



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

ENDOMETRİOZİSLİ HASTALARDA
ENDOMETRİYAL FAS PROTEİN EKSPRESYONU

Dr. Murat KAYAOĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2011



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

ENDOMETRİOZİSLİ HASTALARDA
ENDOMETRİYAL FAS PROTEİN EKSPRESYONU

Dr. Murat KAYAOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Şakir KÜÇÜKKÖMÜRCÜ

BURSA – 2011

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Etyoloji.....	1
Prevelans.....	9
Endometriozisin Tanısı.....	9
Apoptozis.....	18
Gereç ve Yöntem.....	35
Bulgular.....	38
Tartışma ve Sonuç.....	43
Kaynaklar.....	48
Teşekkür.....	63
Özgeçmiş.....	64

ÖZET

Fas (CD45/APO-1), 48 dalton ağırlığında tümör nekrozis faktör (TNF) ailesine ait tip 1 transmembran hücre yüzey proteindir ve ligandı (FasL) ile birlikte apoptozisi tetikleyici moleküller olarak tarif edilmiştir. Bu çalışmadaki amaç endometriozisli hastalarda Fas proteininin olası rolünü ortaya koymaktır.

Bu çalışmaya, Nisan 2006 ile Mayıs 2009 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuru endometriozis tanısı alan 30 hasta ile endometriozis ve/veya endometrioma tanısı olmayan 30 kontrol hasta dahil edilmiştir. Tüm hastalardan, menstrual sikluslarının 24 ile 28. günleri arasında pipelle yöntemiyle örnekleme yapılmıştır. Yapılan endometriyal örneklemelerinde immünohistokimyasal olarak fas protein ekspresyonu araştırılmıştır. Her olgu için ortalama HSCORE değeri kullanılarak hasta ve kontrol grubu karşılaştırılmıştır.

Ortalama yaş, endometriozisli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). İnfertilite şikayeti, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, sırasıyla %53.3 ve %26.6. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.04$).

Endometriozisli hasta grubu ile kontrol grubu arasında, boyanma şiddeti, boyanma yüzdesi ve H skorlaması açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p < 0.001$). Endometriozisli hasta grubunda, H skoru ile gravida arasında ters yönlü doğrusal bir ilişki mevcuttur ($p=0.031$, $r = -0.509$). Benzer şekilde endometriozisli hasta grubunda, H skoru ile yaş arasında istatistiksel açıdan anlamlı ve ters orantılı bir ilişki bulunmuştur ($p=0.018$, $r = -0.429$).

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu çalışma ile bir apoptozis regülör proteini olan Fas'ın, hastalığı olmayan bireylere göre endometriozisli hastaların uterin endometriyumlarındaki ekspresyonunun azaldığını ve bunun da hastalığın patofizyolojisinde etkin olabileceğini göstermektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarla birlikte

değerlendirildiğinde, bu araştırmanın sonuçları da endometriozis patogenezinde Fas proteininin önemli bir rolü olabileceğini işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: Apoptozis , endometriozis, immünohistokimya, fas.

SUMMARY

Endometrial Expression of Fas Protein in Patients with Endometriosis

Fas (CD45/APO-1) is a 48 dalton weighted transmembrane cell surface protein that belongs to tumor necrosis factor (TNF) family, and it is described as a molecule that triggers apoptosis with its ligand FasL. The aim of this study is to introduce possible role of Fas protein in pathophysiology of endometriosis.

This study was conducted in outpatient clinic of Obstetrics and Gynecology Department of Uludağ University Faculty of Medicine between April 2006 and May 2009. Thirty patients who were diagnosed with endometriosis after laparoscopic or open surgery, constituted the study group. Control group was constructed from 30 patients who were not having any signs of endometriosis which was demonstrated during surgery. Endometrial sampling with pipelle method was done to all subjects between 24th and 28th days of menstrual period. Specimens were prepared for immunohistochemical examination for Fas protein. Quantitative comparison of the groups was done by using H score.

Mean age is found significantly higher in study group compared to control group ($p < 0.05$). Presence of infertility was detected to be significantly higher in study group when compared with the control group, 53.3% and 26.6%, respectively. It is demonstrated that staining density and staining intensity, as well as H scoring between the two groups are found significantly different from each other ($p < 0.001$). There was a negative linear correlation between H score and gravidity in the study group, and this relation was statistically significant ($p = 0.031$, $r = -0.509$). Similarly, the relation between H score and age was statistically significant and negative linear in character ($p = 0.018$, $r = -0.429$).

In conclusion, we have demonstrated that, expression of fas protein on cellular surface of human endometrium is downregulated in patients with

endometriosis compared to healthy endometrium. This may be a cause of decline or dysregulation in apoptotic pathways, which is thought to be responsible from endometriosis. Together with the recent studies, it could be thought that dysregulation in the fas protein could have a role in development of endometriosis.

Key words: Apoptosis , endometriosis, immunohistochemistry, fas.

GİRİŞ

Klinik olarak progresif bir hastalık olan endometriozis, endometriyal glandüler doku ve stromanın uterus dışında yerleşimi olarak tanımlanır (1). En sık implantasyon yerleri, pelvik organlar ve periton olmakla birlikte, farklı doku ve organlarda da gözlenebilir. Pelvik ağrı, dismenore ve infertilite semptomları en sık sebep olduğu rahatsızlıklardır (2).

Sampson'un retrograd menstrüasyon hipotezine göre menstrüel kan endometriozis aşamasına ilerleyen canlı endometriyal hücreleri içermektedir ve periton boşluğuna dökülen kan içerisindeki hücreler implante olup endometriozisi oluşturur (3). Fallop tüpü salım olan kadınların %75-95'inde retrograd menstrüasyon olmaktadır (4). Sampson tarafından etyolojiye yönelik ilk tarifi yapılabildiği 77 yıl geçmesine rağmen, insidansı böylesi yüksek bu hastalığın etyoloji ve fizyopatolojisi hala tam açıklanamamıştır.

Endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarının ektopik doku değişikliği göstermesi ve bu değişikliklerin hastalığı bulunmayan kadınların endometriumlarında izlenmemesi, endometriozisteki primer defektin endometriumda bulunduğu görüşünü desteklemektedir (5). Bu şekilde değişmiş endometriumdan kaynaklanan, peritoneal kaviteye dökülen hücrelerin ve doku elemanlarının peritoneal yüzeylerde implantasyon, büyüme ve endometriozis geliştirme potansiyellerinin daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (6). Etiyopatogenezdeki mekanizmalardan ilgi toplayan biri de, endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriumunda apoptozis varlığıdır (7, 8).

1.Etyoloji

Bugün için endometriozis olarak tanımladığımız peritoneal lezyonlar, tıp literatüründe ilk olarak 1800'lü yıllarda tanımlanmıştır. Bu hastalık, peritoneal lezyonları overdeki hastalıktan kaynaklanan ekimler şeklinde tanımlayarak ilk endometriozis terimini açıklayan ve 1921 yılında çikolata kisti

adını verdiği perfore olmuş bir dizi hemorajik over kistini tanımlayan John Sampson'a ithaf edilmiştir. Endometriozisin, 'endometriyal dokunun peritoneal kaviteye menstrüel yayılımı sonucu oluştuğu' nu ifade eden klasik makalesi 1927 yılında yayımlanmıştır (3).

1.1. Retrograd Akım Teorisi

Tüm endometriozis vakalarını açıklayabilecek tek bir mekanizma olmamasına karşılık, birçok kanıt Sampson'un canlı endometriyal dokunun retrograd menstrüasyon ve implantasyonu teorisinin, endometriozis patogeneğinde primer mekanizma olabileceğini desteklemektedir. Bu teoriye destek olabilecek delillerden bazıları aşağıda sunulmuştur.

1. Laparoskopi adet döneminde uygulandığı takdirde, tüplerin fimbrial uçlarında kan akışı izlenmiştir (4).

2. Endometriozis en sık pelvisle bağlantılı olan bölümlerde görülür. En sık overler, anterior ve posterior cul de sac, uterosakral ligamentler, daha sonra posterior uterus ve posterior broad ligamentlerde görülür (9, 10).

3. Adet döneminde peritoneal sıvıdan elde edilen canlı endometriyal hücreler, hücre kültüründe üretilebilir ve peritonun mezotelyal yüzeyine tutunabilir ve penetre olabilirler (11-13).

4. Obstrüktif tipte müllerian anomalisi olan kadınlarda, menstrüel kan akımının engellenmediği malformasyonlara göre endometriozis insidansının daha yüksek olduğu saptanmıştır (14).

5. Erken menarşi, menorajisi veya kısa menstrüel siklusu olan kadınlarda endometriozis insidansı daha yüksektir (15, 16).

6. İnsan dışı primatlarda, cerrahi olarak indüklenmiş peritoneal menstrüasyon ya da menstrüel endometriumun retroperitoneal enjeksiyonu sonrası ve kendi menstrüel dokuları peritona enjekte edilen kadınlarda deneysel endometriozis oluşturulabilir (17-20).

1.2. Çölemik Metaplazi ve İndüksiyon Teorisi

Çölemik metaplazi teorisine göre endometriozis, periton ve plevrada lokalize olan çölemik epitelden kaynaklanan mezotelyal hücrelerdeki spontan metaplastik değişiklik sonucu oluşur. İndüksiyon teorisi aynı düşüncenin bir çeşit varyasyonunu oluşturur ve çölemik metaplazinin menstrüel debris ya da

diğer stimuluslar sonucu indüklendiği fikrini öngörür. Sampson, kendi orijinal yazısında, peritoneal endometriozis odağının aynı zamanda 'kist içerisinde mevcut bazı spesifik irritanlar tarafından peritoneal endotelin hem yapısal hem de fonksiyonel özellikleri içeren tipik endometriyal dokuya metaplazisinin stimule edilmesi sonucunda gelişebileceğini belirtmiştir (3). Bazı gözlemler, en azından bazı vakalarda, endometriozisin spontan ya da indüklenmiş çölemik metaplazi sonucunda oluştuğunu savunmaktadır.

1. Endometriozis, menarş öncesi kız çocuklarında, hiç menstrüasyon olmamış kadınlarda ve rölatif olarak az menstrüel siklusları olan adolesan kızlarda da gözlenmiştir (21-23).

2. Anatomik bir defekt olmadığı sürece sağlam endometriyal hücreler toraksa giremeyecekleri için, implantasyon teorisi plevral ve pulmoner endometriozis vakalarını (hemen hepsi sağ tarafta gözlenir) açıklayamaz (24). Steroid hormonlar ya da dejenere olmuş endometriyal hücrelerden peritoneal sıvıya salınan kimyasal stimulus (torasik kavite ile sağ hemidiafragma aracılığıyla iletişim sağlar) tarafından indüklenmiş plevral (periton ve mülleryan kanal gibi çölemik epitelden kaynaklanan) metaplazi bu durumu açıklayabilecek makul bir mekanizmadır.

3. Ekstremitte (başparmak, kalça, diz) gibi endometriozisin nadir bulunduğu lokalizasyonları açıklayabilecek tek mekanizma, yanlış entegre olmuş çölemik epiteldeki (erken embriyogenez süresince mezenkimal ekstremitte tomurcuklarına yakın) metaplazidir (25-28).

4. Yüksek doz östrojenle tedavi edilen erkeklerde nadir de olsa endometriozis (mesane, abdominal duvar) gözlenmiştir (29, 30).

5. Over yüzey epiteli ve stromal hücrelerin üç boyutlu kollajen jel ortamda östradiolle kültüre edilmesi sonucunda endometriyal bez ve stroma oluşumu gerçekleşir (31).

1.3. Embriyonik Kalıntı Teorisi

Embriyonik kalıntı teorisi von Recklinghausen (32) ve Russell (33) tarafından 1890'lı yıllarda ortaya atılan bir teoridir. Bu teori müller sisteminin kalıntısı olan hücrelerin spesifik uyarılarla aktive olduğunu ve endometriyal hücrelere farklılaştığını savunmaktadır. Embriyonik kalıntı hücrelerin

farklılaşarak endometriyal hücrelere dönüşmesi teorisi erkeklerde rapor edilen nadir endometriozis vakalarına da bir dayanak olmaktadır.

1.4. Lenfatik ve Vasküler Metastaz Teorileri

1920'lerde Halban (34) ve Sampson (35), endometriozisin lenfatik ve hematojen yolla endometriyal hücrelerin yayılımı sonucunda olabileceğini öne sürmüşlerdir. Endometriyal hücrelerin lenfatik veya hematojen yolla metastaz yapabilecekleri konusunda gözardı edilemeyecek kadar kanıt vardır. Endometriyal hücrelerin lenfatik sistem aracılığı ile uzak bölgelere metastaz yapması, örneğin plevra, umbilikus, retroperitoneal bölge, alt ekstremiteler, vajen ve servikse ulaşması anatomik olarak lenfatik sistem aracılığı ile mümkündür (36-39).

Lenfatik ve vasküler metastaz teorisi, kemik, kas, beyin, sinir, akciğer parankimi, vertebra ve ekstremiteler gibi nadir yerlerde görülen endometriozis vakalarının patogenezi açıklama noktasında da yardımcıdır (40).

1.5. Genetik Faktörler

İnsanlarda ve insan dışı primatlarda, aynı aileden olan kişilerde daha fazla endometriozis görülme eğilimi vardır (41-43). Endometriozis, etkilenmiş kadınların birinci derece akrabaları arasında genel popülasyona oranla 6-7 kat daha sık izlenir (44).

Endometriozis gelişimine predispozisyon oluşturan genler, dökülmüş endometriyal hücrelerin hayatta kalmasını, peritoneal yüzeylere tutunma ve invazyonunu, proliferasyonu, neovaskularizasyonu ya da inflamatuvar cevabı kontrol eden moleküler işlemleri yöneten genlerden herhangi birisi olabilir. Aslında, endometriozisli kadınlardaki ötopik endometriyumun hastalığın patogeneziyle ilgili bazı gen ürünlerinin anormal ekspresyonunu gösterdiğine dair oldukça fazla sayıda kanıt mevcuttur. Bu gözlemler, endometriozis gelişen kadınların endometriyumunun ektopik implantasyon ve yayılıma kalıtsal olarak predispozisyon oluşturacak yönde anormal olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalar ile ötopik endometriyum apoptozise daha dirençli gibi gözükmektedir; apoptozisi regüle eden bcl-2 ve bax protein ailesi ve fas-fas ligand ekspresyon sistemi bu dirençle ilişkilendirilmiştir (7). Apoptozise

direnç peritoneal kaviteye giren endometriyal hücrelerin hayatta kalmasını artırabilir ve aynı zamanda ektopik endometriumun neden makrofaj aracılı immun denetim ve klirens dirençli olduğunu açıklamaya yardım eder.

Matriks metalloproteinazlar, ekstrasellüler matriksi yıkan ve normal endometriyal yıkım ve östrojenin stimule ettiği yeniden büyümenin düzenlenmesine yardımcı olan enzimlerdir. Endometriozisli kadınlarda, sekretuar endometriyal matriks metalloproteinaz ekspresyonu beklenmedik şekilde progesteron supresyonuna dirençlidir. Dökülen endometriyal hücrelerde devam eden matriks metalloproteinaz ekspresyonu, peritoneal yüzeye invazyonu ve takiben hücresel proliferasyonu kolaylaştıracak şekilde reflü olan endometriyuma, invaze olabileme potansiyeli sağlar (7, 45).

Endometriozis gelişim ve büyümesi östrojen bağımlıdır ve bugün için hem östrojen üretiminin hem de metabolizmasının, endometriozisde hastalığı ilerletecek şekilde değişikliğe uğradığına dair güçlü kanıtlar mevcuttur. Orta ve ağır endometriozisli kadınların endometriumunda androjenlerin östrojenlere dönüşümünü sağlayan aromataz enzimi, anormal olarak eksprese edilir; hastalık bulunmayan kadınlarda genellikle endometriyal aromataz aktivitesi saptanamamıştır. Böylelikle, endometriozisli kadınlar, lokal endometriyal östrojen üretimini destekleyen genetik anormalliğe sahip olabilirler. Daha da önemlisi, endometriomalar ve peritoneal endometriotik implantlar son derece yüksek aromataz aktivitesi sergilerler. Östrojen aynı zamanda endometriozis kaynaklı stromal hücrelerde aromatazın potent bir stimülatörü olan prostaglandin (PG) E2'nin oluşumunu sağlayan lokal siklooksijenaz tip-2 (COX-2) aktivitesini stimule eder ve böylece devamlı lokal östrojen üretimi için ileriye dönük üretim artırım (feed-forward) döngüsü ya da geriye dönük üretim artırım (pozitif feedback) döngüsü oluşturur (46-49).

Östron ve östradiolun birbirine dönüşümü iki formu bulunan 17beta-hidroksisteroid dehidrojenaz (17bHSD) aracılığı ile sağlanır; tip 1 östronu östradiole (daha potent östrojen) dönüştürür ve 17bHSD tip 2 (ayrı bir gen tarafından kodlanır) ters reaksiyonu katalizler. Normal ötopik endometriumda, progesteron glanduler epiteldeki 17bHSD tip2 aktivitesini

indükler; enzim sekretuar endometriyal glandlarda fazla oranda eksprese edilir. Endometriotik dokuda, 17bHSD tip 1 normal olarak eksprese edilir, ancak 17bHSD tip 2 ekspresyonu gözlenmez. Progesteron endometriotik implantlarda 17bHSD tip 2 aktivitesini indüklemeyebilir, çünkü aynı zamanda progesteron reseptör (PR) ekspresyonu da anormaldir. Normal 17bHSD tip 1 ekspresyonu, 17bHSD tip2 aktivite yokluğu kombine olarak lokal östrojen konsantrasyonu artışına yol açarak hastalık oluşumu ve ilerlemesini sağlayabilir (50, 51).

1.6. İmmünolojik Faktörler

Endometriozisde hem hücresel hem de humoral immünitadaki değişikliklerle etkilenmiş immun yanıt sonucu geriye kaçan menstrüel kalıntının temizlenmesindeki yetersizliğin hastalığın oluşum nedeni olabileceği düşünülmektedir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında immün hücre miktarının artmasına karşılık, immün hücrelerin hastalığı önlemekten öte ilerletme yönünde etki gösterdiklerine dair kanıtlar mevcuttur. Bu immünolojik anormalliklerin endometriozisin sebebi ya da endometriozis nedeniyle olup olmadığı henüz belirsizdir. Ancak hastalığın patogenezinde önemli rol aldıkları tartışmalıdır (52).

Makrofajlar tanıma, fagositoz ve saldıran mikroorganizmanın yok edilmesi fonksiyonlarıyla konakçıyı savunurlar ve aynı zamanda apoptotik hücreler ve hücresel artıkların temizlenmesine yardım eden çöpçü hücreler olarak hizmet ederler. Makrofajlar peritoneal sıvıda normalde bulunurlar ve endometriozisli kadınlarda sayı ve aktiviteleri fazla miktarda artar (53-56). Endometriozisli kadınlardaki aktive olmuş peritoneal makrofajlar ve dolaşımdaki monositler, ektopik endometriyal hücreleri ortadan kaldırmak yerine, ektopik endometriumun proliferasyonunu stimüle eden ve çöpçü fonksiyonlarını inhibe eden büyüme faktörleri ve sitokinler sekrete ederek hastalığın ilerlemesine neden olurlar (57, 58).

Natural killer (NK) hücreler doğal immün sistemin diğer bir önemli komponentini oluştururlar. Endometriozisli kadınlarda natural killer hücrelerin sayılarıyla ilgili çalışmalar çelişkili sonuçlar verir. Endometriozisli hastaların düşük NK hücre aktivitesine sahip olduğunu bildiren çalışmalar olduğu gibi

(59-63), aksine bu hastalarda artmış NK aktivitesini gösteren çalışmalar da mevcuttur (59, 64, 65). Ancak NK hücre aktivitesinde, normal bireylerde dahi geniş varyasyonlar görülür. NK aktivitesi sigara, ilaç, egzersiz gibi değişkenlerden etkilenmektedir.

Lenfositler kazanılmış immün cevabı yönetirler. B-lenfositler kemik iliğinde olgunlaşırlar ve ekstrasellüler mikroorganizmalara yönelik antijen-spesifik antikolar olan immünglobulinleri sekrete ederler. T-lenfositler B-hücrelerine antikor yapımında yardımcı olurlar ve aynı zamanda makrofajları aktive ederek ve virusle enfekte ya da malign hücreleri öldürerek intrasellüler patojenleri yok ederler. Toksik/süpressör T-hücreler (hücresele immün cevaba katılır) ve yardımcı T-hücreler (hümorale immün cevaba katılır). Her iki tip T-hücrelerinin sayıları endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında ve ektopik endometriumun stromasında artmıştır (66-68).

İnterlökin-1 inflamatuvar ve immün cevaplara katılan bir sitokindir ve aktive monosit ve makroofajlardan, T- ve B-lenfositlerden ve natural killer hücrelerden salınır. İnterlökin-1 (IL-1) endometriozisli kadınların peritoneal sıvısında gösterilmiş ve interlökin-1 reseptör ekspresyonu endometriozis kaynaklı stromal hücrelerde artmıştır (69-71). İnterlökin-1 anjiyogenik faktörlerin (VEGF; vasküler endotelial büyüme faktörü, interlökin-6, interlökin-8) salınımını stimüle eder (72, 73). IL-1, natural killer hücreler ve diğer immün hücreler üzerindeki immün tanıma bölgeleri için yarışan endometriotik hücre kaynaklı hücreler arası adhezyon molekülünün çözünür bir formununun (ICAM-1) salınımını indükler. Böylece, endometriyal hücrelerin immün sistemden kaçmasına ve peritoneal kaviteye girmesine yardımcı olarak endometriozis gelişimini destekler (74, 75).

İnterlökin-8 mezotelial hücreler, makroofajlar, endometriyal ve diğer hücreler tarafından üretilen potent anjiyogenik bir sitokindir. Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvıda interlökin-8 düzeyleri artmıştır ve hastalığın ciddiyeti ile korelasyon gösterir (76).

Monosit kemotaktik protein-1 ve RANTES (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted), makroofajları peritoneal kaviteye çeken iki kemoatraktan sitokindir. Endometriozisli kadınlarda, bu sitokinlerin

peritoneal sıvı konsantrasyonları artar ve hastalığın ciddiyeti ile korelasyon gösterir (77).

Tümör nekroze edici faktör-alfa(TNF-alfa) aktive lenfositler, makrofajlar ve NK hücreler tarafından üretilen diğer bir inflamatuvar sitokindir. Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvı konsantrasyonları artmıştır ve hastalığın evresi ile korelasyon gösterir. TNF-alfa tarafından kültüre edilmiş stromal hücrelerin mezotelyal hücrelere yapışmasının arttırıldığıının gözlemlenmesi, TNF-alfa'nın endometriozisli kadınlarda ektopik endometriumun peritona tutunmasını kolaylaştırabileceğini akla getirmiştir. İmplant olabilmek ve büyümek için endometriumun kan desteğini sağlaması mutlak şarttır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) monosit ve makrofajlar tarafından üretilen lokal anjiogenezisin önemli bir mediatörüdür. VEGF primer olarak endometriyal glandlarda üretilir. Östrojen ve IL-1 de dahil olmak üzere, birtakım faktörler tarafından regülasyonu artırılır. Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvıda VEGF konsantrasyonları artmıştır ve hastalığın ileri evrelerinde en yüksek düzeydedir (2).

1.7. Çevresel Faktörler

İnsan dışı primat modeli ile endometriozis gelişimindeki çevresel faktörler ile onların potansiyel etkileri hakkında önemli veri sağlanmıştır. Örneğin, tüm vücuda X ışınları verilen rhesus maymunlarında kontrol grubundan daha yüksek oranda endometriozis gelişmiştir (sırasıyla %53 , %26) (78). Yine, 4 yıl günde 5–25 ppm (parts per million) dioxin verilen rhesus maymunlarında, doza bağımlı endometriozis gelişmiştir (79). Bir raporda, dünyada en çok dioxin kirliliğiyle, hem en yüksek endometriozis insidansı hem de en şiddetli endometriozis prevelansının Belçika'da olduğunun yayınlamasıyla, başlangıçta bu deney sonucunun kadınlarda da geçerli olabileceği epidemiyolojik olarak inandırıcı gelmiştir (80). Fakat daha sonra İtalya ve Belçika'dan iki prospektif çalışma ile dioxine maruz kalan kadınlarda endometriozis risk artışının önemli olmadığı tespit edilmiştir (81, 82).

2. Prevelans

Tanının cerrahi değerlendirme sonrasında konulabilmesi nedeni ile hastalığın toplum içindeki gerçek prevalansının tam olarak tespit edilmesi çok zordur. Ancak bir genelleme yapılacak olursa reproduktif çağıdaki kadınların %3-10' u ve infertilite, kronik pelvik ağrı nedeni ile başvuran kadınların %25-35'inde endometriozis vardır (83, 84). Prevalansın infertilite nedeniyle laparoskopi yapılan popülasyonda %2-78 arasında, pelvik ağrı nedeniyle yapılan laparoskopide ise %5-82 arasında değiştiği bildirilmektedir (85).

3. Endometriozisin Tanısı

Endometriozisin geleneksel tanısı ektopik endometriyal gland ve stromanın histolojik olarak gösterilmesi gerektirir, ancak bugün artık tanıyabildiğimiz farklı endometriotik lezyonların görünüşleri ve doğal progresyonlarına yönelik güncel yaklaşımlar nedeniyle bu tarz bir yaklaşımın gereksiz yere çok katı olduğu düşünülmektedir. Ne yazık ki, endometriozisin patogeneziindeki gelişmeler henüz hastalığın tanısı için laparoskopiye alternatif olabilecek güvenilir noninvazif bir yöntem sunamamıştır (2).

3.1. Endometriozisin Klinik Tanısı

Endometriozis asemptomik olabilir. Ancak subfertilitesi, dismenore ve disparoni veya kronik ağrısı olan kadınlarda endometriozisten şüphelenilmelidir. Eğer ağrısız menstrüasyonlardan yıllar sonra başlayan dismenore varsa endometriozis düşünülmelidir. Dismenore, sıklıkla menstrüel kanamadan önce başlar ve menstrüel dönem boyunca devam eder. Ağrı çoğu zaman bilateraldir, yayılımı değişkendir. Bazı kadınlarda yaygın endometriozis olmasına rağmen, ağrı az veya hiç olmayabilir. Bazen de minimal endometriozisi olup, şiddetli ağrı tanımlayan hastalar görülebilir. Şiddetli pelvik ağrı, derin infiltrate endometriozis ile uyumludur (86, 87).

Endometriozisli hastalarda ağrıya neden olan olası mekanizma, lokal peritoneal enflamasyon, doku hasarı ile birlikte olan derin infiltrasyon, adhezyon formasyonu, fibrotik kalınlaşma ve endometriotik implantlarda

menstrüel kanın birikimi ve dokuların fizyolojik hareketine bağlı ağrılı çekilmedir (87, 88).

Ağrı pelviste yaygın olabilir veya sıklıkla rektumda lokalizedir. Lokal semptomlar rektum, üreter ve mesane tutulumundan kaynaklanabilir. Aşağı bel ağrısı oluşabilir. Üreterde blokaj olursa, siklik ağrı, dizüri ve hematüri ile sonuçlanabilir.

Ekstrapelvik endometriozis, sıklıkla asemptomatik olduğu halde, ağrı ve palpabl bir kitlenin semptomlarının, pelvis dışında siklik paternde ortaya çıkması ile karakterizedir. İntestinal kanal tutulumu (özellikle kolon ve rektum), ekstra pelvik hastalığın en sık rastlanan şeklidir. Karın ve bel ağrısına, abdominal distansiyon, siklik kanama, konstipasyon ve obstrüksiyona neden olabilir. Umbilikal bölgede palpabl kitle, siklik ağrı durumunda umbilikal endometriozisten şüphelenilmelidir.

Endometriozis, sıklıkla anovulasyon, anormal folliküler gelişim, luteal yetmezlik, premenstrüel lekelenme (LUF; luteinized unruptured follicle sendromu), galaktore ve hiperprolaktinemi ile beraber görülebilir.

Galaktore ile endometriozis arasında ilişki olduğu iddia edilse de, prolaktin değerleri endometriozisli kadınlarda normal kadınlardan yüksek bulunmamıştır. Endometriozis ile premenstrüel damla tarzı kanama arasında korelasyon olduğu düşünülürse de, bir çok vakada mestrüel disfonksiyonun endometriozisle artmadığı gözlenmiştir. Endometriozisi olan kadınlarda endokrinolojik anormalliklerin insidansının arttığına dair yeterli veri bulunmamaktadır (89).

Tubal ligasyon sırasında endometriozis saptanan bir dizi asemptomatik kadına dayanarak, endometriozis prevalansının, endometriozisli infertil kadınlarda, fertillerden daha yüksek olmadığı görülmüştür. Fertil kadınların %80'inde minimal veya hafif, %20'sinde orta veya ciddi endometriozis rapor edilmiştir (9, 90).

Kontrollü retrospektif çalışmalarda endometriozisin, normal spontan abortus oranı olan %15-25 ile karşılaştırıldığında, %40'a varan artmış spontan abortus oranı ile ilişkili olduğu görülmüştür (91-93). Spontan abortus oranının cerrahiden sonra düştüğü, tedavi edilmese de azaldığı rapor

edilmiştir. Hastalığın evresi ile abortus oranı arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Yapılan bir çok çalışmada da, habituel abortus ve spontan abortus oranında, endometriozisli hastalarla normal kadınlar arasında bir fark olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle endometriozis ve spontan abortus ilişkisini yeterince ortaya koymak güçtür (94-96).

3.1.1. Endometriozis ve İnfertilite

Endometriyozisli hastaların %20 ila %40 infertildir (85). Amerikan Fertilité Cemiyeti'nin açıklamasında orta veya şiddetli düzeydeki endometriozis olgularında infertilite mekanizması, hastalık overleri içerisine almış ise ve oluşan adhezyonlar tuboovaryen motiliteyi ve ovumun yakalanmasını engelliyorsa fertilité oranının azalabileceği ifade edilmektedir (97). Erken evre ve orta dereceli endometriozisi olan kadınlarda anatomik bozukluk ve tubanın tıkanıklığına ek olarak infertiliteyi açıklayacak birkaç teori ileri sürülmüştür. Bu teoriler;

- Anovulasyon, luteal faz bozukluğu (98, 99).
- Galaktore veya hiperprolaktinemi (100).
- Otoimmünite (101).
- Peritondaki lökositler ve peritonun inflamatuvar cevabı ve periton sıvısındaki prostoglandinler (101, 102).
- Embriyonun implantasyon defekti (103).

Endometriozisin tüm infertil kadınlardaki prevalansı fertil kadınlardan kesinlikle çok daha fazla gibi gözükmektedir. İnfertil kadınlar aynı zamanda orta ya da ciddi hastalığa yakalanmaya fertil kadınlardan daha fazla eğilimlidirler (104). Minimal ve hafif endometriozisli olup tedavi edilmemiş kadınlardaki aylık fekundabilitenin açıklanamayan infertilitesi olan kadınlardakine benzer oranda azaldığı, ancak hastalığın ciddiyetinin artmasıyla fekundabilitenin daha da azaldığı şeklindedir (105-107).

Endometriozisin infertiliteye neden olduğu mekanizmaları sorgularken, endometriozisi olan ve olmayan kadınlarda in vitro fertilizasyon (IVF) sonrası elde edilen gözlem sonuçlarını incelemek gerekmektedir. Endometriozisli kadınlarda IVF ile ilgili yapılmış birçok gözlemsel çalışmanın sonuçları farklıdır, ancak kombine edildikleri takdirde değerli bilgiler sunarlar.

Genelde, IVF başarı oranları esasen endometriozisli kadınlarda tubal hastalığı olanlardan daha düşüktür ve prognoz ağır hastalıkta hafif hastalıktan daha kötüdür (108).

Endometriozisli kadınlarda IVF sonrası gözlenen düşük implantasyon ve gebelik oranları ya kötü oosit kalitesi ve takiben embryogenezisi ya da azalmış endometriyal reseptiviteyi yansıtabilir. Donör oosit alıcılarında IVF sonuçları ile ilgili yapılan çalışmalar ikisini ayırt etmek için ortalama değerler sağlamıştır. Sağlıklı kadınlardan alınan donör oositlerle endometriozisi olan ve olmayan alıcılar arasında benzer sonuçlar elde edilirken, sağlıklı alıcılarda endometriozisli kadınlardan elde edilen oositlerle sağlıklı donörlerden alınanlara göre daha kötü sonuçlar elde edilmiştir. Aynı zamanda, endometriozisli kadınlardan toplanan oositlerden elde edilen embriyolar hastalısız kadınlardan elde edilenlere göre daha az sayıda blastomere sahiptirler ve bu embriyolar arrest ve anormal morfolojik gelişime daha yüksek sıklıkla rastlanır. Bu gözlemler, endometriozisli kadınlarda daha düşük implantasyon ve gebelik oranlarının azalmış endometriyal reseptiviteden çok oosit kalitesi ve takiben embryogenezdeki anormallikler nedeniyle gerçekleşebileceğini düşündürmektedir (109-113).

Endometriozis olan ve olmayan kadınların donör oosit IVF siklus sonuçları hastalığın endometriyal reseptivite üzerinde önemli yan etkileri olduğunu göstermemekle birlikte, diğer veriler endometriozisli kadınların ötopik endometriyumunun esas olarak normal kadınlarınkinden yine de farklı olduğunu göstermektedir. Birçok araştırmacı endometriozisi olan ve olmayan kadınların endometriyumlarını inceleyip karşılaştırarak, hastalıklı kadınlarda kabul edilen implantasyon penceresi süresince birkaç gen ürününün anormal eksprese edildiğini gözlemlemişlerdir. Bu genler çeşitli hücre adhezyon moleküllerini, matriks metalloproteinazları, transkripsiyon faktörlerini, büyüme faktörlerini, enzimleri ve steroid hormon reseptörlerini kapsar (114).

3.2. CA-125

Endometriozis tanısında en yaygın kullanılan serum belirteci yüksek molekül ağırlıklı bir glikoprotein olan CA 125 dir. Endometrium, endoserviks, fallop tüpleri, periton, plevra ve perikard gibi embriyonik çöломik epitelden

köken alan tüm dokularda eksprese edilmektedir. American Fertility Society (AFS) evre II-IV arasında endometriozis hastalarının menstrasyonu ve luteal faz sonunda CA-125 değerleri sıklıkla yükselir. CA-125 ve plasental protein 14 (PP 14)'ün artmış konsantrasyonları endometriyotik kistler ve derin endometriozisle spesifik olarak ilişkili bulunmuştur. Serum CA-125 tayininin endometriozis tanısında tarama testi olabileceği savunulmuştur, ancak cerrahi olarak tanı konulmuş hastalığı altın standart olarak kabul eden 23 farklı çalışmayı içeren metaanalizde, bu belirteçin nispeten zayıf etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle CA-125 endometriozis için bir tarama testi değildir (115).

3.3. Görüntüleme

İlerlemiş endometriozisli kadınların belirlenmesinde transvajinal ultrasonografi özellikle over kaynaklı endometriomaların belirlenmesinde faydalı olabilir, ancak pelvik adhezyonları veya hastalığın yüzeysel peritoneal odaklarını görüntüleyemez.

Transvajinal ultrasonografi 10 mm den büyük endometriomaların değerlendirilmesinde ve takibinde uygun bir yöntem olarak gözükmektedir (116). Karakteristik ultrasonografik özellikler, diffüz düşük internal ekolar ve duvarda hiperekojenik odaklar olarak izlenmektedir. Renkli doppler ultrasonografide kist duvarında sınırlı vaskülarite gözlenir. Dopplerin eklenmesinin tranvajinal ultrasonografinin etkinliğinin artırıp arttırmadığı konusu belirsizliğini korumaktadır. Renkli doppler ilavesinin endometrioma tanısı ile ilgili ek bir fayda bildirmemişler (117). Endometriomalarda tipik olarak saçılma tarzı vaskülarizasyonun olduğunu ve bunun korpus luteum ve ovarian neoplazmlardaki dens vaskülarizasyondan çok farklı olduğunu ileri sürmüşlerdir (118).

Transvajinal ultrasonografi gibi, manyetik rezonans görüntüleme over kaynaklı endometriomaların tanısında ve diğer kistik over kaynaklı kitlelerle ayırıcı tanısında yardımcı olabilir ancak küçük peritoneal lezyonları güvenilir şekilde görüntüleyemez. Peritoneal implantların tanınmasında, MRI tranvajinal ultrasonografiye üstündür, ancak halen ameliyat esnasında gözlenen lezyonların sadece %30-40'ını tanımlayabilir. Histopatolojik tanısı

konulmuş hastalığın belirlenmesinde MRI'nin sensitivitesi %70 ve spesifitesi %75'tir (119). MRI'nin ultrasonografiye temel üstünlüğü akut hemoraji ile dejenere olmuş kan ürünlerini ayırmasını daha güvenle yapabilme özelliğidir (120, 121).

3.4. Cerrahi Tanı

Diagnostik laparoskopi sırasında pelvik ve abdominal kavite endometriozis varlığı açısından sistemik olarak araştırılmalıdır. Bu inspeksiyon barsak, mesane, uterus, tüpler, overler, cul-de sac ve ligamentum latumu künt bir prob ile palpasyonunu kapsamalıdır. Endometriozis tanısında altın standart laparoskopiyle birlikte eksize edilen lezyonun histolojik incelenmesidir. Peritoneal implant lezyonu değişen miktarda fibrozisle çevrili mavi-siyah renkli "barut yanığı" olarak tarif edilen lezyonlardır (sızan kandan kaynaklanan hemosiderin depozitlerini içerir), ancak implantların büyük çoğunluğu beyaz ve opak, kırmızı ve alev şeklinde veya veziküller şeklinde atipik tarzdadır. Kırmızı lezyonlar ileri derecede vaskülerdir. Bu tarz lezyonlar, proliferatif ve erken dönem hastalığı gösterirler. Pigmente lezyonlar daha yerleşik ya da ileri hastalığı temsil eder. Her ikisi de metabolik olarak aktiftir ve semptomlarla ilişkilidir (122).

Over kaynaklı endometriomalar sıklıkla diğer görünür peritoneal lezyonlarla birliktelik gösterir. Her iki overin bütün yüzeylerinin dikkatli inspeksiyonu tanı için gerekli olup ileri derecede hastalık durumunda adhezyonların mevcudiyetinde bu işlem zor olabilir. Ovaryan endometriotik kistler kalın, visköz koyu kahverengi sıvı ('çikolata kisti' mai) içerir. Bu, önceki intraovaryan hemorajiden kaynaklanan hemosiderinden oluşur. Bu sıvı hemorajik korpus luteum kistleri veya neoplastik kistlerde de bulunabileceği için histolojik doğrulama için ovaryan kistin çıkarılması gerekebilir. Bu durum mümkün değilse ovaryan endometriotik kist için görsel tanı kriterleri:

- Kistin 12 cm'den küçük olması,
- Pelvik yan duvara veya ligamentum latuma yapışıklık olması,
- Over yüzeyinde endometriozis olması,
- Kalın çikolata renginde sıvı varlığı,
- Barut yanığı lekeler olmasıdır (123).

Bu kriterlerin sensitivitesi %97, spesifitesi %95 olarak saptanmıştır (124). Bu kriterler American Society for Reproductive Medicine (ASRM)'nin 1996 toplantısında alt komite çalışmaları sonucu kabul edilmiştir.

3.5. Mikroskopik Endometriozis ve Histolojik Tanı

“Mikroskopik endometriozis”, makroskopik olarak normal görünen pelvis peritonunda endometriyal bezler ve stromanın varlığı şeklinde tanımlanır. Bu durumun endometriozis histogenezinde ve tedavi sonrası rekürrensinde önemli olduğu düşünülmektedir.

Mikroskopik endometriozisin klinik prevalansı tartışmalıdır, çünkü uniform olarak izlenmez. Normal peritonu neyin oluşturduğu konusunda belirlenmemiş kriterler kullanılarak orta ve ciddi endometriozise kadar olan 20 hastada laparotomi sırasında 1-3cm'lik peritoneal biopsiler elde edilmiştir (125). Düşük güçlü scanning elektron mikroskopi (SEM) ile biopsilerin incelenmesi, ışık mikroskobunda konfirme edilemeyen %25 vakada mikroskopik endometriozisi ortaya çıkarmıştır. Normal peritonun laparoskopik biopsilerinin seri kesitlerinde %13-15 oranında mikroskopik endometriozis gösterilmiştir ve %6'sında makroskopik hastalık olmadan endometriozis bulunmuştur. Tersine diğer çalışmalar, görünüm olarak normal peritonun 2 mm'lik biopsilerinde mikroskopik endometriozisi saptamada başarısız olmuşlardır (126). Normal görünen peritondan daha büyük örneklerin (5-15 mm) incelenmesi, çalışılan 55 hastanın sadece 1'inde mikroskopik endometriozisi ortaya çıkarmıştır.

Mikroskopik olarak endometriotik implantlar hemosiderin yüklü makrofajlar içeren veya içermeyen endometriyal bezler ve stromadan oluşurlar (127). Farklı tiplerde lezyonlar, değişik derecede proliferatif veya sekretuar glandüler aktiviteye sahiptir. Hemosiderin yüklü makrofajlar veya hemorajili endometriyal stroma içeren stromal endometriozis, patogeneizde çok erken bir olayı ifade eder (128). Derin endometriozis, yoğun fibröz ve düz kas dokusunun içinde bezler, stromanın proliferasyonu ile karakterize spesifik tip pelvik endometriozis olarak tanımlanır (129). Adhezyonlar; endometriozisin ilerlemesi, enflamasyonun yaygınlık ve şiddetinin sonucudur. Adhezyonların varlığı ve yaygınlığı hastalığın ileri evrelerinin önemli

parametreleridir (130). Endometriotik odaklarda eski veya yeni kanama alanlarına rastlanmaktadır. Endometrium ve implanttan yapılan eş zamanlı biopsilerde, fazların farklı olduğu gözlenmiştir. Siklus boyunca normal endometriumda oluşan östrojen ve progesteron reseptör değişiklikleri, endometriotik implantlarda izlenmemiştir (131).

3.6. Sınıflama

Endometriozisin şiddeti ve yayılımı bu hastalıkta uygulanacak tedaviyi ve prognozu etkilemektedir. Dolayısıyla hastalığın sınıflandırmasında ve klinik cevapların karşılaştırmasında tek bir klasifikasyon sisteminin kullanılması önemlidir. Amerikan Fertilité Cemiyeti (AFS) tarafından laparoskopi ve laparotomideki tarama bulgularına dayanarak bir klasifikasyon sistemi geliştirilmiştir (132). Bu sınıflandırmada ektopik implantların varlığı/büyüklüğü adhezyonların varlığı/tipi/yaygınlığı, douglas obliterasyonu varlığı/derecesi esas alınmıştır.

Bu sınıflandırmanın bazı sınırlamaları vardır: Evrelemenin subjektif yapılmakta ve klinik uyumsuzluğun söz konusu olabilmesi, infertil olgularda cerrahi sonrası gebelik hızları açısından prognostik olmaması, lezyonların renginin ve infiltrasyon derinliğinin sınıflandırmaya dahil edilmemesi nedeniyle tekrar gözden geçirilen sınıflama sisteminin bugünkü uyarlaması en geniş kabul görmüş sınıflandırma aracıdır (133).



AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

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

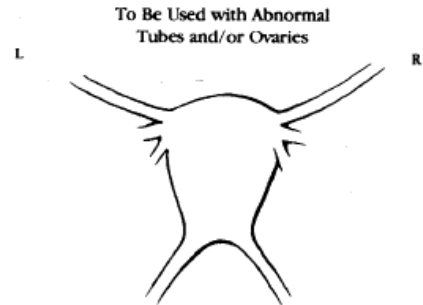
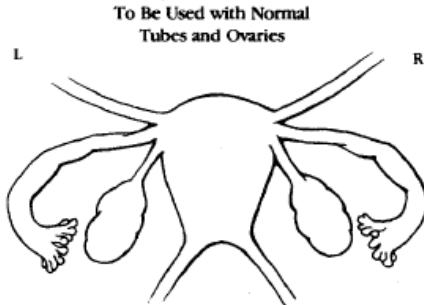
PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	< 1cm	1-3cm	> 3cm
	Superficial	1	2	4
Deep	2	4	6	
OVARY	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION		Partial	Complete	
		4	40	
OVARY	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16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

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

Denote appearance of superficial implant types as red [(R), red, red-pink, flamelike, vesicular blobs, clear vesicles], white [(W), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown], or black [(B) black, hemosiderin deposits, blue]. Denote percent of total described as R_%, W_%, and B_%. Total should equal 100%.

Additional Endometriosis: _____

Associated Pathology: _____



Şekil-1: Revize edilmiş AFS Skorlaması ve bu skorlamaya göre endometriozis evremelesi 1996 (133).

4. Apoptozis

Apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı hücre ölümüdür. Doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahiptir. Fazladan olan ve disfonksiyonel hücrelerin yok edilmesi için varolan normal bir fonksiyonu temsil etmektedir.

4.1. Apoptozis Terminolojisi

Ökaryotik organizmadaki hücreler doğarlar, belirli bir süre yaşarlar ve sonra ölürlür. Yaşam süresi hücre tipine göre değişmektedir. Örneğin, barsak hücreleri 3-5 günlük bir yaşam süresini takiben ölürlerken (134), derinin epidermal hücreleri 20-25 günlük bir süre sonunda ölmektedirler (135). Fakat, miyokard kası hücreleri veya nöronlar ömür boyu yaşarlar (136, 137). Bahsedilen bu hücre ölümleri apoptozisle gerçekleşir. Zamanı gelince ölen bu hücreler daha önceden programlanmış bir şekilde ölürlür (programmed cell death). Tüm bu ölümler fizyolojik şartlarda meydana geldiği için bu ölüm şekli fizyolojik hücre ölümü (physiological cell death) olarak da adlandırılır. Ayrıca, bir şekilde DNA 'sı hasarlanmış (virüs etkisi veya çevresel nedenlerle) hücreler organizmanın zarar görmemesi için kendilerini öldürürler (celi suicide) ve bunu organizmanın yararı için yaparlar (138). İşte, tüm bu kavramlar (programlanmış hücre ölümü, fizyolojik hücre ölümü, hücre intiharı, hücre kaybı) apoptozisle eş anlamlı olarak kullanabilen ve literatürde yer alan ifadelerdir.

4.2. Hücre Ölümü

Apoptozis eski Yunanca'da "düşmek" anlamına gelmektedir ve Homer tarafından ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü andırdığı için, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Apoptozis klasik hücre ölüm şekli olarak bilinen nekrozisten birçok özelliği açısından oldukça farklı olan bir hücre ölüm mekanizmasıdır (139). Biyolojik bilimler literatüründe apoptozis terimi, ilk defa İskoçyalı araştırmacılar olan Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (140). Apoptozis veya daha genel anlamda söylemek gerekirse, hücre ölümü

uzun süre araştırmacıların çok ilgilenmedikleri bir alan olarak kalmıştır. Fakat apoptozisin gelişim biyolojisinde, normal doku "turnover"ında ve immün sistem hücrelerinin sitotoksik fonksiyonları gibi bazı önemli fizyolojik süreçlerdeki rolü ortaya çıktıkça önemi de hızla artmıştır.

Her saniye yaklaşık bir milyon hücremiz apoptozise maruz kalmaktadır. Bunların yerine yenileri yapılmaktadır. Yapım (mitozis) ile yıkım (apoptozis) arasında kontrollü bir denge vardır. İşte bu dengenin apoptozisin lehine veya aleyhine bozulması birçok önemli hastalığın patogenezinde katkıda bulunur. Görüldüğü gibi apoptozis organizmada doğru bir şekilde işlemelidir. Olmaması gerekirken gerçekleşen apoptozis veya hızlanmış ya da tam tersine yavaşlamış apoptozis organizma için tehlikelidir.

4.3. Apoptozis ve Nekrozis Morfolojisi

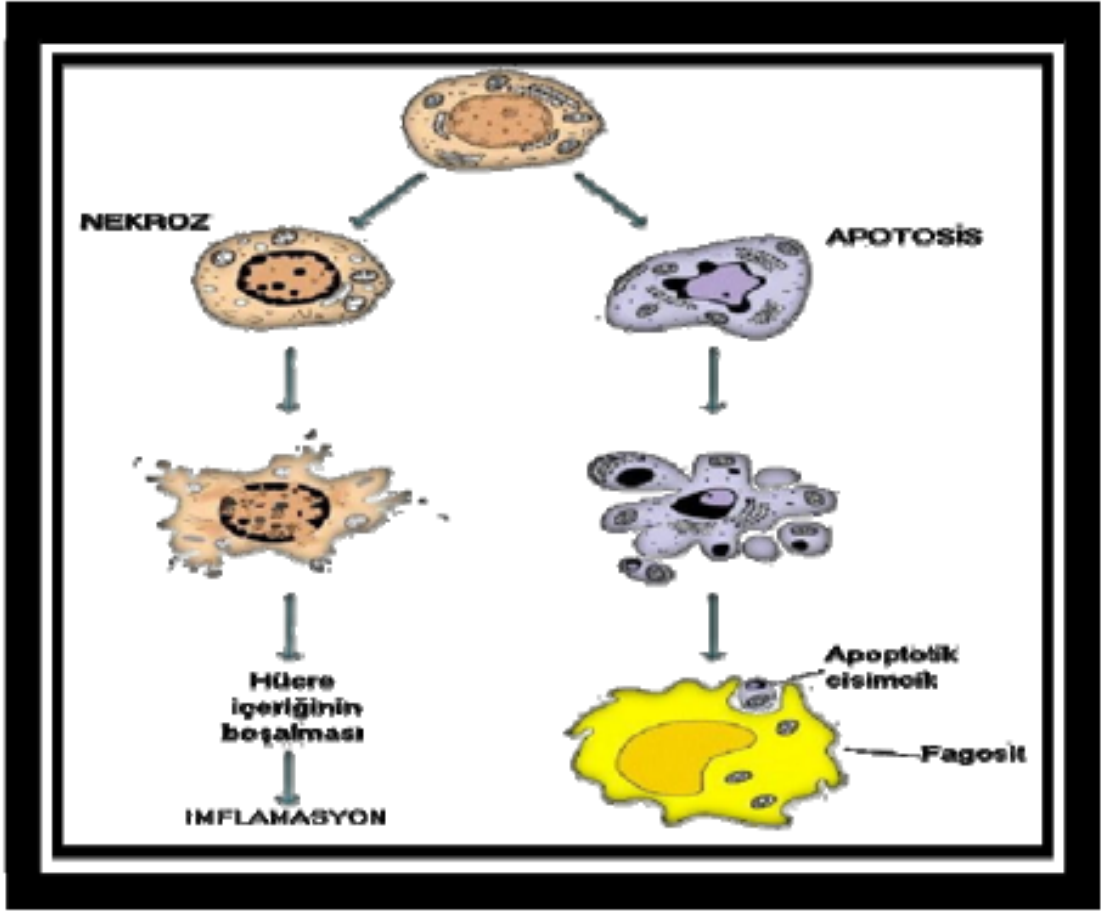
Apoptozisi anlamak için nekrozisle karşılaştırılarak öğrenilmesi faydalı olacaktır. Nekrozis fizyolojik bir ölüm şekli olmamasına rağmen apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir. Diğer bir ifadeyle apoptozis hem sağlıkta hem de hastalıkta karşımıza çıkmaktadır.

Apoptozis morfolojik olarak özgündür. Nekrozisde hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken "cell swelling", apoptotik hücre tam tersine küçülür "cell shrinkage". Nekrozisde kromatin patterni hemen hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir ama apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır "chromatin aggregation" ve kondanse olur "chromatin condensation" (141). Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir (141, 142). Oysa apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepcikler "membrane blebs" oluşur (143).

Nekrotik hücre sonra lizise uğrar ama apoptotik hücre küçük cisimciklere "apoptotik bodies" parçalanır. Apoptotik cisimcikler membranla kaplıdır; değişen miktarlarda nükleus, veya diğer hücre içi yapılar içerirler. Nekrozisde plazma membranının bütünlüğünün bozularak hasarlanması nedeniyle hücre içeriğinin dış ortama salınması sonucu inflamasyon uyarılır. Oysa, apoptozisde apoptotik hücre veya cisimcikler plazma

membranları hasarlanmadan komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinden inflamasyon oluşmaz (144).

Apoptozisin en önemli özgül yönü ("hallmark") DNA 'nın internukleozomal bölgelerden yaklaşık 80-200 baz çifti veya bunun katları boyutunda DNA parçaları oluşturacak şekilde parçalanmasıdır. Bu durum agaroz jel elektroforezinde merdiven görüntüsü imajının "ladder pattern" ortaya çıkmasına neden olur. Ama bu durum hücre tipine bağlı olarak değişebilir ya da sadece yaklaşık 50 kilo bazçifti (kbp) boyutunda bir DNA fragmentasyonu da görülebilir (145). Nekrozisde DNA rastgele parçalanır. Bu durum agaroz jel elektroforezinde 'smear' görüntüsü çıkmasına neden olur. Apoptotik hücrede görülen önemli değişikliklerden biri normalde plazma membranının iç yüzünde bulunan fosfatidilserinin erken evrede membranın dış yüzüne doğru transloke olmasıdır "phosphatidylserine translocation". Bu mekanizma apoptotik hücrelerin komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınmasını sağlar (146, 147).

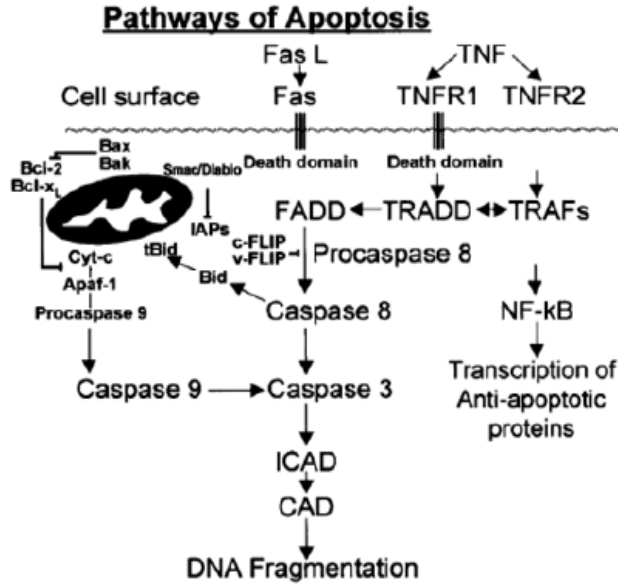


Şekil-2: Apoptozis ve nekrozis hücre ölümünün karşılaştırılması.

4.4. Apoptozisin İndüklenmesi

Apoptozisi başlatan nedenler çeşitlidir. Apoptozis klasik olarak, hücre ölüm reseptörleri olarak bilinen Fas (diğer isimleriyle APO-I, CD95) ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR- 1)'in ilgili ligandları ile etkileşime girmesi (uyarılmaları) sonucu indüklenir. Bu hücre yüzey reseptörleri membranda bulunur ve TNFR ailesinin üyesidirler (148-150). Fas lenfoid hücrelerde, hepatositlerde, bazı tümör hücrelerinde, akciğerlerde, hatta miyokarda bulunurlar. İlgili ligandına Fas ligand (FasL) denir. FasL, tümör nekroz faktör (TNF) ailesinin bir üyesidir. FasL sitotoksik T lenfositlerinde ve "natural killer" hücrelerde bulunur. Fas ve TNFR-1, ligandlarıyla bağlandıklarında ölüm uyarısı almış olduklarından bir seri protein:protein interaksiyonlarından geçerler. Öncelikle kendilerine doğal olarak bağlı

bulunan ve ölüm bölgeleri ("death domain") adı verilen TRADD ("TNFR-1 associated death domain") ve FADD ("Fas associated death domain") ile interaksiyona girerler (149, 151). Bu ölüm bölgeleri ise prokaspaz 8'i aktifleştirerek kaspazların kaskad tarzında aktivasyonlarını başlatırlar(152).

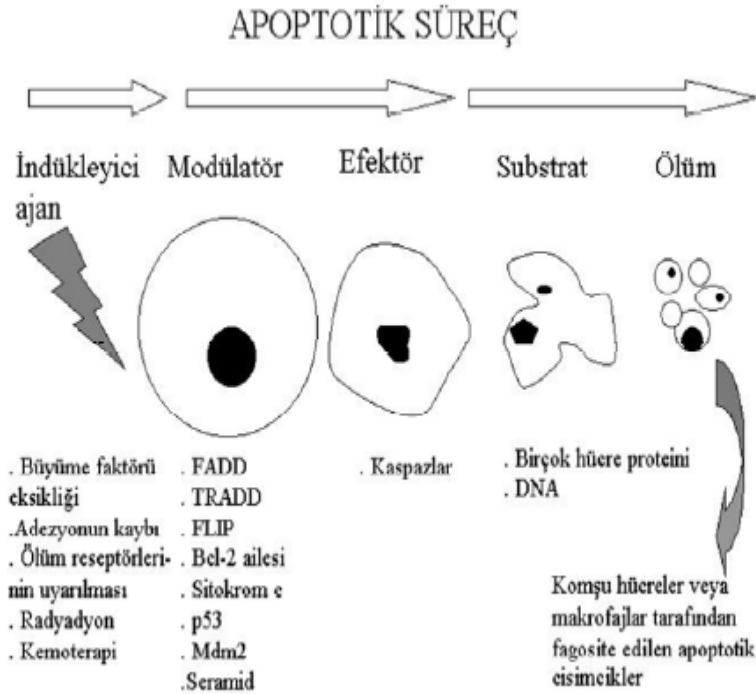


Şekil-3: Apoptozis mekanizması

Apoptozis, yukarıda da belirtildiği gibi genotoksik ajanların etkisiyle yaratılan ağır DNA hasarına yanıt olarak p53'ün indüksiyonuyla da başlatılabilir. İndüklenen p53, bir pro-apoptotik bcl-2 ailesi üyesi olan bax'ın indüksiyonuna yol açarak apoptozisi başlatır (153, 154). p53 bax'ın indüksiyonu haricinde ayrıca Fas ve DR5 gibi hücre yüzey ölüm reseptörlerinin indüksiyonuna neden olarak da apoptozisi başlatabilir(154). Apoptozis ayrıca reaktif oksijen radikallerinin (oksidatif stress) hem mitokondri hem plazma membranı hem de genom üzerinde oluşturabileceği hasarlara bağlı olarak da başlatılabilir (155).

Apoptozisi büyüme faktörlerinin ortamdaki eksilmesiyle de başlatılabilir. Hücre kültür ortamında büyütülen hücreler eğer serum açlığı ('serum starvation')'na maruz bırakılırlarsa apoptozisle ölürlere (156). Buradaki

mekanizma, apoptozis indükleyici bir nükleer protein olan p53 aktivasyonuna bağlı olarak gerçekleşir (156). Ayrıca, bir pro-apoptotik (apoptozis uyarıcı) bir bcl-2 ailesi üyesi olan Bad'ın fosforillenememesi sonucu aktifleşmesi ve böylece mitokondriden apoptozisi başlatıcı bir faktör olan sitokrom C'nin sitoplazmaya salıverilmesi yoluyla da gerçekleşir (157). Apoptozisi başlatan bir başka neden ise, sitotoksik T lenfositlerinden salınan granzim B'lerin hedef hücrede (örn. virüsle enfekte hücre veya kanser hücresi) kaspaz sistemini aktifleştirmesidir (158, 159)



Şekil-4: Apoptozisin regülasyonu

4.5. Normal Endometriumda Apoptozis ve Modülörleri

Düzenli adet gören kadınlarda endometriyal siklusta, proliferatif faz, sekretuar faz ve menstrual faz olarak üç faz görülür. Endometriyal siklusun geç sekretuar ve menstrual fazında endometriumun fonksiyonel tabakasındaki apoptozis hücresel homeostazisi sürdürmesine yardımcı olur. Bu durum proliferatif fazı takiben meydana gelir (160).

Apoptozis, endometriumun glandüler epitelinde geç sekretuar ve menstrual fazında saptanır. Çok küçük oranda da siklusun proliferatif fazında ve erken sekretuar fazında saptanabilir. Endometriyal hücrelerin proliferatif fazdaki çoğalmaları östrojen etkisi altında olur. Progesteron hücrelerde diferansiyasyon yaparak büyümesini durdurmaya neden olur. Apoptozisin normal endometriumda siklik doğasını düşündüğümüzde östrojen ve progesteronun endometriyal dokuda apoptozisle sonuçlanan sinyalleri düzenlediklerini söyleyebiliriz (160, 161). Siklusun proliferatif fazında serum östradiol ile apoptozis arasında negatif korelasyon mevcuttur (162).

Kromozom 18 üzerinde lokalize bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia-2) geni, bir hücrenin apoptozise irreversible olarak şartlanmış olup olmadığını ayarlamaktadır (163). Bcl-2 proteini apoptozisle ilişkili moleküllerin belki de en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve veriler bcl-2 proteininin kesin olarak hücre ölüm supressörü olarak rol oynadığını desteklemektedir. Bugüne dek proliferatif faz sırasında bcl-2'nin insan endometriumunda apoptozisi inhibe ettiği düşüldü de, insan endometriumundaki apoptozisin kesin mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir (164, 165).

Endometriyal bez ve stromal hücrelerde siklik olarak gözlenen bcl-2, geç proliferatif fazda doruğa çıkmakta ve geç sekretuar ve menstrüel fazda azalmaktadır. Myometrial kas hücreleri ise menstrüel siklus boyunca yeterli bir bcl-2 immunoreaktivitesi sergilemektedir. Bundan dolayı bcl-2 hem endometrial bez hücreleri hem de myometrial çizgisiz kas hücrelerinin yaşaması için esansiyel bir gen ürünü olabilir (166, 167). Bir çalışmada, bcl-2'nin siklik şekilde ortaya çıkışının levonorgestrel kullanımından sonra gerçekleşmediği gösterilmiştir (168). Bu da steroid hormonların sabit şekilde uygulanmasının, bcl-2'nin ekspresyonunu etkilediğini göstermektedir.

İmmünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılarak normal endometriumun bazal tabakasına göre, fonksiyonel tabakasında bcl-2, Fas ve kaspas-3'ün farklı düzeylerde tespiti gözlemlenmiştir (168). Antiapoptotik protein olan bcl-2'nin bazal tabakada daha fazla ifade edildiği, buna karşın ölüm reseptörü olan Fas ve kaspas-3'ün endometriumun fonksiyonel tabakasında daha yüksek düzeyde bulunduğu aynı çalışmalarda

görülmüştür. Bu sonuçlar endometriyumun fonksiyonel biyolojisi ile çok iyi uyum sağlamaktadır.

Menstrual siklus boyunca, bazal tabaka daha sabit olduğu için apoptozis bu tabakada daha az bulunmakta, buna karşın siklik büyüme, diferansiyasyon ve dökülme yaşayan fonksiyonel tabakada apoptozis daha yüksek oranda görülmektedir. Bugüne kadar bcl-2 ailesinin 15 geni tarif edilmiştir. Bcl-2 ailesinin üyeleri, homodimerik ve heterodimerik bağlantılarla haberleşmektedirler. Böylece bir hücrenin potansiyel bir apoptotik stimulusa duyarlılığı, o hücrede o andaki proapoptotik ve antiapoptotik bcl-2 aile üyeleri ile saptanabilir (167).

Bax, bcl-2 aile üyesidir ve hücrenin ölüm hassasiyetini arttırmaktadır. Bunu da muhtemelen heterodimer etkileşim aracılığı ile bcl-2'nin hücrenel yaşam üzerindeki etkisine karşı gelmekle gerçekleştirmektedir (169). Bax proteini seviyelerinin, proliferatif endometriyumda çok az sayıda olduğunu ve apoptozisin en fazla olduğu sekretuar fazda arttığını bildirmiştir (161).

Bu genler ailesinin başka bir üyesi de **bcl-x**'tir. Bcl-x alternatif kesme mekanizmasını kullanarak, apoptozisi düzenleyen hem pozitif ve hem de negatif düzenleyiciyi kodlayan, tek genin ilginç bir örneğini oluşturmaktadır. Bcl-xl (Bcl-x'in uzun formu), bcl-2'ye homolog 2 domain barındıran 233 aminoasitli (aa) bir açık okuma fragmanı içermektedir. Buna karşın bcl-xs (kısa formu), içinde bcl-2'ye en yakın homologunu bulunduran alan silinmiş olarak, bcl-xl'nin kesilmiş 177 aa içeren formudur. Bcl-x'in bu iki formu zıt fonksiyona sahiptir. Bcl-xl, büyüme faktörlerinin yokluğunda hücreleri apoptotik hücre ölümüne karşı dirençli kılar, buna karşın bcl-xs, bcl-2'nin apoptotik hücre ölümüne karşı sağladığı direnci kırar (169, 170).

İmmünoreaktif bcl-x proteini endometriyumun daha çok glandüler epitelyum hücrelerinde gözlenmiştir. Özellikle fonksiyonel tabakada, sekretuar endometriyum, proliferatif endometriyuma göre daha güçlü bcl-x immünoreaktivitesi göstermektedir. Bcl-2 ve bcl-xl insan endometriyumunda önemli antiapoptotik faktörlerdir. Sekretuar fazda endometriyal hücre turnoveri sırasında indüklenen Bax ise menses ile ilişkilidir (169, 170).

Bak, bcl-2 ailesinin bir başka proapoptotik üyesidir ve kısmen bcl-2 ve cl-xl ile etkileşerek, memeli hücrelerinde apoptozisi hızlandırmaktadır (171).

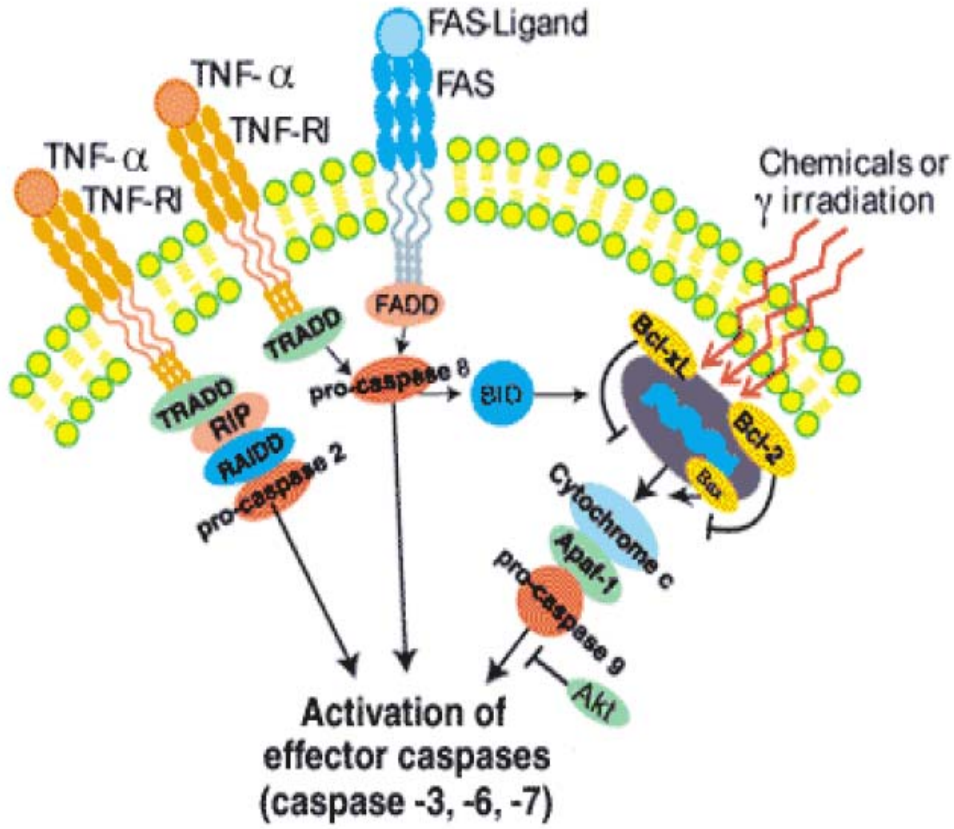
4.6. Apoptozisin Diğer Modülatörleri

p53, hücrede bir şekilde (radyasyon, kemoterapi etkisiyle) DNA hasarı ("single or double-strand breaks", nükleotid eksikliği) oluştuğunda, eğer hasar onarılabilecek düzeyde ise hücre siklusunu G1 fazında durdurur ve hücreye DNA'sını tamir edebilmesi için zaman kazandırır. Eğer DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar büyükse bu durumda p53 apoptozisi indükler. p53'ün apoptozisi indüklemesi Bax'ın ekspresyonunu artırması böylece Bcl-2/Bax oranını değiştirmesi yoluyla gerçekleşir. Bazı virüsler (insan papillom virüsü, Epstein-Barr virüsü, adenovirüs tip 12) ya p53'ü inaktive ederek ya da Bax'a bağlanarak apoptozisi bloke ederler, böylece bu hücrelerin enfekte ettikleri hücreler doğal hücre ölüm mekanizmasından kurtulduklarından virüsle-indüklenen karsinogeneze bu yolla katkıda bulunurlar (172-174). p53 ayrıca bir transkripsiyon faktörü olan Mdm2 (murine double minute 2) tarafından da ya transkripsiyonu "down" regüle edilerek ya da kendisine bağlanılarak hem aktivitesi inhibe edilir hem de yıkımı hızlandırılır (175). Fakat, DNA'nın hasarlanması halinde p53'ün fosforilasyonu artar ve buna bağlı olarak da Mdm2'den ayrılır, böylece yarılanma ömrü uzadığı için de aktivitesi artar (176).

Sitokrom C, mitokondri iç membranında bulunan elektron transport zincirinin bir proteindir. Son yıllarda anlaşılan önemiyle apoptozis sürecinde merkezi bir konuma oturmuştur. Bu yüzden de sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınması apoptozis yoluna girmiş bir hücrede irreversibl bir döneme girildiğini işaret eder (177). Sitokrom c, mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış bir şekilde mitokondriden apoptozis-indükleyici faktör ("AIF, apoptosis-inducing factor") ile birlikte sitoplazmaya salınır (178). Sitokrom c sitoplazmik protein olan Apaf-1 ("apoptotic protease activating factor-1")'e bağlanır ve onu aktive eder, ardından ATP'nin de katılımıyla apoptozom adı verilen bir kompleks oluşur (179). Bu kompleks inaktif olan prokaspaz-9'un aktif kaspaz-9 haline dönüşmesini sağlar. Aktif kaspaz-9 ise

efektör kaspazlardan prokaspaz 3'ü aktive eder (179). Aktif kaspaz 3, kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörünü ("ICAD, inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease") inaktifleştirir, böylece ICAD'ünün bağladığı kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz ("CAD, caspase-activated deoxyribonuclease") serbestleşir ve bu da apoptozisin karakteristik bulgularından biri olan kromatin kondensasyonuna ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olur (180). Buraya kadarki mekanizma kaspaz-bağımlı apoptozisi gösterir, oysa kaspaz-bağımsız apoptozisin varlığı da bilinmektedir. Kaspaz-bağımsız apoptozis yine mitokondriden salınan bir faktör olan AIF'ün etkisiyle gerçekleştirilir. Fakat, AIF'ün etkilediği nükleazın ne olduğu henüz bilinmemektedir (181).

Kaspaz ("caspase")'lar, zimojen (inaktif prekürsör) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimlerdir (182). Şu ana kadar 14 tanesi tanımlanmıştır ve çoğu apoptozisde rol almaktadır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek preteolitik bir kaskad (şelale tarzı reaksiyon dizisi)'a neden olurlar. Bazıları (Kaspaz 2, 8, 9, 10) başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken bazıları da (3, 6, 7) efektör kaspazlar olarak bilinir (183, 184). Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara naklederler. Efektör kaspazlar ise ilgili proteinleri (örneğin, hücre iskeleti proteinleri aktin veya fodrin, nükleer membran proteini lamin A, DNA tamirinde rol alan poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP)) parçalayarak apoptotik hücre morfolojisinin meydana gelmesine neden olurlar (185-189). İlk tanımlanan enzim ICE (interlökin 1- β dönüştürücü enzim)'dir ve prokaspaz 1 olarak bilinir (190). Kaspaz kaskadı, sitokrom c'nin sitoplazmaya salınmasıyla prokaspaz 9'un aktivasyonu yoluyla aktifleştirildiği gibi, kaspazlar da sitokrom c'nin salınmasına neden olabilirler. Bir kaspaz inhibitörleri ailesi olan IAP ("inhibitors of apoptosis")'leri kaspazları selektif olarak inhibe ederler, böylece apoptotik mekanizmayı durdururlar. Bu inhibitörler birçok malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilmektedirler. IAP'leri ayrıca hücre siklusunu da etkileyerek apoptozisi durdurabilirler (191).



Şekil-5: Kaspaz akış döngüsü

Granzim (“Granzyme”) ler, patojenle enfekte edilmiş hücrelerin veya tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında etkin rol alırlar. Perforinler ve granzimler normal olarak sitotoksik lenfositlerin (CTL) ve NK’lerin sitoplazmik granüllerinde bulunurlar (192). CTL’lerinin hedef hücreye bağlanmasıyla perforinler salgılanır ve hedef hücrenin membranına bağlanarak membranda porlar meydana getirirler. Perforin porlar sitozolik kalsiyum düzeylerinin hızla artmasına yol açar. Beraberinde salgılanan ve bir serin proteaz olan granzimin de bu porlar aracılığıyla hücreye girmesiyle hücre içinde prokaspaz 8’in aktivitesi, dolayısıyla kaspaz kaskadı başlatılır. Bu da enfekte hücreyi (veya kanser hücrelerini) apoptozise götürür (193).

4.7. Normal Endometriumda Fas/FasL Sistemi

Fas (CD95), 45kDa'luk TNF ailesinden tip 1 membran proteinidir (194). FasL 37 kDa'luk TNF süper ailesine bağlı bir proteindir (195). Fas taşıyan hücreler FasL ile etkileşime girdiğinde, apoptotik hücre ölümüne sürüklenmektedir. Fas-fasL sistemi, immün denetimden kaçmış tümör hücreleri dahil patolojik olaylarda ve normal doku homeostazında kritik role oynarlar. Göz, testis ve plasenta gibi dokulardaki hücrelerin FasL eksprese etmesi, Fas pozitif immün efektör hücrelerinin apoptozisini indükleyerek, bu dokuların immünitesini korumaktadır (196).

Fas L'nin membranla çevrili ve çözünür olmak üzere 2 formu vardır. Fas L'nin membranla çevrili formu bazı matriks metalloproteinazların etkisi ile aktif olan çözünür haline dönüştürülür. Siklusun proliferatif fazında endometriyal glandüler hücrelerinde apoptozis hemen hemen hiç görülmez. Bunun nedeni fas L'nin glandüler hücreler içerisinde membranla çevrili inaktif formu şeklinde olması veya golgi cisimciğinin içerisinde lokalize olmasından dolayıdır. Metalloproteinazların menstrüel faz sırasında ve öncesinde aktivitesi artmaktadır. Glandüler hücrelerin apikal membranlarında lokalize, membrana bağlı FasL, sekretuar faz sırasında metalloproteinazlar tarafından koparıncı artmış çözünür FasL, glandüler hücre yüzeyindeki Fas ile bağlanır ve bu hücrelerin ölümüne neden olur (197).

4.8. Endometriozisteki Ötopik ve Ektopik Endometriumda Bcl-2

Endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriumlarında Bcl-2 salınımını incelendiğinde, endometriozisi olan hastalardaki ötopik endometriumda, endometriyal glandular hücrelerdeki Bcl-2 salınımının siklik bir paterni olduğunu gösterdiler. Fakat bu siklik değişiklikler, peritoneal ve ovaryan endometriotik dokularda görülmüyordu (165). Peritoneal endometriotik dokudaki stromal hücrelerde apoptozis gözlenmez. Bu bulguları destekleyecek şekilde, ektopik dokuların stromal hücrelerinde çok fazla Bcl-2 ekspresyonu izlenmektedir. Bu durum, ektopik stroma tarafından salınan östrojen reseptör sayısının artmasıyla direkt olarak ilişkili olabilir (198, 199).

Sağlıklı kadınlarla karşılaştırıldığında endometriozisi olan kadınlardaki, proliferatif ötopik endometriumda, Bcl-2 proteini salınımının arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada, proliferatif endometriumda Bax salınımı yokken, sağlıklı kadınların ve endometriozisli kadınların sekretuar endometriumlarında Bax salınımında artış göze çarpmıştır. Endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarındaki değişen Bcl-2 salınımı, apoptotik hücre sayısının azalmasına ve buna bağlı olarak ektopik yerleşimde ve hayatta kalma kapasitesinde artışa neden olmuştur (200).

4.9. Endometriozisteki Ötopik ve Ektopik Endometriumda Fas/FasL Sistemi

Endometriotik dokularda, Fas ekspresyonu üzerine çok az çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmalara göre: Fas'ın hem ötopik hem de ektopik endometriyal dokularda eksprese olduğu, apoptozis regülasyonunda Fas antijen ekspresyonunun az rol aldığı bcl-2 nin siklik patternine karşın Fas ekspresyonunun her iki dokuda da menstrual siklus boyunca sabit olduğu görülmektedir (165, 201).

FasL'in endometriotik dokularda yüksek salındığını ve böylece bu dokuların canlılığını korumasına ve de endometriozis gelişimine katkıda bulduklarını gösteren birçok çalışma vardır. Orta-ciddi düzeyde endometriozisi olan kadınlarda, hastalısız veya erken dönem endometriozisi olan kadınlara göre serum ve peritoneal sıvıda, çözünebilir/aktif FasL seviyelerinin daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Endometriozisi olan kadınların peritoneal sıvılarındaki artmış çözünebilir FasL seviyeleri, peritoneal sıvıdaki Fas-taşıyıcı immün hücrelerin apoptozisinin artmasına katkıda bulunabilir ve böylece fas taşıyıcı immün hücrelerin radikal temizleyici aktivitelerini azaltırlar. Bu durum sonucunda, endometriyal hücreler peritoneal kavitede daha uzun süre canlılıklarını sürdürebilir (202).

Peritoneal kavitedeki artmış çözünebilir FasL seviyelerinin kaynağı, endometriotik lezyonlar ve peritoneal sıvı lökositleridir. Endometriyal glandular ve stromal hücrelerin, mRNA ve protein düzeyinde FasL salınımı yaptığını gösterilmiştir. Bu membrana bağlı FasL, matrilysin ile ayrılabilir ve ligandın aktif, çözünebilir bir formu oluşturulur. Endometriozisli kadınlarda,

yüksek çözünebilir FasL seviyelerinin bir başka olası kaynağı, peritoneal sıvı lökositleridir çünkü, periferik kan mononükleer hücrelerinin, FasL mRNA salınımı yaptığı gösterilmiştir (203).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve transforming growth factor (TGF) gibi makrofaj kaynaklı büyüme faktörlerinin, endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında artmış düzeyde olduğu görüldü. PDGF ve TGF- β , endometriyal stromal hücreler tarafından FasL salınımını indüklediğini, böylece endometriozisteki peritoneal makrofajlar, immün hücrelerin Fas-aracılıklı apoptozisini stimüle edebileceğini göstermiştir. Endometriotik hücreler tarafından FasL salınımı, onları T-hücre saldırısından koruyabilir. Bundan dolayı, endometriozisli kadınların peritoneal kaviteğinde, immün sistemden kaçan ektopik endometriyal hücreler hastalığın sebat etmesine katkıda bulunabilirler (204-207).

4.10. Endometriozisli Hastaların Peritoneal Makrofajlarında Apoptozis

Endometriozisin en sık yeri olan peritoneal kavite ve temel selüler içeriği makrofaj olan bir sıvı içerir (208, 209). Endometrioziste, bu hücrelerin sayısı ve sekretuar aktivitesi artar ve yakın zamanda elde edilen kanıtlar, bu hücrelerin endometriozis gelişiminde ve hastalığın devamında önemli rol oynadığını göstermiştir (210).

Makrofajların fonksiyonu, birçok açıdan farklılık gösterir. Endometriozisli hastalarda, peritoneal makrofajların sitotoksik gücü azalır. Peritoneal makrofajların sitotoksitesindeki azalma, dolaşan makrofajlardakinden daha anlamlı olabilir. Endometriozisli kadınlardaki peritoneal makrofajların, endometriyal hücrelerin lizisine ortak olma kapasitesinin azalması ve ektopik endometriyal hücrelerin makrofaj yolu sitolizine karşı artmış direnci, endometriozisli kadınların peritoneal kavitesindeki endometriyal hücrelerin canlılıklarını sürdürmesine yardımcı olabilir (211).

Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında, endometriozisin olmadığı kadınlara göre, Bcl-2 pozitif makrofaj yüzdesinin arttığını tesbit

edilmiştir. Bu durum, aktivasyon sürecini koruyan hücre sayısının artmasına ve apoptozisin gecikmesine neden olur (212).

Normal ve endometriozisli kadınların ötopik endometriyal stromasında anlamlı derecede artmış bcl-2 ekspresyonu geç sekretuar fazda daha da artar. Bu bcl-2 pozitif hücreler çoğunlukla lökositlerdir. Ektopik stromada, ötopik stromaya göre, daha çok sayıda Bcl-2 pozitif hücre bulunur ve bunlardan sadece bazıları lökositlerdir (198).

İmmünohistokimyasal boyama, menstrüel siklusun her iki fazı sırasında da, sadece ektopik dokuda var olan bir Bcl-2 pozitif, BAX negatif doku makrofaj popülasyonu görülebilir. Bcl-2 ekspresyonu ve BAX yokluğu, bu makrofajların apoptozise duyarlılığının azalmasına neden olabilir ve uzamış yaşam beklentisi sağlayabilir. Endometriozisli kadınlarda, Bcl-2 pozitif makrofajların oranının artması, bu hücrelerin apoptozise direnmesine zemin hazırlayabilir (207, 212).

4.11. Endometriozis Patofizyolojisinde Apoptozis

Bu güne kadar yapılan çalışmalar, endometriozisi olan ve olmayan hastalardaki endometriyal hücrelerin önemli farkları olduğunu göstermiştir. Endometriozisi olan hastalardaki endometriyal hücrelerin, artmış proliferasyon ve ektopik bölgelerde implante olup yaşama yeteneği vardır. Endometriyal dokunun spontan apoptozise duyarlılığının bozulması, endometriumun ektopik yerlerde anormal yerleşimi ve büyümesine neden olur. Endometriyal hücrelerin “ölüm” sinyali yollama yeteneğinin olmaması veya hücre ölümünü önleme yetileri, antiapoptotik faktörlerin (Bcl-2) artmış salınımı ve preapoptotik faktörlerin (BAX) azalmış salınımı ile ilişkilidir (213). Endometriozisli hastaların endometriumlarındaki apoptotik modülatör değişiklikleri, başlangıçta primer olarak mı yoksa pelvik endometriozis sürecinden sonra sekonder olarak mı oluştuğu belirsizliğini korumaktadır. Bu durum, kadınların çoğunda klinik görünüm ve tanı anında, hastalığın çoktan yerleşmiş olmasından dolayı endometriozisin erken gelişme evrelerini incelemek zordur.

Menstrüasyon sırasında endometriyal parçaların peritoneal kaviteye reflüsü, sık görülen bir durumdur. Normal şartlar altında, ekstraselüler

matriksine tutunmayan hücreler, adhezyon reseptörlerinden farklı sinyaller aldıkları için apoptozise girerler. Bununla birlikte, endometriozisli kadınlarda bu hücreler, peritonun mezotelyal hücrelerine tutunma, proliferere olma ve neoanjiojenezi başlatma yetenekleri ile aktif endometriozis gelişimine neden olurlar. MMP(matriks metalloproteinazlar)'nin apoptotik faktörler üzerindeki etkisi ve steroid hormonları tarafından düzenlenmesi; endometriozis gelişimi için endometriyal turnover ile gerekli invazif süreç arasında bir ilişki ortaya koymuştur (214).

Yakın zamanda yapılan cDNA mikroarray analizleri, endometriozisli hastaların değişmiş gen ekspresyon profillerine, ilginç bir bakış açısı sağlamıştır. Bu metod kullanılarak, endometriozisli hastalarda 97 adet salınımları artan ve 337 adet salınımları azalan gen tespit edildi. Endometriotik dokularda, apoptozisle ilgili genlerin (GADD34, GADD45A, GADD45B, PIG11) ve tümör baskılayıcı TP53 geninin salınımları azalmıştır (215). Bu bulgular, endometriozisli hastaların ötopik endometriumlarında görülen azalmış apoptozis ile uyumludur. Endometrioziste apoptotik mekanizmayı düzenleyen gen ürünlerini bulmak, endometriozisin tedavisi ve teşhisini koymak için moleküler hedef açısından önemli bilgiler sağlayabilir. Hatta endometriozisli hastalarda görülen apoptozisle ilişkili genlerin değişmiş ekspresyonu, hastalığa karşı bireysel duyarlılık olmasını açıklayabilir ve “neden sadece bazı kadınlarda endometriozis gelişir?” sorusuna yanıt verebilir.

4.12. Apoptozis ve Endometriozisin Tedavisi

Endometriozis, östrojene bağımlı bir hastalıktır. Günümüzde kullanılan terapötik tedaviler, sirkülasyondaki östrojeni post-menapozal dönemdeki seviyelere düşürmeyi amaçlayan çeşitli hormon tedavilerinden oluşmaktadır. GnRH agonistleri ile inkübasyon, endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriyal hücrelerindeki apoptozis oranını artırmıştır. Apoptotik oranın artması, GnRH agonistlerinin uygulanmasından sonra, apoptozisle ilişkili genlerin salınımında görülen değişikliklere bağlı olabilir. GnRH agonistleri ile tedavinin, apoptotik faktörleri kodlayan genler gibi, diğer başka genlerin salınımını etkilediği görüldü (216, 217).

Kombine oral kontraseptifler (KOK), mevcut durumu korumak ve hastalığın ilerlemesi veya rekürrensini önlemek amacıyla, endometriozisli kadınlarda uygulanabilir. Histolojik olarak KOK, endometriyal gland proliferasyonunda duraksama ve böylece uzun dönem kullanımından sonra, endometriumda progresif atrofiye neden olduğu gözlemlendi (218). Oral kontraseptiflerin, endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarında, programlanmış hücre ölümünü arttırabildiğini gösterilmiştir (Bcl-2/BAX salınım oranını azaltarak) (213).

Progesterinler endometriyal proliferasyon üzerine inhibe edici etkileri mevcuttur ve bu bileşikler, endometriumda apoptozisi arttırdığı tesbit edilmiştir (219). Klinik açıdan, progesterinlerin ve oral kontraseptiflerin kullanımı, endometriozis için yararlı bir tedavidir.

Yakın zamanda yapılan deneysel çalışmalarda, endometriyal hücrelerde apoptozisi düzenleyebilecek bileşikler araştırıldı. Kültürdeki endometriyal stromal hücrelerin K-opioid agonistlerine maruz kalmasından sonra apoptozisinde artış olduğu gözlemlendi. K-opioid, Fas proteininin salınımını hızlı ancak geçici olarak arttırdı ve böylece apoptozis üzerine olan etkisinin, Fas/FasL yolağının aktivasyonu aracılığıyla olduğunu gözlemlendi (220).

Bu çalışmadaki amaç, bir transmembran hücre yüzey proteini ve aynı zamanda apoptozisin tetikleyici moleküllerinden biri olan Fas'ın, endometriozisi olan hasta grubu ile endometriozisi olmayan kontrol grubunda, sekretuar dönemdeki menstrüel Fas ekspresyonlarını kıyaslayarak endometriozis patofizyolojisinde Fas proteininin olası rolünü ortaya koymaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine pelvik ağrı ve/veya infertilite şikayetleri ile başvuran, yapılan muayene ve ultrasonografik inceleme neticesinde ovaryan endometrioma ön tanısı alan ve daha sonra laparoskopi veya laparotomi ile kist ekstirpasyonu, ooferektomi uygulanan ve histopatolojik inceleme sonucunda endometriozis tanısı alan 30 olgu çalışma grubunu oluşturmak üzere araştırmaya dahil edilmiştir. Kliniğimizde benign jinekolojik nedenlerle laparoskopi veya laparotomi yapılan, histopatolojik olarak endometriozis ve/veya endometrioma tanısı almayan ve araştırma için onam veren 30 olgudan kontrol grubu oluşturulmuştur. Olgulardan menstrual siklusun 24 ile 28. günleri arasında endometriyal örnekleme yapılmış ve elde edilen spesmenler fas antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmıştır.

Çalışma kriterlerine uymayan veya gönüllü olarak çalışmaya katılmayı arzu etmeyen hastalar, jinekolojik malignite veya enfeksiyon tanısı alan olgular veya son 3 ay boyunca oral kontraseptif, gestagen veya gonadotropin releasing hormon analogları veya antagonistleri gibi hormonal ajan kullanımı hikayesi olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Bu çalışma için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu'ndan, 23.6.2009 tarihinde 2009-12/1 karar numarası ile onay alınmıştır. Çalışmaya katılan kişiler bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam formu okutularak imzalatılmıştır.

İmmunohistokimyasal Boyama

Çalışmaya dahil edilen tüm endometriyal dokulara Uludağ Üniversitesi Patoloji anabilimdalı laboratuvarında immunohistokimyasal boyama yapılmıştır.

İmmünhistokimya basamakları: Kesitler 20 dakika ksilolde bekletilip deparafinize edilerek inen alkol serilerinden (%96, %90, %80, %70) geçirilip

rehidrate edildi. Daha sonra %3'lük H₂O₂'ye 10 dakika maruz bırakılarak endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Kesitler pH'ı 8.0 olan 1 mM.lık ETDA tampon solüsyonu içerisinde özel kaplara yerleştirilerek, mikrodalga fırında 3 kez 5'er dakika süreyle kaynatıldı. Böylece epitopun açığa çıkması sağlandı. Kesitler 15-20 dakika süreyle oda ısısında soğumaya bırakıldı ve Tris solusyonunda (pH:7.2) 10 dakika yıkandı. Kesitler üzerine primer Fas antikoru 1/10 titrede damlatılarak 60 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler Tris solusyonunda 3 kez 10'er dakika yıkandı. Kesitlere biyotinize antikordan damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar 10 dakika Tris solusyonda yıkandıktan sonra, streptavidin-peroksidaz solusyonu kesitler üzerine damlatılarak 15 dakika bekletildi.

Tekrar Tris solusyonu ile 10 dakika yıkandıktan sonra kromojen olarak kesitler üzerine 3,3'-diaminobenzidinetetraklorür damlatıldı. Kahverengi renklenme oluşana kadar beklendi. Daha sonra kesitler, çeşme suyu ile yıkandı, takiben kesitler %1'lik amonyaklı suyla yıkanıp tekrar çeşme suyu ile yıkandı Tüm kesitler zıt boyama sağlamak için Mayer Hematoksilende 2 dakika bekletildi. Tekrar çeşme suyunda yıkandıktan sonra yükselen alkol seviyelerinden (%70, %80, %90, %96, izopropil alkol, izopropil alkol + ksilol) geçirildi ve takiben kurutuldu. Daha sonra kesitler entellan (Merc) damlatılarak lamel ile kapatıldı. Kesitlerdeki Fas'ın imünhistokimyasal boyanması semikantitatif bir yöntem ile değerlendirildi. Tüm endometriyal dokuların değerlendirilmesinde epitelyal hücreler göz önüne alındı. Fas antikoru ile boyanan hücrelerin tüm hücrelere oranı 'boyanma yüzdesi' olarak belirlendi. Boyanma yüzdesine göre 4 grup oluşturuldu. 0=hücreyel boyanma olmayan grubu, 1=hücrelerin %25'inden azında boyanma olmasını, 2=hücrelerin %25'i ile %50'sinin boyanmasını, 3=hücrelerin %50'sinden fazlasının boyanmasını temsil edecek şekilde planlama yapıldı. Fas antikorusunun epitelyal hücre tarafından tutulma yoğunluğuna göre 'boyanma şiddeti' belirlendi. Buna göre, 0= hiç boyanmanın olmamasını, 1= boyanmanın zayıf olmasını, 2= orta yoğunlukta boyanmanın olmasını, 3=güçlü boyanmanın olmasını ifade edecek şekilde standardize edildi.

Ayrıca her bir olgu için her yoğunlukta boyanmış olan hücrelerin yüzdeleri toplanarak elde edilen H SCORE değeri hesaplandı $H\ SCORE = \sum_{i=1}^n P_i (i + 1)$. Bu formüldeki i ; yoğunluk skorunu, P_i ise hücrelerin tahmini yüzdesini ifade etmektedir. Her slayt için 40 büyütmede 5 farklı alan değerlendirilerek bu alanlar içerisindeki her yoğunluktan hücrelerin yüzdesi hesaplanmıştır. Bu 5 alanın ortalama değeri o olgu için ortalama H SCORE değeri olarak kullanılmıştır. Boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğu da incelendi ve bu şekilde yapılan basit incelemeler değerlendirilerek istatistiğinin yapıldığı ve bu verilerde tezde belirtilmiştir.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmanın analizleri SPSS 13.0 (Chicago, IL.) programında yapılmıştır. Sürekli değer alan değişkenler ortalama \pm standart sapma ve medyan \pm minimum / maksimum değerleri ile ifade edilmiş olup kategorik değer alan değişkenler reel sayı ve yüzde değerleri ile birlikte verilmiştir. Çalışmada kategorik değişkenlerin 3 ve üzeri grubun arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis ve gruplar arası ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi ve normal dağılıma uygunluk gösterdikleri durumlarda student t testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile incelenmiş olup pearson korelasyon katsayısı (r) hesaplanmıştır. Aralarında anlamlı ilişki saptanan değişkenlere ait matematiksel modeli oluşturmak için basit doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. İlgili bağımlı ve bağımsız değişkenlerden oluşan model anlamlılığı ve katsayıların anlamlılığı verilmiş olup yine açıklayıcılık katsayısı (R^2) hesaplanmıştır. Çalışmada $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda, hasta ve kontrol grupları arasında gravida, parite, abortus ve yaşayan çocuk sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Endometriozisli hastaların ortalama yaşı $32,63 \pm 6,3$; kontrol grubunun ortalama yaşı ise $36,46 \pm 4,71$ olarak belirlenmiştir. Ortalama yaş, endometriozisli hasta grubunda anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Grupların demografik özellikleri Tablo-1’de verilmiştir.

Tablo-1: Grupların demografik özellikleri.

	Endometriozis (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Yaş	$32,63 \pm 6,3$	$36,46 \pm 4,71$	0.01
Gravidite	1.13 ± 1.73	1.76 ± 1.81	0.103
Parite	0.80 ± 1.39	$1.10 \pm 0,99$	0.081
Abortus	0.33 ± 0.60	0.66 ± 1.24	0.376
Çocuk sayısı	0.80 ± 1.27	1.00 ± 1.01	0.245

Değerler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

İnfertilite şikayeti, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, sırasıyla %53.3 ve %26.6. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.04$). Buna karşılık, menstrüel düzensizlik şikayeti kontrol grubunda endometriozisli hasta grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, sırasıyla %40 ve %3.3 ($p < 0.001$).

Kasık ağrısı şikayetinin sıklığı, endometriozisli hasta grubunda %63.3, kontrol grubunda ise %46.6 sıklıkta saptanmıştır. Kasık ağrısı şikayeti bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.194$).

Benzer şekilde dismenore sıklığı açısından, endometriozisli hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır, sırasıyla %50 ve %33.3 (p=0.190). Karında şişlik ve disparoni sıklığı açısından da endometriozisli hasta grubu ile (sırasıyla %3.3, %13.3), kontrol grubu arasında (sırasıyla %6.6, %0) istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla p=1.00, p=0.112). Hasta grubu ve kontrol grubunda şikayetlerin dağılımı, Tablo-2’de gösterilmiştir.

Tablo–2: Hasta ve kontrol grubunda başvuru şikayetlerinin dağılımı.

	Endometriozis n (%)	Kontrol n (%)	P
Kasık Ağrısı	19 (63.3)	14 (46.6)	0.194
Dismenore	15 (50)	10 (33.3)	0.190
Disparoni	4 (13.3)	0	0.112
İnfertilite	16 (53.3)	8 (26.6)	0.04
Menstrüel Düzensizlik	1 (3.3)	12 (40)	<0.001
Karında Şişlik	1 (3.3)	2 (6.6)	1.00
Aktif Şikayet Yok	1 (3.3)	5 (16.6)	0.195

Endometriozisli hasta grubu ile kontrol grubu arasında, boyanma şiddeti istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur (p<0.001). Benzer şekilde, boyanma yüzdesi açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık olduğu saptanmıştır (p<0.001). Buna ek olarak endometriozisli hasta grubu ile kontrol grubu arasında H skoru, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p<0.001). Bu bulgular Tablo-3’de gösterilmektedir.

Tablo-3: Gruplar arasında Fas protein ekspresyonunun boyanma özellikleri.

	Endometriozis (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Boyanma yüzdesi[∞]	2,40 ± 0,77	3,0 ± 0	<0.001*
Boyanma şiddeti^Σ	1,13 ± 0,571	2,27± 0,59	<0.001*
H skoru[¥]	196,10 ± 43,32	314,26 ± 57,57	<0.001*

Veriler ortalama ± SD olarak verilmektedir. Veriler rakamsal değerlerdir. [∞]Boyanma yüzdesi, endometriyal hücrelerden fas antikoruna ile boyanan hücrelerin tüm hücrelere oranını ifade etmektedir. ^ΣBoyanma şiddeti, endometriyal hücrelerden fas antikoruna tutan hücrelerin antikor tutma derecesini ifade etmektedir. [¥]H skoru=Pi (i + 1) şeklinde ifade edilir; i=yoğunluk skoru; Pi=hücrelerin tahmini yüzdesi; H skoru, reel sayısal bir değere karşılık gelir.

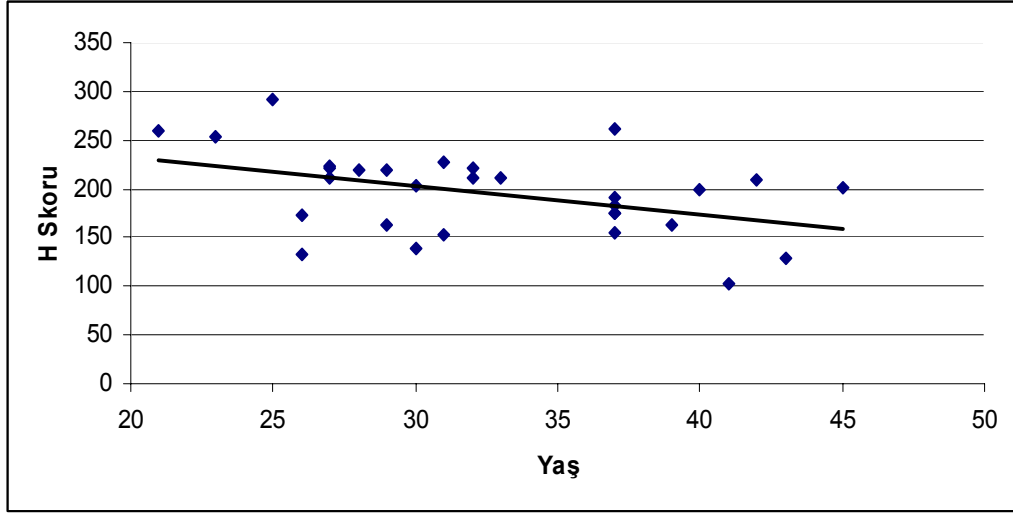
Endometriozisli hasta grubunda H skoru ile gravida arasında ters yönlü bir ilişki mevcuttur. Gravida sayısı arttıkça H skoru istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalmaktadır (p=0.031, r= -0.509). Gravida - H skoru ilişkisi doğrusal ve orta derecede kuvvetli bir ilişkidir (r²=0.26). Endometriozisli hasta grubunda, infertilite süresi ile H skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0.174, r= -0.335). Kontrol grubunda, H skoru ile gravida arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.041, r= 0.374). Bu ilişki, doğrusal ancak zayıf bir ilişkidir (r²=0.14). Yine benzer şekilde kontrol grubunda H skoru ile parite arasında pozitif yönlü, istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki mevcuttur (p=0.046, r= 0.366). Diğer parametreler ile H skoru arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuçlar Tablo-4'de gösterilmektedir.

Endometriozisli hasta grubunda, H skoru ile yaş arasında istatistiksel açıdan anlamlı ve ters orantılı bir ilişki bulunmuştur (p=0.018, r= - 0.429). Bu ilişki doğrusal ancak zayıf bir ilişkidir (r²=0.18). Bu ilişki şekil-6'da basit serpmme grafiğinde gösterilmiştir. Kontrol grubunda, H skoru ile yaş arasında benzer bir ilişki bulunmamıştır.

Tablo-4: H skoru ile çalışmamızda değerlendirilen bağımsız değişkenler arasındaki olası ilişkinin analizi[±].

	ENDOMETRİOZİS		KONTROL GRUBU	
	P	R	P	r
YAŞ	0.018	-0.429	0.479	0.134
İNFERTİLİTE SÜRESİ	0.174	-0.335	0.355	0.379
ŞİKAYET SAYISI	0.522	0.122	0.461	0.140
BİYOPSİ ZAMANI	0.976	0.006	0.053	0.356
GRAVİDA	0.031	-0.509	0.041	0.374
PARİTE	0.090	-0.411	0.046	0.366
ABORTUS	0.086	-0.416	0.159	0.264
YASAYAN	0.150	-0.354	0.078	0.327

[±]İstatistiksel analiz, basit doğrusal regresyon modelidir. Anlamlılık seviyesi p<0.05 olarak alınmıştır.



Şekil-6: Hasta grubunda yaş ile H skoru arasındaki ilişki – Doğrusal regresyon modeli. Endometriozisi olan hasta grubunda H skoru ile yaş arasındaki doğrusal ilişki ve basit serpmme grafiği gösterilmektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometriozis, endometriyal glandüler ve stromal dokuların uterin kavite dışında bulunması ile karakterize benign bir jinekolojik hastalıktır. Endometriozisin patogenezinin ait bilgiler uzun yıllardır sınırlı kalmakla beraber, son yıllarda gelişen moleküler teknikler sayesinde bu konuyla ilgili önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Sampson'un retrograd menstrüasyon ve implantasyon teorisi günümüzde geçerliliğini hala sürdürmektedir (3).

Üreme çağındaki kadınların hemen hepsinde menses kanının intraabdominal reflüsü, bir dereceye kadar olmaktadır (4). Buna ek olarak, retrograd menstrüel akıntının canlı endometriyal hücreler içerdiği görülmüştür (221). Retrograd akım teorisi, hemen tüm kadınlarda retrograd akım olduğu halde neden sadece bazı kadınlarda endometriozis geliştiğini anlatmakta yetersiz kalmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar endometriozisli hastaların ötopik endometriyal hücreleri ile sağlıklı kadınların endometriyal hücreleri arasında bir takım intrinsek farklılıklar olduğunu ve genetik yatkınlığı olan bireylerde immunolojik, hormonal ve çevresel bir takım faktörlerin etkisiyle de hastalığın meydana gelebileceğini ortaya koymaktadır (222).

Endometriozisli kadınların ötopik endometriumu, endometriozisi olmayan kadınların ötopik endometriumu ile karşılaştırılınca bazı temel farklılıklar göstermektedir. Bunlar, immün komponentler, adhezyon molekülleri, proteolitik enzimler ve onların inhibitörlerindeki değişiklikler, steroid ve sitokin üretimi ile ilgili anormallikler ve proliferasyon anormallikleri şeklinde sıralanabilir. Bu farklılıkların peritoneal kaviteye kaçan endometriyal hücrelerin yaşamasını sağlayarak endometriozise neden olabileceğini savunan yayınlar mevcuttur (5, 6). Bu bulgular, endometriozisin gerçekte uterin endometriyumun bir hastalığı olabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla çalışmamızda endometriyal dokuların araştırılması planlanmıştır.

Endometriotik hücrelerin kaynağı olduğu düşünülen ötopik endometriyal hücrelerden hangilerinin endometriozis oluşturma potansiyelinin

olduğunun, ya da bir başka deyişle hangi bireylerin bu hastalık açısından risk altında bulunduğunun bilinmesi önemlidir. Bu bilgi hastalığın patofizyolojisini anlamada büyük katkı sağlayacaktır. Bu nedenle bizim çalışmamızda olduğu gibi, endometriozisi olan ve olmayan bireylerden elde edilen hücrelerin özelliklerinin ortaya konması oldukça önem arz etmektedir.

Endometriozis patogenezinde diğer önemli bir mekanizma, son yıllarda üzerine yoğunlaşılın endometriotik odaklardaki hücrelerde gösterilen apoptozis basamaklarında oluşın bozukluktur. Apoptozis çok sayıda ve çeşitte mediatör tarafından düzenlenir. Bunlar arasında bazı iyonlar (kalsiyum), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53), bazı organeller (örnek olarak, mitokondri) ve majör bir apoptotik yol olan Fas/Fas ligand sistemi bulunmaktadır (223-226).

Fas (CD45/APO-1) 48 dalton ağırlığında tümör nekrozis faktör (TNF) ailesine ait tip 1 transmembran hücre yüzey proteindir ve ligandı (FasL) ile birlikte apoptozis sürecinde yer alır. Fas ve FasL'nin etkileşimi apoptozisi başlatmada gereklidir (194,146). Bu nedenle apoptozis sürecinin önemli basamaklarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır (222). Fas ligandın Fas reseptörüne bağlanması ile Fas reseptörünün hücre içinde bulunan parçası, Fas adaptör proteinle (FADD - Fas associated death domain) birleşerek ölüm başlatan sinyal kompleksini (death-inducing signal complex - DISC) oluşturur. Bu da prokaspaz 8'in aktifleşmesini sağlar (227). Böylece şelale sistemi ile bir dizi proteazın aktive olmasına ve kromozomal DNA'nın yıkılmasına yol açar (228).

Bu çalışmada, apoptozisin tetikleyici moleküllerinden biri olan Fas proteininin endometriozisi olan ve olmayan bireylerdeki endometriyal ekspresyonu araştırılmıştır. Literatürde endometriotik dokulardaki FasL ekspresyonunun arttığını gösteren (202, 203, 206) ve normal endometriyumdaki Fas ekspresyonu ile ilgili birçok makale bulunmakla beraber (189, 229, 230), endometriozisli hastalardaki endometriyal Fas ekspresyonunun çok fazla araştırılmadığını görmekteyiz.

Hücrelerdeki fonksiyonel protokol, pro ve anti apoptotik faktörler/sinyaller arasındaki hassas bir balansa bağlıdır. Normalden çok

daha fazla miktardaki apoptozis doku dejenerasyo nuna (231-234), normalden çok az miktardaki apoptozis ise disfonksiyonel hücre birikimi ve immun hücre farklılaşmasına neden olur (235-237). Yaşla artmasıyla birlikte insan vücudunda immun cevap oluşturma, doku oluşumundaki disfonksiyonel/tahrip olmuş hücrelerin eliminasyonu gibi birçok olayda moleküler, hücresel ve organ sisteminde fonksiyon kaybı meydana gelmektedir. Literatürde endometriumdaki fas ekspresyonunu yaşla ilişkisini araştıran çok fazla yayın olmamakla beraber, serum fas proteini ile yaş arasında ilişkiyi araştıran çalışmalar mevcuttur. Zhou ve ark. (238) yaptığı çalışmada farelerde timosit ve dalak hücrelerinde yaşla beraber fas ekspresyonunun azaldığını tesbit etmişlerdir. Kavathia ve ark. (239) yaptığı bir başka çalışmada, serum fas değerlerini yaşla beraber arttığı buna karşılık serum fasL değerlerinin ise azaldığını tesbit etmişlerdir. Çalışmamızda endometriozisli hastalarda yaşın artmasıyla beraber endometriyal fas ekspresyonunun azaldığını gösteren, H skoru ile yaş arasında negatif doğrusal bir korelasyon saptanmıştır. Bu ilişki, endometriozisi olan hastalarda yaşın artması ile birlikte apoptozis kontrolünün daha da bozulması, hücresel döngünün kaybı ve endometriyal ortamın bozulması anlamına gelebilir. Ancak daha kuvvetli bir sonuca ulaşmak için, örnek sayısının artırılması gereklidir. Kontrol grubunda, H skoru ile yaş arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır, yapılan bu alt grup analizi, sağlıklı bireylerin endometrimunda fas ekspresyonunun yaşla belirgin olarak değişmediğini göstermektedir. Bu bulgular, endometriyal ortamın daha iyi çalıştığını düşündüğümüz bir grupta tamamen beklenen bir sonuçtur. Çalışmamızda endometriozisli hasta grubu ile kontrol grubunun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu farkın fas ekspresyon düzeyleri üzerinde bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için tüm olgulara Pearson korelasyon analizi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki yaş değerindeki farkın, endometriyal fas ekspresyonu üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır.

İnfertilite şikayeti, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, sırasıyla %53.3 ve %26.6. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.04). Endometriozis ile infertilite arasındaki

ilişkiyi değerlendiren ve sonucunda infertiliteye neden olduğunu belirten birçok çalışma mevcuttur (100-116). Menstrüel düzensizlikler, kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.04$). Bu durum kontrol grubunun, benign jinekolojik nedenlerle başvuran hasta grubundan oluşmasından kaynaklanmış olabilir. Endometriozisli hasta grubunda H skoru ile gravida arasında ters yönlü bir ilişki gösterilmiştir ($p=0.031$, $r=-0.509$). Kontrol grubunda ise hem gravida hem de parite ile H skoru arasında pozitif ilişki saptanmıştır (sırasıyla $p=0.041$, $r=0.374$; $p=0.046$, $r=0.366$). Literatürde bu bulguları destekleyecek yeterli sayıda yayın bulunmamaktadır.

Menstrüel siklus boyunca endometriyal hücrelerde fas ve fas L eksprese edilmektedir. Geç proliferatif fazda bu proteinler hücrenin golgi cisimciği ve sitoplazmik veziküllerin içerisinde yer almakta ve Fas ile FasL etkileşime giremez dolayısıyla apoptozisi indükleyemez. Buna karşılık, sekretuar faz süresince, hücre membranının bir parçası olarak bu proteinler dışarıya atılır, burada Fas-FasL bağlantısı sağlanır ve bu bağlantı apoptotik sinyalleri başlatır. Endometriumun glandüler hücrelerinde Fas immünboyanması sekretuar fazda, proliferatif faza göre daha fazladır. FasL'nin hem glandüler ve hem de stromal hücrelerdeki ekspresyonu siklusa bağlı bir olaydır. FasL'nin sekretuar fazda daha fazla eksprese edilmesi, apoptotik hücre ölümünün sekretuar fazda daha fazla olmasını sağlar. Tüm bunlar, Fas yoluyla apoptozisin endometriyal siklus için önemli olduğunu gösterir (196, 229). Apoptotik protein ekspresyonlarının steroid hormonlarla ilişkili olacak şekilde proliferatif faz süresince düşük, geç sekretuar ve menstrüel fazlarda ise yüksek olduğu, buna karşın antiapoptotik protein ekspresyonlarının proliferatif fazda yüksek, menstrüasyon sırasında ise düşük olduğu gösterilmiştir (183, 189, 229). Endometriozisli hastaların endometriyumlarında geç sekresyon fazında apoptozisin indüklenebilmesi için gerekli olan Fas proteininin siklik olarak eksprese edilmediğini bildiren yayınlar mevcuttur (240, 241). Bu bulgu da bu hastaların periton gibi ektopik odaklara retrograd menstrüasyon yoluyla giden ötopik endometriyal

hücrelerde apoptozise karşı bir direnç artışı olduğunu ve bu hücrelerde Fas ekspresyonu açısından intrensek bir anormallik olduğunu desteklemektedir.

Bilgilerimiz dahilinde endometriozisli bireylerle, hastalığı olmayan bireylerdeki endometriyal Fas ekspresyonunu kantitatif olarak karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Harada ve ark. (240) Fas'ın hem ötopik hem de ektopik endometriyal dokularda rastlantısal olarak eksprese edildiğini göstermişlerdir. Bu nedenle bu araştırmacılar Fas antijeninin apoptozis regülatörü olarak endometriozisli hastalarda çok da etkin olamayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim araştırmamızda ise, sekretuar dönemde alınan endometriyal örneklerde fas proteini ekspresyonu boyanma yüzdesi ve boyanma şiddetinin kantitatif değerlendirilmesine ek olarak, H skorlaması ile kantitatif olarak da değerlendirilmiştir. H skorunun endometriozisli hastalarda endometriozisi olmayan kontrol grubu hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu çalışma ile bir apoptozis regülatör proteini olan Fas proteininin, hastalığı olmayan bireylere göre endometriozisli hastaların uterin endometriyumlarındaki ekspresyonunun azaldığını ve bunun da hastalığın patofizyolojisinde etkin olabileceğini, diğer çalışmalarla birlikte bu araştırmanın sonuçları da endometriozis patogeneğinde Fas proteininin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Olive DL, Schwartz LB, Endometriosis. *New Eng J Med* 1993;328:1759-69.
2. Vural B. Endometriosis. Erk A (çeviri editörü). *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite*. 7. baskı. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi; 2007. 103-11.
3. Sampson J. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of the endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:422-69.
4. Liu DTY, Hitchcock A. Endometriosis; its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;93:859-62.
5. Sharpe-Timms KL. Endometrial anomalies in women with endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2001;943:131-47.
6. Noble LS, Takayama K, Zetium KM et al. Prostaglandins E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:600-6.
7. Dmowski WP, Ding J, Shen J, Rana N, Fernandez BB, Braun DP. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod* 2001;16:1802-8.
8. Garcia-Velasco JA, Arıcı A. Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:165-72.
9. Ishimaru T, Masuzaki H. Peritoneal endometriosis; endometrial tissue implantation as its primary etiologic mechanism. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:210-4.
10. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis. Pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986;67:335-8.
11. Kruitwagen RFP, Poels LG, Willemsen WNP, Jap PHK, Thomas CMG, Rolland R. Endometrial epithelial cells in peritoneal fluid during the early follicular phase. *Fertil Steril* 1991;55:297-303.
12. Palmer JR, Driscoll SG, Rosenberg L et al. Oral contraceptive use and risk of gestational trophoblastic tumors. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:635-40.
13. Geraedts JP, Harper J, Braude P et al. Preimplantation genetic diagnosis (PGD), a collaborative activity of clinical genetic departments and IVF centers. *Prenat Diagn* 2001;21:1086-92.
14. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol* 1987;69:412-5.
15. Gramer DW, Wilson E, Stillman RJ et al. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *JAMA* 1986;355:1904-8.
16. Darrow SL, Vena JE, Batt RE, Zielezny MA, Michalek AM, Selman S. Menstrual cycle characteristics and the risk of endometriosis. *Epidemiology* 1993;4:135-42.

17. TeLinde R, Scott R. Experimental endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1950;60:1147-73.
18. Scott RB, TeLinde RW, Wharton LR Jr. Further studies on experimental endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1953;66:1082-103 .
19. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, De Jonge I, Lauweryns JM, Koninckx PR. Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (*Papio cynocephalus* and *Papio anubis*). *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:125-34.
20. Ridley JH, Edwards IK. Experimental endometriosis in the human. *Am J Obstet Gynecol* 1958;76:783-9.
21. Schifrin BS, Erez S, Moore JG. Teen-age endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1973;16:973-80.
22. Clark AH. Endometriosis in a young girl. *JAMA* 1948;136:690.
23. El-Mahgoub S, Yaseen S. A positive proof for the theory of coelomic metaplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:137-40.
24. Foster DC, Stern JL, Buscema J, Rock JA, Woodruff JD. Pleural and parenchymal pulmonary endometriosis. *Obstet Gynecol* 1981;58:552-6.
25. Das Gupta S, Pal SK, Saha PK, Dawn CS. Endometriosis in the thumb. *J Indian Med Assoc* 1985;83:122-3.
26. Gitelis S, Petasnick JP, Turner DA, Ghiselli RW, Miller AW. Endometriosis simulating a soft tissue tumor of the thigh: CT and MR evaluation. *J Comput Assist Tomogr* 1985;9:573-6.
27. Patel VC, Samuels H, Abeles E, Hirjibehedin PF. Endometriosis at the knee. A case report. *Clin Orthop Relat Res* 1982;171:140-4.
28. Fujii S. Secondary müllerian system and endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:219-25.
29. Olikier AJ, Harris AE. Endometriosis of the bladder in a male patient. *J Urol* 1971;106:858-9.
30. Schrodtt GR, Alcorn MÖ, Ibanez J. Endometriosis of the male urinary system; a case report. *J Urol* 1980;124:722-3.
31. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H. Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 1999;47:18-20.
32. 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.
33. Russell WW. Aberrant portions of the müllerian duct found in an ovary: ovarian cysts of müllerian origin. *Bull John Hopkins Hospital* 1899;10:8-10.
34. Fujii S. Secondary müllerian system and endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:219-25.
35. Batt RE, Smith RA, Buck Louis GM. Müllerianosis. *Histol Histopathol.* 2007;22:1161-6
36. Ridley J. The histogenesis of endometriosis: a review of facts and fancies. *Obstet Gynecol Surv* 1968;23:1-23.
37. Bazas-Malik G, Samf V, Rana BS. Endometrioma of the kidney. *J Urol* 1980;123:422.

38. Carvalho BR, Rosa e Silva JC, Barbosa Hde F et al. Umbilical endometriosis without previous pelvic surgery. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30:167-70.
39. Batson O. The function of the vertebral veins and their role in the spread of metastasis. *Clin Orthop Relat Res* 1995;312:4-9.
40. Jubanyik KJ, Comite F. Extrapelvic endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:411-40.
41. Kennedy S, Mardon H, Barlow D. Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:32-4.
42. Hadfield RM, Mardon HJ, Barlow DH, Kennedy SH. Endometriosis in monozygotic twins. *Fertil Steril* 1997;68:941-2.
43. 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* 1998;352:1440-1.
44. Osteen KG, Yeaman GR, Bruner-Tran KL. Matriks metalloproteinases and endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:155-64.
45. Osteen KG, Igarashi TM, Bruner-Tran KL. Progesterone action in the human endometrium; induction of unique tissue environment which limits matriks metalloproteinase (MMP) expression. *Front Biosci* 2003;8:78-86.
46. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase; a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999;72:961-9.
47. Gurates B, Bulun SE. Endometriosis; the ultimate hormonal disease. *Semin Reprod Med* 2003;21:125-34.
48. Noble LS, Simpson ER, Johns A, Bulun SE. Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:174-9.
49. Kitawaki J, Noguchi T, Amatsu T et al. Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biol Reprod* 1997;57:514-9.
50. Casey ML, MacDonald PC, Andersson S. 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2; chromosomal assignment and progestin regulation of gene expression in human endometrium. *J Clin Invest* 1994;94:2135-41.
51. Zeitoun K, Takayama K, Sasano H et al. Deficient 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17 beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:4474-80.
52. Vural B. Endometriosis. *Erk A (çeviri editörü). Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite.* 7. baskı. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi; 2007. 1106.
53. Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 1981;35:696-8.
54. Halme J, Becker S, Hammond MG, Raj MH, Raj S. Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1983;145:333-7.

55. Olive DL, Weinberg JB, Haney AF. Peritoneal macrophages and infertility; the association between cell number and pelvic pathology. *Fertil Steril* 1985;44:772-7.
56. Hill JA, Faris HM, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988;50:216-22.
57. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1-10.
58. Sidell N, Han SW, Parthasarathy S. Regulation and modulation of abnormal immune responses in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;955:159-73.
59. Melioli G, Semino C, Semino A, Venturini PL, Ragni N. Recombinant Interleukin-2 corrects in vitro the immunologic defect of endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1993;30:218-77.
60. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1992;58:290-5.
61. Iwasaki K, Makino T, Maruyama T et al. Leukocyte subpopulations and natural killer activity in endometriosis. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1993;38:229-34.
62. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M et al. Natural killer activity in endometriosis; correlation between serum estradiol levels and cytotoxicity. *Obst Gynecol* 1993;81:665-8.
63. Tanaka E, Sendo E, Kavvago S, Hiroi M. Decreased natural killer activity in women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1992;34:27-30.
64. Hirata J, Kikuchi Y, Imazumi E, Tode T, Nagata I. Endometriotic tissues produce immunosuppressive factors. *Gynecol Obstet Invest* 1993;37:43-7.
65. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M et al. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1995;58: 290-95.
66. Hill JA, Faris HM, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988;50:216-22.
67. Dmowski WP, Gebel HM, Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994;159:7-14.
68. Witz CA, Montoya IA, Dey TD, Schenken RS. Characterization of lymphocyte subpopulations and T cell activation in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1994;32:173-9.
69. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 1991;56:45-51.
70. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1992;58:290-5.

71. Seli E, Arici A. Endometriosis; interaction of immune and endocrine systems. *Semin Reprod Med* 2003;21:135-44.
72. Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, Meng YG, Taylor RN. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1beta. *Mol Hum Reprod* 2000;6:269-75.
73. Arici A, Tazuke SI, Attar E, Kliman HJ, Olive DL. Interleukin-8 concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis and modulation of interleukin-8 expression in human mesothelial cells. *Mol Hum Reprod* 1996;2:40-5.
74. Witz CA. Cell adhesion molecules and endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:173-82.
75. Viganò P, Gaffuri B, Somigliana E, Busacca M, Di Blasio AM, Vignali M. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture. *Mol Hum Reprod* 1998;4:1150-6.
76. Ryan IP, Tseng JF, Schriock ED, Khorram O, Landers DV, Taylor RN. Interleukin-8 concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1995;63:929-32.
77. Khorram O, Taylor RN, Ryan IP, Schall TJ, Landers DV. Peritoneal fluid concentrations of the cytokine RANTES correlate with the severity of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1545-9.
78. Fanton JW, Golden JG. Radiation-induced endometriosis in *Maccaca mulatta*. *Radiat Res* 1991;126:141-6.
79. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, et al. Endometriosis in rhesus monkeys (*Maccaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:431-41.
80. Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, et al. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod* 1994;9:1001-2.
81. Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risks of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-controlled study of infertile women. *Hum Reprod* 2001;16:2050-5.
82. Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, et al. Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. *Environ Health Perspect* 2002;110:629-34.
83. Olive DL, Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993;328:1759-69.
84. Cramer DW. Epidemiology of endometriosis. In: Wilson EA (ed). *Endometriosis*. New York: Alan R. Liss; 1987. 5-22.
85. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:235-58.
86. Koninckx PR, Meulaman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991;55:759-65.
87. Cornillie FJ, Oosterlynck D, Lauweryns JM, Koninckx PR. Deeply infiltrating pelvic endometriosis: histology and clinical significance. *Fertil Steril* 1990;53:978-83.

88. Barlow DH, Glynn CJ. Endometriosis and pelvic pain. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:775-90.
89. American Fertility Society: Revised American Fertility Society Classification of Endometriosis. *Fertil Steril* 1985;43:351-2.
90. Moen MH. Endometriosis in women with interval sterilization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987;66:451-4.
91. Naples JD, Batt RE, Sadigh H. Spontaneous abortion rate in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1981;57:509-12.
92. Olive DL, Fraklin RR, Gratkins LV. The association between endometriosis and spontaneous abortion. A retrospective clinical study. *J Reprod Med* 1982;27:333-6.
93. Wheeler JM, Johnston BM, Malinak LR. The relationship of endometriosis to spontaneous abortion. *Fertil Steril* 1983;39:656-60.
94. Metzger DA, Olive Di, Stohs GF, Franklin RR. Association of endometriosis and spontaneous abortion; effect of control group selection. *Fertil Steril* 1986;45:18-22.
95. FitzSimmons J, Stahl R, Gocial B, Shapiro SS. Spontaneous abortion and endometriosis. *Fertil Steril* 1987;47:696-8.
96. Pittaway DE, Vernon C, Fayez JA. Spontaneous abortions in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988;50:711-5.
97. American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1975;43:351-2.
98. Matorras R, Rodriguez F, Perez C, Pijoan JI, Neyro JL, Rodriguez-Escudero FJ. Infertile women with and without endometriosis: a case control study of luteal phase and other infertility conditions. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75:826-31.
99. Pittaway DE, Maxson W, Daniell J, Herbert C, Wentz AC. Luteal phase defects in infertility patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1983;39:712-3.
100. Hirschowitz JS, Soler NG, Wortsman J. The galactorrhea-endometriosis syndrome. *Lancet* 1978;1:896-8.
101. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1-10.
102. Suginami H, Yano K. An ovum capture inhibitor (OCI) in endometriosis peritoneal fluid: an OCI-related membrane responsible for fimbrial failure of ovum capture. *Fertil Steril* 1988;50:648-53.
103. Wheeler JM, Johnston BM, Malinak LR. The relationship of endometriosis to spontaneous abortion. *Fertil Steril* 1983;39:656-60.
104. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Semin Reprod Med* 2003;21:243-54.
105. Olive DL, Stohs GF, Metzger DA, Franklin RR. Expectant management and hydrotubations in the treatment of endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 1985;44:35-41.
106. Schenken RS, Malinak LR. Conservative surgery versus expectant management for the infertile patient with mild endometriosis. *Fertil Steril* 1982;37:183-6.

107. Portuondo JA, Echanojauregui AD, Herran C, Alijarte I. Early conception in patients with untreated mild endometriosis. *Fertil Steril* 1983;39:22-5.
108. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002;77:1148-55.
109. Garcia-Velasco JA, Arici A. Is the endometrium or oocyte/embryo affected in endometriosis? *Hum Reprod* 1999;14 Suppl 2:77-89.
110. Simón C, Gutiérrez A, Vidal A, de los Santos MJ, Tarín JJ, Remohí J, Pellicer A. Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction; results from in-vitro fertilization and oocyte donation. *Hum Reprod* 1994;9:725-9.
111. Sung L, Mukherjee T, Takeshige T, Bustillo M, Copperman AB. Endometriosis is not detrimental to embryo implantation in oocyte recipients. *J Assist Reprod Genet* 1997;14:152-6.
112. Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohí J, Simón C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995;10 Suppl 2:91-7.
113. Díaz I, Navarro J, Blasco L, Simón C, Pellicer A, Remohí J. Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. *Fertil Steril* 2000;74:31-4.
114. Giudice LC. Genomics' role in understanding the pathogenesis of endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:119-24.
115. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegeler MA, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PM. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis; a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998;70:1101-8.
116. Brosens J, Timmerman D, Starzinski-Powitz A, Brosens I. Noninvasive diagnosis of endometriosis; the role of imaging and markers. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2003;30:95-114.
117. Alcazar JL, Laparte C, Jurado M, López-García G. The role of transvaginal ultrasonography combined with color velocity imaging and pulsed Doppler in the diagnosis of endometrioma. *Fertil Steril* 1997;67:487-91.
118. Aleem F, Pennisi J, Zeitoun K, Predanic M. The role of color Doppler in diagnosis of endometriomas. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:51-4.
119. Stratton P, Winkel C, Premkumar A et al. Diagnostic accuracy of laparoscopy, magnetic resonance imaging, and histopathologic examination for the detection of endometriosis. *Fertil Steril* 2003;79:1078-85.
120. Arrivé L, Hricak H, Martin MC. Pelvic endometriosis: MR imaging. *Radiology* 1989;171:687-92.
121. Togashi K, Nishimura K, Kimura I et al. Endometrial cysts: diagnosis with MR imaging. *Radiology* 1991;18:73-8.
122. Vural B. Endometriosis. *Erk A* (çeviri editörü). *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite*. 7. baskı. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi; 2007. 1103-35.

123. Gürsoy R, Taşkıran Ç. Endometriosis. Novak's Jinekoloji. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi,12. Baskı 2004;931-72.
124. Vercellini P, Vendola N, Bocciolone L, Rognoni MT, Carinelli SG, Candiani GB Reliability of the visual diagnosis of ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 1991;56:1198-200.
125. Brosens LA, Puttemans PJ. Double-optic laparoscopy. Salpingoscopy, ovarian cystoscopy, and endoovarian surgery with the argon laser. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1989;3:595-608
126. Hayata T, Matsu T, Kawano Y, Matsui N, Miyikawa I. Scanning electron microscopy of endometriotic lesions in the pelvic peritoneum and the histogenesis of endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 1992;39:311-9.
127. Clements PB. Pathology of endometriosis. *Pathol Annu* 1990;245-95.
128. Miller J, Shaw R, Casper R et al. Historical Prospective Cohort Study of the Recurrence of Pain after Discontinuation of Treatment with Danazol or GnRH-a. *Fertil Steril* 1998;70:293-96.
129. Pagidas K, Falcone T, Hemraings R, et al. Comparison of reoperation for moderate (stage III) and severe (stage IV) endometriosis related infertility with IVF+ET. *Fertil Steril* 1996;65:791-95.
130. Guzick DS, Silliman NP, Adamson GD, et al. Prediction of pregnancy in infertile women based on the American Society for Reproductive Medicine's revised classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1997;67:822-29.
131. Donnez J, Pirard C, Smets M, et al. Surgical management of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:329-48.
132. American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis: 1985. *Fertil Steril* 1985;43:351-2.
133. American Fertility Society. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67:817-21.
134. Ahuja V, Dieckgraefe BK, Anant S. Molecular biology of the small intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2006;22:90-4.
135. Kiernan JA. Production and life span of cutaneous mast cells in young rats. *J Anat* 1979;128:225-38.
136. Nadal-Ginard B, Anversa P, Kajstura J, Leri A. Cardiac stem cells and myocardial regeneration. *Novartis Found Symp* 2005;265:142-54.
137. Recknor JB. *Nerve Regeneration: Tissue Engineering Strategies*. New York: Taylor & Francis; 2006.
138. Mondello C, Scovassi AI. Apoptosis; a way to maintain healthy individuals. *Subcell Biochem* 2010;50:307-23.
139. Cotter TG, Lennon SV, Glynn JG, Martin SJ. Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells. *Anticancer Res* 1990;10:1153-9.
140. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
141. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995;146:3-15.

142. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000;45:528-37.
143. Tepper AD, Ruurs P, Wiedmer T et al. Sphingomyelin hydrolysis to ceramide during the execution phase of apoptosis results from phospholipid scrambling and alters cell-surface morphology. *J Cell Biol* 2000;150:155-64.
144. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 140:871-82.
145. Montague JW, Cidlowski JA. Cellular catabolism in apoptosis: DNA degradation and endonuclease activation. *Experientia* 1996;52:957- 62.
146. Vance JE, Steenbergen R. Metabolism and functions of phosphatidylserine. *Prog Lipid Res* 2005;44:207-34.
147. Mourdjeva M, Kyurkchiev D, Mandinova A et al. Dynamics of membrane translocation of phosphatidylserine during apoptosis detected by a monoclonal antibody. *Apoptosis* 2005;10:209-17.
148. Degli-Esposti M. To die or not to die-the quest of the TRAIL receptors. *J Leukoc Biol* 1999;65:535-42.
149. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997;276:111-3.
150. Friesen C, Herr I, Krammer PH, Debatin KM. Involvement of the CD95 (APO-1/FAS) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Nat Med* 1996;2:574-7.
151. Collison A, Foster PS, Mattes J. Emerging role of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) as a key regulator of inflammatory responses. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009;36:1049-53.
152. Martin DA, Siegel RM, Zheng L, Lenardo MJ. Membrane oligomerization and cleavage activates the caspase-8 (FLICE/MACHalpha1) death signal. *J Biol Chem* 1998;273:4345-9.
153. Basu A, Haldar S. The relationship between Bcl2, Bax and p53; consequences for cell cycle progression and cell death. *Mol Hum Reprod* 1998;4:1099-109.
154. Haupt S, Berger M, Goldberg Z, Haupt Y. Apoptosis-the p53 network. *J Cell Sci* 2003;116:4077-85.
155. Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology* 2000;7:153-63.
156. Hasan NM, Adams GE, Joiner MC. Effect of serum starvation on expression and phosphorylation of PKC-alpha and p53 in V79 cells; implications for cell death. *Int J Cancer* 1999;80:400-5.
157. Datta SR, Dudek H, Tao X et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 1997;91:231-41.
158. Motyka B, Korbitt G, Pinkoski MJ et al. Mannose 6-phosphate/insulinlike growth factor II receptor is a death receptor for granzyme B during cytotoxic T cell-induced apoptosis. *Cell* 2000;103:491-500.
159. Darmon AJ, Nicholson DW, Bleackley RC. Activation of the apoptotic protease CPP32 by cytotoxic T-cell-derived granzyme B. *Nature* 1995;377:446-8.

160. Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4144-7.
161. Tao X-J, Tilly Ki, Maravei DV et al. Differential expression of members of the bcl-2 gene family in proliferative and secretory human endometrium: glandular epithelial cell apoptosis is associated with increased expression of bax. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2738-46.
162. Vaskivuo TE, Stenback F, Karhumaa P, Risteli J, Dunkel L, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. *Mol Cell Endocrinol* 2000;165:75-83.
163. Diebold J, Barretton G, Felchner M, Meier W, Dopfer K, Schmidt M and Lohrs U. Bcl-2 expression, p53 accumulation and apoptosis in ovarian carcinoma cell lines. *Am J Clin Pathol* 1996;105:341-49.
164. Otsuki Y, Misaki O, Sugimoto O, Ito Y, Tsujimoto Y and Akao Y. Cyclic bcl-2 expression in human uterine endometrium during menstrual cycle. *Lancet* 1994;344:28-9.
165. Reed JC. Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 1997;387:773-6.
166. Watanabe H, Kanzaki H, Narukavva S, Inoue T, Katsuragavva H, Kaneko Y, Mori T. Bcl-2 and Fas expression in eutopic and ectopic human endometrium during the menstrual cycle in relation to endometrial cell apoptosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:360-8.
167. Otsuki Y. Apoptosis in human endometrium; apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc* 2000;134:166-73.
168. B Rogers PA, Lederman F, Plunkett D, Affandi B. Bcl-2, Fas, and caspase-3 expression in endometrium from levonorgestrel implant users with and without breakthrough bleeding. *Hum Reprod* 2000;15:152-61.
169. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vitro with a conserved homolog, Bax, the accelerated programmed cell death. *Cell* 1993;74:609-19.
170. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE et al. bcl-x, a bcl-2 related gene that functions as dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 1993;74:597-608.
171. Tao X-J, Sayegh RA, Tilly JT, Isaacson KB. Elevated expression of the proapoptotic BCL-2 family member, BAK, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil Steril* 1998;70:338-43.
172. Lechner MS, Laimins LA. Inhibition of p53 DNA binding by human papillomavirus E6 proteins. *J Virol* 1994;68:4262-73.
173. Forte E, Luftig MA. MDM2-dependent inhibition of p53 is required for Epstein-Barr virus B-cell growth transformation and infected-cell survival. *J Virol* 2009;83:2491-9.
174. Zhao LY, Liao D. Sequestration of p53 in the cytoplasm by adenovirus type 12 E1B 55-kilodalton oncoprotein is required for inhibition of p53-mediated apoptosis. *J Virol* 2003;77:13171-81.
175. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature* 1997;387:296-9.

176. Alarcon-Vargas D, Ronai Z. p53-Mdm2--the affair that never ends. *Carcinogenesis* 2002;23:541-47.
177. Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria; a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science* 1997;275:1132-6.
178. Joza N, Susin SA, Daugas E et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001;410:549-54.
179. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I et al. Cytochrome c and dATPdependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997;91:479-89.
180. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H et al. A caspase-activated Dnase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998;391:43-50.
181. Hunot S, Flavell RA. Apoptosis. Death of a monopoly? *Science* 2001;292:865-6.
182. Hardy JA, Lam J, Nguyen JT, O'Brien T, Wells JA. Discovery of an allosteric site in the caspases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:12461-6.
183. Chen M, Wang J. Initiator caspases in apoptosis signaling pathways. *Apoptosis* 2002;7:313-9.
184. Slee EA, Adrain C, Martin SJ. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J Biol Chem* 2001;276:7320-6.
185. Janicke RU, Ng P, Sprengart ML, Porter AG. Caspase-3 is required for alpha-fodrin cleavage but dispensable for cleavage of other death substrates in apoptosis. *J Biol Chem* 1998;273:15540-5.
186. Ruchaud S, Korfali N, Villa P et al. Caspase-6 gene disruption reveals a requirement for lamin A cleavage in apoptotic chromatin condensation. *EMBO J* 2002;21:1967-77.
187. Okinaga T, Kasai H, Tsujisawa T, Nishihara T. Role of caspases in cleavage of lamin A/C and PARP during apoptosis in macrophages infected with a periodontopathic bacterium. *J Med Microbiol* 2007;56:1399-404.
188. Boulares AH, Yakovlev AG, Ivanova V et al. Role of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) cleavage in apoptosis. Caspase 3-resistant PARP mutant increases rates of apoptosis in transfected cells. *J Biol Chem* 1999;274:22932-40.
189. Bharti AC, Takada Y, Aggarwal BB. PARP cleavage and caspase activity to assess chemosensitivity. *Methods Mol Med* 2005;111:69-78.
190. Mao PL, Jiang Y, Wee BY, Porter AG. Activation of caspase-1 in the nucleus requires nuclear translocation of pro-caspase-1 mediated by its prodomain. *J Biol Chem* 1998;273:23621-4.
191. Kallio MJ, Nieminen M, Eriksson JE. Human inhibitor of apoptosis protein (IAP) survivin participates in regulation of chromosome segregation and mitotic exit. *FASEB J* 2001;15:2721-3.

192. Ando K, Hiroishi K, Kaneko T et al. Perforin, Fas/Fas ligand, and TNFalpha pathways as specific and bystander killing mechanisms of hepatitis C virus-specific human CTL. *J Immunol* 1997;158:5283-91.
193. Thiery J, Keefe D, Saffarian S et al. Perforin activates clathrin- and dynamin-dependent endocytosis, which is required for plasma membrane repair and delivery of granzyme B for granzyme-mediated apoptosis. *Blood* 115:1582-93.
194. Suda T, Okazaki T, Naito Y, Yokota T, Arai N, Ozaki S, Nakao K, Nagata S. Expression of the Fas ligand in T cell lineage. *J Immunol* 1995;154:3806-13.
195. Lincz L. Deciphering the apoptotic pathway; all roads lead to death. *Immunol Cell Biol* 1998;76:1-19.
196. Selam B, Kayisli UA, Mülayim N, Arici A. Regulation of Fas ligand expression by estradiol and progesterone in human endometrium. *Biol Reprod* 2001;65:979-85.
197. Tanaka M, Suda T, Haze K et al. Fas ligand in human serum. *Nat Med* 1996;2:317-22.
198. Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod* 1998;13:3496-502.
199. Fujishita A, Chavez RO, Nakane PK, Yamabe T, Koji T, Ishimau T, Masuzaki H. Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Fertil Steril* 1997;7:56-64.
200. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M, Rumi LS. Apoptosis and expression of Bcl-2, Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril* 2000;4:760-66.
201. Hanada M, Aime-Sempe C, Şato T, Reed JC. Structure-function analysis of Bcl- 2 protein Identification of conserved domains important for homodimerization with Bcl-2 and heterodimerization with Bax. *J Biol Chem* 1995;270:11962-9.
202. Garcia-Velasco JA, Mülayim N, Kayisli UA, Arici A. Elevated soluble Fas ligand levels may suggest a role for apoptosis in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:855-59.
203. Powell WC, Fingleton B, Wilson CL, Boothby M, Matrisian L. The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr Biol* 1999;9:1441-47.
204. Vercellini P, De Giorgo O, Aimi G, Panazza S, Uglietti A, Crosignani PG. Menstrual characteristics in women with and without endometriosis. *Obstet Gynecol* 1997;90:264-68.
205. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Koninckx PR. Transforming growth factor beta activity is increased in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1994;84:287-92.
206. Selam B, Kayisli UA, Garcia-Velasco JA, Arici A. Extracellular matrix dependent regulation of Fas ligand expression in human endometrial stromal cells. *Biol Reprod* 2002a;66:1-5.

207. Selam B, Kayisli UA, Garcia-Velasco JA, Akbaş GE, Arici A. Regulation of Fas Ligand expression by IL-8 in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2002b; 8:3921-7.
208. Jenkins S, Olive DL and Haney AF. Endometriosis; pathogenetic implications to of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986;67:335-8.
209. Eischen A, Duclos B, Schmit-Goguel M et al. Human resident peritoneal macrophages: phenotype and histology. *Br J Haematol* 1994;88:712-22.
210. Ramsey JW. Peritoneal fluid; its relevance to the development of endometriosis. *Fertil Steril* 1993;60:1-14.
211. Braun DP, Gebel H, Rana N, Dmowski WP. Cytolysis of eutopic and ectopic endometrial cells by peritoneal blood monocytes and peritoneal macrophages in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1998;6:1103-8.
212. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Smith SA. Immunocolonization 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.
213. Meresman GF, Auge L, Baranao RI, Lombardi E, Tesone M, Sueldo C. Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;77:1141-7.
214. Aplin AE, Howe A, Alahari SK, Juliano RL. Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev* 1998; 50:197-263.
215. Arimoto T, Katagiri T, Oda K et al. Genome-wide cDNA microarray analysis of gene-expression profiles involved in ovarian endometriosis. *Int J Oncol* 2003;22:551-560.
216. Imai A, Takagi A, Tamaya T. Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometrial cell apoptosis in endometriosis in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1142-46.
217. Meresman GF, Bilotas MA, Lombardi E, Tesone M, Sueldo C, Baranao R. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1P and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Hum Reprod* 2003;18:1767-71
218. Koh ETA, Illingworth PJ, Duncan WC, Critchley HO. Immunolocalization of Bcl-2 protein in human endometrium in the menstrual cycle and simulated early pregnancy. *Hum Reprod* 1995;10:1557-62.
219. Critchley HOD, Tong S, Cameron ST, Drudy TA, Kelly RW, Baird DT. Regulation of bcl-2 gene family members in human endometrium by antiprogestin administration in vivo. *J Reprod Fertil* 1999;115:389-95.
220. Chatzaki E, Makrigiannakis A, Margioris AN, Kouimtzioglou E, Gravanis A. The Fas/FasL apoptotic pathway is involved in K-opioid induced apoptosis of human endometrial stromal cells. *Mol Hum Reprod* 2001;7:867-74.
221. Arumugam K, Lim JM. Menstrual characteristics associated with endometriosis. *Br J Obstet Gynecol* 1997;104:948-50.

222. Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13:467-76.
223. Mattson MP, Chan SL. Calcium orchestrates apoptosis. *Nat Cell Biol* 2003;5:1041-3.
224. Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS et al. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 1992;69:119-28.
225. Alsafadi S, Tourpin S, Andre F, Vassal G, Ahomadegbe JC. P53 family; at the crossroads in cancer therapy. *Curr Med Chem* 2009;16:4328-44.
226. Gershoni M, Templeton AR, Mishmar D. Mitochondrial bioenergetics as a major motive force of speciation. *Bioessays* 2009;31:642-50.
227. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995;267:1449-56.
228. Aral H. Apoptozis. *Sendrom* 1996:33-7.
229. Song J, Rutherford T, Naftolin F, Brown S, Mor G. Hormonal regulation of apoptosis and the Fas and Fas ligand system in human endometrial cells. *Mol Hum Reprod* 2002;8:447-455
230. Garcia-Velasco JA, Arici A, Zreick T, Naftolin F, Mor G. Macrophage derived growth factors regulate FasL expression in endometrial stromal cells: a role in endometriosis. *Mol Hum Reprod* 1999;5:642-50.
231. Adams JD, Mukherjee SK, Klaidman LK, Chang ML, Yasharel R. Apoptosis and oxidative stress in the aging brain. *Ann N Y Acad Sci* 1996;786:135-51.
232. Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life* 2000;49:427-35.
233. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005;309:481-84.
234. Arck PC, Overall R, Spatz K et al. Towards a "free radical theory of graying": melanocyte apoptosis in the aging human hair follicle is an indicator of oxidative stress induced tissue damage. *Faseb J* 2006;20:1567-69.
235. Fraker PJ, Lill-Elghanian DA. The many roles of apoptosis in immunity as modified by aging and nutritional status. *J Nutr Health Aging* 2004;8:56-63.
236. Kim R, Emi M, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. The role of Fas ligand and transforming growth factor beta in tumor progression; molecular mechanisms of immune privilege via Fas-mediated apoptosis and potential targets for cancer therapy. *Cancer* 2004;100:2281-91.
237. Gupta S. Molecular mechanisms of apoptosis in the cells of the immune system in human aging. *Immunol Rev* 2005;205:114-29.
238. Zhou T, Edwards CK III, Mountz JD. Prevention of age-related I cell apoptosis defect in CD2-fas-transgenic mice. *J Exp Med* 1995;182:129-37.
239. Kavathia N, Jain A, Walston J, Beamer BA, Fedarko NS. Serum markers of apoptosis decrease with age and cancer stage. *Aging (Albany NY)* 2009;1:652-63.

240. Harada T, Kaponis A, Iwabe T, Taniguchi F, Makrydimas G, et al. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2004;10:29-38.
241. Habil M, Ulukus M, Sezak M, Zekiođlu O, Özkınay E. Expression of Fas in women with endometriosis. *Türk Jinekoloji ve Obstetri Derneđi Dergisi*, 2008;5:111-117

TEŞEKKÜR

Uludağ üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim süresince,

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, iyi bir hekim olma sanatını öğreten, yetişmemde önemli katkıları olan başta tez danışmanım Prof.Dr. Şakir KÜÇÜKKÖMÜRCÜ'ye, hocalarım Prof.Dr. Candan CENGİZ'e, Prof.Dr. Osman H. DEVELİOĞLU'na, Prof.Dr. Yalçın KİMYA'ya, Prof.Dr. Tufan BİLGİN'e, Prof.Dr. Gürkan UNCU'ya, Prof.Dr. Mehpere TÜFEKÇİ'ye, Prof.Dr. Ahemt ESMER'e, Prof.Dr. Hakan OZAN'a,

Asistanlığım süresince hiçbir zaman destegini esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Kemal ÖZERKAN'a, Uzm.Dr. M. Aral ATALAY'a, Uzm.Dr. Bilge DEMİR ÇETİNKAYA'ya,

Rotasyonlarım süresince birlikte çalışma fırsatı bulduğum değerli hocalarıma,

Birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve hastane personeline teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1978 Erzincan doğumluyum. Lise öğrenimimi Erzincan Özel Otlukbeli Erkek Koleji'nde tamamladım. 1996 yılında başladığım Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2003 Ocak döneminde mezun oldum. 2005 Nisan dönemi Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Uludağ Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum bölümünü kazandım ve bu bölümde eğitimimi son 5 yıldır tamamlamaktayım.