğinde genel olarak Wnt sinyal yolağının embriyonik kök hücreler üzerine olan etkileri konusunda birbirine zıt bulguların olduğunu görmekteyiz. Bazı çalışmalar Wnt sinyal yolağının embriyonik kök hücrelerde pluripotensi ve kendini yenileme özellikleri için gerekli olduğunu göstermektedir. Ancak diğer bazı çalışmalar ise aksine Wnt sinyal yolağının bu hücrelerde farklılaşmayı uyardığı ve farklılaşmanın engellenmesi için Wnt inhibisyonunun gerektiğini savunmaktadır (157). Aslında bu durum sinyal yolağının moleküler mekanizmasının karmaşıklığı ve diğer mekanizmalarla olan etkileşimleri nedeniyle gözlenen doğal bir sonuçtur. Çünkü embriyonik gelişim esnasında farklı basamaklarda farklı Wnt ligandları, reseptörleri, aktivatörleri veya antagonistleri eksprese edilmektedir ve bunlara bağlı olarak farklı etkiler gözlenmektedir. Bunun haricinde Wnt sinyalinin hücre tarafından değerlendirilmesi kök hücrenin içinde bulunduğu mikroçevreye ve mikroçevrenin sağladığı diğer sinyallerin etkisine bağlı olarak da değişebilmektedir (158).

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda löprolid asetatın ve tinzaparin sodyumun endometriozis oluşumu üzerinde etkisi olduğu düşünülen Wnt/ beta katenin yolağı ile bağlantısı olan genler üzerindeki etkilerini inceledik. Çalışmamızın sonuçları her iki ilaç grubunun da Wnt/ beta katenin yolağı ile ilişkili genlerin ifadenme katsayılarında değişiklik yapabildiklerini göstermiştir. Ayrıca çalışmamız hem profilaksi hem de tedavi dozlarının genlerin ifadenmesinde değişiklik yapabildiğini göstermiştir. Ancak endometriozis odaklarının gerilemesinde ya da yok edilebilmesinde etkilerinin olup olmadığının gösterilebilmesi ve etkin doz aralığının bulunabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmada fare endometriozis modelinde löprolid asetat ve tinzaparin ilaçlarının hem profilaktik hem de tedavi amaçlı etkilerinin WNT/beta katenin temelli olarak gen ifadenme katsayılarının

incelenmesi söz konusudur. Gen ifadelerinin hücre düzeyindeki etkilerinin gösterilebilmesi daha fazla sayıda moleküler düzeyde çalışmayla mümkün olabilir.

İnsanlarda klinik uygulamaya sokulabilecek yeni tedavilerin ve yeni ilaç endikasyonlarının geliştirilmesinin önünü açmak açısından çalışmamız önem arz etmektedir.



KAYNAKLAR

1. Giudice, LC; Kao, LC Endometriozis. Lancet 2004 , 364 , 1789-1799. [Google Akademik] [CrossRef]
2. Brosens IA, Brosens JJ. Redefining endometriosis: is deep endometriosis a progressive disease? Hum Reprod 2000; 15: 1-3.
3. Kliman HJ, AA, Olive D, Meaddough EL, Ahn KS, Comite F, Attar E. Endometrial glandular cells are found equally in the peritoneal fluid of women with or without endometriosis. in American Society for Reproductive Medicine 1995. Seattle, WA.
4. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2001; 96: 21–34.
5. Vignali M, Infantino M, Matrone R, Chiodo I, Somigliana E, Busacca M, Viganò P. Endometriosis: novel etiopathogenetic concepts and clinical perspectives. Fertil Steril 2002; 78: 665–678.
6. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Evers JL, Dunselman GA. Pathogenesis of endometriosis. Best Pract Res Clin Obstet Gynecol 2004; 18: 233–244.
7. Eisenberg, VH; Weil, C .; Chodick, G .; Shalev, V. Endometriozis epidemiyolojisi: 2 milyon üyeli bir sağlık hizmeti sağlayıcısından popülasyon tabanlı büyük bir veritabanı çalışması. BJOG An. Int. J. Obstet. Gynaecol. 2018 , 125 , 55-62. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]
8. Donnez J, Chantraine F, Nisolle M. The efficiency of medical and surgical treatment of endometriosis associated infertility: arguments in favour of a medico-surgical approach. Hum Reprod Update 2002; 8: 89–94.
9. Giudice, LC Endometriozis. N. Engl. J. Med. 2010 , 362 , 2389–2398. [Google Akademik] [CrossRef]
10. Tomassetti, C .; D'Hooghe, T. Endometriosis and infertility: Insights into the causal link and management strategies Best Practice & Research Clinical Obstetrics Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018 , 51 , 25-33. [Google Akademik] [CrossRef]
11. Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. Fertil Steril 1985; 44: 684–694.

12. Daniel Bastian Pfankuchen,¹ Fabian Baltes,¹ Tahira Batool,² Jin-Ping Li,² Martin Schlesinger,¹ and Gerd Bendas¹ Heparin antagonizes cisplatin resistance of A2780 ovarian cancer cells by affecting the Wnt signaling pathway
13. Wilson AC, Meethal SV, Bowen RL, Atwood CS. Leuprolide acetate: a drug of diverse clinical applications. *Expert Opin Investig Drugs*. 2007 Nov;16(11):1851-63. [PubMed]
14. Plosker GL, Brogden RN. Leuprorelin. A review of its pharmacology and therapeutic use in prostatic cancer, endometriosis and other sex hormone-related disorders. *Drugs*. 1994 Dec;48(6):930-67
15. Von Rokitansky C. Ueber uterusdrusen-neubildung in uterus and ovarilsarcomen. *Z Ges Aerzte Wein* 1860; 37: 577–593.
16. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018;4:9.
17. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:422.
18. Ridley JH, Edwards IK. Experimental endometriosis in the human. *Am J Obstet Gynecol* 1958; 76: 783-89.
19. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H. Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 47: 18-20.
20. Von Recklinghausen F. Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube: their origin as remnants of the wolffian body. *Wien Klin Wochenschr* 1896; 8: 530.
21. Sampson J. Metastatic or embolic endometriosis, due to menstrual dissemination of endometrial tissue into venous circulation. *Am J Pathol* 1927; 3: 93.
22. D'hoodge TM, Hill JA. Endometriosis in Novak Gynecology 12TH ed. Williams and Wilkins Baltimore 1996; 26: 887-914.

23. Ballard KD, Seaman HE, de Vries CS et al. Can symptomatology help in the diagnosis of endometriosis? Findings from a national case-control study--Part 1. *BJOG* 2008;115:1382.
24. McLeod BS, Retzliff MG. Epidemiology of endometriosis: an assessment of risk factors. *Clin Obstet Gynecol* 2010;53:389–96.
25. Gurates B, Bulun SE. Endometriosis: the ultimate hormonal disease. *Semin Reprod Med* 2003;21:125-34.
26. Zeitoun, K, Takayama, K, Michael, MD and Bulun, SE. Stimulation of aromatase P450 promoter (II) activity in endometriosis and its inhibition in endometrium are regulated by competitive binding of SF-1 and COUP-TF to the same cis-acting element. *Molecular Endocrinology* 1999; 13: 239-253.
27. Kitawaki, J, Noguchi, T, Amatsu, T, Maeda, K, Tsukamoto, K, Yamamoto, T, Fushiki, S, Osawa, Y and Honjo, H. Expression of aromatase cytochrome P450 38 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biology of Reproduction* 1997; 57: 514-519.
28. Stocco, DM, Wang, X, Jo, Y and Manna, PR. Multiple Signaling Pathways Regulating Steroidogenesis and StAR Expression: More Complicated Than We Thought. *Mol Endocrinol* 2005
29. Attar, E and Bulun, SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update* 2005.
30. Kitawaki J. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;83(1-5):149-55.
31. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:600-6.
32. Bruner-Tran KL. Experimental endometriosis in immunocompromised mice after adoptive transfer of human leukocytes. *Fertil Steril* 2010;93(8):2519-24.
33. Sinaii N, Cleary SD, Ballweg ML et al. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Human Reproduction* 2002;17: 2715-24.

34. Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Role of naturel killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Current Medicinal Chemistry* 2011;18:200-8.
35. Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003;49:285-96.
36. Dmowski WP, Steele RW, Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1981;141:377-83.
37. Berkkanoglu M, Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50: 48–59.
38. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 75: 1–10.
39. Akoum A, Lemay A, McColl S. Elevated concentration and biologic activity of monocyte chemotactic protein-1 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1996; 66: 17–23.
40. Rier SE, Zarmakoupis PN, Hu X. Dysregulation of interleukin-6 responses in ectopic endometrial stromal cells: correlation with decreased soluble receptor levels in peritoneal fluid of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1431–7.
41. Dmowski WP. Immunological aspects of endometriosis. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 1995; 1: 3–10.
42. Kennedy S, Hadfield R, Westbrook C, Weeks DE, Barlow D, Golding S, Magnetic resonance imaging to assess familial risk in relatives of women with endometriosis, *Lancet* 352:1440,1998
43. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol* 1987;69:412.
44. Kosugi Y, Elias S, Malinak LR. Increased heterogeneity of chromosome 17 aneuploidy in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 792-97.
45. Dr. Seda Deniz Kırılmaz. Endometriozis patofizyolojisinde apoptoz ve anjiogenezisin yeri ve endometriozis olgularında peritonel sıvı ve serumda sitokinlerin ve immün hücre dağılımının değerlendirilmesi; TC. Osmangazi Üniversitesi Kadın hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, uzmanlık tezi Eskişehir: 2007.

46. Greene AD, Lang SA, Kendzioriski JA, Sroga-Rios JM, Herzog TJ, Burns KA. Endometriosis: where are we and where are we going? *Reproduction*. 2016 Sep;152(3):R63-78. doi: 10.1530/REP-16-0052. Epub 2016 May 10. PMID: 27165051
47. Wilbur, M., Shih, I.-M., Segars, J., & Fader, A. (2017). Cancer Implications for Patients with Endometriosis. *Seminars in Reproductive Medicine*, 35(01), 110–116. doi:10.1055/s-0036-1597120
48. Kajiyama, H., Suzuki, S., Yoshihara, M., Tamauchi, S., Yoshikawa, N., Niimi, K., ... Kikkawa, F. (2018). Endometriosis and cancer. *Free Radical Biology and Medicine*. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.015
49. McLaren, J, Prentice, A, Charnock-Jones, DS, Sharkey, AM and Smith, SK. Immunolocalization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2 and Bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hum Reprod* 1997; 12: 146-52.
50. Cano-Sancho, G., Ploteau, S., Matta, K., Adoamnei, E., Louis, G. B., Mendiola, J., ... Antignac, J.-P. (2019). Human epidemiological evidence about the associations between exposure to organochlorine chemicals and endometriosis: Systematic review and meta-analysis. *Environment International*, 123, 209–223. doi:10.1016/j.envint.2018.11.065
51. Cortessis VK, Thomas DC, Levine AJ, et al. Environmental epigenetics: prospects for studying epigenetic mediation of exposure-response relationships. *Hum Genet*. 2012;131(10):1565–1589.
52. Koninckx PR, Ussia A, Adamyan L, et al. Pathogenesis of endometriosis: the genetic/epigenetic theory. *Fertil Steril*. 2019;111(2):327–340.
53. Agarwal A., Gupta S., Sharma R. K. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2005;3:p. 28. doi: 10.1186/1477-7827-3-28. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
54. Rodgers AK, Falcone T. Treatment strategies for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 243- 55.
55. Sinaii N, Plumb K, Cotton L et al. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease. *Fertil Steril*

- 2008;89:538.
56. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001;76(2):223-31.
 57. Mathias SD, Kuppermann M, Liberman RF et al. Chronic pelvic pain: prevalence, health-related quality of life, and economic correlates. *Obstet Gynecol* 1996;87:321-7.
 58. Vercellini P, Fedele L, Aimi G et al. Association between endometriosis stage, lesion type, patient characteristics and severity of pelvic pain symptoms: a multivariate analysis of over 1000 patients. *Hum Reprod* 2007;22:266-71.
 59. Laufer MR, Goitein L, Bush M et al. Prevalence of endometriosis in adolescent women with chronic pelvic pain not responding to conventional therapy. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1997;10:199-202.
 60. Rousset P, Gregory J, Rousset-Jablonski C et al. MR diagnosis of diaphragmatic endometriosis. *Eur Radiol* 2016;26:3968.
 61. Propst AM, Storti K, Barbieri RL. Lateral cervical displacement is associated with endometriosis. *Fertil.Steril.* 1998; 70: 568- 7
 62. Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V et al. Routine clinical examination is not sufficient for the diagnosis and establishing the location of deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002;9:115-19
 63. Cheng YM, Wang ST, Chou CY. Serum CA-125 in preoperative patients at high risk for endometriosis. *Obstet Gynecol* 2002;99:375.
 64. Niloff JM, Klug TL, Schaetzel E, Zurawski VR, Knapp RC, Bast RC. Fallop tüpü, endometriyum ve endoserviksin karsinomlarında serum CA125'in yükselmesi. *J Obstet Jinekoloji.* 1984; 148 : 1057-1058. doi: 10.1016 / S0002-9378 (84) 90444-7. [PubMed] [CrossRef] [Google Akademik]
 65. Guerriero S, Mais V, Ajossa S, Paoletti AM, Angiolucci M, Melis GB. Transvaginal ultrasonography combined with CA-125 plasma levels in the diagnosis of endometrioma. *Fertil.Steril.* 1996; 65: 293- 98.
 66. Noventa M, Saccardi C, Litta P et al. Ultrasound techniques in the diagnosis of deep pelvic endometriosis: algorithm based on a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility* 2015;104:366-83.e362

67. Stratton PC, Winkel C. Diagnostic accuracy of laparoscopy, magnetic resonance imaging, and histopathologic examination for the detection of endometriosis. *Fertil Steril* 2003;79(5):1078-85
68. Exacoustos C, Manganaro L, Zupi E. Imaging for the evaluation of endometriosis and adenomyosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2014;28(5):655-81.
69. Wykes CB, Clark TJ, Khan KS. Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *BJOG* 2004;111:1204.
70. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine revised classification of endometriosis 1996. *Fertil Steril*. 1997;67:817-21.
71. Fujishita A, Khan KN, Masuzaki H, Ishimaru T. Pelvik endometriozis ve yumurtalık Endometrioma'nın doğurganlık üzerine etkisi. *Jinekoloji Obstet Araştırma*. 2002; 53 (Ek 1): 40–45. doi: 10.1159 / 000049423. [PubMed] [CrossRef] [Google Akademik]
72. .Dai Y et al. A review of the risk factors, genetics and treatment of endometriosis in Chinese women: a comparative update *Reprod Health*. (2018)
73. Gürkan T, Aksu T, Kişnişçi HA(editör). *Endometriosis içinde Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, Güneş Kitapevi, Ankara, Türkiye 1996; 17: 1257-64
74. Dr. Gökhan Öcal. Rat endometriozis modelinde GnRH agonisti, progesteron ve immünstimülan levamizolün etkilerinin karşılaştırılması; T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi Dr.Gökhan Öcal Samsun 2004.
75. Simone Ferrero, Luiza Helena Abbamonte. Future perspectives in the medical treatment of endometiosis. *Obstet Gynecol Surv*. 2005; 60(12): 817-26.
76. Olive DL. Medical therapy of endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21(2):209-22.

77. Vercellini, P., Buggio, L., Frattaruolo, M. P., Borghi, A., Dridi, D., & Somigliana, E. (2018). Medical treatment of endometriosis-related pain. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.01.015
78. Floyd WS. Danazol: endocrine and endometrial effects. *Int J Fertil* 1980;25:75.
79. Fedele L, Marchini M, Bianchi S et al: Endometrial patterns during danazol and buserelin therapy for endometriosis: comparative structural and ultrastructural study. *Obstet Gynecol* 1990;76:79.
80. Moghissi KS. Medical treatment of endometriosis. *Clin.Obstet Gynecol* 1999; 42: 620- 32
81. Taga M, Minaguchi H. Reduction of bone mineral density by gonadotropinreleasing hormone agonist, nafarelin, is not completely reversible at 6 months after the cessation of administration. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996; 75: 162- 65.
82. Moghissi KS, Schlaff WD, Olive DL, Skinner MA, Yin H. Goserelin acetate (Zoladex) with or without hormone replacement therapy for the treatment of endometriosis. *Fertil.Steril*. 1998; 69: 1056- 62.
83. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, Ulmann A, Baulieu EE, Yen SS. Treatment of endometriosis with the antiprogestosterone mifepristone (RU486). *Fertil Steril* 1996; 65: 23- 28.
84. Edgardo Rolla 1 2 3 Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *F1000Res* 2019 Apr 23;8:F1000 Faculty Rev-529. doi: 10.12688/f1000 research. 14817.1. eCollection 2019.
85. Koga K, Takamura M, Fujii T et al. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis. *Fertil Steril* 2015;104(4):793-801.
86. Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*. 1982;31:99–109. [PubMed] [Google Scholar]

87. Baker NE. Molecular cloning of sequences from wingless, a segment polarity gene in *Drosophila*: the spatial distribution of a transcript in embryos. *EMBO J*. 1987;6:1765–1773. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
88. Mlodzik M. Planar cell polarization: do the same mechanisms regulate *Drosophila* tissue polarity and vertebrate gastrulation? *Trends Genet*. 2002;18:564–571. [PubMed] [Google Scholar]
89. Niehrs C. The complex world of WNT receptor signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13:767–779. [PubMed] [Google Scholar]
90. Willert K, Jones KA. Wnt signaling: is the party in the nucleus? *Genes Dev*. 2006;20:1394–1404. [PubMed] [Google Scholar]
91. Welters HJ, Kulkarni RN. Wnt signaling: relevance to beta-cell biology and diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2008;19:349–355. [PubMed] [Google Scholar]
92. L'Episcopo F, et al. Plasticity of subventricular zone neuroprogenitors in MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) mouse model of Parkinson's disease involves cross talk between inflammatory and Wnt/beta-catenin signaling pathways: functional consequences for neuroprotection and repair. *J Neurosci*. 2012;32:2062–2085. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
93. Liu CC, et al. Deficiency in LRP6-mediated Wnt signaling contributes to synaptic abnormalities and amyloid pathology in Alzheimer's disease. *Neuron*. 2014;84:63–77. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
94. Monga SP. beta-Catenin Signaling and Roles in Liver Homeostasis, Injury, and Tumorigenesis. *Gastroenterology*. 2015;148:1294–1310. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
95. Gregorieff A, Clevers H. Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer. *Genes Dev*. 2005;19:877–890. [PubMed] [Google Scholar]
96. Jamieson CH, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med*. 2004;351:657–667. [PubMed] [Google Scholar]

97. Kahn M. Can we safely target the WNT pathway? *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13:513–532. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
98. Masuda T, Ishitani T. Context-dependent regulation of the β catenin transcriptional complex supports diverse functions of Wnt/ β -catenin signaling. *J Biochem (Tokyo)* 2017; 161: 9-17.
99. van Kappel EC, Maurice MM. Molecular regulation and pharmacological targeting of the β -catenin destruction complex. *Br J Pharmacol* 2017; 174: 4575-4588.
100. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006;127(3):469–480. [Abstract] [Google Scholar]
101. Polakis P. Drugging Wnt signalling in cancer. *EMBO J.* 2012;31(12):2737–2746. [Europe PMC free article] [Abstract] [Google Scholar]
102. Wend P, Holland JD, Ziebold U, Birchmeier W. Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Semin Cell Dev Biol.* 2010;21:855–863. doi: 10.1016/j.semcdb.2010.09.004. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
103. Adler PN, Krasnow RE, Liu j. Tissue polarity points from cells that have higher Frizzled levels towards cells that have lower Frizzled levels. *Curr Biol* 1997; 7: 940-949.
104. Humphries AC, Mlodzik M. From instruction to output: Wnt/PCP signaling in development and cancer. *Curr Opin Cell Biol* 2017; 51: 110-116
105. Hu D, Fang W, Han A, et al. C-jun N-terminal kinase 1 interacts with and negatively regulates Wnt/beta-catenin signaling through GSK3beta pathway. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2317-2324.
106. Zallen jA. Planar polarity and tissue morphogenesis. *Cell* 2007; 129: 1051-1063.
107. Hogan PG, Chen L, Nardone j, Rao A. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev* 2003; 17: 2205-2232. 77. Feske S, Okamura H, Hogan PG, Rao A. Ca²⁺/calcineurin signalling in cells of the immune system. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 1117-1132.
108. Feske S, Okamura H, Hogan PG, Rao A. Ca²⁺/calcineurin signalling in cells of the immune system. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 1117-1132.

109. Linhardt RJ, Gunay NS. Production and chemical processing of low molecular weight heparins. *Semin Thromb Hemost.* 1999;25(suppl 3):5–16. [PubMed] [Google Scholar]
110. Friedel H, Balfour JA. Tinzaparin: a review of its pharmacology and clinical potential in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. *Drugs.* 1994; 48:638-60.
111. Weitz JI. Drug therapy: low molecular weight heparin. *N Engl J Med* 1997;337:688-98
112. Fareed J, Haas S, Sasahara A, eds. Differentiation of low molecular weight heparins: applied and clinical considerations. *Semin Thromb Hemost* 1999;25(suppl 3):3-4
113. Leizorovicz A, Bara L, Samama MM, Haugh MC. Factor Xa inhibition: correlation between the plasma levels of anti-Xa activity and occurrence of thrombosis and hemorrhage. *Haemostasis* 1993;23(suppl 1):89-98.
114. Ostergaard P, Nordfang O, Petersen LC, Valentin S, Kristensen H. Is tissue factor pathway inhibitor involved in the antithrombotic effect of heparins? Biochemical considerations. *Haemostasis* 1993;23(suppl 1):107-11
115. Amirkhosravi A, Mousa SA, Amaya M, Francis JL. Antimetastatic effect of tinzaparin, a low-molecular-weight heparin. *J Thromb Haemost.* 2003;1(9):1972–1976. [PubMed] [Google Scholar]
116. Redding TW, Schally AV: Inhibition of prostate tumor growth in two rat models by chronic administration of D-Trp6 analogue of luteinizing hormone-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1981) 78 : 6509 - 6512.
117. Schally Av, Comaru-Schally Am, Plonowski A, Nagy A, Halmos G, Rekası Z: Peptide analogs in the therapy of prostate cancer. *Prostate* (2000) 45 : 158 -166.
118. Clayton Rn, Catt Kj: Regulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors by gonadal hormones. *Endocrinology* (1981) 108 : 887 -895.

119. Marshall Jc, Dalkin Ac, Haisenleder Dj, Paul Sj, Ortolano Ga, Kelch Rp: Gonadotropin-releasing hormone pulses: regulators of gonadotropin synthesis and ovulatory cycles. *Recent Prog. Horm. Res.* (1991) 47 : 155 -187; discussion 188 -189.
120. Terasawa E: Control of luteinizing hormone-releasing hormone pulse generation in nonhuman primates. *Cell Mol. Neurobiol.* (1995) 15 : 141 - 164.
121. Schally Av, Comaru-Schally Am, Nagy A et al. : Hypothalamic hormones and cancer. *Front. Neuroendocrinol.* (2001) 22 : 248 -291
122. Hornstein Md, Surrey Es, Weisberg Gw, Casino La: Leuprolide acetate depot and hormonal add-back in endometriosis: a 12-month study. *Lupron add-back study group. Obstet. Gynecol.* (1998) 91 : 16 -24.
123. Surrey Es, Hornstein Md: Prolonged GnRH agonist and add-back therapy for symptomatic endometriosis: long-term follow-up. *Obstet. Gynecol.* (2002) 99 : 709 -719.
124. Sennello Lt, Finley Ra, Chu Sy et al. : Single-dose pharmacokinetics of leuprolide in humans following intravenous and subcutaneous administration. *J. Pharm. Sci.* (1986) 75 : 158 -160
125. .Kastrup E (Ed.), Wolters Kluwer St. Louis, Drug Facts and Comparisons WO, USA (2003).
126. Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008;8:387–398. doi: 10.1038/nrc2389. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
127. Matsuzaki S, Darcha C, Maleysson E, Canis M, Mage G. Impaired down-regulation of E-cadherin and beta-catenin protein expression in endometrial epithelial cells in the mid-secretory endometrium of infertile patients with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:3437–3445. doi: 10.1210/jc.2009-2713. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

128. Wu Y, Kajdacsy-Balla A, Strawn E, Basir Z, Halverson G, Jailwala P, Wang Y, Wang X, Ghosh S, Guo SW. Transcriptional characterizations of differences between eutopic and ectopic endometrium. *Endocrinology*. 2006; 147: 232–246. doi: 10.1210/en. 2005-0426. [PubMed][CrossRef] [Google Scholar]
129. Hull ML, Escareno CR, Godsland JM, Doig JR, Johnson CM, Phillips SC, Smith SK, Tavaré S, Print CG, Charnock-Jones DS. Endometrial-peritoneal interactions during endometriotic lesion establishment. *Am J Pathol*. 2008;173:700–715. doi: 10.2353/ajpath.2008.071128. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
130. Matsuzaki S, Darcha C. In vitro effects of a small-molecule antagonist of the Tcf/ β -catenin complex on endometrial and endometriotic cells of patients with endometriosis. *PLoS One*. 2013;8:e61690. doi: 10.1371/journal.pone.0061690. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
131. Björklund M, Koivunen E. Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1755:37–69. [PubMed] [Google Scholar]
132. Dufour A, Sampson NS, Zucker S, Cao J. Role of the hemopexin domain of matrix metalloproteinases in cell migration. *J Cell Physiol*. 2008;217:643–651. doi: 10.1002/jcp.21535. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
133. Dufour A, Zucker S, Sampson NS, Kuscu C, Cao J. Role of matrix metalloproteinase-9 dimers in cell migration: design of inhibitory peptides. *J Biol Chem*. 2010;285:35944–35956. doi: 10.1074/jbc.M109.091769. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
134. Han SJ, Hawkins SM, Begum K, Jung SY, Kovanci E, Qin J, Lydon JP, DeMayo FJ, O'Malley BW. A new isoform of steroid receptor coactivator-1 is crucial for pathogenic progression of endometriosis. *Nat Med*. 2012;8:1102–1111. doi: 10.1038/nm.2826. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

135. Harada T, Kaponis A, Iwabe T, Taniguchi F, Makrydimas G, Sofikitis N, Paschopoulos M, Paraskevaidis E, Terakawa N. Hum Reprod Update. 2004;10:29–38. doi: 10.1093/humupd/dmh007. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
136. Li F, Chong ZZ, Maiese K. Winding through the WNT pathway during cellular development and demise. *Histology and Histopathology* 2006; 21: 103-124.
137. Ellies DL, Church V, Francis-West P et al. The WNT antagonist cSFRP2 modulates programmed cell death in the developing hindbrain. *Development* 2000; 127: 5285-5295.
138. McAllister SL, Dmitrieva N, Berkley KJ. Sprouted innervation into uterine transplants contributes to the development of hyperalgesia in a rat model of endometriosis. *PLoS One*. 2012;7:e31758. doi: 10.1371/journal.pone.0031758. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
139. Berkley KJ, Dmitrieva N, Curtis KS, Papka RE. Innervation of ectopic endometrium in a rat model of endometriosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:11094–11098. doi: 10.1073/pnas.0403663101. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
140. Berkley KJ, Rapkin AJ, Papka RE. The pains of endometriosis. *Science*. 2005;308:1587–1589. doi: 10.1126/science.1111445. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
141. Zhang YK, Huang ZJ, Liu S, Liu YP, Song AA, Song XJ. WNT signaling underlies the pathogenesis of neuropathic pain in rodents. *J Clin Invest*. 2013;123:2268–2286. doi: 10.1172/JCI65364. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
142. Allen, C. , Hopewell S., Prentice A., and Gregory D.. 2009. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. *Cochrane Database Syst. Rev*. CD004753. [PubMed] [Google Scholar]
143. Surrey, E. S. 2010. Gonadotropin-releasing hormone agonist and add-back therapy: what do the data show? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. 22:283–288. [PubMed] [Google Scholar]

144. Ahmed I, El-sakka, Mustafa E. Bakircioglu in .An animal model the effects of colchicine on a peyronie’s like condition. The journal of urology 1999; 161: 1980–8.
145. Innohep (tinzaparin sodium injection) package insert. Wilmington, DE: Dupont Pharma; 2000 Jul.
146. Connors JM. Prophylaxis against venous thromboembolism in ambulatory cancer patients. N Engl J Med. 2014; 370: 2515--9. doi: 10.1056 / NEJMra1401468. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
147. Hull RD, Pineo GF, Brant RF, et al. ; LITE Trial Researchers. Long term low molecular weight heparin versus usual care in cancerous proximal vein thrombosis patients. Ben J Med . 2006; 119 (12): 1062–1072. [PubMed] [Google Scholar]
148. Pfankuchen DB, Stölting DP, Schlesinger M, et al. Low molecular weight heparin tinzaparin antagonizes cisplatin resistance of ovarian cancer cells. Biochem Pharmacol. 2015;97(2):147–157. [PubMed] [Google Scholar]
149. Borsig L.. Heparin as a cancer progression inhibitor. Prog Mol Biol Transl Sci. 2010; 93 : 335–49. doi: 10.1016 / S1877-1173 (10) 93014-7. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
150. Zacharski LR, Ornstein DL. Heparin and cancer. Thromb Haemost. 1998; 80 : 10–23. [PubMed] [Google Scholar]
151. Ornstein DL, Zacharski LR. Use of heparin to treat human cancers. Hemostasis.1999; 29 :48–60. 54112.[PubMed] [Google Akademik]
152. Icli F, Akbulut H, Utkan G, Yalcin B, Dincol D, Isikdogan A, Demirkazik A, Onur H, Cay F, Büyükcelik A. Low molecular weight heparin (LMWH) increases the efficiency of cisplatin plus gemcitabine combination in advanced pancreatic patients. cancer. J Surg Oncol. 2007; 95 : 507–12. doi: 10.1002 / jso.20728. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
153. Lebeau B, Chastang C, Brechot JM, Capron F, Dautzenberg B, Delaisements C, Mornet M, Brun J, Hurdebourcq JP, Lemarie E. Subcutaneous heparin therapy improves survival in small cell lung cancer. "Petites Cellules" Group. Cancer. 1994; 74 : 38–45. [PubMed] [Google Scholar]

154. Altınbaş M, Coşkun HS, Er O, Özkan M, Eser B, Ünal A, Çetin M, Soyuer S. A randomized clinical study of combination chemotherapy with low molecular weight heparin and alone in small cell lung cancer *J Thromb Haemost.* 2004; 2 :1266–71. doi: 10.1111 / j.1538-7836.2004.00871.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
155. Zimna A, Kurpisz M. Hypoxia-inducible factor-1 in physiological and pathophysiological angiogenesis: applications and treatments. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 549412 . [PMC ücretsiz makale] [PubMed] [Google Scholar]
156. Mousa SA, Mohamed S. Anti-angiogenic mechanisms and low molecular weight heparin, the effectiveness of tinzaparin: anti-cancer activity. *Oncol Rep.* 2004; 12 (4): 683–688. [PubMed] [Google Scholar]
157. Sokol S. Maintaining embryonic stem cell pluripotency with Wnt signaling. *Development (Cambridge, England)*, 2011;138(20):4341-4350.
158. Dravid G, Ye Z, Hammond H et al., Defining the role of Wnt/beta-catenin signaling in the survival, proliferation, and self-renewal of human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2005;23(10):1489-1501.

ÖZGEÇMİŞ

Dr. Yasemin ALBAK, 25 mayıs 1988 tarihinde Gaziantep’te doğdu. İlkokul, orta ve lise öğrenimini Gaziantep’ te tamamladı. Üniversite eğitimini İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi’ nde tamamlayarak 2014 yılında mezun oldu. 2016-2021 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi’nde Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı’ nda araştırma görevlisi olarak görev yaptı.

Yabancı dil: İngilizce

İletişim adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve doğum Anabilim Dalı, 56140 SİVAS / TÜRKİYE

E-posta adresi: yaseminalbak@gmail.com



EKLER

EK 1.

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

03.09.2019

Sayı : 65202830-050.04.04-307
Konu : Etik Kurul Kararı.

Sayın Prof.Dr.Ali ÇETİN
Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 03.09.2019 tarihinde Prof.Dr.Haki KARA başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

- Prof.Dr.Ali ÇETİN'in yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Prof.Dr.Meral ÇETİN Doç.Dr.Çağlar YILDIZ Arş.Gör.Dr.Ahmet Şevki TAŞKIRAN Arş.Gör.Dr.Yasemin ALBAK'ın 28.08.2019 tarih ve 238 sayılı "Deneysel fare modelinde endometriotik implantlar üzerinde tinzaparin ve loproolid asetat etkisi." İsimli Uzmanlık Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Bülent SARAÇ
Üye

Prof.Dr.Ihsan HUBBEZOĞLU
Üye

(İzintili)
Prof.Dr.Zübeyda Akın POLAT
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Ahmet Duran ATAŞ
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Cengiz GÜNEY
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Erhan YÜKSEL
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.Hakan İSİDAN
Üye

Dr.Öğr.Üyesi.M.Önder KARAYİĞİT
Üye

Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN
Üye – Başkanvekil

(Katılmadı)
Hilmi GÜL
Sivil Üye

(İzintili)
Özcan KARATAŞ
Sivil Üye

Prof. Dr. Haki KARA
Başkan



EKLER