



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

SIÇAN ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ANTİOKSİDAN TEDAVİNİN
ENDOMETRİOTİK ODAK HACMİ VE HÜCRE DNA HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ

Dr. Elif Cansu CANBERK

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2019



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

**SIÇAN ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ANTiOKSİDAN TEDAVİNİN
ENDOMETRİOTİK ODAK HACMİ VE HÜCRE DNA HASARI ÜZERİNE
ETKİSİ**

Dr. Elif Cansu CANBERK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Hakan OZAN

BURSA-2019

İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
İngilizce Özet	iv
Giriş	1
Endometriozis Tanımı	1
Endometriozis Prevelansı	1
Endometriozis Epidemiyolojisi	1
Endometriozis Etiyolojisi	2
Endometriozis Risk Faktörleri	6
Endometriozis Patofizyolojisi.....	7
Endometriozis Semptomları	8
Endometriozis Tanı Yöntemleri.....	9
Endometriozis Tedavi Yöntemleri	11
Endometriozis ve Kanser	12
Antioksidanlar	13
Endometriozis Modeli	14
Gereç ve Yöntem.....	16
Çalışmanın Yöntemi	16
Etik Kurul.....	16
Hayvan Seçimi.....	16
Çalışma Planı	17
Değerlendirme Kriterleri	21
İstatistiksel Analiz.....	22
Bulgular	23
Tartışma ve Sonuç.....	29
Kaynaklar	31
Teşekkür	36
Özgeçmiş	37

ÖZET

Endometriozis genel popülasyonun %2 ile %10'unu etkileyen, patofizyolojisi hala kesin olarak aydınlatılmamış bir hastalıktır. Endometriozis benign bir hastalık olmasına rağmen invazyon, uzak organlara lenfatik yayılım ve anjiogenez gibi malign özellikler göstermekte ve nadir de olsa malign transformasyona uğramaktadır. Endometriozisli hastalarda artmış oksidatif stres parametreleri kanıtlanmasına rağmen medikal tedavi seçenekleri kısıtlıdır.

Bu deneysel çalışmada, antioksidan tedavinin(vitamin C ve E), endometriotik odak hacmi ve hücre DNA hasarı üzerine etkisinin araştırılması hedeflendi.

Bu çalışmada, toplam 20 adet, ortalama 250 gram ağırlığındaki, Wistar Albino dişi sıçan kullanıldı.

Kontrol Grubu: Otolog endometriozis modeli + serum fizyolojik (10 sıçan)

Deney Grubu: Otolog endometriozis modeli + vitamin C ve E (10 sıçan)

Her iki grupta endometriozis modeli oluşturulduktan sonra intraperitoneal enjeksiyonlara başlandı. 31 günlük çalışma süresi sonunda gruplar ağırlık, endometriotik odak hacmi, gland-stroma skoru ve DNA hasarı(TUNEL(+))lik oranı) olarak karşılaştırıldı. Toplamda 11 deney hayvanı ile çalışma tamamlandı. Analiz edilen veriler ile gruplar arası anlamlı fark bulunamadı($p>0.05$). İstatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemese de analize dahil edilen deney hayvanı sayısı genişletilerek farklı, anlamlı sonuçlar kazanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Sıçan endometriozis modeli, antioksidan, DNA hasarı

SUMMARY

The Effect Of Antioxidant Treatment On Endometriotic Cyst Volume And Cell DNA Damage On A Rat Endometriosis Model

Endometriosis affects 2 to 10% of the general population but its pathophysiology still remains unknown. Even though endometriosis is a benign disease, malignancy criteria such as, invasion, distant organ involvement and angiogenesis are present. In cases less than %1, malignant transformation is detected. The presence of elevated levels of oxidative stress parameters in patients with endometriosis are well known, nevertheless medical treatment options are limited.

In this experimental study, we aimed to investigate the effect of antioxidant treatment(vitamin C and E) on endometriotic cyst volume and cell DNA damage.

In this study, a total of 20 Wistar Albino rats, mean weights of 250 gr, were used.

Control Group: Autologous endometriosis model + serum physiologic(10 rats)

Study Group: Autologous endometriosis model + vitamin C and E(10 rats)

Intraperitoneal injections were started after the endometriosis model was completed. At the end of 31 days of study period, weights, endometriotic cyst volume, gland-stroma score and DNA damage(TUNEL(+) percentage) were compared between the two groups. The study was finalized with 11 rats. Analyzed data did not show any significant difference between groups($p>0.005$). Although these differences were short of statistical significance, increasing the scope of the study may alter the results.

Key Words: rat endometriosis model, antioxidant, DNA damage

GİRİŞ

I. Endometriozis Tanımı

Endometriozis, endometrial gland ve stromal dokuların uterin kavite dışında lokalizasyonu olarak tanımlanan kronik bir hastalıktır (1). Endometriozis en sık pelvik bölgede görülmekle birlikte vücudun herhangi bir yerinde de görülebilir (2). Endometriozis, ilk olarak 1860'da Karl Freiherr Von Rokitansky tarafından myometrium içerisinde ektopik endometrial dokunun gözlenmesi, adenomyoma, olarak keşfedilmiştir (3).

II. Endometriozis Prevelansı

Endometriozisin gerçek prevelansı bilinmemektedir ancak, genel kadın popülasyonunda %2 ile %10 arasında olduğu düşünülmektedir, infertil kadınlarda ise bu oran %50'leri bulmaktadır (4). Endometriozis, Amerika Birleşik Devletleri'nde hastaneye yatışa neden olan jinekolojik hastalıklar arasında 3.sırada yer almaktadır (5).

III. Endometriozis Epidemiyolojisi

Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır ve çoğunlukla reproduktif çağıdaki kadınlarda görülmektedir. Endometriozisin en sık sebep olduğu semptomlar pelvik ağrı ve infertilite olmasına rağmen hastalar asemptomatik de olabilmektedir (6). Dünya genelinde milyonlarca kadının bu hastalıktan dolayı sosyal, fiziksel, mental ve mesleki fonksiyonları olumsuz etkilenmektedir (7).

Endometriozis tanısı için, öncelikle hastadan alınan anamnez, semptom ve bulgular doğrultusunda bir öntanı oluşturulur. Ardından, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile bu öntanı desteklenir ve son olarak da laparoskopi sırasında alınan doku örneklerinin histolojik incelemesi ile tanı

doğrulanır. Laparoskopi ve endometrial gland ve stromanın histolojik olarak gösterilmesi hastalığın tanısında altın standarttır.

Hayat kalitesini olumsuz etkileyen semptomların yanı sıra asemptomatik endometriozis hastalarının da olması, hastalığın gerçek prevalansını gizlemektedir (8).

IV. Endometriozis Etiyolojisi

Endometriozisin etiyolojisi hala kesin olarak bilinmemektedir ancak endometriozisin patogenetik mekanizmalarını açıklamaya yönelik birçok teorem mevcuttur.

IV.A. Sampson'ın Retrograd Menstruasyon Teorisi

Endometriozis patogeneğinde günümüzde en çok kabul gören teori; 1927'de yayınlanan Retrograd Akım Teorisidir. Bu hipotezde; menstruasyon ile birlikte dökülen endometrium fonksiyonel tabakasının bir kısmı, tuba uterina'lar aracılığı ile peritoneal kaviteye dökülür (9). Endometriotik lezyonların çoğunlukla pelvik bölgede görülmesi; menstrual debrisin yerçekimi etkisi ile posterior cul-de-sac'da birikmesi ve geriakım teorisi ile açıklanabilmektedir. Bu geriakım, kadınların %76-90'ında görülmesine rağmen her kadında endometriozis ile sonuçlanmamaktadır (10). İmperfore himen ve iyatrojenik servikal stenoz gibi obstrüktif hadiselerde endometriozisin daha sık görülmesi bu teoriyi desteklemektedir (11).

IV.B. Çöломik Metaplazi Teorisi

Çöломik metaplazi teorisinde, viseral ve abdominal peritonu çevreleyen hücrelerin farklılaşması sonucu endometriozis geliştiği düşünülmektedir. Bu transformasyona, hormonal ya da immünolojik faktörler sebebiyet vermektedir (12). Prepubertal kızlarda, Müllerian agenezili kadınlarda ve erkeklerde endometriozisin saptanması bu teoriyi desteklemektedir (13).

IV.B.a. İndüksiyon Teorisi

İndüksiyon teorisi, çöломik metaplazi teorisinin bir formudur. Endojen bir biyokimyasal uyarının, farklılaşmamış peritoneal hücrelerin endometrial hücre yönünde değişimi ile sonuçlandığı düşünülmektedir (14).

IV.C. Lenfatik ve Vasküler Yayılım Teorisi

Sampson, lenfatik ve vasküler yol ile endometrial hücrelerin yayılımının olabileceği teorisini öne sürmüştür. Kemik, kas, beyin ve akciğer parankimi gibi uzak ve nadir lokalizasyonlardaki endometriozis olgularını bu teori açıklamaktadır (15). Geçirilmiş uterin cerrahi öyküsü olan hastalarda, abdominal insizyon hattında görülen endometriozis yine bu teori ile desteklenir.

IV.D. Embriyonik Kalıntı Teorisi

Müllerianozis olarak da tanımlanabilen bu teoride, fetal organogenez döneminde embriyonik müllerian dokunun yanlış yerleşimi söz konusudur. Peritoneal kavitedeki müllerian kökenli hücrelerin, endometrial dokuya farklılaşmasının uyarılabileceği düşünülmektedir (16). Bu teori, rektovajinal septum ve erkeklerde görülen endometriozis olgularını açıklamaktadır.

IV.E. İmmün Sistem

Endometriozis kronik enflamatuar bir hastalıktır. Endometriozisli kadınlarda otoimmün hastalıkların daha yüksek oranda gözlenmesi, endometriozis patogeneğinde defektif immün yanıtın rol oynayabileceğini düşündürmektedir (17).

Endometriozisli kadınlarda artmış aktive makrofaj konsantrasyonu, azalmış hücresel immünite ve baskılanmış natürel killer(NK) hücre fonksiyonu mevcuttur (18).

Endometrial hücrelerin geriakım ile peritona dökülmesi enflamatuar bir yanıtı neden olur. Beklenenin aksine, menstrual debris elimine edilemez. Bunun nedeni endometriozisli hastalarda, ötopik endometriumun NK hücre lizisine daha dirençli olması ile açıklanabilmektedir. Sitokin ve büyüme faktörleri yardımı ile ektopik bölgelerdeki endometrial hücre proliferasyon ve implantasyonu desteklenmiş olur (19).

IV.F. Hormonal Faktörler

Endometriozisin çoğunlukla reprodüktif yaş kadınlarda görülmesi ve hormon tedavisi almayan postmenopozal kadınlarda genellikle rastlanmaması, hastalığın etiyolojisinde steroid hormonlarının temel rol oynadığını düşündürmektedir (20).

Hormonal değişiklikler, endometrial hücrelerin proliferasyonuna, mesotele tutunmasına ve immün yanıtı pas geçerek progrese olmasına olanak sağlar. Endometrial proliferasyon için en önemli faktör; östrojendir (21).

Ötopik endometriuma oranla endometriotik dokuda artmış aromataz enzim ekspresyonu gösterilmiştir (22). Endometrial stromal hücreler tarafından lokal östradiol konsantrasyonu artırılır ve sonuç olarak prostaglandin E2 üretimi artar. Prostaglandin E2, aromataz aktivitesini stimule ederek östrojenik çevreye katkı sağlamaya devam eder (23).

Artmış östrojen sentezinin yanı sıra, endometriozis patogeneğinde progesteron rezistansı da rol oynamaktadır. Endometriotik odaklarda progesteron reseptör-B eksikliği yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (24).

IV.G. Genetik Faktörler

Birinci derece akrabalarında endometriozis olanlarda artmış endometriozis riski ve ikizlerde endometriozisin prevalansının yüksek olması genetik faktörleri akla getirmektedir (25).

Endometriozis gelişiminde genetik polimorfizm bir etken olarak tanımlanmıştır (26). Kalıtsal ya da edinsel genetik faktörler, endometrial hücrelerin periton epitel adezyonuna ve bu hücrelerin immün yanıtta etkilenmemesine neden olabileceği düşünülmektedir (27).

Endometriozisin poligenik olarak kalıtıldığı, birçok lokus ve kromozomal bölgenin etkilendiği gösterilmiştir. Bir tümör supresör gen olan PTEN mutasyonu ile overdeki endometriotik kistin ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur (28).

Endometriozisin farklı tiplerinin, farklı gen kümelerindeki değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Endometriozis ve genetik faktörler üzerine

birçok çalışma yürütülmüştür ve ilerleyen yıllarda bu konu ile ilgili çalışmalar yürütülmeye devam edecektir.

IV.H. Çevresel Faktörler

İnsanlar, günlük olarak kimyasal toksinlere maruz kalmaktadır ve bu durum olası hastalığa sebep olabilecek fizyolojik durumlara neden olabilmektedir. Maruz kalınan çevresel toksinlerin çoğu, uzun yarıömüre sahip, çevrede ve canlı organizmada birikebilen faktörlerdir. Bu toksinlerin olası hasarları net olarak bilinmemektedir.

Diyet ve yaşam tarzı ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Vejetaryen diyet, serum seks hormon bağlayıcı globülin miktarını artırarak östrojen konsantrasyonunu azaltmaktadır (29).

Bir Cochrane analizde, vitamin B, magnezyum ve omega-3 takviyesinin endometriozisli hastalardaki antiinflamatuvar etkisi kanıtlanmıştır (30).

IV.I. Oksidatif Stres

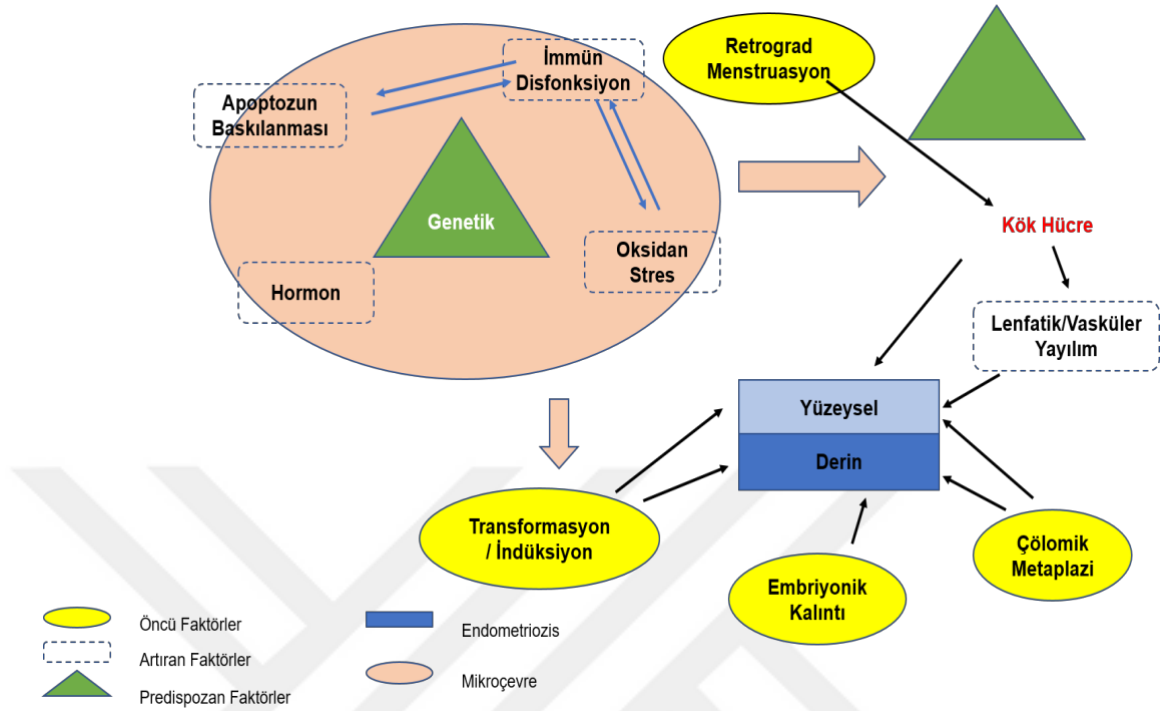
Oksidatif stres, reaktif oksijen radikalleri(ROS) ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, peritoneal kavitede genel inflamatuvar hadiseye sebebiyet verir (31).

Normal oksijen metabolizmasının ara ürünü olan ROS, inflamatuvar mediyatör olarak hücre proliferasyonunun dengesini sağlar. Endometriozisin progresyonu ile oksidatif stres yakından ilişkilidir.

Eritrosit yıkımında, aktive makrofajlar önemli rol oynamaktadır. Bu yıkım sonucunda oluşan hem ve demir, prooksidan ve proinflamatuvar ve peritoneal boşluktaki ROS miktarında artışa neden olur.

Endometriozisli kadınların serum, peritoneal sıvı, folliküler sıvı ve ovaryen korteksinde artmış oksidatif stres belirteçleri gösterilmiştir (32).

Şekil-1: Endometriozis patogenezinde rol oynayan faktörlerin özeti (13)



V. Endometriozis Risk Faktörleri

Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Erken menarş, geç menopoz, nulliparite gibi östrojen maruziyetini artıran durumlar endometriozis riskini artırır (33). Yüksek eğitim seviyesi, ileri ilk gebelik yaşı ile ilişkilendirildiği için endometriozis risk faktörleri arasında yer almaktadır (34).

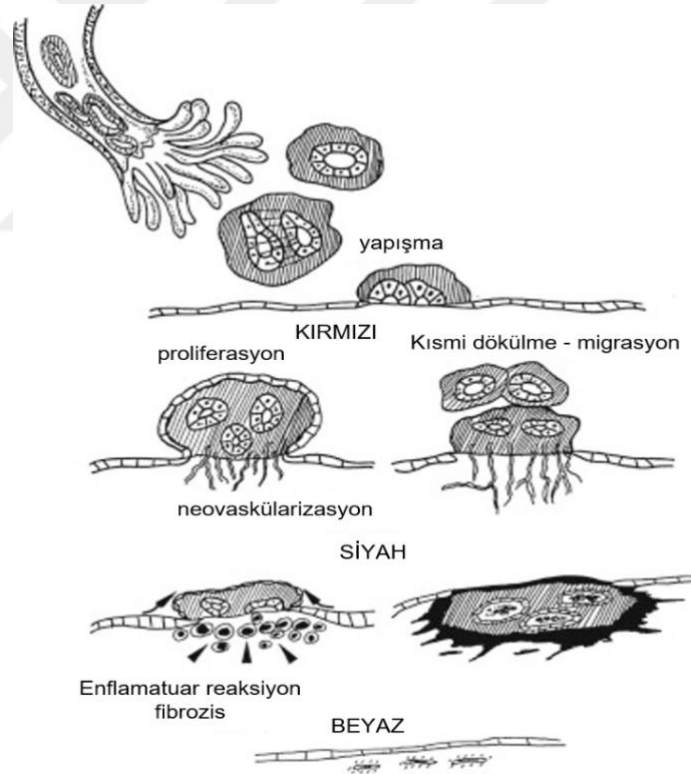
Menstruasyonun uzun ve yoğun olması, kısa menstrual siklus aralığı gibi durumlar, retrograd akım teorisi doğrultusunda peritoneal irritasyonu artırarak endometriozis gelişimine katkı sağlayan durumlardandır (35).

Uzun boy, düşük vücut kitle indeksi, artmış bel-kalça oranı endometriozis gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (36). Alkol ve kafein tüketimi endometriozis için artmış risk oluştururken, sigara kullanımı ise koruyucu etki göstermektedir (37).

VI. Endometriozis Patofizyolojisi

Endometriozisin makroskopik görünümü değişkenlik gösterebilir. Oldukça değişik renk, şekil ve boyutlarda karşımıza çıkabilmektedir. Yeni lezyonlar yüzeysel kabarıklık ve genellikle 1 cm'den küçüktür. Kırmızı, kan dolu lezyonlar hastalığın en aktif döneminde gözlenirken, zamanla birlikte bu lezyonların boyutu artar ve daha koyu bir renk alarak kahverengi "barut yanığı" görünümü kazanır. Yoğun enflamatuar yanıt ve fibrozis sonucunda eski lezyonlar beyaz renk alır ve çevre dokudan daha retrakte görünürler (38).

Şekil-2: Retrograd menstruasyon sonrası peritoneal endometriotik implant oluşumu (38)



Endometriozisin histopatolojik tanısında endometrial gland ve stromanın görülmesi gerekmektedir ancak, vakaların %25'inde gland ve stroma histolojik olarak gözlenmeyebilir. Bunun nedeni, tekrarlayan hemoraji

epizodlarının yoğun enflamatuar değişikliklere neden olması, gland ve stromanın basınç atrofisine sekonder nekroza gitmesidir (39).

VII. Endometriozis Semptomları

Endometriozisin klinik prezentasyonu da değişkenlik göstermektedir. Hastaların üçte biri asemptomatiktir ve rastlantısal olarak tanı alır.

VII.A. Kronik Pelvik Ağrı

Kronik pelvik ağrı şikayeti olan hastaların üçte biri endometriozis tanısı almaktadır. Bu ağrının temeli, enflamatuar sitokinlerin peritoneal kavitedeki etkisine ve pelvik tabandaki nöronların irritasyon ve infiltrasyonuna bağlanmaktadır (40).

VII.B. Dismenore

Dismenore genellikle menstruasyondan 36-48 saat önce semptom verir ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlara yanıt vermez (41). Bu siklik ağrı, menstrual debrisin ekstrasvasyonu ile ilişkilendirilebilir.

VII.C. Disparoni

Pelvik organların adezyonuna sekonder immobilizasyon, koit ya da endometriozis alanlarına direkt bası esnasında ağrıya sebebiyet verir. Uterosakral ligaman ve cul-de-sac tutulumu bu semptomu neden olmaktadır (42).

VII.D. Anormal Kanama

Endometriozisli hastalarda %15-20 oranında anormal kanama görülmektedir. En sık gözlenen formları, premenstrual lekelenme ve menorajidir. Genellikle bu kanama anovulasyon ile ilişkili değil, ötopik endometrium anormalliği ile ilişkilidir (43).

VII.E. İnfertilite

İnfertil kadınların %25-50'sinde endometriozis gözlenirken, endometriozisli kadınların %30-50'si infertildir. Endometriozis ve infertilite ilişkisinin patofizyolojisinde birçok faktör rol oynamaktadır ve bu konu halen tartışmalıdır (44).

Adezyonlara sekonder bozulmuş pelvik anatomi, bozulmuş follikülogenez, luteal faz yetmezliği gibi endokrin ve ovulatuvar anormallikler ve artan prostaglandin, aktive makrofaj ve sitokinler ile değişen peritoneal sıvı infertiliteye neden olmaktadır.

Peritoneal sıvıdaki enflamatuar değişiklikler, oosit, sperm, embriyo ve tuba uterinaların fonksiyonunu olumsuz etkilemektedir. Aynı zamanda, endometriozisli hastaların ötopik endometriumunda artmış otoantikör ve lenfosit sayısı, endometrial reseptiviteyi bozarak embriyo implantasyon oranlarını düşürmektedir (44,45).

VIII. Endometriozis Tanı Yöntemleri

VIII.A. Fizik Muayene

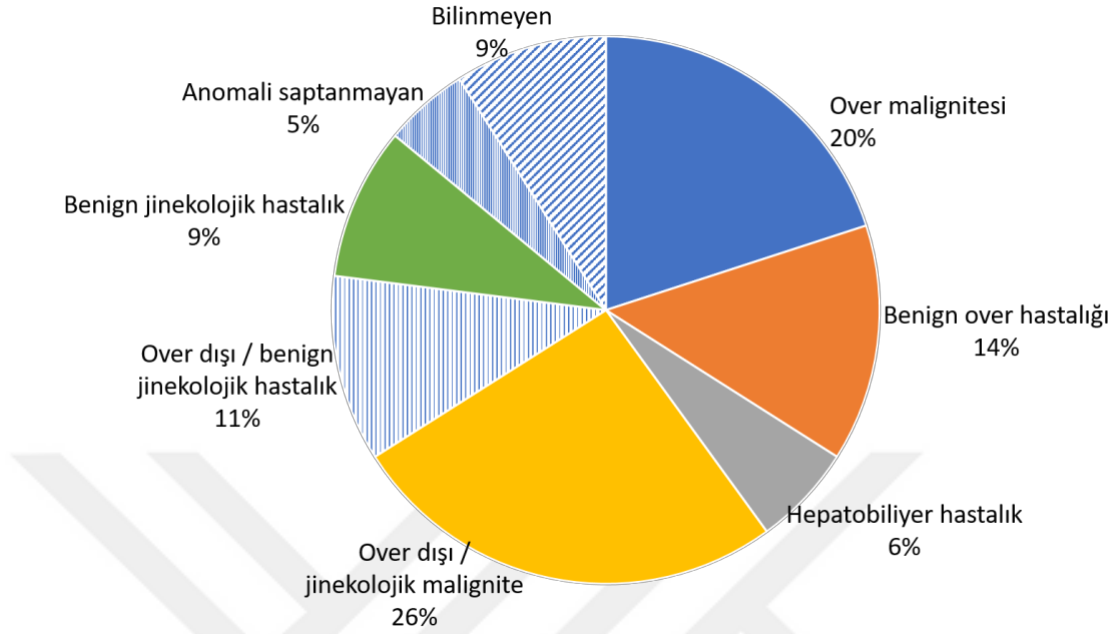
Bimanuel muayenede fikse, retrovert uterus, özellikle uterus posteriorunda hassasiyet ve skarlaşma endometriozisin klasik pelvik bulgularıdır. Uterosakral ligaman ve cul-de-sac'da nodularite palpe edilebilir. Overler büyük, hassas ve pelvik yan duvara fikse olabilir. Spekulum ile bakıda, nadir de olsa, endometriotik odaklar izlenebilir (46). Bir kısım hasta ise, infertilite araştırmasında endometriozis tanısı almaktadır.

VIII.B. Laboratuvar Testleri

Kanser antijen 125(CA-125), yüksek moleküler ağırlıklı bir glikoproteindir. 1980'lerde ilk tanımlanmasından beri epitelyal over kanserleri için tümör marker olarak kullanılmaktadır ancak, bu antijenin sensitivite ve spesivitesi oldukça düşüktür (47).

Epitelyal over kanserleri gibi malign hadiselerin yanı sıra, akut pelvik enflamatuar hastalık, adenomyozis, leiomyoma, gebelik ve menstruasyon gibi benign hadiseler de CA-125 seviyesinde artışa neden olabilmektedir. Pankreatit ve kronik karaciğer hastalığı gibi jinekolojik olmayan durumlarda da CA-125 konsantrasyonlarında artış gözlenebilir (47). Aynı zamanda, CA-125 antijeninin, düşük evre endometriozis vakalarındaki sensitivitesinin düşük olması nedeni ile optimal endometriozis belirteci için çalışmalar yürütülmektedir.

Şekil-3: Anormal CA-125 seviyesi olan 191 hastanın kesin tanı yüzdeleri (47)



VIII.C. Görüntüleme Yöntemleri

Hasta öyküsü doğrultusunda endometriozis şüphesi bulunan tüm hastalara ultrasonografi(USG) ile görüntüleme endikedir. Rektal semptomları olan veya virgo hastalarda transrektal görüntüleme tercih edilebilmektedir. Endometrioma, homojen, düşük ekojeniteli, iyi sınırlı, “buzlu cam” görünümüne sahip kistik lezyon olarak karşımıza çıkar. Tecrübeli ellerde ultrasonografi en önemli görüntüleme yöntemidir (48). Bilgisayarlı tomografi batin duvarı ya da pulmoner endometriomalar gibi nadir durumlarda faydalı olabilir. Derin infiltratif endometriozis ve renal sistem tutulumu düşünülen olgularda manyetik rezonans görüntüleme, oldukça yarar sağlar (49).

VIII.D. Tanısal Laparoskopi

Endometriozis tanısında altın standart yöntem, tanısal laparoskopidir. Operasyon ile şüpheli lezyonlardan alınan biyopsinin histopatolojik incelemesi ile kesin tanı konulur. Endometriotik lezyonların farklı şekil, boyut ve renklerde ortaya çıkması makroskopik tanıyı zorlaştırmaktadır.

Histopatolojik değerlendirmede de lezyonların ancak %50-70'inde tipik bulgular gözlenmektedir (50).

IX. Endometriozis Tedavi Yöntemleri

Endometrioziste uygulanan birçok tedavi modalitesi vardır. Uygun modalite seçimi hastanın yaşı, fertilitte isteği, semptomları ve şiddeti, önceden geçirilmiş operasyonları göz önünde bulundurularak yapılmalıdır.

Hafif ağrı ve dismenore şikayeti bulunan hastalarda öncelikli olarak oral kontraseptif ve non-steroid antienflamatuar ilaçlar gibi medikal tedavi denenmelidir. Progestinler, östrojen etkisini antagonize ederek semptomatik tedavide tercih edilebilen diğer oral tedavi seçenekleri arasındadır.

Fertilitte isteği bulunmayan hastalarda gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) agonistleri kullanılabilir. GnRH agonistleri öncelikle follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) seviyelerinde artışa neden olur, ancak ilerleyen dönemlerde hipofiz bezinde desensitizasyona sekonder istenilen hipogonadotropik etki sağlanmış olur (51).

Bu medikal tedavi yöntemleri yalnızca semptomatik tedavi sağlamak ve tedavinin bırakılması ile çoğunlukla semptomlar nüks etmektedir.

Fertilitte isteği bulunan hastalarda ise, hastanın yaşı ve over rezervi doğrultusunda tedavi yöntemine karar verilmelidir. Operasyon öyküsü bulunan, ileri yaş veya kötü over rezervi olan hastalarda yardımcı üreme teknikleri öncelikli tercih olmalıdır. Fakat, genç yaş ve over rezervi iyi olan hastalarda tedavi seçeneği olarak operasyon düşünölebilmektedir (52). Malignite şüphesi olan olgularda ise, cerrahi tedavi ilk seçenek olmalıdır.

Sonuç olarak, endometriozis tedavisinde hasta bazlı kişiselleştirilmiş yönetim tercih edilmelidir.

Endometriozis patogenezinin moleküler düzeyde anlaşılması ile hastalığın yönetiminde yeni tedavi modaliteleri üzerine çalışmalar yürütölmekte, özellikle de anjiogenez inhibitörleri ve immünmodölatör ilaçlar hakkında çok sayıda yayın bulunmaktadır.

X. Endometriozis ve Kanser

Endometriozis benign bir hastalık olmasında karşın, invazyon, anjiyogenez ve uzak organlara lenfatik yayılım gibi malign özellikler göstermektedir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), interlökin-8, fibroblast büyüme faktörü (FGF) 1-2 ve endotelyal büyüme faktörü (EGF) gibi sitokinler ile anjiyogenez uyarılır böylelikle proliferasyon ve implantasyon için uygun ortam sağlanmış olur. EGF kanser ve metastaz gelişiminde de rol oynamaktadır (53).

Genetik çalışmalar ile endometriotik lezyonlarda tümör supresör gen p53, PTEN ve KRAS gen mutasyonları saptanmıştır (53).

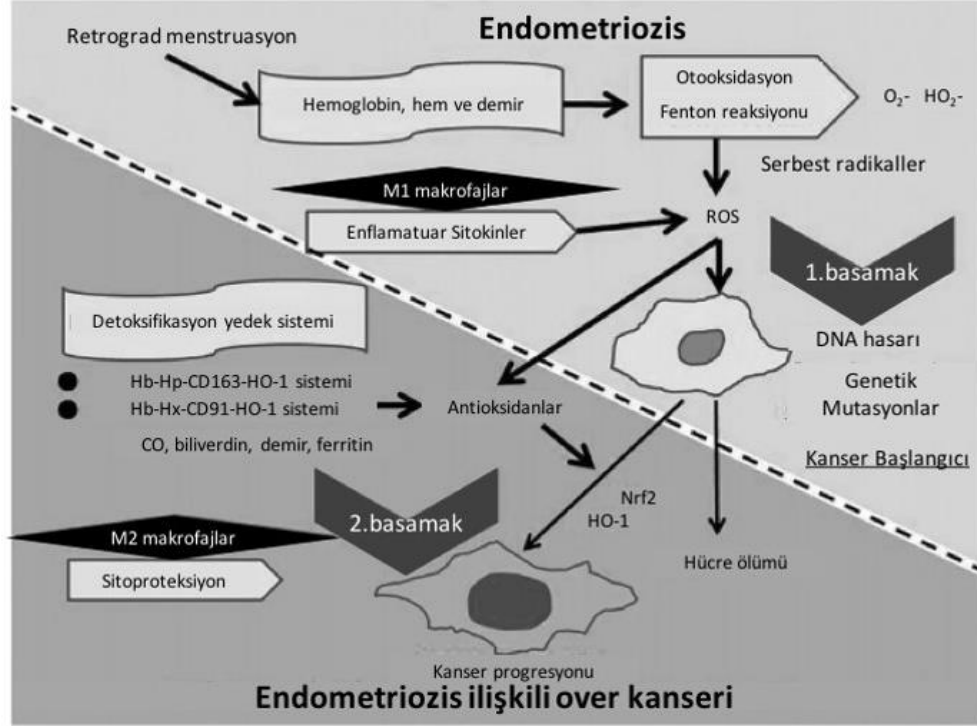
Overin berrak hücreli karsinomu ve endometrioid karsinomunu endometriozis ile ilişkilendiren epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur ancak, malign transformasyon mekanizması hala netlik kazanmamıştır. Son çalışmalarda, malignite patofizyolojisinde proenflamatuar ve antienflamatuar mekanizmaların arasındaki dengenin bozulmasının önemi vurgulanmaktadır (54).

Retrograd menstruasyon ile artan peritoneal serbest hemoglobin, hem ve demirin hidroksil radikallerine dönüşümü ile katalitik etki gösterir. Hem molekülü, yüksek derecede sitotoksiktir ve lipid peroksidasyonu ile DNA hasarına neden olur. Oksidatif stres, DNA hasarına ve hücre ölümüne sebebiyet verir. Bunun yanı sıra, endometrial dokuda genetik dengesizlik ve onkojenik transformasyona da neden olur (55). DNA hasarı ve mutasyonlar, hücre ölümü ile sonuçlanabileceği gibi karsinogenez ile de sonuçlanabilmektedir.

Endometriozisli kadınlarda serum oksidatif stres parametreleri, kontrol grubuna oranla daha yüksek, antioksidan defans parametreleri ise daha düşük saptanmıştır (56). Yüksek ROS konsantrasyonları endometriotik hücrelere toksiktir ve hücre ölümünü indükleyerek tümörogenez süpresyonuna sebep olabilmektedir.

Sonuç olarak oksidan/antioksidan dengesi endometriozisin malign dönüşümünün patogeneğinde önemli rol oynamaktadır.

Şekil-4: Endometriozis-ilişkili over kanserinin olası gelişim şeması (55)



XI. Antioksidanlar

Antioksidanlar, metabolik aktivite ürünü olan ROS ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu ve DNA metilasyonunu engeller. Endojen ve eksojen olarak ayrılır ve çeşitli enzimler, vitaminler, indirgeyici ajanlar ve bağlayıcı proteinler antioksidan etki gösterir. Vitaminler arasında vitamin A, C, E ve koenzim Q antioksidan özelliğe sahiptir (57).

XI.A. Vitamin C

Vitamin C elektron donörü olarak davranır ve normal metabolik aktivite ürünleri olan ROS'u indirger. Böylelikle oksidatif DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve aminoasit oksidasyonunu engeller ve protein bütünlüğü korunmuş olur.

İnsan ve primatların dışında çoğu memeliler, L-gulon- γ -lakton oksidaz ile de novo vitamin C sentezi yapılabilmektedir ancak, bu gen insanlarda defektif olduğundan vitamin C esansiyeldir (58).

Suda çözünen bir vitamin olan vitamin C, antioksidan olmanın yanı sıra Fe^{2+} ve α -ketoglutarat bağımlı dioksijenaz için kofaktördür. Kollajen sentezi, DNA metilasyonu, nörotransmitter biyosentezi ve histon demetilasyonu gibi önemli görevlerde rol oynar. Ferrik demirin ferröz demire indirgenmesinde, Fenton reaksiyonunda görev alır. Fenton reaksiyonunda, ROS olan hidroksil radikali oluşur, bu sebepten dolayı vitamin C aynı zamanda bir prooksidan olarak değerlendirilmektedir (59).

XI.B. Vitamin E

Yağda eriyen bir vitamin olan vitamin E, karaciğer ve yağ dokularında depo edilmektedir. Vitamin E, doymuş ve doymamış, tokoferol ve tokotrienol olmak üzere 2 gruba ayrılır. Diyetle alınan temel vitamin E formu tokoferoldür. Tokotrienoller ise, diyetle eser miktarda alınır, bu sebepten sınırlı sayıda çalışmaya konu olmuştur.

Vitamin E'nin antioksidan, antitrombosit ve immünmodülatör etkisi kanıtlanmıştır. Vitamin E, lenfosit proliferasyonunu artırır, prostaglandin E2 yapımını azaltır ve lipid peroksidlerini azaltır. Böylelikle hücre membran bütünlüğünü koruyarak hücre ölümünü engeller (60, 61).

Aynı zamanda Yetkin ve ark. (62), intraperitoneal vitamin E enjeksiyonunun antifibroblastik etkisi ile kolajen yapımını azaltarak peritoneal adhezyonları anlamlı derecede azalttığını kanıtlamışlardır.

XII.Endometriozis Modeli

Endometriozis, menstruasyon gösteren primatlarda gözlenen bir hastalıktır. Fakat hastalığın patogenezi araştırmaya yönelik çalışmalarda, insan dışı primatların kullanımı hem maliyet hem de etik faktörler göz önünde bulundurulduğunda mümkün görünmemektedir (63).

Hayvan modeli çalışmalarında fare, sıçan, tavşan gibi küçük laboratuvar hayvanları, maliyetinin düşük olması ve temin kolaylığı nedeni ile sıkça tercih edilmektedir.

Endometriozis hayvan modeli oluşturmada kullanılan, otolog ve heterolog olmak üzere iki temel yöntem mevcuttur (64).

XII.A.Otolog Model

Otolog endometriozis modeli, deney hayvanından elde edilen endometrial dokunun, aynı ya da izojenik hayvanın peritonuna cerrahi olarak transplante edilmesi ile oluşturulur (64).

XII.B.Heterolog Model

Heterolog endometriozis modeli, immün sistemi baskılanmış deney hayvanına, insan endometrial doku parçalarının intraperitoneal ya da subkutanöz enjeksiyonu ile oluşturulur (64).

Heterolog modelde, transfer edilen insan endometrial doku parçalarının devamlılığı, en fazla 4 hafta olmak üzere, kısıtlıdır. Bu çalışmada, sıçan endometriozis modeli otolog yöntem ile sağlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

I.Çalışmanın Yöntemi

Çalışmamız prospektif bir vaka-kontrol çalışma olup, Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinde ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarında yürütüldü.

II.Etik Kurul

Çalışmamızın protokolü Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 19 Aralık 2017 tarihinde onaylanmış olup kayıt numarası 2017-15/07 dir.

III.Hayvan Seçimi

Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen, 20 adet Wistar Albino türü, 5 haftalık, ortalama 250 gram ağırlığında (220-303 gr arası) dişi sıçanlar seçildi.

III.A.Dışlama Kriterleri

- Malignite şüphesi
- Gebelik durumu
- İkinci laparotomide makroskopik olarak endometriozis

saptanmaması durumunda sıçanlar çalışmadan dışlandı.

Çalışmaya dahil edilen sıçanlar, kontrol ve deney grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı.

IV.Çalışma Planı

Sıçanlar tabanı ve yanları plastik, üst kısmı demir tel örgü ile kapalı standart kafeslerde yaşatıldı. 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünde, oda ısısında(24°C) ve uygun havalandırma(%60-70 nem) ile hayvanların bakımı sağlandı. Her kafese tek sıçan yerleştirildi. Hayvanların başlangıç ağırlıkları ölçülüp, kayıt edildi. Sıçanlar sevofluran ile genel anestezi ile uyutulduktan sonra sırtüstü pozisyonda sabitlendi. Ardından cerrahi saha, batın ön duvarı traşlandı ve %10'luk povidin iyot ile uygun antisepsi sağlandı. Üretral açıklığın üzerinden 3-4 cm'lik transvers insizyon ile batına girilerek operasyona başlandı. Bikornus uterusu sahip olan sıçanların, tek taraflı uterin horn 1 cm kadar eksize edildikten sonra steril salin ile yıkanıp longitudinal olarak insize edilip endometrium ortaya çıkarıldı. Elde edilen 0,5x0,5 cm'lik endometrium dokusu pelvik yan duvara, damarlanmanın fazla olduğu alana, endometrial yüzey içte kalacak şekilde, iki suture ile (4/0 vicryl) implante edildi. Takiben kas ve periton tabakası 3/0 vicryl ile suture edildi. Cilt kesisi stapler yardımı ile kapatılıp hayvanlar yaşatıldı.

IV.A. Kontrol Grubu

Endometriozis modeli oluşturulan 10 sıçana, intraperitoneal 1ml/kg/gün serum fizyolojik enjeksiyonu haftada bir gün ve operasyon günü enjeksiyonsuz olmak üzere toplamda 24 kez uygulandı. Sıçanlar 31 gün yaşatıldı.

IV.B. Deney Grubu

Endometriozis modeli oluşturulan 10 sıçana, intraperitoneal 100mg/kg/gün vitamin C (Redoxon® ampul) ve 50mg/kg/gün vitamin E (Evin® ampul) enjeksiyonu haftada bir gün ve operasyon günü enjeksiyonsuz olmak üzere toplamda 24 kez uygulandı. Sıçanlar 31 gün yaşatıldı.

Her iki grup ilk operasyondan 16 gün sonra ikinci kez opere edildi. İkinci laparotomide, endometriozisin varlığı teyit edildi ve endometriyotik odak hacimleri ölçülerek sıçanların ağırlığı ile birlikte kayıt edildi. Birinci

operasyona bağlı komplikasyon (yara yeri enfeksiyonu, cilt altı ya da batın içi abse, yara dehissensi) olup olmadığı kayıt edildi. Takiben batın stapler yardımı ile kapatılarak operasyona son verildi. Endometriozis odağı izlenmeyen sıçanlar bu aşamada çalışma dışı bırakıldı.

Her iki gruba intraperitoneal enjeksiyon uygulanmaya devam edildi.

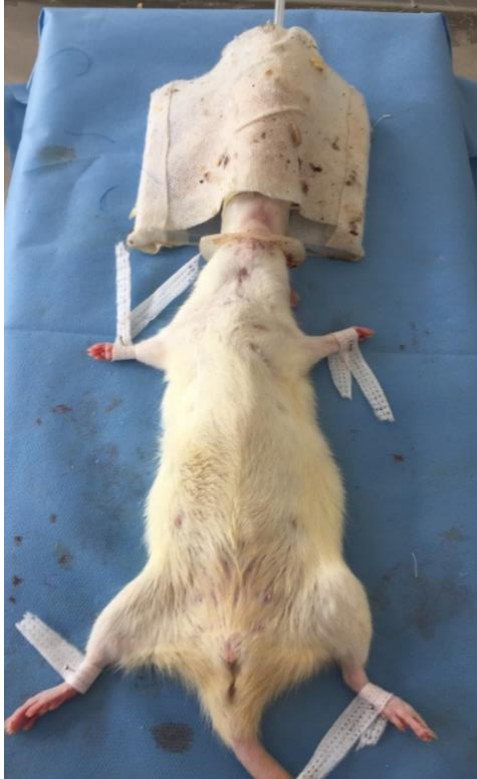
İkinci operasyondan 16 gün sonra sıçanların ağırlıkları tekrar llerek kaydedildi ve üçüncü laparotomi uygulandı. Eter anestezi altında laparotomi uygulanan sıçanlara perfüzyon fiksasyon uygulandı. Fiksatif olarak fosfat tamponuyla hazırlanan %4'lük paraformaldehit kullanıldı.

Sıçanlarda endometriotik odakların hacimleri kaydedildi takiben endometriotik odaklar çıkarıldı. Eksize edilen dokuya, aynı fiksatifte 7 gün immersiyon fiksasyon uygulandı. Fiksasyon sonrası dokular, ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal inceleme için doku takibine alındı.

Doku takibinin ardından, parafin blok haline getirilen herbir doku örneğinden mikrotom ile 5 m kalınlığında 3 seri kesit alındı. Bir kesite morfolojik değerlendirme amacıyla hematoksilen-eozin (H&E) boyaması yapıldı. Diğer 2 kesitte apoptotik aktivasyonu değerlendirmek amacıyla TUNEL boyaması yapıldı. H&E boyamada toplam gland sayısı elde edildikten sonra TUNEL boyama kesitlerinde pozitif boyanan glandlar sayıldı. TUNEL(+) boyanan glandlar, tüm gland sayısına bölünerek apoptozis yüzdesi elde edildi.



Fotoğraf 1: Deney hayvanlarının tekli kafesleri



Fotoğraf 2: Operasyona hazırlık. Dört ekstremitesi stabilize edilmiş sedasyon altındaki deney hayvanı



Fotoğraf 3: Sıçanın bikornus uterusu



Fotoğraf 4: Otolog endometrial doku implantasyonu

V.Değerlendirme Kriterleri

V.A. Ağırlık

Çalışma öncesinde tüm sıçanların ağırlıkları ölçüldü. Her iki çalışma grubundaki sıçanların ortalama ağırlığı 250 gram olacak şekilde gruplar homojenize edildi. Çalışma süresince, ikinci ve üçüncü laparotomi öncesi sıçan ağırlıkları tekrar değerlendirildi ve %10'dan fazla kilo kaybı gözlenen sıçanlar çalışma dışı bırakıldı.

V.B. Endometriotik Odak Varlığı

V.B.a. Makroskopik

Endometriozis modeli oluşturulan sıçanlara uygulanan ikinci laparotomi ile, endometrial dokunun implante edildiği alanda kistik lezyon gözlenmesi üzerine endometriotik odak varlığı makroskopik olarak verifiye edildi. Çalışmanın bu safhasında, makroskopik olarak endometriotik odak varlığı teyit edilemeyen sıçanlar çalışmadan dışlandı.

V.B.b. Mikroskopik

Üçüncü laparotomi sonrası eksize edilen, makroskopik olarak teyit edilmiş, endometriotik odak dokusundan alınan bir kesit H&E boyaması ile işlem gördükten sonra ışık mikroskopi altında değerlendirildi. Endometrial gland ve stromanın görülmesi üzerine mikroskopik olarak endometriozis varlığı kanıtlandı.

V.C. Gland-Stroma Skoru

H&E boyama yapılan kesitler, ışık mikroskopi ile x10 büyütmede değerlendirildi ve endometriotik odaktaki glandular ve stromal doku önceki çalışmalara benzer şekilde skorlandı (65).

Tablo-1: Gland-Stroma Skoru

Skor	Glandular doku sayısı	Stromal doku oranı(%)
0	Yok	Yok
1	1	<25
2	2-3	25-50
3	≥4	>50

V.D. Endometriotik Odak Hacmi

Hacim hesaplama için konvansiyonel elipsoid formül, $V(\text{mm}^3) = \pi/6 \times \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{yükseklik}(\text{mm})$ kullanıldı. Her iki grubun, ikinci ve üçüncü laparotomi sonrası endometriotik odak hacimleri hesaplandı ve gruplar karşılaştırıldı.

V.E. Hücre Hasarı

Üçüncü laparotomi sonrası eksize edilen endometriotik odak dokusundan alınan iki kesitte, apoptotik aktivasyon değerlendirildi. Bu immünohistokimyasal değerlendirme amacı ile TUNEL yöntemi kullanıldı (Merck, ApopTag® Peroxidase in situ apoptosis Detection Kit). Bu yöntemde, apoptozis varlığı, DNA dizisindeki kırılmaların in situ olarak belirlenmesi ile teyit edilir. TUNEL, terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT)-mediated dUTP nick end labeling kısaltması olarak adlandırılmaktadır. Apoptotik hücrelerde nükleer boyanma şeklinde tanımlanabilmektedir. TUNEL yöntemi uygulanan kesitler, H&E ile boyanan seri kesitlerle karşılaştırıldı. Toplam gland sayısı ile TUNEL(+) boyanan gland sayısı oranlanarak apoptozis oranı hesaplandı.

VI. İstatistiksel Analiz

Veriler medyan(minimum:maksimum) olarak ifade edildi. Deney hayvanlarının ağırlık, gland-stroma skoru, TUNEL(+)liği ve endometriotik odak hacim ölçümleri iki grup arasında Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Ölçümler arasındaki ilişkiler korelasyon analizi ile incelendi ve Spearman(r_s) korelasyon katsayısı hesaplandı. Verilerin analizi için Statistical Package for the Social Science (SPSS) 21.0 programı kullanıldı. P değerinin <0.05 olarak saptanması ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 10 kontrol grubu, 10 deney grubu olmak üzere toplam 20 adet sıçan ile başlandı. Çalışma 8 kontrol, 8 deney grubu olmak üzere toplam 16 sıçan ile tamamlandı.

Çalışmaya dahil edilen deney hayvanlarından kontrol grubu 7 no'lu sıçan, 2.laparotomiden 5 gün sonra öldü. Yapılan otopsi sonrası ölüm sebebinin batin içi adezyonlara sekonder ileus olduğu saptandı.

Kontrol grubu 8 no'lu sıçan 2.laparotomide endometriotik kistik lezyon saptanmaması nedeni ile çalışmadan dışlandı. Deney grubunda ise, 9 no'lu sıçan 2.laparotomi sonrası kistik lezyon saptanmaması, 8 no'lu sıçan ise 3.laparotomi sonrası kistik lezyon gözlenmemesi üzerine çalışma dışı bırakıldı.

Histolojik incelemede, kontrol grubu 4 ve 5, deney grubu 2,4 ve 6 numaralı deney hayvanlarında endometriotik gland ve stroma gözlenmemesi üzerine, istatistiksel analiz kontrol grubunda 6 (n=6), deney grubunda ise 5 (n=5) sıçan ile tamamlandı.

Deney hayvanlarının ağırlıkları, gland-stroma skoru, TUNEL(+)'lik yüzdesi ve ikinci ve üçüncü laparotomi sonrası endometriotik odak hacimleri kontrol ve deney grupları arası karşılaştırıldı.

Tablo-2: Kontrol ve deney grupları arası sıçan ağırlıklarının karşılaştırılması

Ağırlık(gr)	Kontrol Grubu	Deney Grubu	P değeri
Medyan	265	251	0,792
Minimum	221	236	
Maksimum	303	288	
Ortalama	264,3	259,6	

Her iki grup arası sıçan ağırlıkları arasında bir fark izlenmedi (Tablo-2). Gruplar ağırlık olarak homojen idi. Çalışma boyunca kilo kaybı nedeni ile çalışma dışı bırakılan deney hayvanı olmadı.

Gland-stroma skoru(Tablo-1), semikantitatif bir değerlendirme olup çalışmaya kör bir gözlemci tarafından skorlandı.

Endometriotik odak ölçümleri aynı kişi ve cetvel yardımı ile kayıt edildi (Fotoğraf-5,6). Hacim ise elipsoid formül kullanılarak hesaplandı.

GSS, TUNEL(+)lik yüzdesi, 2. ve 3. laparotomi sonrası endometriotik odak hacimleri kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo-3).

Tablo-3: Kontrol ve deney grupları arası GSS, TUNEL(+)lik yüzdesi, 2. ve 3.laparotomi sonrası endometriotik odak hacimlerinin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu(n=6)	Deney Grubu(n=5)	P değeri
GSS	3(2:3)	2(1:3)	0,082
TUNEL(+) %	9,25(0:16,6)	16,6(0:50)	0,537
2.L/T Hacim	213(41:1466)	78,5(18,8:179,5)	0,082
3.L/T Hacim	109,9(14,6:785,3)	73,3(39,2:109,9)	0,329

Veriler medyan(minimum:maksimum) olarak verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanların(n=11) ölçümlerinin arasındaki ilişkiler tek tek Spearman korelasyon analizi ile incelendiğinde, değişkenler arası ilişki bulunamadı (Tablo-4, Tablo-5, Tablo-6, Tablo-7, Tablo-8).

Tablo-4: Ağırlık ölçümünün korelasyon analizi

	R	P
GSS	0,397	0,227
TUNEL(+)%	-0,226	0,503
2.L/T hacim	0,014	0,968
3.L/T hacim	-0,219	0,517

Tablo-5: GSS ölçümünün korelasyon analizi

	R	P
Ağırlık	0,397	0,227
TUNEL(+)%	0	1,0
2.L/T hacim	0,422	0,196
3. L/T hacim	0,382	0,246

Tablo-6: TUNEL ölçümünün korelasyon analizi

	R	P
Ağırlık	-0,226	0,503
GSS	0	1
2.L/T hacim	-0,575	0,064
3.L/T hacim	-0,492	0,124

Tablo-7: 2.laparotomi endometriotik odak hacim ölçümünün korelasyon analizi

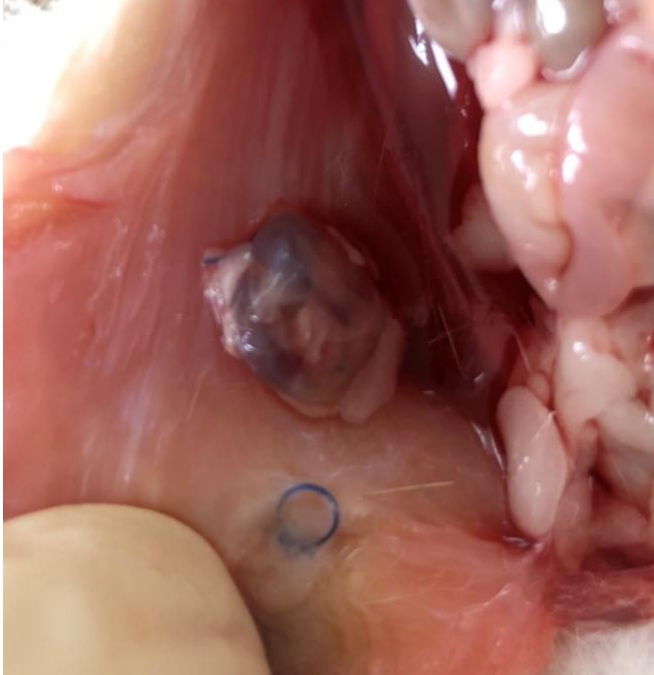
	R	P
Ağırlık	0,014	0,968
GSS	0,422	0,196
TUNEL(+)	-0,575	0,064
3.L/T hacim	0,484	0,131

Tablo-8: 3.laparotomi endometriotik odak hacim ölçümünün korelasyon analizi

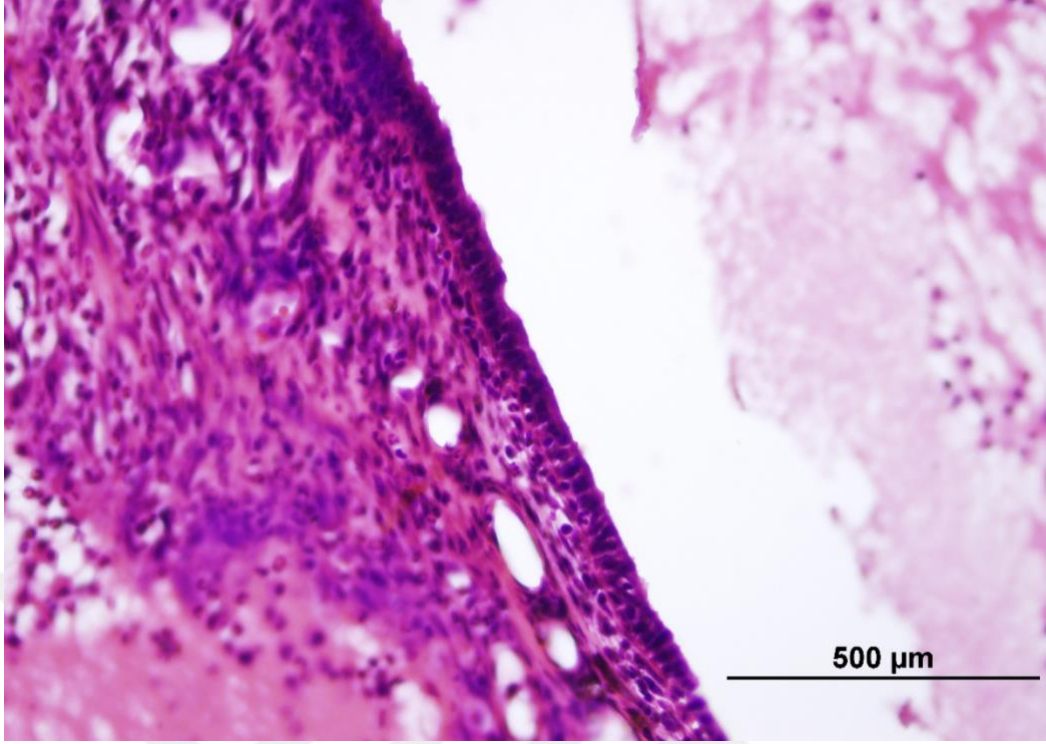
	R	P
Ağırlık	-0,219	0,517
GSS	0,382	0,246
TUNEL(+)	-0,492	0,124
2.L/T hacim	0,484	0,131



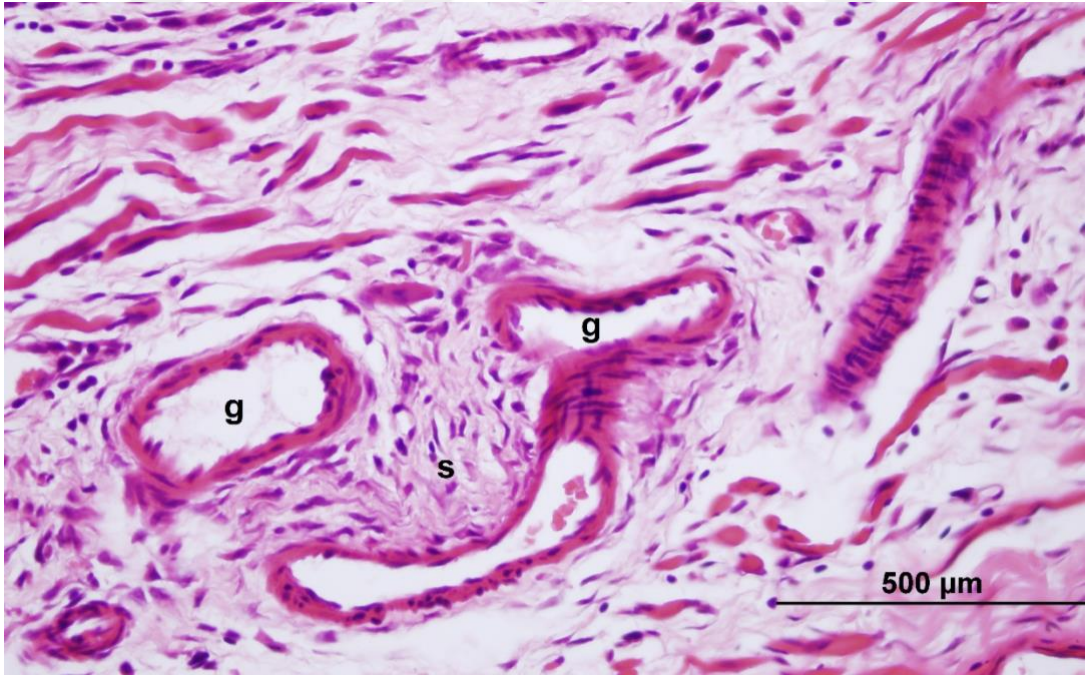
Fotoğraf 5: İkinci laparotomi sonrası deney grubundaki bir sıçanda endometriotik kistin görünümü



Fotoğraf 6: Üçüncü laparotomi sonrası kontrol grubundaki bir sıçanda endometriotik kistik görünümü

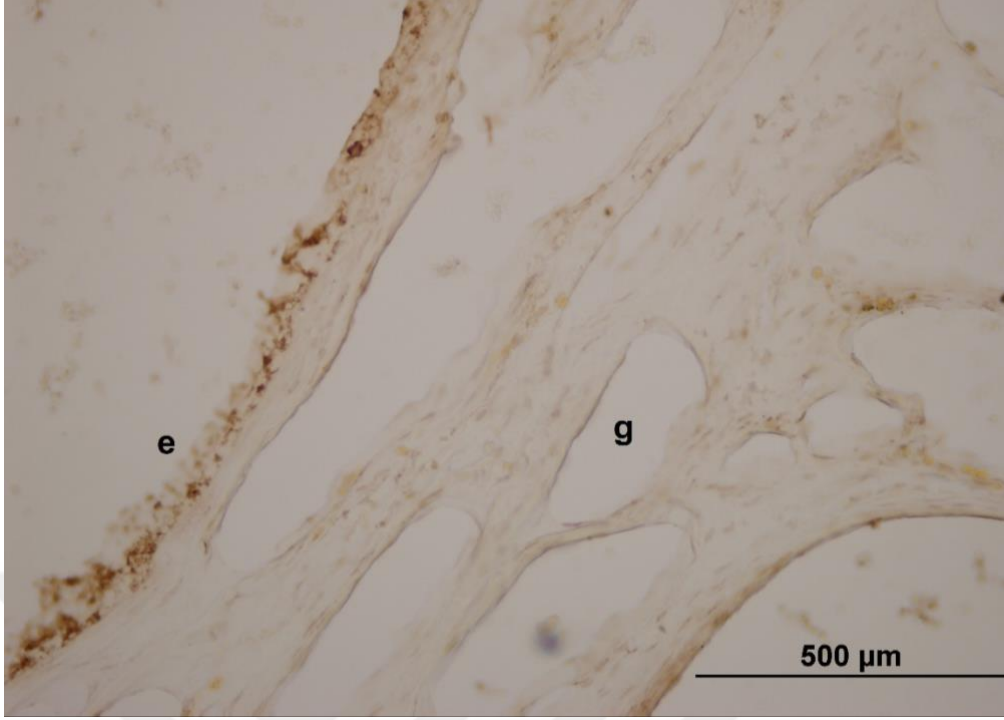


Şekil 6: Eksize edilen ektopik endometriotik dokuda H&E boyamada epitel varlığı (x40 büyütme)



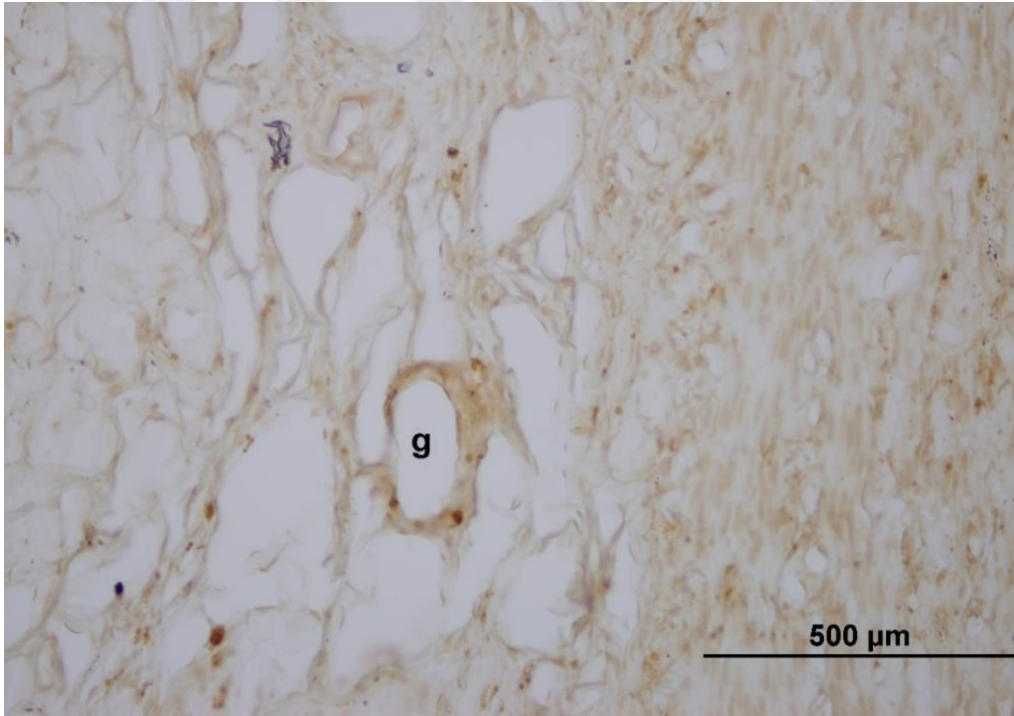
g:gland s:stoma

Şekil 7: Eksize edilen ektopik endometriotik dokuda H&E boyamada gland ve stoma (x40 büyütme)



g:gland e:epitel

Şekil 8: Eksize edilen ektopik endometriotik dokuda TUNEL boyamada (+) boyanan epitel hücreleri ve TUNEL (-) glandular doku (x40 büyüme)



g:gland

Şekil 9: Eksize edilen ektopik endometriotik dokuda TUNEL boyamada (+) boyanan glandular doku

TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometriozisin gelişimi ve devamının altında yatan mekanizmalar günümüzde hala kesin olarak aydınlatılamamıştır. Endometriozisin indüksiyonunda ve hastalığın progresyonunda proenflamatuar çevre, artmış anjiyenez, apoptozise direnç, genetik faktörler, oksidatif stres gibi birçok değişken olduğu düşünülmektedir.

Vitaminlerin antiinflamatuvar, antianjiyjenik ve antitümöral özellikleri göz önünde bulundurularak birçok çalışma yürütülmüştür.

Çalışmamız sıçan endometriozis modelinde, vitamin C ve E'nin endometriotik odak hacim ve doku DNA hasarı üzerine etkisini araştıran ilk çalışmadır. Vitamin C ve E kombinasyonunun endometriotik odak hacim ve apoptozis oranına etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Fizyolojik dozlarda vitamin C antioksidan etki göstermektedir. Farmakolojik dozlarda ise ROS oluşumuna neden olmakta ve böylelikle DNA hasarı oluşturmaktadır.

Yun ve ark.(66) çalışmasında, yüksek doz vitamin C'nin KRAS veya BRAF mutasyonu taşıyan kolon kanseri hücrelerini, selektif olarak endojen ROS'daki artış, GAPDH inhibisyonu, enerji deplesyonu sonucu öldürdüğü kanıtlanmıştır.

Durak ve ark.(67) sıçan endometriozis modelinde, vitamin C'nin oral alımının farklı dozlarda endometriotik kist volümü üzerindeki etkisini incelemiştir. 0,5 mg, 1,25 mg ve 2,5 mg'lık vitamin C deney grubu ile kontrol grubu karşılaştırılmış ve artan vitamin C dozu ile endometriotik kist volümünün anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

Xu ve ark.(68) fare endometriozis modelinde, antioksidan ve antianjiyjenik özelliği olan epigallocatechin gallate (EGCG), yalnızca antioksidan özelliği olan vitamin E ve salin enjekte edilen grupları karşılaştırmıştır. EGCG enjekte edilen grupta diğer gruplara oranla endometriotik odak boyutunda anlamlı azalma saptanmıştır. Aynı grupta, TUNEL boyama ile apoptozis oranında anlamlı fark gözlenmiş ancak vitamin E grubunda farka rastlanmamıştır.

Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT) çalışması (69), vitamin E(α -tokoferol) ve selenyum ile yürütülen geniş çaplı bir Faz 3 çalışmadır. 35 533 kişinin katılımı ile sürdürülen bu çalışmada, vitamin E grubunda prostat kanser oranlarında anlamlı olmayan bir yükseliş saptanmış, vitamin E ve selenyum grubunda ise fark gözlenmemiştir.

Vitamin E ile yürütülen çalışmaların çoğunda α -tokoferol kullanılmış olup, kanser gelişiminin önlenmesinde γ -tokoferol ve δ -tokoferolun etkilerinin de değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda, yapılan benzer çalışmaların aksine endometriotik odak hacminde, kontrol ve deney grupları arası anlamlı bir fark izlenmedi. Endometriozis modeli çalışmalarında başlangıç deney hayvanı sayıları ile istatistiksel analize dahil edilen hayvan sayıları aynı olarak raporlanmıştır. Ancak çalışmamızda, başlangıç deney hayvanı sayısı ile istatistiksel analize katılan hayvan sayısı arasında yarı yarıya fark izlendi. 20 sıçan ile başlanılan bu çalışma sadece 11 hayvan ile sonuçlandırıldı. İstatistiksel analizde gruplar arası fark gözlenmemesi, deney hayvan sayılarının kısıtlı olması ile ilişkilendirilebilir.

Sıçan ile yürütülen bu çalışmanın bir diğer limitasyonu ise, sıçanların menstruasyon döngülerinin olmaması ve spontan endometriozis gelişiminin gözlenmemesidir.

Sonuç olarak bu küçük çaplı hayvan deneyinin sonuçlarının, daha geniş kapsamlı çalışmalar ile teyit edilmesi gerekmektedir. Antioksidanların yanı sıra antianjiojenik özelliğe sahip maddeler, son zamanlarda ilgi çekici ve gündemdedir. Endometriozis etiyojisi aydınlatılamamış bir hastalık olarak daha nice çalışmaya konu olmaya adaydır.

KAYNAKLAR

- 1- Augoulea A, Alexandrou A, Creatsa M, Vrachis N, Lambrinouadaki I. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2012; 286: 99-103.
- 2- Farquhar C. Endometriosis. *The BMJ* 2007;334:249.
- 3- Nezhat C, Nezhat F, Nezhat C. Endometriosis: ancient disease, ancient treatments. *Fertility and sterility* 2012; 98: S1-62.
- 4- Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril* 2009; 92: 68-74.
- 5- Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24: 235–58.
- 6- Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod* 2014; 29: 400-12.
- 7- De Graaff AA, D'Hooghe TM, Dunselman GA, Dirksen CD, Hummelshoj L, Simoens S. The significant effect of endometriosis on physical, mental and social well-being: results from an international cross-sectional survey. *Hum Reprod* 2013; 28: 2677-85.
- 8- Missmer SA, Cramer DW. The epidemiology of endometriosis. *Obstetrics and gynecology clinics of North America* 2003; 30: 1-19.
- 9- Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *AJOG* 1927; 14: 422-69.
- 10-Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2008; 1127: 106-15.
- 11-Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2012; 98: 511-19.
- 12-Sourial S, Tempest N, Hapangama DK. Theories on the pathogenesis of endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine* 2014; article ID 179515, 9.
- 13-Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2001; 96: 21-34.
- 14-Bontis JN, Vavilis DT. Etiopathology of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1997; 816: 305-9.
- 15-Sampson J. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *Am J Pathol* 1927; 3: 93-110.

- 16-Batt RE et al. Müllerianosis. *Histology and Histopathology* 2007; 22: 1161-6.
- 17-Sinaii N, Cleary SD, Ballweg ML, Nieman LK, Stratton P. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Human Reproduction* 2002; 17: 2715-24.
- 18-Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Role of naturel killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Current Medicinal Chemistry* 2011; 18: 200-8.
- 19-Christodoulakos G, Augoulea A, Lambrinouadaki I, Sioulas V, Creatsas G. Pathogenesis of endometriosis: the role of defective "immunosurveillance". *European Journal of Contraception and Reproductive Health Care* 2007; 12: 194-202.
- 20-Barbosa CP, Bentes De Souza AM, Bianco B, Christofolini DM. The effect of hormones on endometriosis development. *Minerva Ginecologica* 2011; 63: 375-86.
- 21-Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshiba H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2002; 83: 149-55.
- 22-Zeitoun K et al. Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4474-80.
- 23-Noble LS et al. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 600-6.
- 24-Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2897-902.
- 25-Simpson JL, Elias S, Malinak LR, Buttram VC Jr. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137: 327-31.
- 26-Albertsen HM, Chettier R, Farrington P, Ward K. Genome-wide association study link novel loci to endometriosis. *PLOS ONE* 2013; 8: 58257.
- 27-May KE, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers. *Human Reproduction Update* 2011; 17: 637-53.
- 28-Sato N, Tsunoda H, Nishida M et al. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor supressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carsinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res* 2000; 60: 7052-6.
- 29-Armstrong BK et al. Diet and reproductive hormones: a study of vegetarian and nonvegetarian postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67:761-7.

- 30-Yap C, Furness S, Farquhar C. Pre and post operative medical therapy for endometriosis surgery (review). *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 3: CD003678.
- 31-Scutiero G, Iannone P, Bernardi G et al. Oxidative stress and endometriosis: a systematic review of the literature. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017; article ID 7265238, 7.
- 32-Langendonck AV, Casanas-Roux F, Donnez J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertility and Sterility* 2002; 77: 861-70.
- 33-Nnooaham KE, Webster P, Kumbang J, Kennedy SH, Zondervon KT. Is early age at menarche a risk factor for endometriosis? A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Fertil Steril* 2012; 98: 702-12.
- 34-Peterson CM, Johnstone EB, Hammoud AO et al. Risk factors associated with endometriosis: importance of study population for characterizing disease in the ENDO study. *AJOG* 2013; 208: 451.
- 35-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.
- 36-Hediger ML, Hartnett HJ, Louis GM. Association of endometriosis with body size and figure. *Fertility and sterility* 2005; 84: 1366-74.
- 37-Cramer DW et al. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking, and exercise. *JAMA*. 1986; 255: 1904-8.
- 38-Advincula A, Truong M, Lobo RA. Endometriosis. In: *Comprehensive Gynecology*. Seventh Edition. Philadelphia: Elsevier; 2017. 423-42.
- 39-Bruner-Tran KL, Herington JL, Duleba AJ, Taylor HS, Osteen KG. Medical management of endometriosis: emerging evidence linking inflammation to disease pathophysiology. *Minerva Ginecologica* 2013; 65: 199-213.
- 40-Mehedintu C, Plotogea MN, Ionescu S, Antonovici M. Endometriosis still a challenge. *Journal of Medicine and Life* 2014; 7: 349-57.
- 41-Harada T. Dysmenorrhea and Endometriosis in Young Women. *Yonago Acta Medica* 2013; 56: 81-4.
- 42-Agarwal N, Subramanian A. Endometriosis-Morphology, Clinical Presentations and Molecular Pathology. *Journal of Laboratory Physicians* 2010; 2: 1-9.
- 43-Heitmann RJ, Langan KL, Huang RR, Chow GE, Burney RO. Premenstrual spotting of ≥ 2 days is strongly associated with histologically confirmed endometriosis in women with infertility. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211: 358.
- 44-Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and Infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2010; 27: 441-47.
- 45-Tanto T, Fedorcsak P. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017; 96: 659-67.
- 46-Riazi H, Tehranian N, Ziaei S et al. Clinical diagnosis of pelvic endometriosis: a scoping review. *BMC Womens Health* 2015; 15: 39.

- 47-Moss EL, Hollingworth J, Reynolds TM. The role of CA125 in clinical practice. *Journal of Clinical Pathology* 2005; 58: 308-12.
- 48-Exacoustos C, Meanganaro L, Zugli E. Imaging for the evaluation of endometriosis and adenomyosis. *Best practice & research clinical obstetrics & gynaecology* 2014; 28: 655-81.
- 49-Hoyos LR, Johnson S, Puscheck E. Endometriosis and Imaging. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2017; 60: 503-16.
- 50-Mettler L et al. Accuracy of laparoscopic diagnosis of endometriosis. *Journal of the society of laparoendoscopic surgeons* 2003; 7: 15-8.
- 51-Brown J, Pan A, Hart RJ. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010; 12: CD008475.
- 52-Vercellini P, Somigliana E, Vigano P, Abbiati A, Barbara G, Crosignani PG. Endometriosis: current therapies and new pharmacological developments. *Drugs* 2009; 69: 649-75.
- 53-Neto JS et al. Cellular, histologic and molecular changes associated with endometriosis and ovarian cancer. *Journal of minimally invasive gynecology* 2014; 21: 55-63.
- 54-Iwabuchi T, Yoshimoto C, Shigetomi H, Kobayashi H. Oxidative stress and antioxidant defense in endometriosis and its malignant transformation. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2015; 8:48597, 7.
- 55-Kobayashi H. Potential scenarios leading to ovarian cancer arising from endometriosis. *Redox report* 2016; 21: 119-26.
- 56-Turgut A, Özler A, Görük NY, Tunc SY, Evliyaoglu O, Gül T. Copper, ceruloplasmin and oxidative stress in patients with advanced-stage endometriosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17:1472-8.
- 57-Koekkoek WAC, von Zanten ARH. Antioxidant vitamins and trace elements in critical illness. *Nutrition in clinical practice* 2016; 31: 457-74.
- 58-Getoff N. Vitamin C: electron emission, free radicals and biological versatility. *International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research* 2013; 27: 567-70.
- 59-Fritz H et al. Intravenous vitamin C and cancer: a systematic review. *Integrative cancer therapies* 2014; 13: 280-300.
- 60-Cordenas E, Ghosh R. Vitamin E: a dark horse at the crossroad of cancer management. *Biochemical Pharmacology* 2013; 86: 845-52.
- 61-Yang CS, Suh N, Kong AT. Does vitamin E prevent or promote cancer? *Cancer prevention research* 2012; 5: 701-5.
- 62-Yetkin G, Uludağ M, Citgez B et al. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E and human amniotic membrane. *International Journal of Surgery* 2009; 7:561-65.
- 63-King CM, Barbara C, Prentice A, Brenton JD, Charnok-Jones DS. Models of endometriosis and their utility in studying progression to ovarian clear cell carcinoma. *The Journal of Pathology* 2016; 238: 185-96.
- 64-Grümmer R. Animal models in endometriosis research. *Human Reproduction Update* 2006; 12: 641-9.

- 65-Pınar N, Soylu Karapınar O, Özcan O, Özgür T, Bayraktar S. Effect of alpha-lipoic acid on endometrial implants in an experimental rat model. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 2017; 31: 506-12.
- 66-Yun J, Mullarky E, Bosch KN et al. Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH. *Science* 2015; 350: 1391-6.
- 67-Durak Y, Kokcu A, Kefeli M, Bildircin D, Çelik H, Alper T. Effect of vitamin C on the growth of experimentally induced endometriotic cysts. *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2013; 39: 1253-8.
- 68-Xu H, Lui WT, Chu CY et al. Anti-angiogenic effects of green tea catechin on an experimental endometriosis mouse model. *Human Reproduction* 2009; 24: 608-18.
- 69-Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers-The selenium and vitamin E cancer prevention trial(SELECT). *JAMA* 2009; 301: 39-51.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince hiçbir zaman desteklerini, ilgi, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen başta tez danışmanım Prof. Dr. Hakan Ozan olmak üzere hocalarım Prof. Dr. Gürkan Uncu, Doç. Dr. Kemal Özerkan ve Doç. Dr. Bilge Çetinkaya Demir'e, sabırla eğitimime destek veren uzmanlarım Uzm. Dr. Adnan Orhan ve Uzm. Dr. Işıl Kasapoğlu'na, keyifle çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, gerek klinik gerek ameliyathanede çalışma fırsatı bulduğum tüm hemşire, ebe ve personele teşekkürü bir borç bilirim.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda çalışmaya başladığım ilk günden itibaren mesleki ve manevi desteğini hep hissettiğim, üzerimde sayısız emeği olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gürkan Uncu'ya ayrıca teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamada değerli bilgileri ile katkı sağlayan Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Berrin Avcı'ya, araştırmanın başından itibaren emeğini ve ilgisini eksik etmeyen Aysun Özbay'a, destekleri için asistan arkadaşlarım Dr. Ayşenur Kaya, Dr. Ebru Süer'e, göstermiş olduğu özen ve yardımlarından dolayı Vet. Hek. Faruk Küçük yıldız'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca bana destek olan, bugünlere gelmemde büyük emeği geçen başta örnek aldığım, meslektaşım, canım annem Op. Dr. Şükran Cebiroğlu'na, neşesi ve sevgisi eksik olmayan abim Cihan Cebiroğlu olmak üzere tüm aileme ve her konuda desteğini ve sevgisini hissettiğim Doç. Dr. Berk Canberk'e teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İstanbul'da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi V.K.V Koç Özel İlköğretim Okulu ve Lisesi'nde tamamladım. 2013 yılında Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 11 ay Siirt Pervari'de mecburi hizmet yaptıktan sonra 2014'te Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen eğitimime devam etmekteyim.

