



T.C.

**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE BEVACİZUMAB (Anti-VEGF)
KULLANIMININ ENDOMETRİOTİK LEZYONLARIN VOLÜMÜ,
HİSTOPATOLOJİK SKORLARI ve PERİTON SIVISI/DOKU VEGF DÜZEYLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Özge KIZILKALE YILDIRIM

UZMANLIK TEZİ

ANABİLİM DALI BAŞKANI: PROF. DR. CEM FIÇICIOĞLU

İSTANBUL 2014 TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. RUKSET ATTAR

Dr. Özge KIZILKALE YILDIRIM

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. RUKSET ATTAR

İSTANBUL 2014

İÇİNDEKİLER

Beyan.....	4
Etik Kurul Onayı.....	5
Teşekkür.....	7
Kısaltma Listesi.....	9
Özet.....	11
Abstract.....	13
Giriş.....	15
Genel Bilgiler.....	16
Tanım	16
Patogenez Teorileri.....	18
Epidemiyoloji ve Etyolojik Faktörler.....	19
Klinik Prezantasyon.....	22
Tanı.....	24
Tedavi.....	25
Vaskülogenez ve anjiogenez.....	32
VEGF.....	32
Anti-VEGF mekanizmalar.....	36
Materyal ve Metod.....	38
Çalışma Dizaynı.....	40
İlk Operasyon: Endometriozis İmplantasyonu.....	41
İkinci Operasyon: Endometriozis Odak Oluşumunun Değerlendirilmesi... ..	42
Üçüncü Operasyon: Tedavi Etkinliğinin Değerlendirilmesi.....	43
Dördüncü Operasyon: Rekürrens Durumunun Değerlendirilmesi.....	43
Volüm Analizleri.....	43
Histopatolojik Analizler.....	44
Biyokimyasal Analiz.....	44
İstatistiksel Analizler.....	46
Bulgular.....	47
Grupların Birbirleriyle Karşılaştırılması.....	48
Grupların Kendi içinde Karşılaştırılması.....	54
Tartışma.....	58
Kaynaklar.....	68

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için referans gösterdiğimi ve bu referansları listelediğimi, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bu tezin yayınlanması konusundaki tasarruf hakkı üniversiteye aittir ve yayınlanması için izin gerekmektedir. Yine bu tezden yazarının izni olmadan fotokopi ile çoğaltma Yapılamayacağı ve tezden ancak referans vermek kaydıyla alıntı yapılabileceği unutulmamalıdır.

Dr. Özge KIZILKALE YILDIRIM

ETİK KURUL ONAYI



T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU (YÜDHEK)

ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
19.02.2013	317	04.02.2013 tarihli yazı	Doç. Dr. Rukset Attar

<p>'Rat Endometriozis Modelinde Cerrahi Olarak Ortaya Çıkarılmış olan Endometriotik Odaklar Üzerinde Anti-VEGF (Avastin) Kullanımının Etkileri' başlıklı bilimsel araştırma Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.</p>
Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1Yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	KATILMADI
Raportör	Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Başar ATALAY	
Üye	Yrd.Doç.Dr.Soner DOĞAN	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ	
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	
Üye	Sumru KİRAZCI	

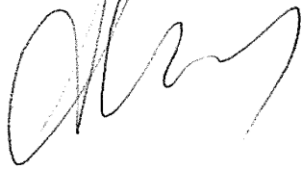
TEZ DEĞERLENDİRME TUTANAĞI

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim/Bilim Dalı ana dal/~~yan dalında~~ gerekli uzmanlık süresini ve rotasyonlarını tamamlayan uzmanlık öğrencisi, Dr. ÖZGE KIZILKALE YILDIRIM'ın "Deneysel Rat Endometriozis Modelinde Bevacizumab (Anti-VEGF) Kullanımının Endometriotik Lezyonların Volümü, Histopatolojik Skorları ve Periton Sıvısı/Doku VEGF Düzeyleri Üzerine Etkisi" konulu tezi 01/03/2014 tarihinde Jürimiz tarafından değerlendirilmiş ve '**bilime katkı sağlayan orijinal bir çalışma olduğu, tez yazım kurallarına uygun yazıldığı ve aday tarafından başarılı bir şekilde savunulduğu**' için başarılı bulunmuştur.

Uzmanlık Eğitimi Bitirme Sınavı'na girmesi uygun görülmüş olup, bu tutanak düzenlenerek imza altına alınmıştır. 15/03/2014

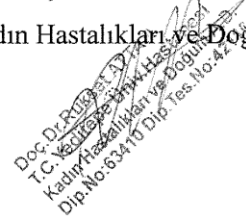
Üye

Doç. Dr. Aslı Somunkıran İş
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.



Üye

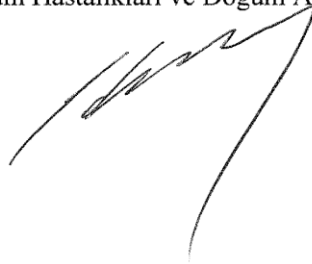
Doç. Dr. Rukset Attar
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.



Doç. Dr. Rukset Attar
T.C. Yeditepe Univ. Hesp. Fak.
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.
Dip. No: 83210 Dip. Tes. No: 42

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Cem FİÇİCİOĞLU
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D. Başkanı



TEŞEKKÜR

Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında 2010-2014 yılları arasında uzmanlık eğitimi aldığım süreçte mesleki bilgi ve görgümün gelişmesinde emeği geçen sayın hocalarım Prof. Dr. Cem Fıçıcıoğlu, Doç. Dr. Rukset Attar, Doç. Dr. Gazi Yıldırım, Doç. Dr. Oluş Api, Doç. Dr. Aslı Somunkıran İş, Doç. Dr. Celalettin Narter Yeşildağlar ve Öğr. Gör. Dr. Pınar Özcan'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri, arkadaşça yaklaşımıyla bana destek veren, eğitim ve öğrenimimiz için sürekli mücadele eden bölüm başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Cem Fıçıcıoğlu'na,

Deneyisel operasyonlarda aktif olarak rol alan, cerrahi becerimin gelişmesinde yardımcı olan ve manevi anlamda her zaman yanımda hissettiğim tez danışmanım sevgili hocam Doç. Dr. Rukset Attar'a,

İhtisas eğitimim süresince eğitim şevkini asla kaybetmeyen, klinik ve akademik anlamda birçok şeyi kendilerinden öğrendiğim sevgili hocalarım Doç. Dr. Oluş Api ve Doç. Dr. Aslı Somunkıran İş'e,

Tezimin yazım aşamasında ve istatistik hesaplamalar sırasında tecrübeleriyle bana yol gösteren, sahip olduğu yeteneği ve güçlü kişiliğiyle mesleki özgüvenimi kazanmamda yardımcı olan, endoskopik cerrahiyi hepimize sevdiren sevgili hocam, değerli eşim Doç. Dr. Gazi Yıldırım'a,

Her türlü bilimsel çalışma esnasında ve hayatın kendisinde dürüstlüğün en büyük ilke olduğunu bana öğreten Doç. Dr. Celalettin Narter Yeşildağlar'a,

Tüm bu zamanlarda bana karşı gösterdiği sabır, anlayış ve eşsiz dostluğu için çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dr. Mert Yeşiladalı'ya,

Yeditepe Üniversitesi Deneysel Tanı ve Araştırma Merkezi adına bize her türlü olanağı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Bayram Yılmaz'a,

Histopatoloji skorlarının incelenmesinde zaman ayırıp bana birebir öğreterek yardımcı olan Prof. Dr. Ferda Özkan'a, ölçüm ve analizlerde yardımcı olan Özgür Albayrak'a, operasyonlar arasında hayvanların sağlığıyla yakından ilgilenen, laboratuvarı etkili kullanmama yardımcı olan veteriner hekim Engin Sümer, Selim Doğan ve Uğur Akdaş'a,

Asistanlık sürecinde var oldukları için kendimi şanslı hissettiğim kıdemlilerim Op. Dr. Nilüfer Çetinkaya Kocadal, Op. Dr. Yücel İnan, Op. Dr. Canan Yılmaz Torun ve asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Mert Yeşiladalı ve Arş. Dr. İlke Baran Karaçiftçi'ye,

Eğitimimiz süresince sıkıntıları birlikte paylaştığımız tüm hemşire, laboratuvar ve yardımcı sağlık personeline,

Bugüne gelene kadar yokluğuma sürekli katlanmak zorunda kalan canım anne ve babama,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Mart 2014

Ataşehir, İstanbul

Dr. Özge KIZILKALE YILDIRIM

KISALTMA LİSTESİ

ASRM :	American Society for Reproductive Medicine
BPA:	Bisfenol-A
CA 125:	Cancer Antigen 125
COX-2:	Cyclooxygenase type 2
DIE:	Derin İnfiltratif Endometriozis
DMPA:	Depo Medroksi Progesteron Asetat
D2	Dopamin 2 Resptörü
DNA:	Deoxyribonucleic Asid
E2:	Estradiol
ER:	Östrojen Reseptörü
FDA:	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FSH:	Folicle Stimulation Hormone
FGF:	Fibroblast Growth Factor
GALT:	Galaktoz 1-fostat üridil transferaz
GnRH:	Gonadotropin Releasing Hormon
HE:	Hemotoxylen- Eosin
ICAM:	Hücre İçi Adezyon Molekülü
IGF:	Insüllin Like Growth Factor
IL-1	Interlökin 1
IL-6	Interlökin 1
kDA:	Kilo Dalton
LXA4:	Lipoxin A4
LNG-IUD:	Levanorgestrel İçeren Rahim İçi Araç
LH:	Luteinization Hormone
MPA	Medroksi Progesteron Asetat
MR:	Magnetik Resonance
NSAIDs	Non Steroid Anti İnflamatuar Drugs
PGE2:	Prostaglandin E2
RNA:	Ribonucleic Acid

SCID:	Severe combined immunodeficiency
SEM :	Standart Error of Mean
SF-1	Steroidogenic factor 1
SOD:	Superoxide Dismutase
SPRM:	Selective Progesteron Reseptor Modulators
StAR:	Steroidogenic Acute Regulatory Protein
TNF:	Tumor Necrosis Factor
U/ml:	Unite/mililitre
VEGF:	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR:	Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor
YÜDETAM:	Yeditepe Üniversitesi Deneysel Tanı ve Araştırma Merkezi

ÖZET

DeneySEL Rat Endometriozis Modelinde Bevacizumab (Anti-VEGF) Kullanımının Endometriyotik Lezyonların Volümü, Histopatolojik Skorları ve Periton Sıvısı/Doku VEGF Düzeyleri Üzerine Etkisi

Amaç: Anti-VEGF ajanlarından biri olan Bevacizumab'ın rat endometriozis modelinde cerrahi olarak oluşturulan endometriyotik odakların volüm, histopatolojik skor ve tedavi öncesi ve tedavi sonrası batin yıkantı sıvılarındaki ve solid endometriozis dokusundaki VEGF düzeylerine olan etkisini araştırmak.

Materyal ve Metod: On altı adet Spraque-Dawley albino rat çalışmada kullanıldı. Her rat toplam dört adet operasyon geçirdi. Birinci operasyonda homolog uterin boynuz ototransplantasyonu ile 4 adet endometriyotik odak indüksiyonu yapıldı. Cerrahi indüksiyon sonrası endometriyotik odakların oluşturulabilmesi için haftada iki kez yüksek dozda östrojen (50 µg/kg) subkütan olarak verildi. Ondört gün (2 hafta) sonunda ratlara ikinci operasyonları yapıldı ve endometriyotik odakların durumu incelendi. Odaklardan biri eksize edilip alındı. Periton yıkantı sıvısı alındı. Bu operasyon sonrasında ratlar 2 gruba randomize edildi. İlk gruba bir sonraki operasyona kadar 3 günde bir (21 gün/3hafta) 5mg/kg/gün (operasyondan 3 gün sonra başlatıldı ve toplam 4 doz yapıldı.) intraperitoneal yoldan Bevacizumab uygulandı. Kontrol grubuna 3 hafta herhangi bir medikasyon yapılmadı. Üçüncü operasyon tedavi amaçlı verilen Bevacizumab'ın endometriyotik odaklar üzerindeki etkisini görmek amacıyla yapıldı. Bu operasyonun ardından tedavi kesildi ve ratlar sadece östrojen tedavisi altında 21 gün daha izlendikten sonra anestezi altında dekapitasyon işlemi yapılarak (nekropsi, 4. operasyon) endometriyotik odakların Bevacizumab tedavisi kesildikten sonraki rekürrens durumları kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma süresinde rat kaybı yaşanmadı. Tedavi sırasında ratlarda toksik ilaç etkisi görülmedi. Bevacizumab grubu kendi içinde lezyonların ortalama volümleri açısından

dönemlere göre değerlendirildiğinde, tedavi öncesi $122.6 \pm 24.4 \text{ mm}^3$ olan ortalama volüm, Bevacizumab tedavisi sonrası $20.6 \pm 6.3 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı. Aynı şekilde rekürrens sırasında ortalama volüm $10.4 \pm 5.2 \text{ mm}^3$ olarak kaydedildi ($p=0.001$). Bevacizumab grubu kendi içinde lezyonların histopatolojik skorları açısından dönemlere göre değerlendirildiğinde, tedavi öncesi skor 2.8 ± 0.1 iken, tedavi sonrası 2.3 ± 0.1 ve rekürrens zamanı 0.5 ± 0.3 olarak saptandı ($p=0.01$). Kontrol grubunda ortalama volümlerin ve histopatolojik skorların arasında dönemselsel olarak bir fark olmadığı görüldü. Bevacizumab grubunda tedavi öncesi periton yıkantı sıvısındaki VEGF düzeyi $4.8 \pm 1.2 \text{ pg/ml}$ iken tedavi sonrası dönemde $18.6 \pm 4.7 \text{ pg/ml}$ olarak bulundu ($p=0.02$). Tedavi öncesi dokudaki ortalama VEGF düzeyi $47.0 \pm 5.1 \text{ pg/ml}$ iken tedavi sonrası dönemde bu düzey 34.5 ± 4.1 olarak hesaplandı ($p=0.03$). Kontrol grubunda VEGF düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı.

Tartışma: Endometriozisin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Altında yatan patofizyolojik mekanizma ne olursa olsun endometriotik lezyonların gelişmesindeki anahtar rolü anjiogenez üstlenir. Anjiogenez, mevcut olan bir damardan köken alan yeni damar formasyonunu içeren kompleks bir durumdur. Endometrioziste güçlü bir anjiogenik faktör olan VEGF artar. Bevacizumab bir rekombinant insan monoklonal antikordur ve VEGF'yi inhibe eder. Çalışmamızda Bevacizumab grubunda volümün ve skorların özellikle rekürrens dönemlerinde anlamlı olarak azaldığını saptadık.

Sonuç: Endometriozisin kesin bir tedavisi yoktur. Hem medikal tedaviler hem de cerrahi sonrası nüks yüksek oranda gözlenir. Bevacizumab gibi güçlü anti-anjiogenik ilaçlar nüksün önlenmesi için yeni ufuklar açabilir.

Anahtar Kelimeler: Endometriyozis, Rat, VEGF, Anti-VEGF, Bevacizumab

ABSTRACT

The Effect Of Bevacizumab (Anti-VEGF) on Volumes and Histopathological Scores of Endometriotic Lesions and VEGF Levels in Peritoneal Fluid and Tissue Samples in The Experimental Rat Endometriosis Model

Objective: To investigate the effect of Bevacizumab, which is one of the anti-VEGF agents, on surgically created endometriotic foci volume, histopathologic scores and VEGF levels in the peritoneal fluid and tissue samples in the rat endometriosis model.

Materials and Methods: Sixteen Sprague-Dawley albino rats were used in the experiment. Each of them has undergone four operations. Four endometriotic foci induction with homologous uterine horn autotransplantation was performed in the first operation. High doses of estrogen twice a week (50 mg / kg) was given subcutaneously to create the endometriotic foci after the surgical induction. After fourteen days (two weeks) the second operation was performed and the endometriotic foci were examined. One of the endometriotic foci was excised. Peritoneal fluid cytology was taken. After the second operation the rats were randomised in to two groups. The first group was administered 5 mg/kg Bevacizumab in every 3 days for 21 days (3 weeks) until the third operation. The control group had no medication for 3 weeks. The purpose of the third operation was to evaluate the therapeutic effect of Bevacizumab in the endometriotic foci. Following this operation the treatment has ceased and the rats were observed under estrogen administration for 21 days. The rats were sacrificed under general anesthesia (necropsy, fourth operation) and recurrence status was compared with the control group.

Results: None of the rats were lost and no toxic drug effects were seen in rats during experiment. The average volume of lesions in the bevacizumab group and its terms were evaluated according to the period, before treatment the mean volume was 122.6 ± 24.4 mm³ and after bevacizumab treatment was calculated as 20.6 ± 6.3 mm³. Likewise, the mean

volume during recurrences were recorded as $10.4 \pm 5.2 \text{ mm}^3$ ($p = 0.001$). Histopathological lesions in the bevacizumab group and their scores were evaluated according to terms of the period, while pre-treatment and post-treatment scores were 2.8 ± 0.1 , 2.3 ± 0.1 subsequently, 0.5 ± 0.3 was calculated at recurrence time ($p = 0.01$). No difference was observed in the average volumes and histopathological scores in the control group. In the bevacizumab group before the treatment the VEGF level was $4.8 \pm 1.2 \text{ pg/ml}$ in the peritoneal fluid. It was found $18.6 \pm 4.7 \text{ pg/ml}$ after the treatment ($p=0.02$). Before the treatment the average VEGF level in the tissue was calculated $47.0 \pm 5.1 \text{ pg/ml}$, this level in the post-treatment period was calculated as 34.5 ± 4.1 ($p=0.03$). No significant differences were found in VEGF levels of the control group.

Discussion: The pathophysiology of endometriosis remains unclear. Whatever the underlying pathophysiological mechanisms, angiogenesis assumes the key role in the development of endometriotic lesions. Angiogenesis is a complex condition that includes the formation of new blood vessels originating from an existing vessel. VEGF is a potent angiogenic factor which increases endometriosis. Bevacizumab is a recombinant human monoclonal antibody that inhibits VEGF. In our study the volumes and the scores were observed significantly decreased in the bevacizumab group especially in the recurrence period.

Result: Endometriosis doesn't have a definitive therapy. Both following surgical and medical therapies, high recurrence rate is observed. Potent anti-angiogenic drugs such as bevacizumab for the prevention of relapse may open new horizons.

Key words: Endometriosis, Rat, VEGF, Anti-VEGF, Bevacizumab

GİRİŞ

Endometriozis endometrial gland ve stromanın uterin kavite dışında fonksiyon gördüğü klinik ve patolojik bir durum olup ilk kez Von Rokitansky tarafından 1860 yılında tanımlanmıştır (1). 1921 yılında John Sampson çikolata kisti olarak tanımladığı bir seri perfore hemorajik kisti ve over üzerindeki lezyonları endometriozis olarak isimlendirmiştir (1). Yüz yılı aşkın bir süredir tanınmasına rağmen endometriyozis patogenezi konusunda hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Etik sorunlar nedeniyle geniş populasyon örneklerinde çalışma yapılamaması, etiyolojik neden-sonuç ilişkilerinin araştırılabilmesindeki zorluklar, endometriyozis gelişimine ve progresyonuna etki edebileceği düşünülen ilaçların klinik çalışmalar öncesinde tetkik edilmesi gerekliliği gibi sebepler nedeniyle hayvan çalışmaları günümüzde endometriyozis patogenezinin anlaşılmasında sıkça kullanılmaktadır (2). Kemirgenler, maliyetlerinin düşük olması, kolay üretilmesi, bakımlarının nispeten daha kolay olması, denek sayısının artırılabilmesi ve oluşturulan lezyonların genetik olarak benzer özelliklerin gözlemlendiği bireylerde yapılabilmesi nedeniyle primatlara göre daha sık tercih edilmektedirler (2).

Endometriozisin etyopatogenezin hakkında yapılan çalışmalarda inflamatuvar süreç, ekstraselüler matriks invazyonu ve anjiogenezin hastalığın gelişmesinde önemli olduğu, endometriotik odaklarda anjiogenezin arttığı gösterilmiştir (3,4). Bu nedenle anjiogenezi inhibe eden ajanlar üzerinde durulmaktadır.

Bir monoklonal antikor olan Bevacizumab'ın VEGF inhibisyonu yaparak anjiogenezi azaltacağı ve buna bağlı olarak endometriotik lezyonları gerileteceği düşüncesiyle bu çalışma dizayn edilmiştir.

GENEL BİLGİLER

ENDOMETRİOZİS

Tanım

Endometriozis üreme çağındaki kadınların yaklaşık %10'unu etkileyen kronik progresif bir hastalıktır. Bu oran infertil ya da kronik pelvik ağrısı olan kadın grubunda %30-50'ye kadar çıkabilir (5).


Endometriozis ileri derecede pelvik distorsiyona ve organ disfonksiyonuna bağlı dismenore, disparoni ve infertilite gibi problemlere yol açabilen benign karakterli, östrojen bağımlı kronik progresif bir hastalıktır. Histopatolojik olarak endometriyozis hastalığı uterus endometriyal dokunun sıklıkla pelvik periton, overler, rektovajinal septum, çevre barsak dokusu gibi ekstrasuterin pelvik alanda ya da beyin dokusu, perikardium, akciğer, göz, cilt altı dokusu gibi vücudun ekstrapelvik her hangi bir bölgesinde bulunmasıyla karakterizedir.

Endometriozis için en sık bildirilen risk faktörleri ile ilgili parametreler menstrüel ve reproduktif faktörler ile ilişkilidir. Erken menarş, kısa menstrüel siklus uzunluğu, uzamış kanama süresi, yoğun menstrüel volüm veya kanama ve azalmış parite gibi menstürasyon kanamasına artmış maruziyet durumlarında, endometriozis gelişme riskinin arttığı bildirilmiştir (6,7,8).

Endometriozis ile vücut kitle indeksi arasında zayıf olmakla birlikte ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir (9,10). Bu bulgu artmış anovulatuvar sikluslarla, düzensiz menstrüel siklus ve androjen metabolizmasındaki anormallikler ile ilgili olabilir.

Endometriozis minimal, hafif, orta ve ciddi olarak sınıflandırılır (**Şekil 1**). Minimal evre endometriyozisde yüzeysel peritoneal ya da over implantları, nadir ince adezyonlar

görülebilirken, ciddi endometriyozisde douglas obliterasyonu, endometriyomalar ve yoğun adezyonlar görülmektedir (11).



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
 Stage IV (Severe) - >40

Total _____ Prognosis _____

PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	< 1 cm	1-3 cm	> 3 cm
		Superficial	1	2
	Deep	2	4	6
OVARY	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
POSTERIOR CUL-DE-SAC OBLITERATION		Partial 4	Complete 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
Dense		4*	8*	16
L Filmy		1	2	4
Dense		4*	8*	16

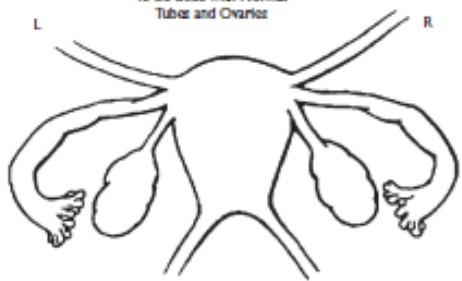
* If the fimbriated end of the Fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16

Denote appearance of superficial implant types as red ([R], red, red-pink, fimbriae, vesicular blebs, 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%.

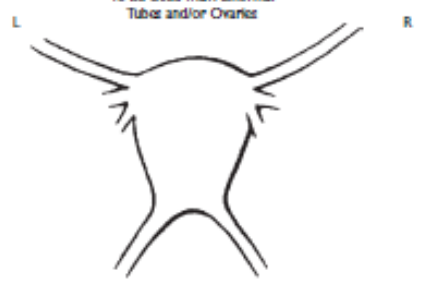
Additional Endometriosis: _____

Associated Pathology: _____

To Be Used with Normal Tubes and Ovaries



To Be Used with Abnormal Tubes and/or Ovaries



Şekil 1. Endometriyozis Evreleri (ASRM Sınıflaması)

PATOGENEZ TEORİLERİ

Endometriozisin patogenezi açıklamak için indüksiyon teorisi, çöломik metaplazi teorisi ve embriyonik kalıntı teorisi öne sürölmüştür (12). Bu teorilerin hiçbirini tam olarak dışlanamamış olup ortak etyolojiden kaynaklanıp kaynaklanmadığı bilinmemektedir.

İmplantasyon Teorisi

Sampson'un implantasyon teorisi, endometriotik lezyonların fallop tüplerinden reflüye uğrayan endometrium dokusunun periton yüzeyi ve pelvik organlara implante olduğunu savunur. İmplantasyon teorisini destekleyen kanıtlar; menstrüel kan ve periton sıvısından canlı hücreler elde edilmesi, endometrium hücrelerinin peritonda büyüebilmesi, retrograd menstrüasyonun hemen hemen bütün kadınlarda görülmesi, menstrüel kan akımını engelleyen tıkanıklıkların endometriozis ile ilişkili olması ve dokuların transtübül, lenfatik, hematolojik ve iyatrojenik yayılımı olmasıdır (13). Retrograd menstrüasyon bu kadar sık görülürken neden bütün kadınlarda endometriozis görülmediği farklı düşüncelerle açıklanmaya çalışılmıştır. Örneğin endometriozis görölen kadınlarda retrograd akımla peritoneal alana ulaşan endometriyal hücre sayılarının daha fazla olabileceği, endometriyal hücrelerin implantasyona daha yatkın olabileceği ya da endometriyal hücre implantasyonuna karşı immunolojik mekanizmalarda yetersizliğin rolü olabileceği düşünülmüştür (14).

Metaplazi ve İndüksiyon Teorisi

Metaplazi normal bir dokunun bir diğeri normal dokuya dönüşmesi anlamına gelir. Meyer tarafından 1919 yılında öne sürölen çöлом epiteli metaplazisi puberte öncesinde, menopoz döneminde ve kanser tedavisi nedeniyle östrojen kullanımına bağılı olarak ortaya çıkan nadir endometriozis olgularını açıklamaya yöneliktir (15). Metaplazi teorisini destekleyen kanıtlar; peritoneal hastalıkta pelvik mezotelin metaplazik potansiyeli, over endometriozisi (korteksin invajinasyonu ve çöломik epitelin metaplazisi), rektovajinal nodüller (müllerian kalıntılarının endometrial bezlere metaplazisi ve peritoneal endometriozis ile douglas cebinin sekonder

infiltrasyonu) 'dir (16). Çöлом epiteli teorisi endometriozisin özel durumlar dışında sadece kadınlarda olduğunu, pelviste ve üretken dönemde daha sık görülmesini açıklayamamaktadır. İndüksiyon teorisi, çöломik metaplazi teorisinin genişletilmiş bir formu olup bu teoride peritoneal kaviteye ulaşmış endometriyal doku debrislerinin salgıladıkları faktörlerle ya da endojen, biyokimyasal ya da immunolojik uyarıcıların farklılaşmamış periton hücrelerini metaplaziye uğrattığı savunulmaktadır (17).

Halban Teorisi

Küretaj gibi cerrahi bir müdahalede endometriyal hücrelerin bazal lenfovasküler damar sistemine giriş yapabileceği düşünülmektedir. Endometriyotik hücrelerin lenfovasküler yollarla sistemik metastazları uzak organlarda endometriyotik odak varlığını açıklayabilmektedir (14).

ENDOMETRİOZİS OLUŞUMUNA NEDEN OLAN FAKTÖRLER

Hormonal Faktörler

Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Endometriozis gelişiminden sorumlu östrojen sadece over ve adrenalenden kaynaklanan östrojen değildir. Yapılan çalışmalarda endometriotik dokularda yüksek miktarda östrojen üretildiği gösterilmiştir (18,19,20,21,22,23). Östrojen üretimine yol açan StAR (steroidogenic acute regulatory protein) proteini kolesterolün mitokondri içine girmesini kolaylaştırır (24). Aromataz ise steroid sentezinin son basamağını katalize eder. Endometrioziste aromataz hem ötopik hem ektopik endometrial dokularda stromal hücrelerde üretilmektedir. SF-1 gibi normal endometriumda bulunmayan ancak endometriozisli hastaların endometrium ve endometriotik dokularında aromataz sentezinde rol oynayan transkripsiyon faktörleri mevcuttur (25). SF-1 aromataz ve StAR olmak üzere steroidogenezden sorumlu genleri PGE₂ ve cAMP bağımlı olarak harekete geçirmektedir (18). Östrojen üretimi ile endometriozisteki inflamasyon steroid üretiminden sorumlu StAR, aromataz ve COX-2 ekspresyonunu, lokal östradiol ve PGE₂ üretimini içine alan bir döngü sonucunda gerçekleşmektedir (26).

İmmunolojik Faktörler

Endometriyozis hastalarında peritoneal makrofaj hücrelerinin fagositik aktivitelerinde azalma, ancak sitokin salınımında artma, peritoneal Naturel Killer hücrelerinde aktivitelerinde azalma, disfonksiyonel B ve T lenfosit sayısında artış, endometrial antijenlere karşı T hücre cevabında azalma dikkat çekmektedir. B hücrelerinde ve otoantikordlarda artış görülmektedir (27).

Genetik

Birinci derece akrabalarda endometriyozis varlığı endometriyozis riskini yaklaşık 6-7 kat kadar artırmaktadır (28,29). Geçişin Mendelyen kalıtım sergilemediği, multifaktöryel olduğu düşünülmüştür (30). Galaktoz 1-fostat üridil transferaz (GALT) geni, faz 1 detoksifikasyon genleri (Ah reseptör, CYP1A1, N-asetil transferaz 1), faz 2 detoksifikasyon genleri (glutasyon-S transferaz, N-asetil transferaz 2), steroid ilişkili genler (östrojen reseptör aromataz (CYP29)), hücre içi adezyon genleri (ICAM-1), anjiyogenik faktörler, sitokinler ve kemokinlerle ilgili genler bunlar arasında sayılabilir (31,32,33). Endometriozis gelişiminde tümör supresör genler ve DNA hatalarını onaran heterozigot yapı kayıplarının da rolü olabilir (34).

Çevresel Faktörler

Bisfenol-A (BPA) plastik ve birçok reçinede kullanılan hormonal aktif bir kimyasal olup yiyecek ve içecek kaplarında gösterilmiştir. Musluk sularında olası kontaminasyon ve çok çeşitli vücut sıvılarında mevcudiyeti bildirilmiştir (35). BPA'nın olası etkilerinin ER tarafından olmadığı öne sürülmüştür çünkü BPA'nın östrojenik etkisi E₂'ninkinden daha azdır. BPA maruziyetini takiben gelişen genital sistem değişikliklerinde ise, gelişen organizmanın çevresel östrojenlere karşı hassasiyetinden dolayı in utero BPA maruziyeti sonuçlarının ER üzerinden olduğu yönündedir (36).

Dioksin maruziyeti ve endometriozis ile ilişkili ilk raporlar maymunlarda gösterilmiştir (37). İnsanların karşılaştığı dioksin ve dioksin benzeri ürünlerin konsantrasyonları maymunlarda yapay olarak oluşturulan ve spontan endometriozis gelişimine neden olan dozu geçerse de eşittir (38). Endometriozis gelişimi ile dioksin ve dioksin benzeri maddelere maruz kalma arasındaki olası ilişkinin neden olduğu kaygı, Belçika'da infertil olan kadınlar arasındaki yüksek endometriozis insidansı ve anne sütü dahil birçok üründe yüksek oranda dioksin konsantrasyonlarının gösterilmesi ile artmıştır (39). Endometriozis çalışmalarında dioksinlerin rolü olduğunu destekleyen çalışmalar olduğu gibi desteklemeyen çalışmalar da vardır (40). Endometrioziste beslenme şeklinin ilişkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Yüksek oranda yeşil sebze tüketilmesi ve taze meyve tüketimi ile endometriozis riskinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Buna karşılık kırmızı et tüketimi ile artmış risk bulunmuştur (41,42)

EPİDEMİYOLOJİ VE ETYOLOJİK FAKTÖRLER

Endometriotik implantların büyümesi ve sebat etmesiovaryen steroidlerin varlığına bağlıdır. Sonuç olarak endometriozis 25-35 yaş arası içeren aktif reproduktif periyod sırasında oluşur. (43). Östrojen almayan postmenopozal kadınlarda ve pre-menarş dönemdeki kızlarda çok nadirdir (44-46). Endometriozisin genel popülasyondaki prevalansı bilinmemektedir. Asemptomatik hastalar ve non-spesifik semptomlar nedeniyle prevalansı belirlemek zordur.

Pelvik organların vizualizasyonu ile belirlenen tahmini prevalans (47-49) değerleri:

1. Herhangi bir jinekolojik endikasyonla major cerrahiye girecek olan hastaların %1'inde,
2. Tubal sterilizasyon yapılan kadınların %1-7'sinde
3. Pelvik ağrı nedeniyle laparoskopi yapılacak olan kadınların %12-32'sinde
4. İnfertilite nedeniyle laparoskopi yapılacak kadınların %9-50'sinde, geçmişte infertilite şikayeti olmuş olan kadınların ise %6,7'sinde
5. Kronik pelvik ağrı, dismenore şikayetleriyle laparoskopi yapılacak olan adolesanların %50'sinde endometriozis görülmektedir.

Multipl doğum yapmış olmak, uzamış laktasyon intervalleri, geç menarş (14 yaşından sonra) endometriozis görülme riskini azaltmaktadır (50), bunun yanında nulliparite, erken menarş, geç menopoz, kısa menstrüel sikluslar, uzamış menstürasyon süresi ve müllerian anomaliler hastalık riskini arttırmaktadır (51). Endometriozis uzun, ince yapılı düşük beden kitle indeksi olan kişilerde daha sık görülme eğilimindedir (52). Hispanik ve siyahi kadınlarda, beyazlara ve asyalılara göre görülme ihtimali daha düşüktür. Endometriozisli kadınlarda etkilenmemişlere göre kızıl saç, çiller, güneşe karşı deri hassasiyeti ve displastik nevüs daha sık görülür (53,54). Önemli bir epidemiyolojik faktör olarak sigara içiciliği, antiöstrojenik etkisi nedeniyle endometriozis oluşumunu azaltmaktadır (13).

KLİNİK PREZENTASYON

Endometriozisin klasik semptomları; dismenore, pelvik ağrı, disparoni ve/veya infertilite olmakla beraber barsak ve mesane semptomları da eşlik edebilir. Hastalar tek bir semptom ya da semptomların kombinasyonu ile de başvurabilirler. Bunun yanında hastalar asemptomatik olup herhangi bir endikasyonla cerrahi yapılan hastalarda endometriotik lezyonların görülmesi ya da herhangi bir nedenle görüntüleme tetkiki istenen hastada endometriomanın görülmesiyle insidental olarak ta görülebilir.

Geniş bir seride (940 hasta) semptomatik hastaların 3/4'ünde dismenore ve pelvik ağrı görülmüştür (55). Değişik tip semptomların görülme sıklığı; dismenore %79, pelvik ağrı %69, disparoni %45, konstriksiyon diyare gibi barsak huzursuzluğu %36, barsak ağrısı %29, infertilite %26, ovaryen kitle %20, disüri %10 ve diğer üriner şikayetler%6 şeklindedir. Endometriozisle ilişkili diğer semptomlar anormal uterin kanama, aşağı sırt ağrısı ya kronik yorgunluktur (55,56). Endometriozisin çoğu semptomu farklı hastalıklarla (pelvik enflamatuvar hastalık, irritabl kolon sendromu, interstisyel sistit) kesiştiğinden tanıda gecikme olabilir (57,58).

Dismenore ve pelvik ağrı

Endometriozise bağlı dismenore künt ya da pelvik kramplarla karakterize, tipik olarak menstrüasyondan 1 ya da 2 gün önce başlayan ve menstrüasyon boyunca devam eden ve bazen bitiminden sonra birkaç gün daha devam edebilen bir ağrıdır. Ağrı süreci ve karakteri dismenoreye sebep olabilecek diğer jinekolojik problemlerle (uterin fibroidler, adenomyozis) aynıdır. Menarş başlangıcı ile başlayan primer dismenorenin aksine endometriozise bağlı dismenore menarş başlangıcından yıllar sonra başlama eğilimindedir. Bunun yanında endometriozis adolesanlarda da görülebilir. Endometriozisteki pelvik ağrı tipik olarak kroniktir. Ağrı keskin, künt, tek bir yerden fokal başlayan ya da diffuz olabilir.

Endometriozisin evresiyle semptomların şiddeti korele değildir (59,60,61). Bu paradoks ağrının implantların volümlerinden çok lokal peritoneal inflamasyona bağlı olması hipoteziyle açıklanabilir.

Disparoni

Endometriozis bağlı disparoni tipik olarak derin endometriozisin bulgusudur. Ağrı vajen giriminde yüzeysel bir ağrı olmaktan ziyade derin penetrasyon sırasında hissedilen hassasiyettir. Şiddetli derin disparoni ve ağrılı defekasyon rektovajinal septumun ve posterior cul de sac tutulumuyla karakterize derin infiltratif hastalık bulgusudur.

Mesane ya da barsak semptomları

Üriner trakt endometriozisi asemptomatik olabileceği gibi menstrüasyon sırasında idrara çıkma sıklığında artışa, miksiyon sırasında suprapubik ağrıya ya üriner retansiyona neden olabilir (62). Üreteral endometriozis asemptomatik ya da kolik ağrı ve aşık hematüriyle semptomatik olabilir. Endometriozise bağlı barsak semptomları diyare, konstipasyon, zor ve ağrılı defekasyon ve barsak kramplarını içerir (63,64). Derin infiltratif endometriozis tipik

olarak dispareni ve ağrılı defekasyonu içerir (65,66). Rektal kanama da oluşabilir ancak nadirdir.

İnfertilite

İnfertilite, endometriozisli hastaların 1/4'ünde semptom olarak izlenmektedir (55). Endometriyozis ileri derecede pelvik distorsiyona yol açabilmesi nedeniyle, adnekslerde konglomerasyon, tubal tıkanıklıklar ve hidrosalpenks, overde destüriktif endometrioma varlığı gibi sebeplerden ötürü infertiliteye sebep olmaktadır. İnfertil kadınların %25-50'sinde endometriozis görülmektedir. Benzer bir şekilde endometriozisi olan kadınların %30-35'i ise infertildir. İnfertilite nedeni olarak anatomik distorsiyon yanında, periton sıvısındaki sitokinler, prostoglandinler ve inflamatuvar hücre yanıtı gösterilmektedir.

TANI

Semptomatik olgularda detaylı bir anamnez ve fizik muayene tanı için ilk basamaktır. Vajinal muayenede douglas veya uterosakral ligamanda lokalize hassasiyet, rektovajinal septumda palpasyonla hassas nodül varlığı; uterusun palpasyonla ağrılı olması; hassas, büyümüş adneksiyel kitle varlığı; uterus veya adneksin fiksasyonu gibi bulgular edinilebilir. Ultrasonografik olarak overe lokalize endometriyozis (endometriyoma) hemoraji nedeniyle tipik heterojen görüntüsü ile dikkat çekmektedir. Obez ve güç muayene edilen vakalarda MR görüntüleme gerekli olmaktadır. Endometriyozis olgularının önemli bir kısmında CA 125 tümör belirtecinin artmış olduğu görülmektedir. Ancak bütün bu tetkikler ileri evre endometriyozisi olan kadınlarda tanıya yardımcı olmaktadır.

Minimal ya da hafif endometriyozisi olup adneksiyel kitlesi izlenmeyen olgularda sadece semptom varlığı hastalığı düşündürtebilir. Bu nedenle endometriyozisin kesin tanısı cerrahi olarak (laparoskopi/laparotomi) lezyonların görülmesi ve alınan biyopsilerde histopatolojik olarak endometriyal doku varlığının gösterilmesiyle konur.

TEDAVİ

Endometriozis 3 şekilde presente olabilir: Pelvik ağrı, infertilite ve pelvik kitle. Tedavinin amacı bu semptomları yok etmektir. Endometriozise bağlı pelvik ağrının yönetiminde ya da gelecekteki fertilitenin sağlanmasında herhangi bir medikal tedavinin diğerine üstünlüğünü gösterecek kaliteli bir kanıt yoktur. Bununla birlikte seçilen tedavi yöntemi semptomların ağırlığına, lezyonların lokalizasyonuna, gebelik istemine, hastanın yaşına, seçilen yöntemin yan etkilerine, maddi tutarına ve cerrahi komplikasyon oranına bağlı olarak bireyselleştirilmiştir.

MEDİKAL TEDAVİ

Pelvik ağrı çeken ve şüphelenilen endometriozisi olan kadınlara laparoskopi ile kesin tanı almadan önce ampirik medikal tedavi uygulanabilir (67,68,69). Genellikle hafif pelvik ağrısı olan kadınlara kombine oral kontraseptifler ve analjezikler önerilir, orta şiddetli yüksek şiddetli pelvik ağrı çeken kadınlara GnRH agonistleri önerilir. Medikal tedavinin avantajları; cerrahi sırasında pelvik organ yaralanması ve post operatif adhezyon formasyonundan korunma ve cerrahi sırasında görüntülenemeyen implantların tedavi edilmesidir. Dezavantajları ile medikal tedavinin yan etkileri, devam edilmediği takdirde yüksek rekürrens riski, var olan adezyonlara ve endometriomalara etki göstermemesi, infertilite üzerinde etkisinin olmamasıdır (49,50,51). Bunun yanında şüphelenilen endometriozisi olan ve ileri derece hastalık ya da infertilite varlığında cerrahi seçeneği daha uygundur.

Analjezikler

Gözlemsel çalışmalarda analjeziklerin ağrı üzerine etkisi minimal gösterilmiştir (49). NSAID sıklıkla kullanılan bir ajan olmasına rağmen endometriozise bağlı ağrı yönetiminde diğer ajanlara üstünlüklerini gösteren yüksek kalite data mevcut değildir (53). NSAID kullanımının avantajları kolay ulaşılabilirliği, ucuz ve kabul edilebilir yan etkilerinin olması ve primer dismenorede etkili tedavi olduklarını gösteren randomize kontrollü çalışmalar olmasıdır.

Östrojen-progesteron içeren oral kontraseptifler

Östrojen ve progesteron içeren oral kontraseptifler minimal ya da hafif ağrı şikayeti olan kontrasepsiyon isteyen kadınlar için iyi seçimdir. Çalışmalarda oral kontraseptiflerin kullanımının dismenoreyi azalttığı gösterilmiştir (54). Oral kontraseptiflerin hastalığın ilerlemesini durduğu söylenmektedir. Teröpatik mekanizma desidualizasyon ve takip eden ektopik +ötopik endometrial dokudaki atrofidir. Siklik, devamlı ya da trisiklik rejimlerden hangisinin daha etkili olduğu bilinmemektedir (49). Monofazik haplar yeterli de olabilir, endometriozise bağlı ağrı tedavisinde trifazik hapların daha etkisi olduğuna ait kanıt yoktur.

Başlangıç medikal tedavide başarısızlık

Üç ya da altı ay oral kontraseptik kullanımından sonra ağrı düzeyinde yeterli azalma olmayan erken evre hastalıklı kadınlara hormonal tedavi önerilir. Ovaryen steroidler hastalığın gelişimini indüklediğinden amaç hastanın östrojen/progesteron değerlerini azaltmaktır. Bu hipotez gebelik ve menopoz gibi ovaryen hormon konsantrasyonlarında azalma ile karakterize fizyolojik durumlarda pelvik ağrıda azalma gözlenmesinden ortaya çıkarılmıştır. Oral kontraseptifler haricinde endometrioziste sık kullanılan diğer ilaçlar GnRH agonistleri, danazol ve progestinlerdir. Sadece progestinler ya da östrojenle kombine progestinler gebeliği taklit ederken GnRH analogları ve danazol psödomenopoz durumu oluştururlar.

GnRH Agonistleri

Endometriozise bağlı orta dereceden ağır dereceye ağrı şikayeti tedavisinde GnRH agonistlerinin kullanımı önerilmektedir. Randomize çalışmalarda GnRH agonistlerinin plasebodan daha etkili olduğu, ağrının giderilmesi ve endometriotik implantların küçültülmesinde diğer medikal tedaviler kadar etkili olduğu gösterilmiştir (70). Add-back terapi ile yan etkiler progestin ve danazole göre daha iyi tolere edilmektedir. Diğer medikal tedavilere benzer olarak, GnRH agonistleri fertilitiyi arttırmaz.

GnRH agonistleri günlük nazal sprey şeklinde her gün ya da intramuskuler 1-3 ayda bir enjeksiyon şeklinde uygulanabilir. Genellikle GnRH tedavisi başlangıçta 6 ay devam ettirilir. Bir randomize kontrollü çalışmada, endometriozisin histolojik ve cerrahi tanısı olmadan ve NSAID ve oral kontraseptiflere cevap vermeyen kronik pelvik ağrının diğer sebepleri anamnez, fizik muayene ve laboratuvar testleriyle dışlandığında GnRH ile ampirik tedavi makul bir seçenektir (71).

Progestinler

Progestinler, önce desidualizasyona sonra atrofiye neden olarak endometriotik doku büyümesini inhibe ederler. Ayrıca pituitar gonadotropin sekresyonunu ve ovaryen hormon üretimini inhibe ederler. Randomize çalışmalar ve prospektif gözlemsel çalışmalarda sadece progestinler uygun dozlarda endometriozise bağlı pelvik ağrı tedavisinde kadınların %80'inde komplet ya da parsiyel olarak ağrının geçmesi ile etkili izlenmiştir (72,73,74,75). 274 endometriozis tanısı almış hastayı içeren multisentrik çalışmada leuprolid 11.25 mg ve DMPA-SC intramuskuler 6 aylık uygulanarak karşılaştırılmış ve DMPA kullanımı dismenore, disparoni, pelvik ağrı ve hassasiyette belirgin azalma ile beraber GnRH agonisti kullanımıyla karşılaştırılabilir etki düzeyinde olduğu gösterilmiştir (76).

Yüksek doz oral progestin tedavisinde GnRH agonist tedavisinde olduğu gibi kemik resorpsiyonu görüldüğüne dair kanıt yoktur. Hatta 5 mg/gün noretindron add-back tedavisinin GnRH agonist tedavisi ile oluşan kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir. Progestinlerin ayrıca danazol gibi lipidler üzerine zararlı etkisi mevcut değildir. Buna ek olarak, yüksek doz progesteron rejimleri GnRH agonistlerinden daha ucuzdur. Fakat birçok kadın kilo alımı, düzensiz kanama ve depresyon gibi mood değişiklikleri nedeniyle progestinleri tolere edemeyebilir.

Progestin tedavisinin birçok seçeneği vardır. Tercih, ilacın yan etkilerine, hastanın tercihinine ve kontrasepsiyon isteği olup olmamasına bağlıdır. Oral **medroksiprogesteron asetat** (MPA) (günde 3 kez 10 mg, maksimum günlük doz 100 mg) ya da **noretindron asetat** (5 mg günlük

ve ağrı sebat ettikçe her 2 haftada bir 2.5 mg arttırılacak, günlük maksimum doz 15 mg, bunun yanında birçok hasta 5-10 mg da amenoreik hale gelebilmektedir) kullanılabilir. Tedavi 6 ay devam ettirilir (72,73).**Depo medroksiprogesteron asetat** (DMPA) her 3 ayda 150 mg'lık tek enjeksiyon şeklinde yapılır. Bu tedavi randomize kontrollü çalışmalarda leuprolide ya da danazol kadar etkili bulunmuştur (80). Yan etkileri düzensiz menstrüel kanama, bulantı, memelerde hassasiyet, sıvı retansiyonu ve depresyondur.

Levanorgestrel içeren rahim içi araç (LNG-IUD) 'nin endometrioziste postoperatif kullanımı birçok randomize çalışmada değerlendirilmiştir (81,82,83,84,85,86). LNG-IUD, cerrahiye takiben ağrının rekürrensini önlemede GnRH agonist kullanımına eşit ya da daha az efektif izlenmiştir (84,85). LNG-IUD diğer hormonal methodlarla kıyaslandığında daha az yan etkiye sahiptir.

Küçük bir gözlemsel çalışmada ve bir randomize kontrollü çalışmada **etonogestrel subdermal implant** endometriozise bağlı ağrıların azaltılmasında efektif bulunmuştur (85,86). Teröpatik etki ve yan etki profili DMPA ile karşılaştırılabilir düzeydedir (86). Ağrı 6 ay sonra %50 azalmıştır ve sonrasında etkisi 12 ay sürmektedir.253 kadını içeren bir randomize kontrollü çalışmada dienogest ve leuprolide asetatın etkileri karşılaştırılmış ve dienogest 2 mg/kg günlük kullanımının endometirozise bağlı semptomları leuprolide asetat kadar geriletği gösterilmiştir. Aynı zamanda dienogest te sıcak basması, kemik mineral dansitesinde azalma gibi yan etkiler daha az izlenmiştir (87).

Progesteron Antagonistleri ve Selektif Progesteron Reseptör Modülatörleri

Progesteron Antagonistleri ve Selektif Progesteron Reseptör Modülatörleri (SPRM) endometriozis tedavisinde pilot çalışmalarda başarıyla kullanılmışlardır (88). Bu ajanların kullanımı diğer dokularda östrojen etkisini inhibe etmeden endometrial hücrelerin büyümesini suprese etmektedir. Bunun yanında progesteron antagonistlerinin kronik kullanımı endometriumda kistik glanduler dilatasyon denilen endometrial hiperplazi benzeri histolojik değişiklikler meydana getirebilir (89).

Danazol

Danazol, hafif ya da orta derecedeki hastalığın implantlarının çözülmesinde etkilidir ve hastaların %80'den fazlası 2 aylık tedavi sonrası ağrı semptomlarında azalma tarif etmişlerdir. Randomize bir çalışmada danazol ve plasebo gruplarının karşılaştırılmasında endometriozise bağlı ağrı semptomlarında danazol ile tedavi edilenlerde belirgin azalma saptanmıştır (90). Ağrı skorlarındaki bu iyilik hali danazol tedavisi bırakıldıktan sonra 6 ay daha devam etmiştir. Danazol progesteron bezeri etkilere sahip bir 19-nortestosteron derivativesidir. Mekanizmaları, pituiter gonadotropin sekresyonunun inhibisyonu, endometrik implant büyümesinin direk inhibisyonu, östrojen üretiminden sorumlu ovaryen enzimlerin direk inhibisyonudur. Danazol günlük 400-800 mg oral dozda genellikle 6 ay boyunca verilir.

Çoğu kadında danazolün yan etkileri doz bağımlı görülmektedir ve hastaların küçük bir kısmı tedaviye bu yüzden devam edemez. Kilo alımı, kas krampları, meme boyutlarında azalma, akne, hirsutizm, yağlı cilt, azalmış HDL düzeyi, artmış karaciğer enzimleri, sıcak basmaları, mood değişiklikleri ve depresyon bilinen yan etkileri arasındadır. Danazolün androjenik yan etkileri dozu azaltmadan tedavi edilemez.

Aromataz inhibitörleri

Endometriozise yönelik geleneksel hormonal müdahaleler östrojen üretimini ya da östrojen aktivitesini antagonize etmeyi hedef almaktadır. Endometriozise bağlı pelvik ağrı tedavisinde onaylanmamasına rağmen, aromataz inhibitörlerinin kullanımı yeni, umut verici bir yaklaşımdır (91). Bu ajanlar endometriotik lezyonların kendisindeki lokal östrojen formasyonunu regüle eder, buna ek olarak overde, beyin ve periferde (yağ dokusu gibi) östrojen üretimini inhibe eder (91). Endometriotik dokuda, prostoglandin E₂ androjenlerin östrojene dönüşmesi ile sonuçlanan aromataz aktivitesini ve overekspresyonunu stimüle eder. Östrojen, sırasıyla prostoglandin E₂ formasyonunu indükler böylece lezyon içerisinde pozitif feedback siklusu kurar (92). Aromataz inhibitörlerinin endometriozis tedavisindeki yeri bu döngüyü kırmaktır. Yapılan birçok çalışmanın derlemesinde aromataz inhibitörleri GnRH

agonistleriyle karşılaştırıldığında ağrıyı belirgin şekilde azaltmaktadır (93). Hastalar aromataz inhibitörlerine farklı yanıt verirler (94). En sık kullanılan 2 aromataz inhibitörü anastrozol 1mg/gün ya da letrozol 2,5 mg/gün'dür. Aromataz inhibitörlerinin uzamış kullanımda belirgin kemik kaybı yaptığı dikkate alınmalı, premenopozal kadınlarda tek başına kullanılmamalıdır çünkü FSH salınımını indükler ve multifoliküler kist gelişimine sebep olabilir. Eğer bu ajanlar endometriozise bağlı ağrı tedavisinde kullanılırsa, folikül gelişimini suprese etmek için GnRH agonistleriyle ya da oral östrojen-progesteron kombinasyonlarıyla birlikte reçete edilmelidir. Letrozolün yan etki profilinin geniş olduğu unutulmamalıdır (95).

CERRAHİ TEDAVİ

Endometriozisin cerrahi tedavi endikasyonları şunlardır:

- Çok ağır, sakatlayıcı ya da akut (endometrioma rüptürü ya da torsiyonu ile birlikte) semptomlar
- Medikal tedavi ile çözülememiş, daha da ağırlaşmış semptomlar
- İlerlemiş hastalığın varlığı (ör: pelvik organların anatomik distorsiyonu, endometriotik kist, barsakların ya da üriner traktın obstrüksiyonu)
- Hastanın hormonal ya da cerrahi dışı tedavilere isteksizliği
- Malignansi şüphesi olan adneksiyal kitleler

Konservatif Cerrahi

Konservatif cerrahi mümkün olduğunda uterusu ve ovaryen dokuları koruyabildiği kadar korumaya çalışır. Laparoskopik yaklaşımların kısa hospitalizasyon süresi ve daha geniş bir görüntü alanı sağlaması gibi laparotomiye üstün yanları mevcuttur (96). Üreter, mesane, uterin arter ve basrak gibi önemli yapıları içine alan şiddetli adhezyonlar söz konusu olduğunda laparotomi gerekebilir. Laparoskopik endometriozis ablasyonu, rezeksiyonu ya da

adhezyolizis yapılan hastaların çoğunda semptomlarda rahatlama izlenir (97). Fakat bunun yanında 10 yıllık takipte lezyonların rekürrens ihtimali %40 kadar yüksektir (99). Ayrıca hastaların %20'sine ilk 2 yılda ek cerrahi işlem gerekebilir (99).

Peritoneal, ovaryen ve derin rektovajinal endometriyozisin cerrahi tedavi yaklaşımları birbirlerinden farklılık göstermektedir. Peritoneal endometriyozis varlığında cerrahi olarak eksizyon ya da ablasyon yapılmasının fertilité üzerine olumlu etkisi olabileceğini savunan yayınlar bulunmaktadır. Tanısal laparoskopi sırasında hafif ya da orta derecede endometriyozis varlığı görüldüğünde cerrahi rezeksiyon uygulanması önerilmektedir. Endometriyoma varlığında ise tek başına medikal tedavi ile kist yok edilememektedir. Medikal tedavi sonrası rezidü kisti olan olgularda cerrahi uygulanarak endometriyotik doku çıkartılmalıdır. Üç cm'den büyük olan endometriyomalarda aspirasyon sonrası kistektomi uygun görülmektedir (100). İnfertil olgularda cerrahi tedavi birincil basamaktır. Kistektomi yapılırken sağlam over dokusuna zarar verilmemelidir. Kanama kontrolü için yoğun koagülasyonun gerekebileceği durumlarda over rezervini olumsuz etkilememek için kistin hilusa uzanan cidarı keskin diseksiyonlar ile eksize edildikten sonra kist cidarının koagülasyonu tercih edilebilen bir yöntemdir. Kist duvarının eksize edildiği olgularda; tekrar operasyon gerekliliğinin düşük olduğu, ağrı ve subfertilité gibi durumların daha etkili gerilediği ve gebelik oranlarının daha fazla olduğu bildirilmiştir (101). Rektovajinal derin endometriyozis tedavisinde ise fibrotik nodüler odakların arka vajen, rektum, arka serviks ve uterosakral ligamentlerden eksize edilmesi gerekmektedir (100).

Kesin Cerrahi Tedavi

Kesin cerrahi fallop tüpleri ve overlerle beraber ya da tek başına histerektomidir. Konservatif cerrahi ve medikal tedaviyi takiben geçmeyen şiddetli semptomlar varlığında, yine şiddetli semptomlar varlığında ve gelecekte fertilité isteği yoksa, eşlik eden pelvik patoloji varlığında definitif cerrahi tedavi tercih edilir. Genç kadınlarda menopoza semptomların ortaya çıkmaması için overler korunabilir ancak overlerin endometriozisle ileri derecede harap olduğu durumlarda ya da hasta menopoza yaklaşmış ise overler de alınabilir (102).

VASKÜLOGENEZ VE ANJİOGENEZ

Damar gelişimi iki farklı şekilde meydana gelir:

1. Vaskülogenez, embryoda endotel hücre öncüllerinin farklılaşması ile oluşur.
2. Anjogenez ise daha önce oluşmuş yeni damarların gelişimiyle karakterize oldukça karmaşık bir süreçtir.

Anjiogenezi uyaran ve inhibe eden faktörler anjiogenezin değişik aşamalarında etkilidirler. Anjiogenezi uyaran faktörleri içinde son yıllarda en çok üstünde durulan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü'dür (VEGF).

Ayrıca anjiogenezi uyaran faktörler içinde hem anjiogenik etki gösteren hem de damar geçirgenliğini arttıran tek faktör VEGF'dir (103).

VEGF

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), 6. kromozomun kısa koluna (6p12) yerleşim gösteren, 45 kDA (kilo dalton), heparin bağlayan bir büyüme faktörüdür (104). Dokularda mitojenik etkisi sayesinde anjiogenezi uyarabilmekte ve vasküler geçirgenliği arttırabilmektedir. VEGF anjiogenezin hem normal hem de patolojik süreçlerinde yer alır.

Endometriozis implantları tümör benzeri bir gelişim gösterirler, böylece hastalığın patogenezinde neovaskülarizasyon ve anjiogenez önemli yer tutmaktadır. VEGF'nin endometriozis olgularında periton sıvısında ve foliküler sıvıda artış gösterdiği değişik çalışmalarda gösterilmiştir (105)

VEGF Reseptörleri

VEGF reseptörleri ilk olarak endotel hücrelerinde saptanmıştır. VEGF hücre dışına salgılanarak 3 tirozin kinaz, 2 nötrofilin reseptörüne bağlanır (106).

VEGF reseptör 1'in (VEGFR-1) (fLT-1) pozitif ve negatif anjiogenik etkisi vardır (107). Endotel hücreleri dışında monositler, osteoblastlar, makrofajlar, perisitler, hemopoetik kök hücreleri, damar düz kas hücreleri ve kolorektal tümör hücrelerinde bulunur (106).

VEGFR-2 (Flk-1/KDR) VEGF-A'nın mitojenik, anjiogenik ve vasküler geçirgenlik artışı etkilerinden sorumludur. Endotel hücre büyümesi, farklılaşması, göçü ve tübül oluşumunu düzenler (107). Endotel hücrelerine ek olarak hemopoetik kök hücrelerinde, megakaryositlerde, retinal hücrelerde, damar düz kas hücrelerinde ve bazı tümör hücrelerinde (küçük hücreli olmayan akciğer kanserleri, nöroblastoma, meme ve mide kanserleri) bulunur (108). VEGFR-3, lenfatik damarlarda anjiogenik etkiden sorumludur (108).

VEGF Gen Ailesi

VEGF gen ailesi içinde 7 VEGF üyesi tanımlanmıştır. VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, Plasental büyüme faktörü , VEGF-D, VEGF-E ve VEGF-F (106). Temel olarak anjiogenez, lenfanjiogenez ve damar geçirgenliğini düzenleyen bu faktörlerin tanımlanan VEGF reseptörlerine bağlanma özellikleri farklıdır.

VEGF-A anjiogenezle en güçlü ilişkisi olan ve üzerinde en çok çalışma yapılan faktördür, anti-VEGF tedavilerin çoğu bu faktör üzerinde yoğunlaşmaktadır (108). Genellikle VEGF diye kısaca ifade edilen faktör aslında VEGF-A'dır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 yoluyla etki eder ve hipoksi ile aktive olduğu gösterilen tek VEGF üyesidir.

VEGF-B, VEGFR-1'e bağlanarak etki eder, hücre dışı matriks degradasyonu, hücre adezyonu ve göçünde rol oynar. Kalp, iskelet kası ve pankreasta fazla miktarda bulunur, endotel hücre fonksiyonunu düzenler (106).

VEGF-C and VEGF-D, VEGFR-1 ve VEGFR-2'e bağlanarak lenfanjiogenezi düzenler. VEGF-C ayrıca yara iyileşmesinde rol oynar (108).

Plasenta büyüme faktörü, VEGFR-1'e bağlanır ve endotel hücrelerinde en çok bulunan VEGF üyesidir. VEGF-A'ya bağlı endotel hücre çoğalmasını indüklerken kendi başına zayıf mitojenik etkilidir (108).

VEGF-E ve VEGF-F VEGF-A'nın insanlar dışındaki canlılardaki homologlarıdır (109). VEGF-E yapısal olarak VEGF-A'ya benzeyen viral homologtur (104).

VEGF-A'nın insanlarda tanımlanan 9 izoformu vardır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₄₈, VEGF₁₆₂, VEGF₁₆₅, VEGF_{165b}, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆. Bu izoformlar içinde VEGF_{165b}, diğerlerinden farklı olarak endojen inhibitör izoformdur, VEGFR-2 üzerinden etkilidir. En çok bilinen major izoformlar VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆'dir(104).

VEGF-A Fonksiyonları

Çok sayıda yapılan çalışma ile VEGF-A'nın çeşitli fonksiyonları gösterilmiştir: Bunlar;

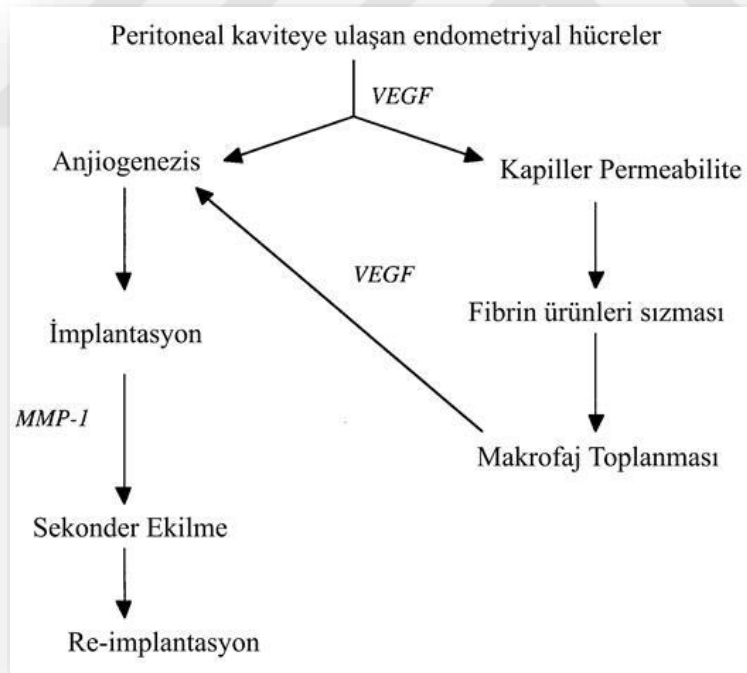
- Vaskülojeniz, anjiogenezi, lenfanjiogenezi düzenler.
- Damar geçirgenliğinde artışa sebep olur.
- Endotel büyüme ve farklılaşması için gereklidir. Monositler için kemotaktiktir.
- Endotel hücrelerinde apoptozisi engelleyerek hücre devamlılığını sağlar.

- Nöron koruyucu etkileri vardır.
- Proinflamatuvar etkilidir. VEGF lökositlere bağlanabilir. VEGF reseptörleri, inflamatuvar hücrelerde ve trombositlerde gösterilmiştir (104).

VEGF'nin endometriozis gelişimindeki rolü

VEGF aşağıda belirtilen nedenlerden ötürü endometriozis gelişiminde ve progresyonunda önemlidir (Şekil 2):

- a) VEGF, insan uterus epitelyal ve stromal hücrelerinde eksprese edilir ve östrojen tarafından regüle edilir.



Şekil 2. Peritoneal Endometriyozisin Patofizyolojisinde VEGF nin rolü

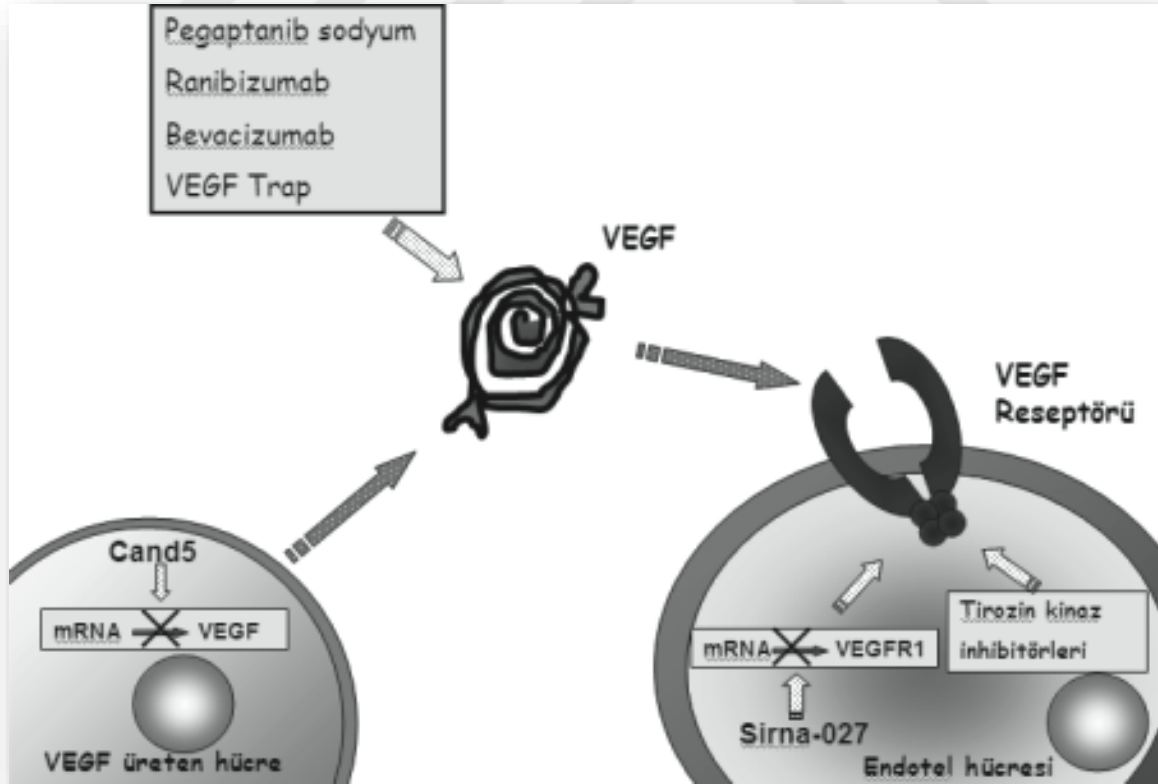
- b) VEGF endometriotik implantların epitelyumunda özellikle kırmızı lezyonlarda lokalizedir.

c) VEGF düzeyleri endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında ve serumlarda yüksektir.

Bu nedenle VEGF düzeyleri endometrioziste diagnostik ve teröpatik bir hedef olarak önerilmektedir (110).

Anti-VEGF mekanizmalar

VEGF-A döngüsünün değişik basamaklarına etki ederek VEGF-A etkisini bloke eden farmakolojik ajanlar geliştirilmiştir.



Şekil 3. Anti VEGF Ajanların etki mekanizmaları

Hücre Dışı VEGF İnhibisyonu

Anti VEGF ajanlar, hücre dışındaki VEGF-A'nın VEGF reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek VEGF-A'yı bloke ederler.

Pegaptanib sodyum; 50 KDa'lık bir RNA oligonükleotid aptamerdir. İnsanlarda tedavi amaçlı kullanılması onaylanan ilk aptamerdir. Spesifik olarak VEGF₁₆₅'in heparin bağlayıcı bölgesine bağlanarak etkilidir. Teorik olarak heparin bağlayıcı bölge içeren diğer büyük VEGF-A izoformlarını da bağlar (103).

Ranibizumab; rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak E. coli 'den üretilir. Tüm VEGF-A izoformlarını ve onların aktif degradasyon ürünlerini inhibe eder.

VEGF Trap; çözünebilir füzyon proteindir (decoy reseptör), VEGF-A üzerinde, VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin bağlandığı bölgeye bağlanır. Tüm VEGF-izoformlarını ve plasenta büyüme faktörünü inhibe eder (108). Araştırma aşamasındadır.

Bevacizumab; insan VEGF-A'sına karşı rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen monoklonal bir antikordur. Molekül ağırlığı 149 kDa'dır. Tüm VEGF-A izoformlarını ve onların aktif degradasyon ürünlerini inhibe eder (111).

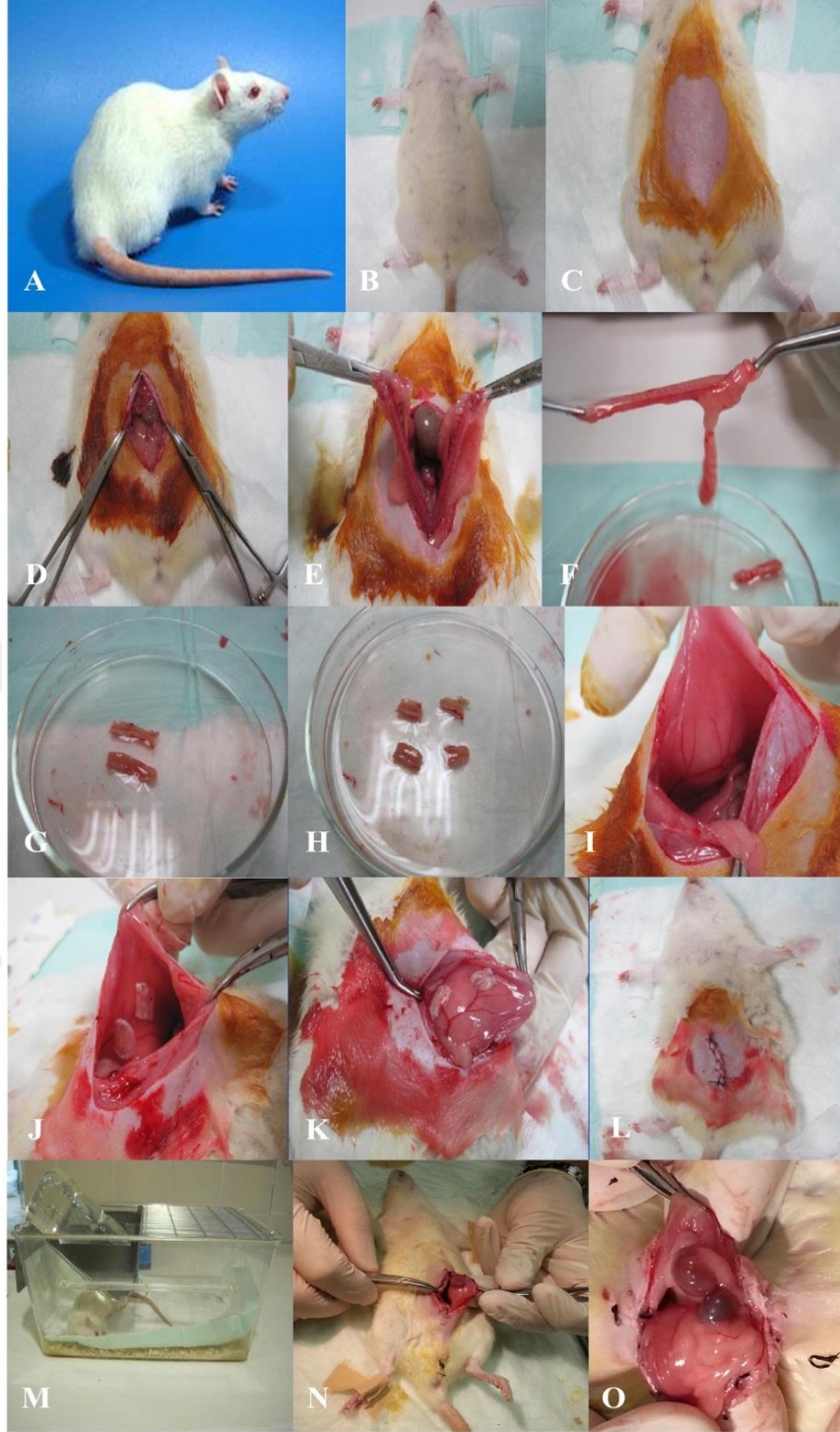
Bevacizumab klinikte metastatik kolorektal kanser, metastatik meme kanseri, metastatik renal hücreli kanser birinci basamak tedavilerinde ve glioblastome multiforme ikinci basamak tedavisinde kullanılır. Sağkalımı uzattığı çeşitli faz III çalışmalarda klinik olarak kanıtlanmış ve kanser tedavisinde kullanılmak üzere onay almış ilk antianjiogenik ajandır (112). En belirgin yan etkileri hipertansiyon, proteinuri, tromboz, kanamaya eğilim, yara iyileşmesinde gecikme olarak ortaya çıkmaktadır. Daha nadiren hayatı tehdit edici olaylar (arteriyel trombotik olaylar, gastrointestinal perforasyon ve masif hemoptizi) bildirilmiştir (113, 114).

MATERYAL ve METOD

YÜDETAM'da daha önceden geliştirdiğimiz rat endometriozis modeli (115) örnek alınarak aynı merkezde yetiştirilen yaklaşık 200-250 gr ağırlığında, nulligravid, reproduktif dönemde olup gebeliği bulunmayan, 16 adet Spraque-Dawley albino rat çalışmada kullanıldı (**Resim 1**). Ratlar çalışma boyunca oda ısısında (21 derece), %60 nemli ortamda, 12 saatlik aydınlık/karanlık koşullarda, ayrı kafeslerde muhafaza edilerek ad libitum olarak beslendiler. Çalışma süresince rat kaybı olmadı.

Çalışma 'Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu' tarafından onay alındıktan sonra uluslararası hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı.

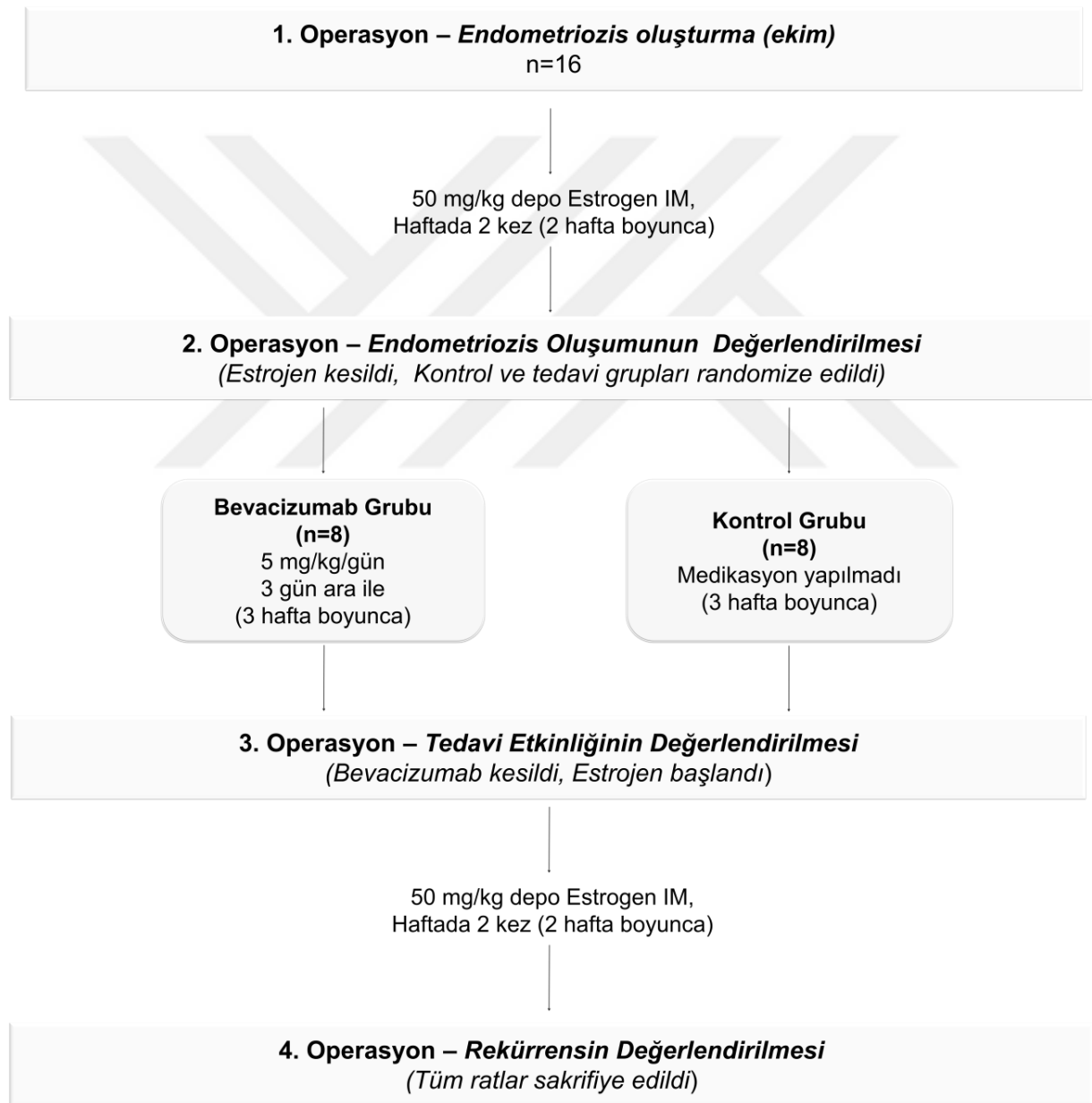
Her rat toplam dört adet operasyon geçirdi. Birinci operasyonda homolog uterin boynuz ototransplantasyonu ile 4 adet endometriyotik odak induksiyonu yapıldı. Cerrahi induksiyon sonrası endometriyotik odakların oluşturulabilmesi için haftada iki kez yüksek dozda östrojen (50 µg/kg) subkütan olarak verildi. Ondört gün (2 hafta) sonunda ratlara ikinci operasyonları yapıldı ve endometriyotik odakların durumu incelendi. Odaklardan biri eksize edilip alındı. Periton yıkantı sıvısı alındı. Bu operasyon sonrasında ratlar 2 gruba randomize edildi. İlk gruba bir sonraki operasyona kadar 3 günde bir (21 gün/3hafta) 5mg/kg/gün intraperitoneal yoldan Bevacizumab uygulandı. Kontrol grubuna 3 hafta herhangi bir medikasyon yapılmadı. Üçüncü operasyon tedavi amaçlı verilen Bevacizumab'ın endometriyotik odaklar üzerindeki etkisini görmek amacıyla yapıldı. Bu operasyonun ardından tedavi kesildi ve ratlar sadece östrojen tedavisi altında 21 gün daha izlendikten sonra anestezi altında dekapitasyon işlemi yapılarak (nekropsi, 4. operasyon) endometriyotik odakların Bevacizumab tedavisi kesildikten sonraki rekürrens durumları kontrol grubuyla karşılaştırıldı (**Şekil 4**). Her operasyonda 1 cc batın yıkantı sıvısı alındı ve -80 °C'de muhafaza edildi. Alınan biopsiler eşit iki parçaya bölündü. Bir parça patolojik inceleme için formaldehit içinde, diğer eş parça ise VEGF bakılmak üzere kuru buz içinde -80 derecede saklandı.



Resim 1. YUDETAM Rat Endometriozis Modeli. **A)** Spraque-Dawley albino rat. **B)** Anestezi sonrası stabilizasyon. **C)** Batın cildinin traş edilip dezenfekte edilmesi. **D)** Vertikal insizyonla batına girilmesi. **E)** Uterus ve adnekslerin ortaya çıkarılması. **F)** Uterin hornların eksizyonu. **G)** Uterin hornların vertikal olarak dikine ikiye ayrılması. **H)** Bu hazırlanan ve endometriyumu ortaya çıkarılan uterus parçalarının iki eşit parçaya bölünmesi. **I)** Batın ön duvarında damardan zengin sahaların tespiti. **J,K)** Endometriyal yüzlerin bu vazküler sahalarla gelecek şekilde dokuların tespit edilmesi. **L,M)** İnsizyonun kapatılması ve post operatif derlenme. **N,O)** Oluşan aktif-canlı endometriotik odaklar.

Çalışma Dizayını

Tüm ratlar intramüsküler 60 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar; Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Levent, İstanbul, Türkiye) ve 7 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun; Bayer İlaç Sanayi, Şişli, İstanbul, Türkiye) ile genel anesteziye alındı. Anestezi altında endometriyotik odakların induksiyonu Yıldırım et al. tarafından uygulanan modifiye tekniğe (115) göre (**Resim 1, Şekil 4**) yapıldı.



Şekil 4. Çalışma dizayını.

İlk Operasyon: Endometriozis İmplantasyonu

Genel anestezi indüksiyonunu takiben vertikal insizyonla batına girildi (**Resim 1**). Uterin boynuzlar ve overler visualize edildi. Ardından uterin boynuzlar serviks hizasından ve overlerin 1cm lateralinden klemlenerek çıkartıldı. Hemostaz mikro-elektrokoterizasyon ile sağlandı. Uterin boynuzlar 37 °C derecedeki fosfat tamponlu izotonik solusyonu içerisine alınarak overler eksize edildikten sonra uterin boynuzlar parametrial yağlı dokulardan temizlendi. Silindir şeklindeki uterin boynuzlar uzunlamasına kesilerek iç yüzü endometriyal doku ile döşeli myometriyal tabaka içeren dikdörtgen şeklinde 2 adet greft oluşturuldu. Greftler 5mm uzunlukta dört adet eşit parçaya bölünerek implantasyona hazırlandı.

Greftlerin ikisi sağ, ikisi sol hipokondriak bölgeye, 6-0 absorbe olmayan polipropilen suturler ile, endometriyal doku peritoneal yüzeye degecek şekilde, batın duvarına ait ana vasküler yapıların bifurkasyon alanı üzerine implante edildi.

Cerrahi operasyon sırasında peritoneal yüzeyler steril izotonik solusyon ile yıkanarak nemli tutuldu. İmplantasyon sonrası hemostaz ve batın kontrolü ardından vertikal insizyon cilt altı ve cilt olarak çift kat 3-0 vicryl ile kilitli continue suture edildi.

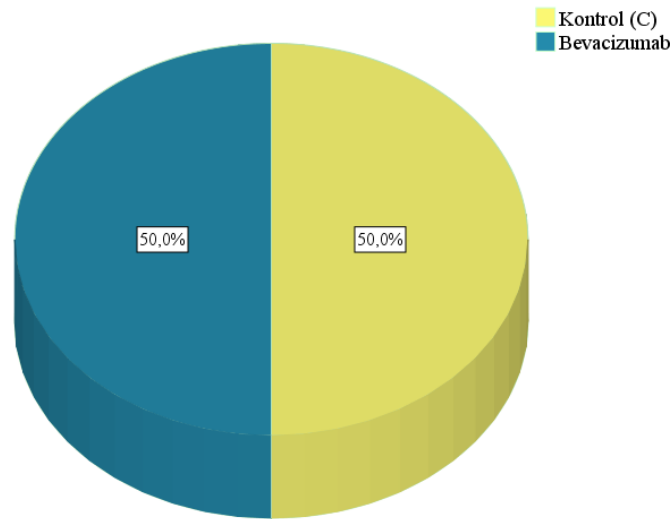
Tüm ratlara intraperitoneal enfeksiyonu önleyebilmek için postoperatif 3 gün 50 mg/kg/gün sefazolin sodyum (IE Ulagay Ilac Sanayi, Istanbul, Turkey) intramusküler olarak uygulandı. Tüm ratlara 50 µg/kg haftada iki kez subkutan yüksek doz östrojen (östradiol powder, ≥98% Sigma-Aldrich®) tedavisi başlandı ve 2. ameliyata kadar devam etti. ≥98 toz östrojenden (Sigma-Aldrich®) 0.0020 gr alınarak, 20 ml mısırözü yağı ve 5 ml etil alkolden oluşan karışıma eklendi. Isıtıcı karıştırıcıda 20 dakika kadar karıştırılarak östrojenin çözülmesi ve alkolün uçması sağlandıktan sonra 10µg/0.1 ml östrojen konsantrasyonu elde edildi. 200 gr (0.2 kg) olan bir rata yapılacak östrojen dozu $50 \times 0.2 = 10 \mu\text{g}$ olarak hesaplandığından hazırlanan karışımdan 0.1 ml haftada iki gün kullanıldı.

İkinci Operasyon: Endometriozis Odak Oluşumunun Değerlendirilmesi

Ondört gün süren, haftada iki kez 50 mg/kg yüksek doz östrojen tedavisi sonrasında yapılan ikinci operasyonda oluşan endometriyotik odaklar değerlendirildi.

Batın visualizasyonu sonrasında VEGF değerlendirilebilmesi için her rattan 1 ml batın yıkantı sıvısı alınarak -80 derecede saklandı. Tüm endometriyotik lezyonlar cetvel ile üç boyutlu olarak (uzunluk x genişlik x yükseklik, mm) aynı araştırmacı tarafından (Ö.K.Y.) ölçüldü. Çalışma için ekilen 4 odaktan en az 3 tanesinin endometriyotik odak halinde gelmesi gerekiyordu. Bir ratta üç, diğer 15 ratta dört odak oluşumu uygun bir şekilde görüldü.

Biri hariç diğerlerinde dörder adet oluşan endometriyotik lezyonların ölçümleri ve özellikleri kayıt edildikten sonra histopatolojik inceleme için randomizasyon yöntemi ile her rattan bir adet lezyon eksizyonel biyopsi ile alındı. Bu aşamadan sonra ratlar 2 gruba randomize edildi (**Şekil 5**). Kontrol grubuna 3 hafta boyunca herhangi bir medikasyon yapılmadı. Çalışma grubuna ise 3 hafta süresince 3 günde bir (21 gün/3 hafta) 5mg/kg/gün intraperitoneal yoldan (operasyondan 3 gün sonra başlanıp toplam 4 doz) Bevacizumab uygulandı.



Şekil 5. Kontrol ve Bevacizumab gruplarının grafik olarak gösterilmesi.

Üçüncü Operasyon: Tedavi Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Üç hafta sonra yapılan üçüncü operasyon ile 21 günlük Bevacizumab tedavisi sonrasındaki endometriyotik odakların durumu değerlendirildi. Odakların ölçümleri daha önce de belirtildiği koşullarda aynı araştırmacı tarafından yapıldı. Çalışma sırasında endometriyotik odakların boyutlarında görsel olarak azalma olduğu fark edildi. Üç adet lezyondan rastgele bir tanesi eksize edilerek histopatolojik değerlendirme için formaldehit solusyonunda saklandı. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilebilmesi için 1 ml batın yıkantı sıvısı alınarak -80 °C'de saklandı.

Bu operasyondan sonra Bevacizumab enjeksiyonu kesildi ancak östrojen desteği devam ettirildi. Bu sayede bir sonraki operasyonda (3. hafta sonra) Bevacizumab tedavisi kesildikten sonra endometriyotik odakların östrojen tedavisi altındaki rekürrens durumlarının değerlendirilmesi planlandı.

Dördüncü Operasyon: Nekropsi- Rekürrens Durumunun Değerlendirilmesi

Ratlar anestezi altında dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildikten sonra endometriyotik odakların kontrol edilmesi ile rekürrens değerlendirilmesi yapıldı. Geriye kalan iki adet lezyon yukarıda tarif edildiği şekilde ve aynı araştırmacı tarafından ölçüldü, histopatolojik değerlendirme için tüm lezyonlar eksize edildi.

Volüm Analizleri

Uterin boynuzların peritoneal yüzeye implantasyonu sonrasında östrojen tedavisi ile oluşan küresel endometriyotik odakların volüm ölçümleri yayvan elipsoid ölçüm formülü: $V \text{ (mm}^3\text{)} = 0.52 \times \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{yükseklik (mm)}$ kullanılarak yapıldı.

Histopatolojik Analizler

Operasyonlarda alınan biyopsi örnekleri %10 luk formaldehit solusyonu ile fikse edildi. Dehidratasyon işlemi sonrasında parafin bloklara gömüldü. Mikrotom ile 3 µm lik kalınlıklarda kesildikten sonra Hemotoksilen–Eosin (HE) ile boyandı. Tüm preparatlar Ö.K.Y. tarafından ışık mikroskobu altında okunduktan sonra, endometriozis skorları daha önceki yaptığımız tüm rat endometriozis çalışmalarındaki aynı patolog (Prof. Dr. Ferda Özkan) tarafından değerlendirildi. Mikroskopik incelemede endometriyal gland oluşumu ve stroma varlığı arandı. İmplantlardaki endometriyal epitel hücrelerin özelliğine göre histopatolojik skorlama Keeanan ve ark.larının geliştirdiği (116) sisteme göre yapıldı (**Tablo 1**).

Skor	Histopatolojik Bulgular
3 puan	İyi korunmuş epitel varlığı
2 puan	Orta düzeyde korunmuş epitel varlığı ve lökosit infiltrasyonu
1 puan	Nadir epitel varlığı
0 puan	Epitel yokluğu

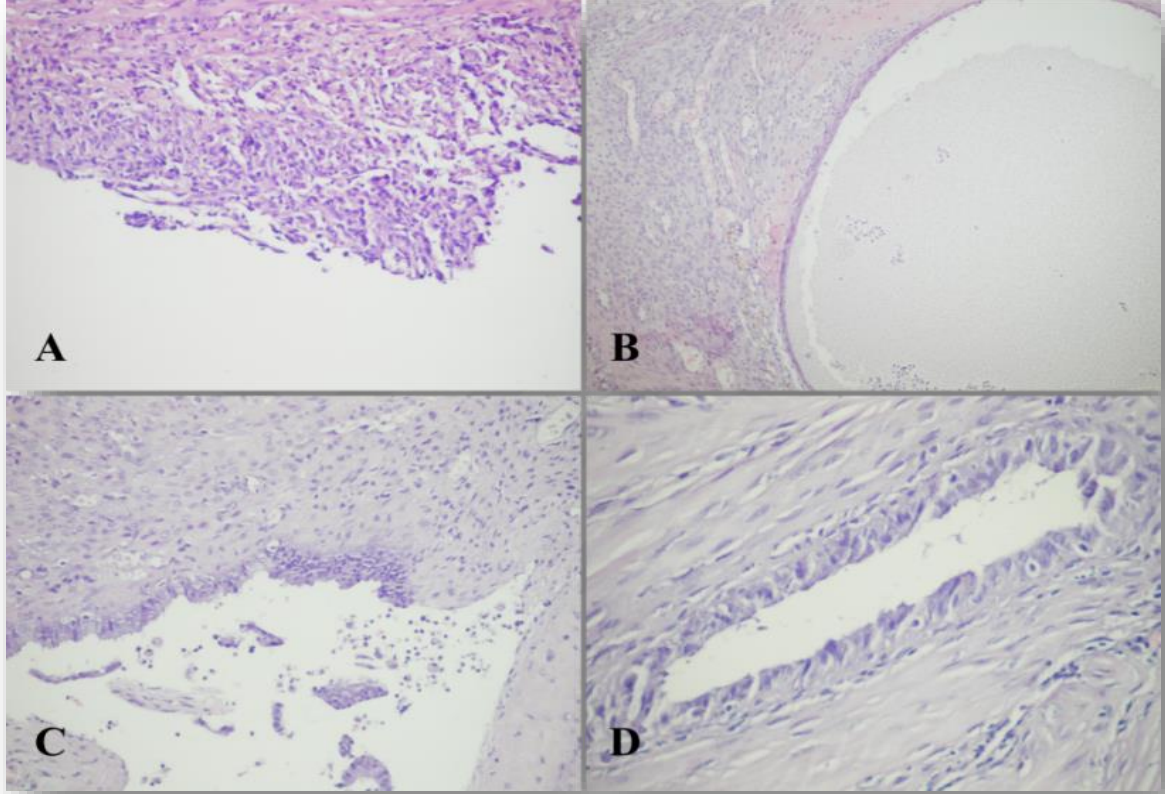
Tablo 1. Histopatolojik Skorlama

Bu skorlamada; epitel görülmemesi 0, kısıtlı epitel varlığı 1, orta düzeyde epitel olması 2 ve iyi korunmuş bir epitel bulunması 3 puan olarak değerlendirildi (**Resim 2**).

Biyokimyasal Analiz

VEGF'in (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) endometriyotik odaklarda vaskülarizasyonu artırdığı, endometriyotik implantın büyümesini kolaylaştırdığı bilinmektedir. Çalışma sırasında endometriyotik odak indüksiyonu için yapılan ilk operasyon hariç diğer tüm

operasyonlarda ratlardan 1 ml batın yıkantı sıvısı alındı. Örnek elde etmek için batın inspeksiyonu sonrasında 2 ml steril izotonik solusyonu ile batın irrigasyonu yapıldı ve her rat için farklı enjektör kullanılarak 1 ml sıvı geri aspire edildi. Ayrıca biopsi için alınan endometriyal odakların da yarısı patolojiye yarısı da kuru buz içine alınıp -80 °C’de bekletildi.



Resim 2. Histopatolojik skorlama sistemi. **A)** Skor 0. **B)** Skor 1. **C)** Skor 2. **D)** Skor 3. (Hematoksilen & Eosin. Büyütme: x40)

Opere edilen tüm ratlardan alınan batın yıkantı sıvıları çalışma sonuna kadar -80°C’de bekletildi ve çalışma sonunda vasküler endotelyal büyüme faktörü düzeyi için tetkik edildi. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), Rat VEGF Elisa Kit (RayBiotech,Inc.) ile değerlendirildi ve pg/ml cinsinde belirtildi.

İstatistik Analizler

İstatistik hesapları Windows programı için uygun olan SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk- NY USA) ile yapıldı. Bulgular ortalama \pm standart ortalama hatası olarak belirtildi (SEM). Gruplar arası parametrelerin değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi, gruplar içinde ise lezyon volümlerinin, histopatolojik bulguların ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde Friedman's testi (Post-hoc test olarak Wilcoxon's test) kullanıldı. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



BULGULAR

Tüm çalışma süresi boyunca ratlar, YÜDETAM'da veteriner hekim ve teknisyenleri tarafından kontrol altında bulunduruldu. Günlük bakımları teknisyen tarafından yapılırken, tüm gruplara uygulanan östrojen ve antibiyotik enjeksiyonları ve tedavi grubuna uygulanan Bevacizumab enjeksiyonları Ö.K.Y. tarafından yapıldı.

Takip sırasında insizyonel alanda ya da ilaç enjeksiyon yerlerinde enfeksiyon görülmedi. İnsizyon açılması izlenmedi. Çalışma süresinde rat kaybı yaşanmadı. Tedavi sırasında ratlarda toksik ilaç etkisi görülmedi.

Toplam olarak 64 odak ekimi yapıldı, 63 adet (%98.4) başarılı endometriotik odak geliştiği izlendi. Toplam 16 adet ratın sadece 1 tanesinde 3 lezyon (%6.3) oluştu. Diğer tüm ratlarda (%93.7) 4 adet endometriyozis lezyonu başarılı bir şekilde gelişti. Endometriyal odak oluşumunun kontrolü için yapılan ikinci operasyonda periton vaskülaritesinin genel olarak arttığı görüldü. Endometriyal odakların bazı lezyonlarda kistik, içi berrak ya da koyu kahverengi sıvı ile dolu olduğu görülürken bazılarında ise yüzeyden kabarık hiperpigmente lezyonlar şeklinde olduğu tesbit edildi.

Bu çalışmanın süresi her iki grup için de 8 hafta olmak üzere planlandı. İlk 2 hafta östrojen ile indüksiyon, sonra gruplar randomize edilip bir grup medikasyon bir grup da ilaçsız kontrol olarak ayrıldı. Bu 3 haftalık dönemde östrojen verilmedi. Sonra tekrar opere edilip medikasyonsuz bir 3 hafta daha takip edildi. Bu dönemde östrojen tekrar başlandı. Genel olarak rat endometriozis modellerinde olmayan bu son 3 haftalık östrojenli takip durumu bizim geliştirdiğimiz bir model olup tedavi kesildikten sonraki dönemde rekürrensleri incelemek için önem arz etmektedir. Operasyonlarda alınan biyopsilerin yarısı formaldehit solusyonunda bekletildi ve çalışma sonunda iki haftalık bir süreçte kaset takibine alınarak histopatolojik açıdan değerlendirilmeleri yapıldı. Diğer yarısı ise kuru buza alınıp sonradan

VEGF incelemesi için -80°C 'de bekletildi. Batın yıkantı sıvıları biyopsilere benzer şekilde tedavi öncesi ve tedavi sonrası her iki gruptan alınarak -80°C ' de ependorflarda saklandı ve çalışma sonunda 2 haftalık bir süreç içerisinde biyokimya laboratuvarı tarafından çalışıldı.

Bulgularımızı iki şekilde karşılaştırdı. Önce kontrol grubunu ve çalışma grubunu birbirleriyle kıyaslandı. Sonra aynı grubun lezyonlarını tedavi öncesi (2. Operasyon), tedavi sonrası (3. Operasyon) ve rekürrens dönemlerine (4. Operasyon) göre kendi içinde karşılaştırdı.

Grupların Birbirleriyle Karşılaştırılması

Endometriyozis indüksiyonu sonrası yapılan ilk operasyonda (tedavi öncesi- ikinci operasyon) lezyonların volümleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (**Tablo 2**). Kontrol grubunda oluşan lezyonların ortalama volümü $118.9\pm 20.0\text{ mm}^3$ iken, Bevacizumab grubunda $122.6\pm 24.4\text{ mm}^3$ olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p=0.90$). Tedavi öncesi yapılan histopatolojik değerlendirmede her iki grubun da iyi derecede endometriotik fokus oluşturduğu izlendi. Kontrol grubunda histopatolojik skor indüksiyon sonrası 2.1 ± 0.3 iken, tedavi sonrası 2.8 ± 0.1 olarak kaydedildi ($p=0.06$).

Üçüncü operasyon tedavi etkinliğinin araştırıldığı safha idi. Her iki grubun lezyonlarının ortalama hacmi kontrol grubunda ve Bevacizumab grubunda sıra ile $136.6\pm 21.6\text{ mm}^3$ ve $20.6\pm 6.3\text{ mm}^3$ olarak hesaplandı. Bevacizumab grubundaki volüm kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak daha küçük idi ($p=0.001$). Bu operasyonla değerlendirilen örneklerin histopatolojik skorları ise kontrol grubunda 2.5 ± 0.3 , Bevacizumab grubunda ise 2.3 ± 0.1 idi ($p=0.70$).

Nekropsi yapılan dördüncü operasyonda, lezyonların hacmi kontrol grubu için $111.2\pm 26.8\text{ mm}^3$ iken, Bevacizumab grubunda $10.4\pm 5.2\text{ mm}^3$ idi. Aradaki fark istatistiksel olarak

anlamli saptandı (p=0.007). Aynı operasyonda elde edilen biyopsilerin histopatolojik olarak değerlendirilmesiyle oluşturulan skorlamada gruplar arasında ileri derecede anlamli bir fark

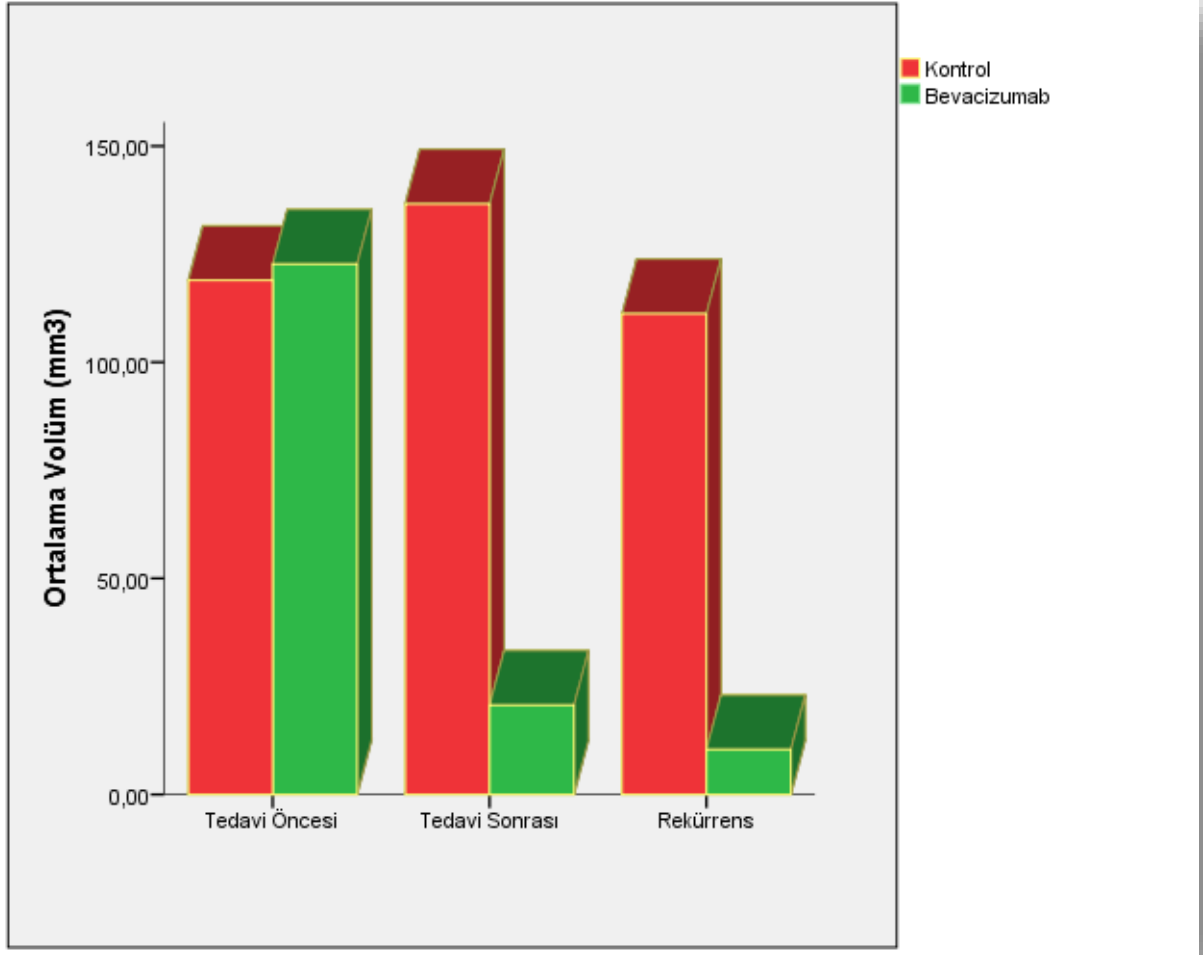
		Kontrol	Bevacizumab	
		(n=8)	(n=8)	p
		Ort±SEM	Ort±SEM	
Tedavi Öncesi	Volum (mm ³)	118.9±20.0	122.6±24.4	0.90
	Histopatolojik Skor	2.1±0.3	2.8±0.1	0.06
Tedavi Sonrası	Volum (mm ³)	136.6±21.6	20.6±6.3	0.001
	Histopatolojik Skor	2.5±0.3	2.3±0.1	0.70
Rekürrens	Volum (mm ³)	111.2±26.8	10.4±5.2	0.007
	Histopatolojik Skor	2.6±0.4	0.5±0.3	0.001

Tablo 2. Grupların lezyon çapları ve histopatolojik çaplarının karşılaştırılması.

olduğu görüldü . Bevacizumab grubunda histopatolojik skor (0.5±0.3), kontrol grubundakine göre (2.6±0.4) anlamli bir şekilde daha düşük olarak saptandı (p=0.001).

Grupların ilk operasyon, tedavi sonrası ve tedavi kesildikten sonraki rekürrens dönemlerindeki ortalama volümleri **Şekil 6**'da gösterilmiştir. Özellikle Bevacizumab

grubundaki tedavi sonrasında ve rekürrens döneminde kontrol grubuna kıyasla lezyon ortalama volümlerinin düşük olduğu net bir şekilde bar grafikte görülmektedir.

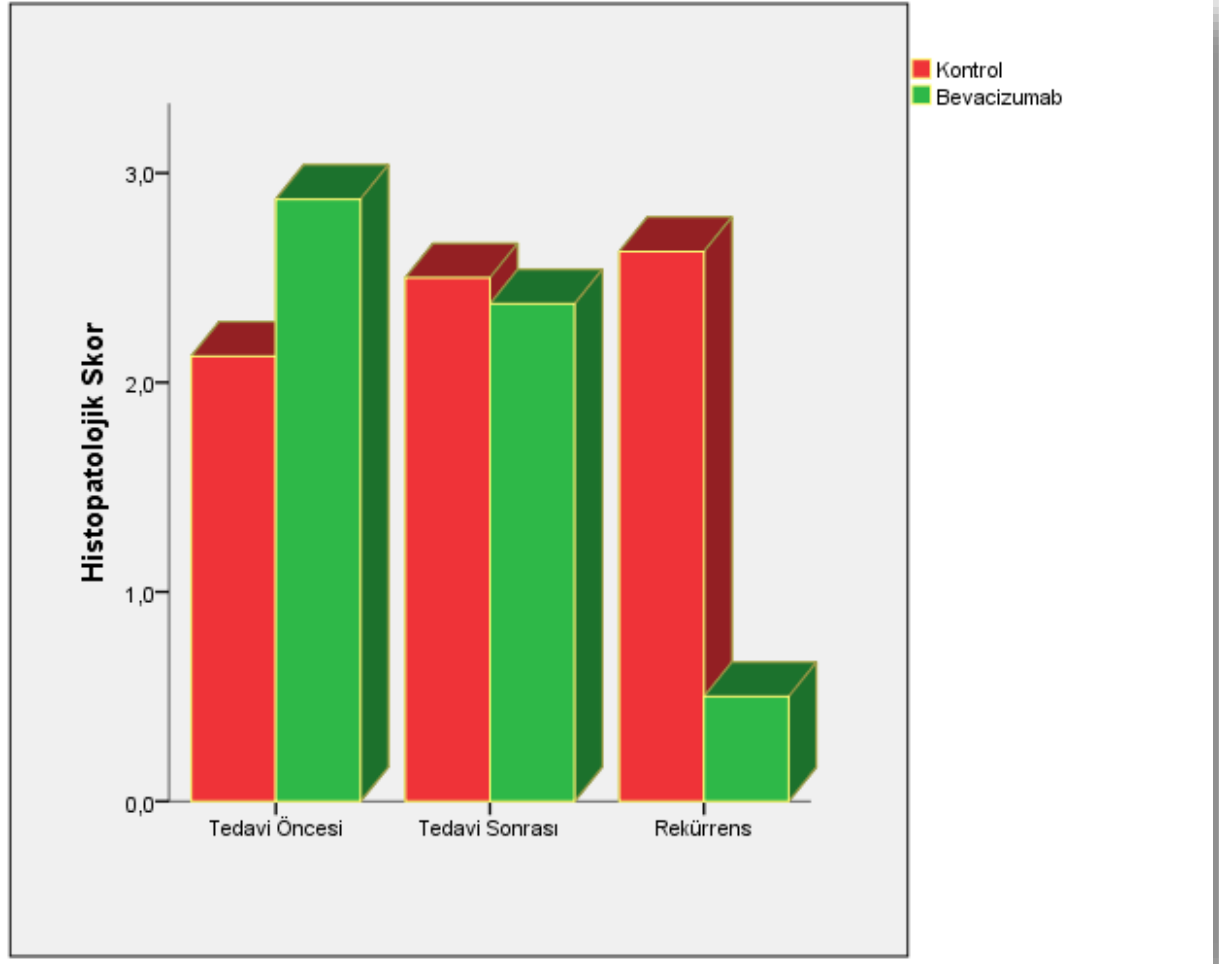


Şekil 6. Tedavinin değişik dönemlerin gruplara arasında ortalama volümlerin karşılaştırılması

Özellikle rekürrens döneminde tekrar yüksek doz östrojen ile maruziyetin, Bevacizumab grubunda lezyonların volümünde kontrol grubundakilere oranla anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı yani reaktif edip hacimleri arttırmadığı **Şekil 6**'da grafik olarak ortaya konulmuştur.

Grupların ilk operasyon, tedavi sonrası ve tedavi kesildikten sonraki rekürrens dönemlerindeki ortalama volümleri **Şekil 7**'de gösterilmiştir. İkinci operasyonda (Tedavi

öncesi) bakılan histopatolojik skorlar kontrol ve Bevacizumab grubu için sırayla 2.1 ± 0.3 ve 2.8 ± 0.1 idi ($P=0.06$). Bevacizumab tedavisi sonrası dönemde yapılan (üçüncü) operasyonda kontrol (2.5 ± 0.3) ve Bevacizumab (2.3 ± 0.1) grubunun histopatolojik skorları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.70$). İlginç olarak son operasyonda (nekropsi), Bevacizumab



Şekil 7. Tedavinin değişik dönemlerin gruplara arasında histopatolojik skorların karşılaştırılması

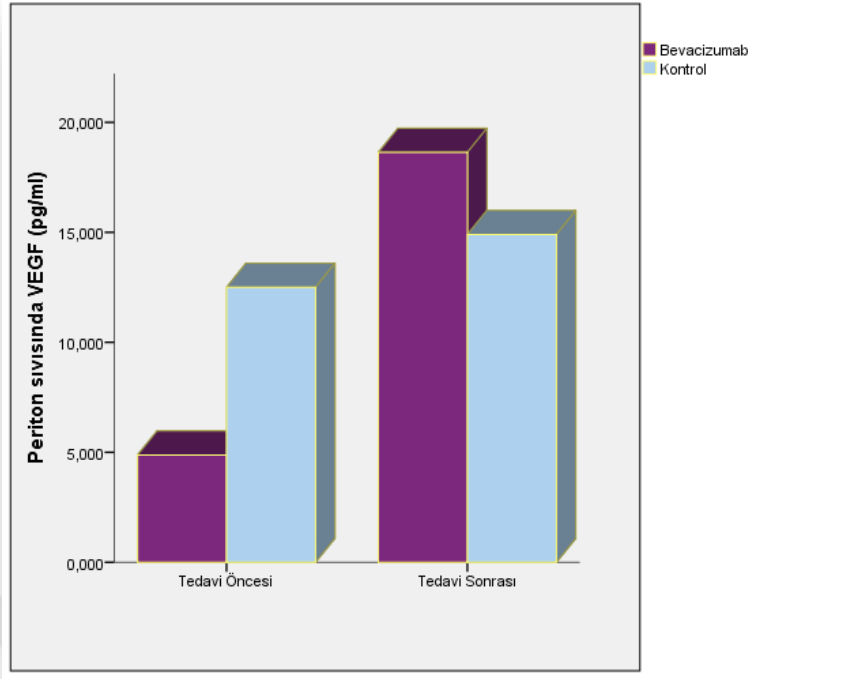
grubundaki ratların histopatolojik skorları istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir şekilde kontrol grubundakilerden daha düşük olarak tespit edildi. Kontrol grubunda skor 2.6 ± 0.4 iken çalışma grubunda 0.5 ± 0.3 idi ($P=0.001$).

Grupların tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde periton sıvısında ve endometriotik lezyonlarda bakılan VEGF düzeyleri **Tablo 3'** de gösterilmiştir. Tedavi öncesi dönemde Kontrol grubunda periton sıvısındaki ortalama VEGF düzeyi 12.5 ± 0.1 pg/ml iken aynı dönemde Bevacizumab grubunda bu düzey 4.8 ± 1.2 pg/ml ile anlamlı olarak biraz daha düşük saptandı. Tedavi öncesi dönemde endometriotik odaklardaki VEGF düzeyleri ise kontrol grubunda 79.0 ± 2.1 pg/ml ve Bevacizumab grubunda 47.0 ± 5.1 pg/ml ile olarak saptandı ($P=0.0001$).

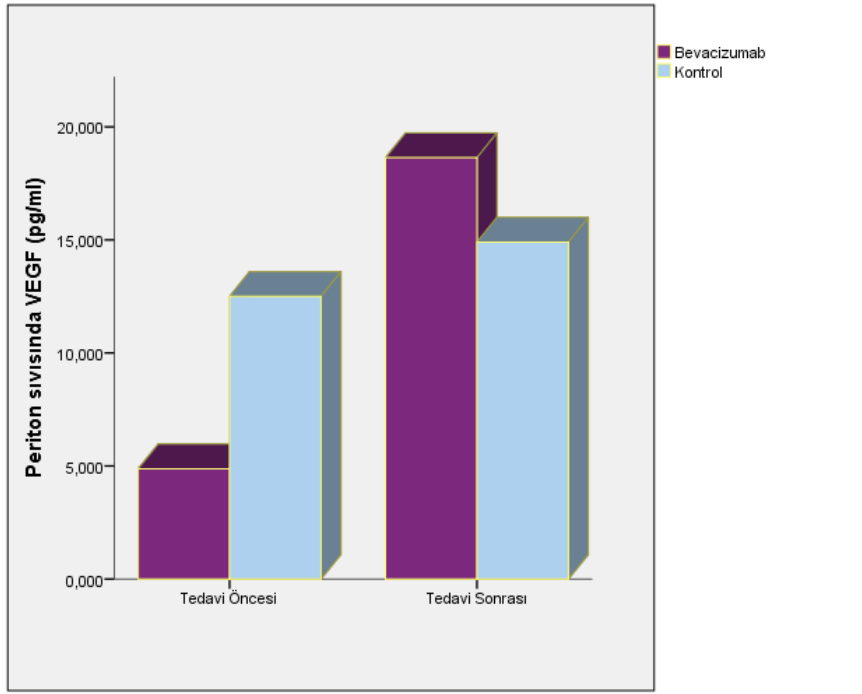
		Kontrol	Bevacizumab	
		(n=8)	(n=8)	p
		Ort±SEM	Ort±SEM	
Tedavi Öncesi	VEGF (pg/ml)			
	Periton sıvısında	12.5 ± 0.1	4.8 ± 1.2	0.001
	Dokuda	79.0 ± 2.1	47.0 ± 5.1	0.0001
Tedavi Sonrası	VEGF (pg/ml)			
	Periton sıvısında	14.9 ± 2.4	18.6 ± 4.7	0.57
	Dokuda	83.5 ± 1.4	34.5 ± 4.1	0.0001

Tablo 3. Grupların VEGF değerlerinin karşılaştırılması.

Tedavi sonrası dönemde grupların periton sıvısındaki VEGF düzeyleri ise; kontrol grubunda 14.9 ± 2.4 pg/ml, Bevacizumab grubunda 18.6 ± 4.7 pg/ml olarak bulundu ($p=0.57$) (**Şekil 8**). Aynı dönemde alınan endometriotik dokulardaki VEGF düzeyleri ise kontrol grubunda 83.5 ± 1.4 pg/ml, Bevacizumab grubunda ise 34.5 ± 4.1 pg/ml idi. Aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı olarak hesaplandı ($P=0.0001$) (**Şekil 9**).



Şekil 8. Tedavinin öncesi ve sonrası dönemdeki periton sıvılarındaki VEGF düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması



Şekil 9. Tedavinin öncesi ve sonrası dönemdeki endometriotik implantlardaki doku VEGF düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grupların Kendi İçinde Karşılaştırılması

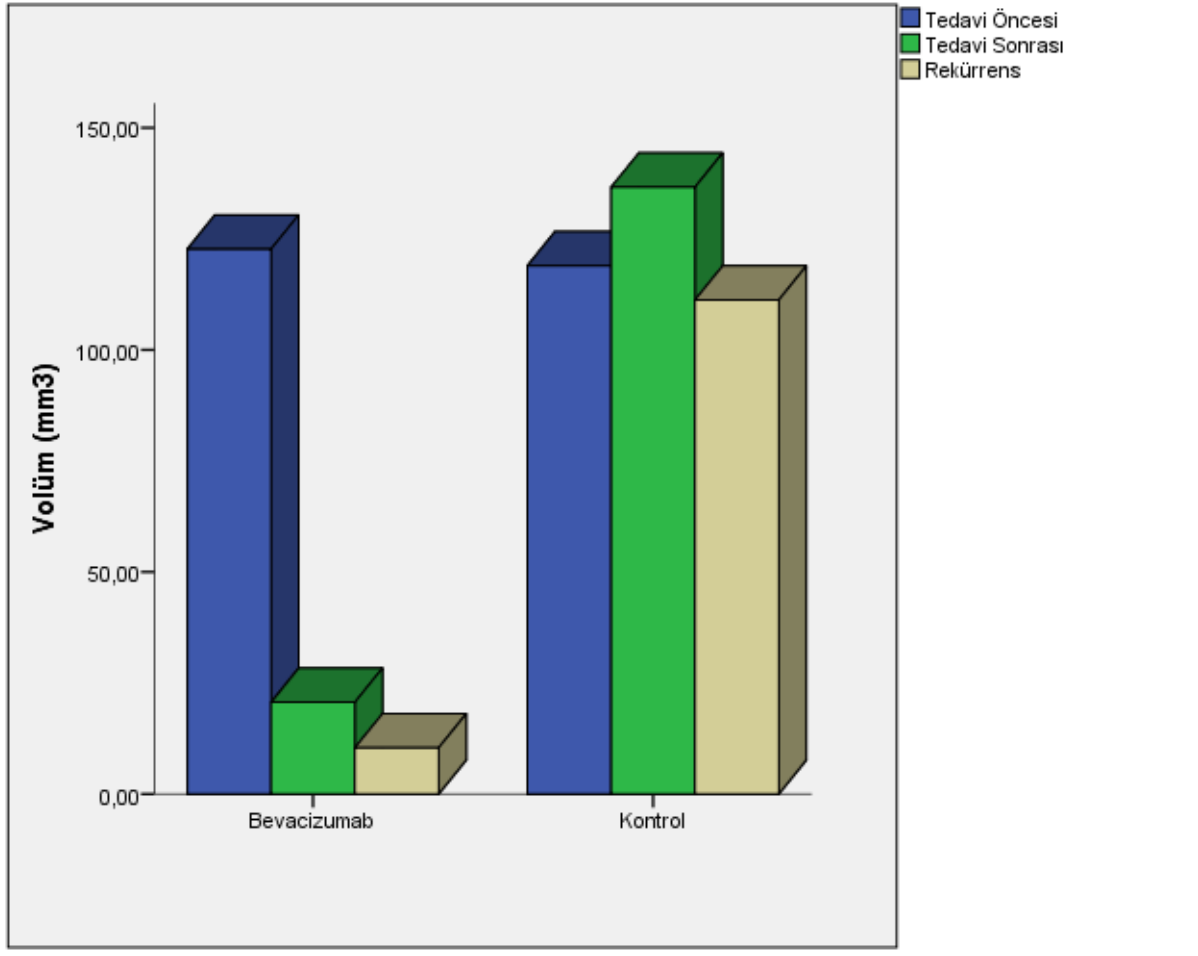
Kontrol grubunda endometriotik lezyon indüksiyonu sonrası yapılan ilk ameliyatta (tedavi öncesi/ ikinci operasyon) lezyonların volümü $118.9\pm 20.0 \text{ mm}^3$, ikinci biyopside (tedavi sonrası/ üçüncü operasyon) $136.6\pm 21.6 \text{ mm}^3$, rekürrens değerlendirildiği üçüncü biyopside (dördüncü operasyon/nekropsisi) ise $111.2\pm 26.8 \text{ mm}^3$ olarak ölçüldü (**Tablo 4**).

		Tedavi Öncesi (Mean±SEM)	Tedavi Sonrası (Mean±SEM)	Rekürrens (Mean±SEM)	P
Kontrol	Volüm (mm^3)	118.9 ± 20.0	136.6 ± 21.6	111.2 ± 26.8	0.60
	Histopatolojik Skor	2.1 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.6 ± 0.4	0.19
Bevacizumab	Volüm (mm^3)	122.6 ± 24.4	20.6 ± 6.3	10.4 ± 5.2	0.001*
	Histopatolojik Skor	2.8 ± 0.1	2.3 ± 0.1	0.5 ± 0.3	0.01**

Tablo 4. Tedavi dönemlerine göre lezyon volümleri ve histopatolojik skorların aynı grup içinde karşılaştırılması.

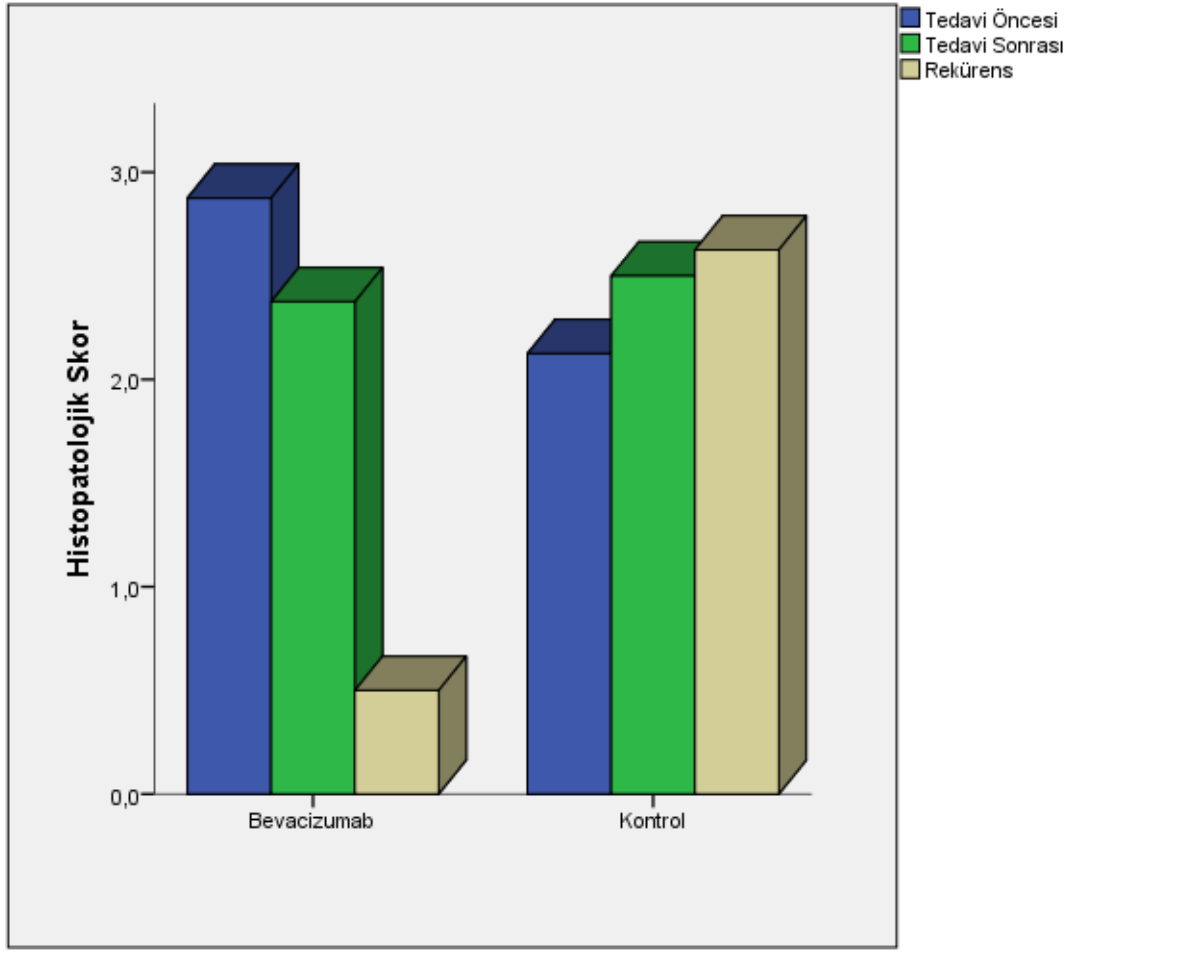
Kontrol grubunda kendi içinde bakıldığında tedavi öncesi, tedavi sonrası ve rekürrens değerlendirildiği son dönemde ölçülen endometriotik odakların ortalamavolümlerinin istatistiksel olarak birbirine benzer olduğu (**Şekil 10**) saptandı ($p=0.60$).

Benzer şekilde Kontrol grubunun histopatolojik skorları da tedavi öncesi, tedavi sonrası ve rekürrens zamanında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark göstermediler ($p=0.19$). Sayılan dönemler için sırasıyla histopatolojik skorlar 2.1 ± 0.3 , 2.5 ± 0.3 ve 2.6 ± 0.4 olarak saptandı (**Şekil 11**).



Şekil 10. Tedavi dönemlerine göre lezyon volümleri

Bevacizumab grubu kendi içinde lezyonların ortalama volümleri açısından dönemlere göre değerlendirildiğinde, tedavi öncesi $122.6 \pm 24.4 \text{ mm}^3$ olan ortalama volüm, bevacizumab tedavisi sonrası $20.6 \pm 6.3 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı (**Tablo 4**). Aynı şekilde rekürrens sırasında ortalama volüm $10.4 \pm 5.2 \text{ mm}^3$ olarak kaydedildi ($p=0.001$). Bu satırda istatistiksel olarak anlamlılığı neyin sağladığını anlamak için post-hoc Wilcoxon testi yapıldı. Bu teste göre



Şekil 11. Tedavi dönemlerine göre lezyonların histopatolojik skorları

tedavi öncesi ortalama volüm ile tedavi sonrası ortalama volümler arasında anlamlı ($p=0.001$), tedavi öncesi volüm ile rekürrens sırasındaki ortalama volümler arasında anlamlı ($p=0.001$) bir fark varken, tedavi sonrası volüm ile rekürrens sırasındaki volümler arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildi ($p=0.86$).

Bevacizumab grubu kendi içinde lezyonların histopatolojik skorları açısından dönemlere göre değerlendirildiğinde, tedavi öncesi skor 2.8 ± 0.1 iken, tedavi sonrası 2.3 ± 0.1 ve rekürrens zamanı 0.5 ± 0.3 olarak saptandı ($p=0.01$) (**Tablo 4**). Bevacizumab grubu için histopatolojik açısından post hoc test yapıldığında tedavi öncesi skor (2.8 ± 0.1) ile tedavi sonrası skor (2.3 ± 0.1) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0.03$), tedavi öncesi skor ile

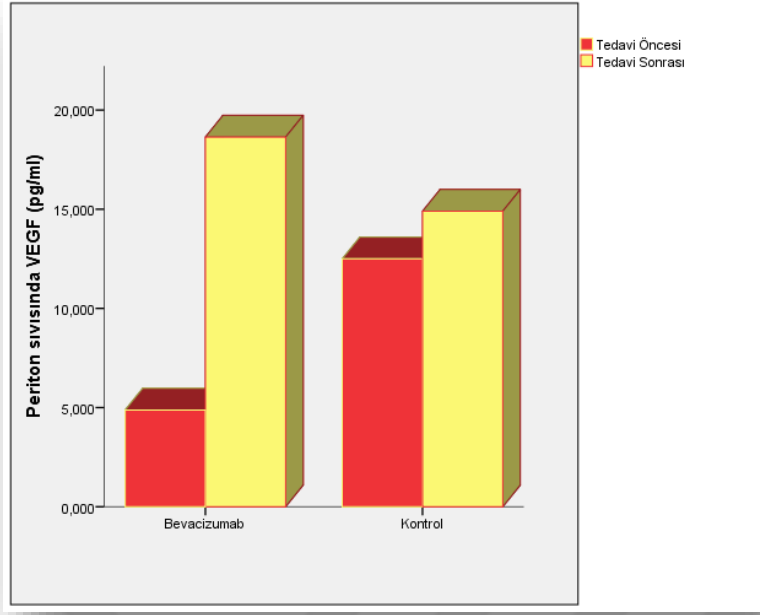
rekürrens sırasındaki skorun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0.002$) ve tedavi sonrası skor ile rekürrens dönemindeki skorun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0.004$) saptandı ve gösterildi (**Şekil 11**).

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde periton yıkantı sıvısından ve dokulardan bakılan VEGF düzeyleri **Tablo 5**'de gösterildi. Kontrol grubunda tedavi öncesi periton sıvısındaki VEGF seviyesi 12.5 ± 0.1 pg/ml, tedavi sonrası ise 14.9 ± 2.4 pg/ml olarak kaydedildi ($p=0.37$). Kontrol grubunda lezyonlardan bakılan VEGF seviyeleri ise tedavi öncesi dönemde 79.0 ± 2.1 pg/ml ve tedavi sonrası dönemde 83.5 ± 1.4 pg/ml idi ($p=0.06$). aradaki fark anlamlı bulunmadı (**Şekil 12**).

		Tedavi Öncesi (Mean±SEM)	Tedavi Sonrası (Mean±SEM)	p
Kontrol VEGF (pg/ml)	Periton sıvısında	12.5 ± 0.1	14.9 ± 2.4	0.37
	Dokuda	79.0 ± 2.1	83.5 ± 1.4	0.06
Bevacizumab VEGF (pg/ml)	Periton sıvısında	4.8 ± 1.2	18.6 ± 4.7	0.02
	Dokuda	47.0 ± 5.1	34.5 ± 4.1	0.03

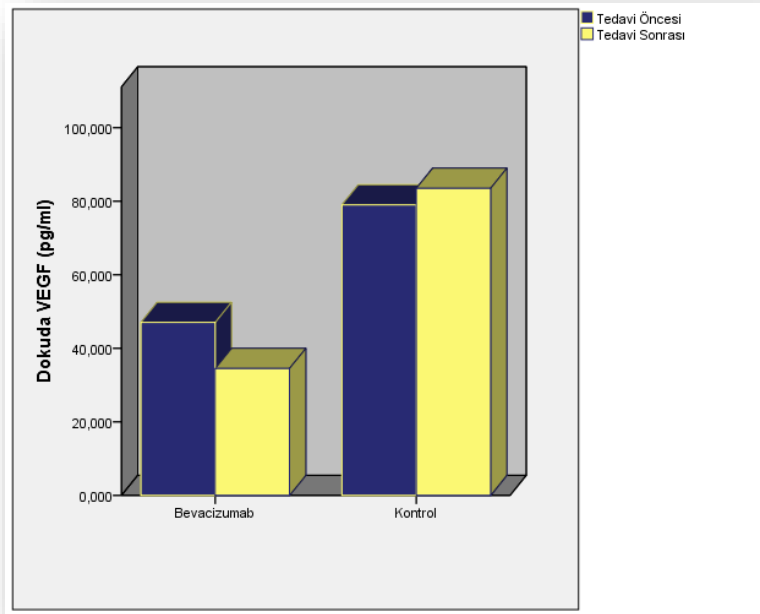
Tablo 5. Tedavi dönemlerine göre lezyon VEGF değerlerinin aynı grup içinde karşılaştırılması.

Bevacizumab grubunda tedavi öncesi periton yıkantı sıvısındaki VEGF düzeyi 4.8 ± 1.2 pg/ml iken tedavi sonrası dönemde 18.6 ± 4.7 pg/ml olarak bulundu (Tablo X4). Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.02$).



Şekil 12. Tedavi öncesi ve sonrası periton sıvısındaki VEGF düzeyleri

Bevacizumab grubu dokudaki VEGF düzeylerine göre değerlendirildiğinde tedavi öncesi ve tedavi sonrası dönemde dokudaki VEGF seviyeleri arasında da istatistiksel anlamlı bir fark olduğu ortaya çıktı (**Şekil X13**). Tedavi öncesi dokudaki ortalama VEGF düzeyi 47.0 ± 5.1 pg/ml iken tedavi sonrası dönemde bu düzey 34.5 ± 4.1 olarak hesaplandı ($p=0.03$).



Şekil 13. Tedavi öncesi ve sonrası dokudaki VEGF düzeyleri

TARTIŞMA

Kliniğinin çok iyi bilinmesine karşın etyolojisi ve patofizyolojisi tam olarak aydınlatılmamış olan endometriozis yaygın bir jinekolojik hastalıktır (117) ve üreme çağındaki kadınların %10'unu etkiler. Ağrı, infertilite ve pelvik kitleye yol açar (115). Histolojik olarak benign bir hastalık olmasına rağmen tıpkı tümör gibi büyür, infiltre eder ve çevre dokuya invazyon gösterir. Yapılan birçok çalışmaya rağmen patofizyolojisi hala aydınlatılmamıştır. Yaygın olarak kabul gören teori dökülen endometriomun retrograt menstrasyonla peritoneal kaviteye gelip implante olmasıdır (1). Altında yatan patofizyolojik mekanizma ne olursa olsun endometriotik lezyonların gelişmesindeki anahtar rolün anjigenezis olduğu çok iyi bilinmektedir. Ayrıca ektopik endometrial implantın başarısı neoanjigenezis, fibrozis, adezyon formasyonu, apoptozisten kaçınma, immun disfonksiyon ve nöronal infiltrasyon gibi diğer mekanizmalara da bağlıdır (118, 119). Bu transplantasyon teorisine göre, peritoneal tabakaya kadar gelen endometrial hücrelerin canlı kalabilmesi ve endometriozis geliştirebilmesi için yeni damar gereksinimine ihtiyaç vardır (120, 121). Anjigenez ise yeni damar formasyonu için zorunlu bir mekanizmadır. Kadın üreme fizyolojisinde anjigenez, ciddi mekanizmalarla regüle edilerek normal üreme için gerekli olan folikül olgunlaşması, seçimi ve korpus luteumun gelişimi, endometrial büyüme ve yeniden yapılanma gibi fizyolojik olaylar düzenlenir (122, 123). Aslında endometriotik lezyonlar tipik olarak yoğun vaskülarizasyon ile karakterizedir (124). Böylece anjigenezin olduğu yerlerde yaygın vaskülarizasyon ve yeni damar oluşumlarının ortaya çıkması şaşırtıcı değildir.

Antianjiogenik tedavi yaklaşık olarak 30 yıl önce Folkman tarafından bir tümör yok edici konsept olarak sürülmüştür (125). Bu üç dekad boyunca araştırmacılar anjiogenik damar büyümesinin biyolojik mekanizmasıyla ilgili birçok çalışma yapmıştır. Yeni damar oluşumu ve yeni damar oluşumunun önlenmesi hakkında bildiklerimiz ortaya çıkmıştır.

İmmun hücrelerden salınan sitokinlerin endometriozisin patogenezinde önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur. Bu sitokinlerin birçoğu anjiogenik aktiviteye sahiptir. Peritoneal makrofaj ve aktive lenfositler bu proinflamatuvar/proanjjiogenik sitokinlerin salgılanmasında ana rol üstlenirler. Günümüzde birçok anjiogenik faktör tanımlanmıştır; asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörü (FGF-a, FGF-b), TNF, VEGF bunlardan bazılarıdır (118, 122). VEGF, yeni damar büyümesinde ve immatür vasküler yapının sürvisine katkı sağlayarak bu

anjiogenik mekanizmada kilit bir rol alır (126). Hipoksi ve düşük pH gibi çevresel faktörler, östrojen ve progesteron gibi hormonlar, EGF, TGF, FGF, PDGF, IGF, IL-1, IL-6 gibi büyüme faktörleri VEGF ekspresyonunu stimüle eder. Ayrıca src, ras ve bcr-abl gibi protoonkogenler ve p53, p73 ve vHL gibi tümör supresor genler de VEGF upregülasyonunda rol alır (127). Şu ana kadar beş tane VEGF ligandı tanımlanmıştır. VEGF-A anjiogenezde en önemli rolü alan ligand gibi görünmektedir. VEGF temel olarak VEGFR-2 reseptörü üzerinden etkisini göstermektedir (126). Bizim çalışmamızda da tedavi öncesi hem dokuda hem de periton sıvısında VEGF değerleri düşük iken ekim sonrası bu değerlerin yüksek olduğu saptandı.

Aynı zamanda vasküler permeabilite faktörü olarak ta bilinen VEGF, endotelial hücre spesifik mitojenik aktivite ile güçlü bir anjiogenik etkinlik gösterir (128). Etkisini endotelial hücre proliferasyonu, migrasyonu, tubul şeklinde organizasyonunu ve permeabilite artışını indükleyerek gösterir. Bütün bu sayılan mekanizmalar anjiogenik kaskadın basamaklarını oluşturmaktadır (129). Normal insan endometriumunda da bulunan VEGF birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli rol oynar (130). Kültür ortamında insan desidual endotelial hücrelerin büyümesini tetikleyen yegane faktör olarak VEGF saptanmıştır. Bu, VEGF'nin uterin anjiogenezde ne kadar önemli olduğunu gösterir (131). Daha da ötesi, endometriotik hücreler VEGF sentezleyebilir ve sekrete edebilir (132). Bunun yanında aktive olmuş peritoneal makrofajlar da VEGF salgılayarak hem uterin endometrium hem de ektopik endometrial dokuda hücrelerin aktivasyon ve sekresyon için özelleşmesini sağlar. Ektopik endometrial hücrelerin periton yüzeyine temasından sonra, yukardaki mekanizmalarla salınan yüksek dozdaki VEGF ile subperitoneal vasküler ağ gelişimi uyarılarak implantasyon ve hücrelerin canlılığının idamesi sağlanmış olur. İmplant olan hücreler de VEGF salgılayarak kapiller membran permeabilitesinin daha da artmasına sebep olur. Bu ekstraselüler sahaya makrofaj toplanmasına ve fibrin ürünlerinin buraya yığılmasına yol açar. Bu güçlü anjiogenik fonksiyonu nedeniyle endometriozis tedavisinde çekici bir terapötik yaklaşım olarak VEGF'in inhibe edilmesi gündeme gelmiştir (133).

Şu ana kadar klinik çalışmalarla bildirilmiş 30'a yakın anjiogenez inhibitörü vardır. Bunların yanında birçok ümit verici invitro ve hayvan modeli çalışmaları da yeni adayları ortaya çıkarmaktadır. Yakın geçmişte anjiogenez inhibitörleri kanser ve yaş ile ilintili maküla dejenerasyonunun tedavisi için onay almıştır. Anjiogenez, mevcut olan bir damardan köken alan yeni damar formasyonunu içeren kompleks bir durumdur. VEGF ve VEGF reseptörü fizyolojik hadiselerde olduğu kadar birçok malignitede de rol oynar. Fetal ve neonatal gelişim

süresince büyüme ve çoğalmada gerekli olan VEGF kanser hücrelerinin gelişip yayılmasında da esas rolü üstlenir. Bevacizumab, bir anti VEGF antikordur ve meme, kolorektal, pankreas, prostat, küçük hücreli dışı akciğer, metastatik böbrek ve over kanserleri gibi birçok solid tümörde etkin olarak kullanılmaktadır (134,135,136). Rekürren uterin kanserlerde Bevacizumab'ın faydalı olduğuna dair seriler yayınlanmıştır (137). Özellikle ilerlemiş kolorektal kanserlerde Bevacizumab çok etkili bir şekilde kullanılmaktadır (138). Bevacizumab metastatik kolorektal kanserde sürviyi %30 arttırarak hasta yaşam süresini bu grup hastada düzelten ilk ilaç olmuştur (139). Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 2004 yılında metastatik kolorektal kanserlerde Bevacizumab'ı ilk tercih tedavi olarak onaylamıştır. Bunların yanında glioblastom başta olmak üzere primer ve metastatik beyin tümörlerinde de Bevacizumab kullanılmaktadır (140). Bevacizumab'ın ayrıca rekürren ovaryen stromal tümörlerinin monoterapisinde de etkin olduğu kanıtlanmıştır (141). Uterus, over ve serviks kanserlerinde de deneysel de olsa bevacizumab yer bulmaya başlamıştır (142).

Kanser tedavisindeki etkin kullanımının yanında Bevacizumab'ın endometrioziste faydalı olabileceğini düşündüren bulgu birçok otörün de gösterdiği orta ve ileri düzey endometriotik kadınların peritoneal sıvısında yüksek doz VEGF varlığı olmuştur (132,143). Normal endometrial dokuda siklik olarak değişen VEGF'in steroid hormon kontrolü altında olduğu ve östradiol ile regüle edildiği saptanmıştır (144). Buna karşın McLaren ve ark.ları (145) endometrioziste VEGF'in makrofajlarca sentezlendiğini ve ovaryen steroidlerle regüle edildiğini bildirmiştir. Donnez ve ark.ları ise endometrizisli hastalarda özellikle geç sekretuar fazda endometriumlarında önemli miktarda VEGF bulunduğunu tespit etmiş ve normal kadınlardan farklı olarak bunların endometriozis geliştirmeye daha yatkın olduklarını ileri sürmüşlerdir (120). Bu bulgudan yola çıkarak endometriozis histopatogenezinde ötopik endometriumun kendisinin kritik rol oynadığı fikrini ortaya atmışlardır. Bunun yanında özellikle kırmızı peritoneal endometriotik implantlarda (146) ve endometriomalarındaki (147). VEGF'in daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İnsan endometrial hücrelerin önemli düzeyde anjiogenik olduğu ve endometriozisi bu ötopik endometrial hücrelerin başlattığını işaret eden ciddi yayınlar mevcuttur (148). Endometriozisli hastaların peritoneal sıvısında çözünebilir VEGF yüksek konsantrasyonlarda toplanır. Ayrıca bu oluşan endometriotik implantlarda, peritoneal makrofajlarda ve aktive edilen nötrofillerde de VEGF sentezlenme ve salınma kapasitesi vardır (145, 151). Retrograt menstrasyon süresince VEGF eksprese eden glandular hücrelerin peritoneal kaviteye aktığı Smith ve ark.ları tarafından teyit edilmiştir (149). VEGF'nin aşırı eksprese olduğu diğer bir endometriozis hastalığı ise DIE (Derin infiltratif

endometriozis) durumudur. Machado ve ark.ları endometriozisin bu subgrubunda VEGF ekspersyonu ile mikrovasküler yoğunluk arasında ciddi bir korelasyon olduğunu saptamıştır (151). Her ne kadar endometriozis ile ilişkili bu anjiogenik faktörler saptanmış olsa da lezyonlarda saptanan neovaskülarizasyonun tam olarak mekanizması net değildir.

Endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, steroid hormonları, proanjiogenik faktörler, makrofajlar, endometriyal ve kırmızı kan hücreleri bulunur (132,152). Bu hastaların peritoneal sıvılarındaki lökositler önemli miktarlara VEGF üretebilirler (153). Dahası, bu peritoneal sıvıdaki VEGF düzeyi ile endometriozisin evresi arasında da bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (132). Bu bulgular ışığında endometriozisin tipik olarak kanser, diyabetik retinopati ve psoriasis gibi bir anjiogenik hastalık olduğu kolaylıkla söylenebilir.

Günümüzde endometriozisin tedavisi farmakolojik olarak implantların baskılanması veya cerrahi olarak da çıkarılması şeklindedir. Endometriotik hücrelerin uzun dönem yaşaması östrojen kontrolünde olduğundan (154), klasik farmakolojik tedavi endojen östrojen üretiminin süprese edilmesi esasına dayanır. Bunun için doğum kontrol hapları, progestajenler, GnRH analogları, androjenik ajanlar veya aromataz inhibitörleri kullanılır (155). Ancak bu tür tedavilerin uzun dönem kullanılmasıyla ortaya çıkan yan etkiler nedeniyle çok uzun süreler kullanımları mümkün olmaz. Sıklıkla yan etkilerden ötürü mecburi olarak tedavi kesildikten sonra hastalık tekrar nüks eder (156). Cerrahi olarak lezyonları çıkarmak sadece geçici olarak etkili olmakla kalmaz, aynı zamanda çok yüksek nüks oranı ile karşımıza çıkar (157). Bunun yanında cerrahinin over rezervini azaltma, ameliyata bağlı gastrointestinal ve ürolojik komplikasyonları ortaya çıkarma gibi olumsuz taraflarını da gözardı etmemek gerekir. bu nedenlerden ötürü endometriozisin tedavisi için acil olarak yeni, garantili ve nüks oranı düşük tedavi modalitelerine gereksinim vardır. Endometriozis multifaktöryel bir hastalıktır ve vazkülogenezis hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynar (158). Bundan ötürü, anjiogenezis üzerine odaklanan yeni tedavi modaliteleri hastalığın yok edilmesi ve uzun dönem nükslerin azaltılması için ümit verici bir kapı aralamaktadır.

Son 4 dekadda endometriozisin medikal tedavisi belirgin olarak ilerlemiş olup klinisyen için öncekine oranla daha fazla seçenek mevcuttur. Antianjiogenik faktörler gibi yeni ajanlar endometriozis tedavisine yeni bir perspektif sunmaktadır ancak bu ilaçların gelişimi potansiyel yan etkilerini gözlemlemeyi gerektirir. Anti VEGF antikoruyla tedavi fare

endometriozis modelinde lezyon sayısında belirgin azalma ile sonuçlanmıştır (159). TNP-470, endostatin ve anjineks gibi anjiogenez inhibitörleri fare modelindeki endometriotik lezyon sayısını azaltmaktadır (159). TNP-470' in oral nontoksik formülasyonu Lodamin, endometrioziste antianjiogenik terapinin potansiyel klinik kullanımını gösteren fare endometriozis modelinde dolaşan endotelial hücrelerin ve endotelial progenitör hücrelerin mobilizasyonunu suprese etmiş ve endometriotik lezyon büyümesini inhibe etmiştir (159). Bir histon deasetilaz inhibitörü olan Romidepsin, endometrioziste anjiogeneze karşı potansiyel terapötik ajan aday olabilir. Ölümsüzleştirilmiş insan epitelyal endometriotik hücreleri ile yapılan invitro bir çalışmada bu ajanın VEGF gen transkripsiyonunu, protein ekspresyonunu ve VEGF sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (160). Lipoxin A4 (LXA4) inflamasyonun regülasyonunda rolü olan endojen bir eikanoiddir. Bu lipid endotelial hücre migrasyonunu ve VEGF'nin stimüle ettiği anjiogenezi bloke edebilir (161). Selektif COX-2 inhibitörü olan Parecoxib, rat peritoneal endometriozis modelinde lezyon boyutlarını, mikrodamarların dansitesini, makrofaj sayısını ve VEGF ekspresyonunu azaltarak endometrial lezyonların atrofisini ve regresyonunu sağlamıştır (162). Deneysel SCID fare endometriozis modelinde yeşil çayın major bileşeni *Epigallocatechin gallate*'nin da endometriotik lezyon boyutlarını , mikrodamar çapı ve dansitesini ve VEGF mRNA ekspresyonunu azaltarak antianjiogenik özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında yeşil çaydan elde edilen bu özüt endometriotik lezyonlardaki apoptozisi arttırmaktadır (163). Başka bir çalışmada da *Epigallocatechin gallate*'nin hamster endometrial hücrelerinde VEGF ekspresyonunu in vitro bloke ederek ve anjiogenezi ve endometriotik lezyonlardaki kan perfüzyonunu in vivo inhibe ederek endometriotik lezyonların gerilemesini indüklediği gösterilmiştir (164). Yeşil çayın bu antianjiogenik ve proapoptotik özellikleri endometriozisin tamamlayıcı tedavisinde kullanılabileceğini desteklemektedir ancak potansiyel yararı klinik çalışmalarda değerlendirilmelerden ibarettir. Anti-anjiogenik özellikleri olduğu bilinen retinoik asit farede endometriotik implant hacimlerini azaltmıştır. (165). Antianjiogenik etkileri de mevcut olan immunsupresan ajan Rapamycin, in vitro modelde neovaskularizasyonu ve hücre proliferasyonunu inhibe ederek endometriotik lezyonların regresyonunu indüklemiştir (166). Atorvastatin, endometriotik hücrelerde inflamatuvar ve anjiogenic COX-2 ve VEGF yi inhibe eder (167). Başka bir anti-anjiogenic olan Sorafenib, oral olarak alınabilen aktif bir multikinaz inhibitörüdür ve tirozin kinaz reseptörleri üzerinden veya direkt yollardan VEGF reseptör aktivitesini etkiler. Bu ratlarda indüklenerek oluşturulmuş endometriotik implantlardaki lezyon volümlerinin azalmasına ve mikrodamar yoğunluklarının azalmasına yol açar (168). Bir dopamin agonisti olan Kabergolin de VEGFR-2 inaktivasyonu ile antianjiogenic bir

etkinlik göstererek oluşturulan endometriotik lezyonların büyümesini yavaşlatır (169). Dahası Kabergolin endometriotik lezyonlardaki VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunu anlamlı olarak azaltır (172). Quinagolid de dopamin 2 (D2) reseptörlerine bağlanarak VEGF/VEGFR-2 down regülasyonuna yol açar ve neoanjiogenezi inhibe ederek aktif endometriotik odakların boyutlarını küçültür (171).

Bir immunglobulin G olan Bevacizumab, VEGF ve izomerlerinin aktivitesini inhibe eder (139). Bevacizumab'ın yarılanma ömrü 11-50 gün arasındadır (ortalama 20 gün civarında). Bu nedenle çok küçük dozlarda bile (0.3 mg/kg) VEGF reseptörüne bağlanarak etkin bir blokaj sağlayabilir (172). Bu bilgi akılda tutularak haftada 2 kez uygulanan 5mg/kg lık dozların kabul edilebilir olduğu söylenebilir. Bu dozda bile 12 hafta sonra aktif ilaç düzeyleri hala saptanabilmektedir (173). Örneğin kolorektal kanserde irinotekan ile kombine olarak haftada iki kez 5mg/kg IV Bevacizumab kullanılmaktadır (174). Endometriozisin gelişmesinde ve progresyonunda birçok mekanizma suçlanmış olsa da hemen hepsinde anjiogeneze ihtiyaç vardır. Bu nedenle yeni damar oluşumu mekanizma ne olursa olsun endometriozisin büyümesinde ve gelişmesinde temel koşul olarak kabul edilmektedir (132). Bu hastalıktan muzdarip olan kadınların periton sıvılarında, serumlarında ve endometriotik odaklarında anjiogenic sitokinler yüksek seviyededir (175). Anti-anjiogenik terapilerin rat modellerinde indüklenen endometriotik odakların gelişimini suprese ettiği bilinmektedir (176,178). Bevacizumab, rekombinant insan monoklonal bir antikoru olarak VEGF yi inhibe eder, endometriotik hücrelerin proliferasyonunu baskılar ve peritoneal sıvıdaki VEGF yi azaltır (178). Bevacizumab endometriotik odaklarda küçülme yaparken aynı zamanda over rezervi üzerine olumsuz etki yapmadığı yine rat modellerinde gösterilmiştir (179).

Anjiogenez endometriyumun siklik olarak değişimi, korpus luteumun oluşumu ve idamesi, embriyonal ve fetal gelişim gibi birçok reproduktif hadisede kilit bir rol alır. Bu nedenle antianjiogenik potansiyeli olan ilaçlar hem hayvan modellerinde hem de insan çalışmalarında reproduktif fonksiyonlar üzerine olumsuz etki gösterirler (180). Bu durum üreme çağındaki hastalarda anti anjiogenik tedavileri oldukça riskli bir hale getirir. Bu nedenle öncelikle normal ve ektopik endometriyumun anjiogenik mekanizmalarını net olarak bilmek ve sonra da bu anjiogenez inhibitörlerini öncelikle insanlar yerine hayvan modellerinde çalışarak güvenlik profilleri çıkarılmalı ve daha sonra insanlar için kullanımlarının önü açılmalıdır (181). Etik sorunlar nedeniyle geniş populasyon örneklerinde çalışma yapılamaması, etiyolojik neden-sonuç ilişkilerinin araştırılabilmesindeki zorluklar, endometriyozis

gelişimine ve progresyonuna etki edebileceği düşünülen ilaçların klinik çalışmalar öncesinde tetkik edilmesi gerekliliği gibi sebepler nedeniyle hayvan çalışmaları günümüzde endometriyozis patogenezinin anlaşılmasında sıkça kullanılmaktadır (2). Kemirgenler, maliyetlerinin düşük olması, kolay üretilmesi, bakımlarının nispeten daha kolay olması, denek sayısının artırılabilmesi ve oluşturulan lezyonların genetik olarak benzer özelliklerin gözlemlendiği bireylerde yapılabilmesi nedeniyle primatlara göre daha sık tercih edilmektedirler (2). Biz de çalışmamızı bu nedenlerden dolayı rat endometriozis modelinde gerçekleştirdik.

Bevacizumab hayvan çalışmalarında peritoneal sıvıdaki VEGF seviyesini azaltır. Fakat bizim çalışmamızda Bevacizumab ile endometriotik odaklarda ciddi bir zalmayla birlikte doku VEGF seviyesinde anlamlı bir düşüş tespit edilmesine karşın, periton sıvısındaki VEGF düzeylerinde aksine bir artış saptadık. Bu ümit verici deneysel gözleme rağmen endometriozis tedavisinde Bevacizumab hakettiği noktaya gelememiştir. Çünkü tromboz, arteriyel hipertansiyon, proteinüri, gastrointestinal trakt veya nazal septum perforasyonu, yara iyileşme problemleri, irreversible löko-ensefalopatiler, alerjik deri kızarıklıkları ve hipersensitivite reaksiyonları gibi birçok yan etkileri bildirilmiştir (183,184,185). Mekanizması tam olarak bilinmese de ölümcül bir durum olabilen nekrotizan fasit Bevacizumab alanlarda görülebilir (185). Bu tedavilerde görülen yara iyileşme anomalileri; yara dehisensi, ekimoz, kanama veya yara yeri enfeksiyonu şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Hipersensitivite reaksiyonları ise ateş basması, kaşıntı, arteriyel hipertansiyon, sertlik, bronkokonstrüksiyon, göğüs ağrısı, ve terleme şeklinde kendini gösterebilir. Önemli oranda da postoperatif kanama izlendiği not edilmiştir (186). Jinekolojik kanserler için Bevacizumab alan bir hastada geçici 6. Sinir paralizi bildirilmiştir (187).Derin ven trombozu, pulmoner embolizm, geçici iskemik ataklar ve akut mezenter iskemi gibi tromboembolik hadiseler de görülebilen diğer yan etkiler arasında sayılabilir (188). Arteriyel tromboembolik hadiseler riskini arttıran Bevacizumab alan bir hastada vertebral arter diseksiyonuna bağlı olarak serbrovasküler felç gelişmiştir (189).Sayılan bütün bu yan etkilerden ötürü Bevacizumab alan hastaların çok yakın monitorizasyonu ve takibi zorunlu hale gelmektedir (172). Bütün bu literatür verisine karşın çalışma süresince herhangi bir rat kaybı yaşamadık. Özellikle abse veya yara dehisensi hiç görmedik. Bu ümit verici bulgu belki de endometriozis için insan çalışmalarının başlamasına yol gösterici olabilir.

Bevacizumab'ın kontrendikasyonları; rekombinant monoklonal antikorlara karşı aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişmesi, gebelik, emzirme, kanama riskinden dolayı beyin metastazı

olan tümörler, gastrointestinal perforasyon, yara iyileşme problemleri, arteryal hipertansiyon, proteinüri, tromboembolik epizodların varlığı, kanama, konjestif kalp yetmezliği ve kardiyomiyopatidir. (172). Anjiogenez plasental ve fetal gelişim için olmazsa olmaz bir mekanizmadır (190). Bu ilaçların erken dönemdeki teratojenik etkileri hala tam olarak bilinmemektedir. VEGF-2 ile indüklenen endotelial hücre haberleşmesi gebelikte luteal kan damarlarının fonksiyonel olarak idamesi için gerekmektedir. Yakın zamanda, Bevacizumab'ın rat gebeliklerinde erken fetal gelişimi bozduğuna dair bir çalışma yayınlanmıştır (191).

Son yıllarda endometriozisde anti anjiogenik etkinliği olan birçok ilaç test edilmiştir. Tipik olarak bu ilaçlar kanser tedavisindeki anti-anjiogenik etkileri gözönünde bulundurularak seçilmiştir. Aynı etkilerin göstermek üzere de bu ilaçlar endometriozis tedavisine transfer edilmişlerdir. Endometriozis de gerçekten tıpkı kanserde olduğu gibi gelişmesi için anjiogeneze ihtiyaç duyar. Ancak iki hastalık için anti-anjiogenik ilaç kullanımı arasındaki fark tamamen güvenlikle ilgilidir. Çünkü endometriozis kanser gibi ömrü kısaltan bir durum değildir ve etkilenen grup çoğunlukla genç kadınlardır ve bunların da çoğu fertilité arzusu olan kişilerdir. Fizyolojik anjiogenezin üreme fonksiyonlarında aldığı rolleri gözönünde bulundurursak, özellikle endometriozis hedeflenerek verilen bu tür tedavilerin tedavi süresince veya en azından tedavi kesildikten sonra over ve uterus üzerinde yeni damar gelişimiacısından uzun dönem olumsuz yan etkilerinin olmaması gerektiği de aşikar olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bunun yanında gelecekte anti-anjiogenik terapilerin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasını etkileyen en önemli faktör özellikle bu genç hastalardaki bu ilaçların gebelik üzerindeki teratojenik etkileri olacaktır.

Unutulmamalıdır ki, endometriotik odaklardaki yeni damar oluşumu sadece ve sadece bir mekanizma üzerinden olmamakta , birçok mediatör ve yol bu olayda görev almaktadır (192). Bu, sadece bir yol bloke edildiğinde diğer mekanizmaların up regülasyonu ile yeni damar gelişiminin yine de gerçekleşebileceğine işaret eden güçlü bir kanıttır. Bu problemin üzerinden gelmek için, muhtemelen en uygun yol, birçok mekanizma üzerinden etki ederek neovaskülarizasyon gelişimini bloke edebilmekten geçer. Endometriozisdeki heterojenite göz önüne alınırsa, sadece tek bir anti-anjiogenik ilaçla hastalığın tamamen eradike edileceğini beklemek çok gerçekçi değildir. Bununla birlikte özellikle anti-anjiogenik etkinliğin çok fazla olduğu hastalığın çok erken dönemlerinde veya cerrahi sonrası erken dönemde bu ilaçların kullanılması yeni endometriotik odakların gelişmesini baskılayarak hastalığın progresyonunda

veya rekürrensinde önemli oranda azalmaya yol açabilir. Bu nedenle başka tedavi modaliteleri ile kombine edilerek kullanılabilen, etkin ve daha az yan etki profili olan anti-anjiogenik preparatlara ihtiyaç vardır. Yeni geliştirilecek olan bu tür ilaçlarda en önemli şey güvenlidir ve bunun özellikle klinik kullanımdan önce deneysel modeller üzerinde test edilmesi gerekmektedir.

Endometrioziste en önemli sorun tekrarlayan bir hastalık olmasından kaynaklanır. Hangi tedavi uygulanırsa uygulansın tedavi kesildikten veya cerrahinin üzerinden bir süre geçtikten sonra hastalığın nüks etmesi büyük bir sorun doğurur. Günümüzde nükse yönelik herhangi bir tedavi odalitesi geliştirilememiştir. Bizim çalışmamızda Bevacizumab erken dönemde lezyon volümlerinde anlamlı düşüş yapmış fakat histopatolojik skorlardaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak rekürrens değerlendirmesi için ilaç kesildikten sonra tekrar ratlar östrojenize edildiğinde volümlerinin artmadığı ve küçülmenin devam ettiği görüldü. Daha da önemlisi histopatolojik skorlarda ileri derecede anlamlı olarak azalma gözlemlendi. Çalışmamızdaki bu çok ümit verici gelişme özellikle rekürren endometriozis vakalarında Bevacizumab'ı bir seçenek haline getirebilecektir.

Sonuç olarak multifaktöryel olduğu düşünülen endometriozisin gelişim mekanizması tam olarak bilinmese de, nasıl oluşursa oluşsun implantların büyümesi, invaze olması ve yayılması için mutlaka gerekli olan şey yeni damar oluşumudur. Anjiogenezis endometriozisin progresyonunda can alıcı bir görev üstlenir. Bizim çalışmamızda da gösterildiği gibi artmış VEGF içerikleri bu hastalığın patofizyolojisine bakışımızı derinden değiştirmektedir. Anjiogenezin kritik basamak olduğu düşünüldükten sonra hedefimiz buna yönelik terapötik yaklaşımların geliştirilmesi olmalıdır. Anti-anjiogenik ilaçların bu hastalık için kullanımı için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Özellikle gebe kalmayı düşünün genç kadınlar için güvenli ve yan etkisi az ilaçların geliştirilmesi gerekmektedir. Bir anti-VEGF olan Bevacizumab endometriozis yönetiminde yeni ufuklar açabilir. Çünkü endometriozis oluşumunu engellemesi yanında regresyonunun da sağlar ve nüksleri azaltır. Fakat ne yazık ki kanserdeki kullanımının aksine endometriozis üzerinde kullanımı sadece hayvan modelleri ile sınırlı kalmıştır. Daha çok çalışmaya ve nihayetinde insan modellerine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Sampson, J.A. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the pelvic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927; 14: 422–469.
2. Irene Tirado-Gonzalez, Gabriela Barrientos, Najda Tariverdian, Petra C. Arck, Mariana G. Garcia, Burghard F. Klapp et al. Endometriosis research: animal models for the study of a complex disease. *Journal of Reproductive Immunology* 2010; 86: 141-147.
3. Groothuis PG, Koks CA, de Goeij AF, Dunselman GA, Arends JW and Evers JL Adhesion of human endometrial fragments to peritoneum in vitro. *Fertil Steril* 1999; 71:1119-1124
4. Maas JW, Le Noble FA, Dunselman GA, de Goeij AF, Struyker Boudier HA and Evers JL. The chick embryo chorioallantoic membrane as a model to investigate the angiogenesis properties of human endometrium. *Gynecol Obstet* 1999; 48:108-112
5. Rogers PA, D'Hooghe TM, Fazleabas A, Gargett CE, Giudice LC, Montgomery GW, et al. Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop. *Reproductive Science* 2009; 16:335-346.
6. Missmer S, Cramer D. The epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2003; 30:1-19
7. Matroass R, Rodriguez F, Pijoan JI, Ramon O, Gutierrez de Teran G, Rodriguez-Escuredo FJ. Epidemiology of endometriosis in infertile women. *Fertil Steril* 1995; 63:34-38
8. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24:235-58
9. Signorello LB, Harlow BL, Cramer DW, Spiegelman D, Hill JA. Epidemiologic determinants of endometriosis: A hospital-based case-control study. *Ann Epidemiol* 1997; 7:267-274.
10. Cramer DW, Wilson E, Stillman RJ, Berger MJ, Belisle S, Schiff I, Albrecht B, Gibson M, Stadel BV, Schoenbaum SC The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *J AM Med Assoc* 1986; 255:1904-1908

11. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and Sterility*. 1997; 67:817–821.
12. Oral E, Arici A. Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24:219-233
13. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2004; 18:177–200.
14. R. Gazvani, A. Templeton. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2002; 76:117-126
15. Meyer R, Sber den stand der frage der adenomyositis und adenomyome im allgemeinen und insbesondere ober adenomyositis seroepithelialis und adenomyometritis sarcomatosa. 1919; 36:745-750
16. Vignali M, Infantino M, Matrone R, Chiodo I, Somigliana E, Busacca M & Viganò P Endometriosis: novel etiopathogenetic concepts and clinical perspectives. *Fertility and Sterility* 2002; 78:665–678
17. D. Vinatier, G. Orazi, M. Cosson, P. Dufour. Theories of endometriosis. *Europena Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2001; 96:21-34
18. Zeitoun K, Takayama K, Michael MD and Bulun SE. Stimulation of aromatase P450 promoter (II) activity in endometriosis and its inhibiton in endometrium are regulated by competetive binding of SF-1 and COUP-TF to he same cis-acting element. *Molecular Endocrinology* 1999; 13:239-253
19. Yang S, Fang Z, Takashi S, Hironobu S, Jianfeng Z, Gurates B, Tamura M, Ferrer K and Bulun SE Regulation of aromatase P450 expression in endometriotic and endometrial stroma cells by CCAT/enhancer binding proteins: decreased C/EBPbeta in endometriosis is associated with overexpression of aromatase. *J. Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:2336-2345.

20. Gurates B, Sebastian S, Yang S, Zhou J, Tamura M, Fang Z, Suzuki T, Sasano H and Bulun, SE. WT1 and DAX-1 inhibit aromatase P450 expression in human endometrial and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4369-4377
21. Fang ZJ, Yang S, Gurates G, Tamura M, Simpson ER, Evans D and Bulun SE. Genetic or enzymatic disruption of aromatase inhibits the growth of ectopic uterine tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87:3460-3466
22. Bulun SE, Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Zhou J and Sebastian S. Role of aromatase in endometrial disease. *J Steroid Biochem Mol. Biol.* 2001; 79:19-25
23. Kitawaki J, Noguchi T, Amaatsu T, Maeda K, Tskumamoto K, Yamamoto T, Fushiki S, Osawa Y and Honjo H. Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biology of Reproduction* 1997; 57:514-519
24. Stocco DM, Wang X, Jo Y, Manna PR. Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Mol Endocrinol.* 2005; 19:2647-2659
25. Attar E, Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Human Reprud Update* 2006; 12:49-56
26. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM, Putman JM, Johns DA, Hinshelwood MM, Agarwal VR, Zhao Y, Carr BR, Bulun SE. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:600-606.
27. Linda C. Giudice, Lee C. Kao. Endometriosis. *Lancet* 2004; 364: 1789-1799
28. Kennedy S, Mardon H and Barlow D. Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:32-34.
29. Kennedy S, Hadfield R, Mardon H and Barlow D. Age of onset of pain symptoms in non-twin sisters concordant for endometriosis. *Hum Reprod* 1996; 11:403-405.
30. Simpson JL and Bischoff FZ, Heritability and Molecular genetic studies of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955:239-251.

31. Baranov VS, Ivaschenko T, Bakay B, Aseev M, Belotserkovskaya R, Baranova H, Malet P, Perriot J, Mouraire P, Baskakov VN, Savitskyi GA, Gorbushin S, Deyneka SI, Michnin E, Barchuck A, Vacharlovsky V, Pavlov G, Shilko VI, Guembitzkaya T, Kovaleva L. Proportion of the GSTM1 0/0 genotype in some Slavic populations and its correlation with cystic fibrosis and some multifactorial diseases. *Hum Genet* 1996; 97:516-520.
32. Baranova H, Borthorishvilli R, Canis M, Albuisson E, Perriot S, Glowaczower E, Bruhat MA, Baranov V and Malet P. Glutathion S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population. *Mol Hum Reprod* 1997; 3:775-780.
33. Kennedy S. Genetics of endometriosis: a review of the positional cloning approaches. *Semin Reprod Med.* 2003; 21:111-118.
34. Geumenou AG, Arvanitis DA, Matalliotakis IM, Koumantakis EE, and Spandidos DA. Microsatellite DNA assays reveal an allelic imbalance in p16 (Ink 4), GALT, p53, and APOA2 loci in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75: 160-165
35. Markey CM, Wadia PR, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biol Reprod.* 2005;72:1344-1351
36. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV. Developmental effects of estrogenic chemicals are predicted by an in vitro assay incorporating modification of cell uptake by serum. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999; 69:343-357.
37. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol.* 1993; 21:433-441
38. Kahn PC, Gochfeld M, Nygren M, Hansson M, Rappe C, Velez H, Ghent-Guenther T, Wilson WP. Dioxins and dibenzofurans in blood and adipose tissue of Agent Orange-exposed Vietnam veterans and matched controls. *JAMA.* 1988; 259:1661-1667
39. Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, Barlow DH. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod.* 1994; 9:1001-1002

40. Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1997; 12:373-375
41. Ingram DM, Bennett FC, Willcox D, de Klerk N. Effect of low-fat diet on female sex hormone levels. *J Natl Cancer Inst.* 1987; 79:1225-1229.
42. Bennet FC, Ingram DM. Diet and female sex hormone concentrations: an intervention study for the type of fat consumed *Am J Clin Nutr* 1990; 52:808-812
43. Olive L, Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993; 328:1759-1769
44. Marsh EE, Laufer MR Endometriosis in premenarcheal girls who do not have an associated obstructive anomaly: *Fertil Steril.* 2005; 83:758-760.
45. Goldstein DP, deCholnoky C, Leventhal JM, Emans SJ. New insights into the old problem of chronic pelvic pain. *J Pediatr Surg.* 1979; 14:675-680.
46. Yamamoto K1, Mitsuhashi Y, Takaike T, Takase K, Hoshiai H, Noda K Tubal endometriosis diagnosed within one month after menarche: a case report. *Tohoku J Exp Med.* 1997; 181:385-387.
47. Sangi-Haghpeykar H1, Poindexter AN 3rd. Epidemiology of endometriosis among parous women. *Obstet Gynecol.* 1995; 85:983-992.
48. Chatman DL, Ward AB. Endometriosis in adolescents. *J Reprod Med* 1982; 27:156-160
49. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol* 2004; 160:784-796
50. Treloar SA, Bell TA, Nagle CM, Purdie DM, Green AC. Early menstrual characteristics associated with subsequent diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 ;202: 534.e1–534.e6
51. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Malspeis S, Willett WC, Hunter DJ. Reproductive history and endometriosis among premenopausal women. *Obstet Gynecol.* 2004;104:965-974
52. Hediger ML, Hartnett HJ, Louis GM. Association of endometriosis with body size and figure. *Fertil Steril* 2005; 84:1366-1374

53. Somigliana E, Viganò P, Abbiati A, Gentilini D, Parazzini F, Benaglia L, Vercellini P, Fedele L. 'Here comes the sun': pigmentary traits and sun habits in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2010; 25:728-733.
54. Hornstein MD, Thomas PP, Sober AJ, Wyshak G, Albright NL, Frisch RE. Association between endometriosis, dysplastic naevi and history of melanoma in women of reproductive age. *Hum Reprod.* 1997; 12:143-145.
55. Sinali N, Plumb K, Cotton L, et al. Differences in characteristics among 1000 women with endometriosis based on extent of disease. *Fertil Steril* 2008; 89:538–545
56. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20:2698-2704
57. Seaman HE, Ballard KD, Wright JT, de Vries CS. Endometriosis and its coexistence with irritable bowel syndrome and pelvic inflammatory disease: findings from a national case-control study--Part 2. *BJOG.* 2008; 115:1392-1396.
58. Husby GK, Haugen RS, Moen MH. Diagnostic delay in women with pain and endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003; 82:649-653
59. Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O, et al. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertil Steril* 1996: 65:299-304
60. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosis. Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain. *Human Reprod* 2001; 16: 2668-2671
61. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, et al. Pain symptoms associated with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1992; 79:767-769
62. Berlanda N, Vercellini P, Carmignani L, Aimi G, Amicarelli F, Fedele L. Ureteral and vesical endometriosis. Two different clinical entities sharing the same pathogenesis. *Obstet Gynecol Surv.* 2009; 64:830–842
63. Ballard K, Lane H, Hudelist G, Banerjee S, Wright J "Can specific pain symptoms help in the diagnosis of endometriosis? A cohort study of women with chronic pelvic pain". *Fertil. Steril.* 2010; 94: 20–27.

64. Fauconnier A, Chapron C, Dubuisson JB, Vieira M, Dousset B, Bréart G. Relation between pain symptoms and the anatomic location of deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril*. 2002; 78:719-726
65. Porpora MG1, Koninckx PR, Piazzze J, Natili M, Colagrande S, Cosmi EV. Correlation between endometriosis and pelvic pain. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1999; 6:429-434.
66. Koninckx PR1, Meuleman 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. 1991, 55:759-765
67. ACOG Committee on Practice Bulletins--Gynecology. ACOG Practice Bulletin No. 11: Medical management of endometriosis. *Obstet Gynecol*. 1999;94:1-14.
68. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 2000;71:183-196
69. Efstathiou JA, Sampson DA, Levine Z, et al. Nonsteroidal antiinflammatory drugs differentially suppress endometriosis in a murine model. *Fertil Steril* 2005; 83:171-181
70. Sinali N, Cleary SD, Ballweg ML, et al. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Hum Reprod* 2002; 17:2715-2724
71. Bischoff FZ, Simpson JL. Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6:37-44
72. Campbell IG, Thomas EJ. Endometriosis: candidate genes. *Hum Reprod Update* 2001; 7:15-20
73. Thomas EJ, Campbell IG. Molecular genetic defects in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 50:44-50
74. Simpson JL, Elias S, Malinak LR, Buttram VC Jr. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137:327-331.
75. Hsieh YY, Chang CC, Tsai FJ, et al. Estrogen receptor alpha dinucleotide repeat and cytochrome P450c17alpha gene polymorphisms are associated with susceptibility to endometriosis. *Molecular Human Reproduction* 2007;13:117-122

76. Crosignani PG, Luciano A, Ray A, Bergqvist A. Subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate versus leuprolide acetate in the treatment of endometriosis-associated pain. *Hum Reprod* 2006; 21:248-256
77. Schlaff WD, Carson SA, Luciano A, et al. Subcutaneous injection of depot medroxyprogesterone acetate compared with leuprolide acetate in the treatment of endometriosis-associated pain. *Fertil Steril* 2006; 85:314-325
78. Vercellini P, De Giorgi O, Oldani S, et al. Depot medroxyprogesterone acetate versus an oral contraceptive combined with very-low-dose danazol for long-term treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:396-401
79. Abou-Setta AM, Al-Inany HG, Farquhar CM. Levonorgestrel-releasing intrauterine device (LNG-IUD) for symptomatic endometriosis following surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2006
80. Wong AY, Tang LC, Chin RK. Levonorgestrel-releasing intrauterine system (Mirena) and Depot medroxyprogesterone acetate (Depoprovera) as long-term maintenance therapy for patients with moderate and severe endometriosis: a randomised controlled trial. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2010; 50:273-279
81. Vercellini P, Frontino G, De Giorgi O, et al. Comparison of a levonorgestrel-releasing intrauterine device versus expectant management after conservative surgery for symptomatic endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril* 2003; 80:305-309
82. Petta CA, Ferriani RA, Abrao MS, et al. Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20:1993-1998
83. Bayoglu Tekin Y, Dilbaz B, Altinbas SK, Dilbaz S. Postoperative medical treatment of chronic pelvic pain related to severe endometriosis: levonorgestrel-releasing intrauterine system versus gonadotropin-releasing hormone analogue. *Fertil Steril* 2011; 95:492-496
84. Tanmahasamut P, Rattanachaiyanont M, Angsuwathana S, et al. Postoperative levonorgestrel-releasing intrauterine system for pelvic endometriosis-related pain: A randomized trial. *Obstet Gynecol* 2012; 119:519-526
85. Walch K, Unfried G, Huber J, et al. Implanon versus medroxyprogesterone acetate: effects on pain scores in patients with symptomatic endometriosis--a pilot study. *Contraception* 2009; 79:29-34

86. Yisa SB, Okenwa AA, Husemeyer RP. Treatment of pelvic endometriosis with etonogestrel subdermal implant (Implanon). *J Fam Plann Reprod Health Care* 2005; 31:67-70
87. Strowitzki T, Marr J, Gerlinger C, et al. Dienogest is as effective as leuprolide acetate in treating the painful symptoms of endometriosis: a 24-week, randomized, multicentre, open-label trial. *Hum Reprod* 2010; 25:633-641
88. Chwalisz K, Perez MC, Demanno D, et al. Selective progesterone receptor modulator development and use in the treatment of leiomyomata and endometriosis. *Endocr Rev* 2005; 26:423.
89. Spitz IM. Clinical utility of progesterone receptor modulators and their effect on the endometrium. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009; 21:318-324
90. Telimaa S, Puolakka J, Rönnerberg L, Kauppila A. Placebo-controlled comparison of danazol and high-dose medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 1987; 1:13-23
91. Attar E, Bulun SE. Aromatase inhibitors: the next generation of therapeutics for endometriosis? *Fertil Steril* 2006; 85:1307-1318
92. Bulun SE, Zeitoun K, Takayama K, et al. Estrogen production in endometriosis and use of aromatase inhibitors to treat endometriosis. *Endocr Relat Cancer* 1999; 6:293-301
93. Nawathe A, Patwardhan S, Yates D, et al. Systematic review of the effects of aromatase inhibitors on pain associated with endometriosis. *BJOG* 2008; 115:818-822
94. Mousa NA, Bedaiwy MA, Casper RF. Aromatase inhibitors in the treatment of severe endometriosis. *Obstet Gynecol* 2007; 109:1421-1423
95. Ferrero S, Camerini G, Seracchioli R, et al. Letrozole combined with norethisterone acetate compared with norethisterone acetate alone in the treatment of pain symptoms caused by endometriosis. *Hum Reprod* 2009; 24:3033-3341
96. Cahill DJ. What is the optimal medical management of infertility and minor endometriosis? Analysis and future prospects. *Hum Reprod* 2002; 17:1135-1140

97. Hughes E, Fedorkow D, Collins J, Vandekerckhove P. Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;
98. Benaglia L, Somigliana E, Vighi V, et al. Rate of severe ovarian damage following surgery for endometriomas. *Hum Reprod* 2010; 25:678-682
99. Shaw RW. Treatment of endometriosis. *Lancet* 1992; 340:1267-1271
100. Jacques Donnez, Celine Pirard, Mireille Smets, Pascale Jadoul, Jean Squifflet. Surgical management of endometriosis. *Best Practise & Research Clinical Obstetrics and Gynecology* 2004; 18: 329-348
101. McVeigh, E. The surgical management of endometriosis. *Women's Health Medicine* 2005; 2: 29-33
102. Halmesmäki K, Hurskainen R, Tiitinen A, et al. A randomized controlled trial of hysterectomy or levonorgestrel-releasing intrauterine system in the treatment of menorrhagia-effect on FSH levels and menopausal symptoms. *Hum Reprod* 2004; 19:378-382
103. Kaiser PK. Antivascular endothelial growth factor agents and their development: therapeutic implications in ocular disease. *Am J Ophthalmol.* 2006;142;660-668
104. Erol N. Vasküler endotelial büyüme faktörü ve Anti-Vegf Ajanlar *Ret-Vit* 2007;15:35-40
105. Attar E, Genc S, Bulgurcuoğlu S, Topuz S, Serdaroğlu H. Increased concentration of vascular endothelial growth factor in the follicular fluid of patients with endometriosis does not affect the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003;80:1518-20
106. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH: Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med* 2005;9:777-794
107. Rahimi N. Vascular endothelial growth factor receptors: Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Exp Eye Res.* 2006;83:1005-1016
108. Bhisitkul RB.: Vascular endothelial growth biology of choroidal neovascularization. *Ophthalmol.* 2006;90:1542-1547

109. Shams N, Lanchulev T: Role of vascular endothelial growth factor in ocular angiogenesis. *Ophthalmol Clin N Am.* 2006;19:335-344
110. Attar E. Endometriosis olgularında serum vasküler endotelial growth faktör (VEGF) düzeyleri ve gen polimorfizmlerinin incelenmesi İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Programı Doktora Tezi
111. Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA: Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 2005;36:331-335
112. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004;350:2335-2342
113. Zhu X, Wu S, Dahut WL, Parikh CR. Risks of proteinuria and hypertension with bevacizumab, an antibody against VEGF. *Dis.* 2007;49:186-193.
114. Gordon MS, Cunningham D. Managing patients treated with bevacizumab combination therapy. *Oncology* 2005;69:25-33.
115. Yildirim G, Attar R, Ozkan F, Kumbak B, Ficicioglu C, Yesildaglar N. The effects of letrozole and melatonin on surgically induced endometriosis in a rat model: a preliminary study. *Fertility and Sterility* 2010; 93: 1787-1792.
116. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, Chen TT, Caudleb MR, Bukovsky A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine and levamisole. *Fertil Steril* 1999; 72: 135–141.
117. Nezhat F, Shamshirsaz AA, Yildirim G. Pelvic Pain, Endometriosis, and the Role of the Gynecologist. In: Altcheck A & Deligdisch L eds. *Pediatric, Adolescent and Young Adult Gynecology.* 1st ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2009:174-194.
118. Yildirim G, Attar R, Ficicioglu C, Karateke A, Ozkan F, Yesildaglar N. Etanercept causes regression of endometriotic implants in a rat model. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Jun;283(6):1297-302.
119. Bulun SE. Endometriosis. *New England Journal of Medicine* 2009;360(3):268–279.

120. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*. 1998 Jun;13(6):1686-1690.
121. Nisolle M, Casanas-Roux F, Donnez J. Early-stage endometriosis: adhesion and growth of human menstrual endometrium in nude mice. *Fertil Steril*. 2000;74:306-312.
122. Folkman, J. and Shing, Y. Angiogenesis. *J. Biol. Chem* 1992;267: 10931–10934.
123. Gordon, J., Shifren, J., Foulk, R. et al. Angiogenesis in the human female reproductive tract. *Obstet. Gynecol. Sur* 1995;50:688–697.
124. Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *N Engl J Med* 2010;362:2389–2398.
125. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182–1186.
126. Shibuya M, Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Experimental Cell Research* 2006;312:549–560.
127. Burger RA. Overview of anti-angiogenic agents in development for ovarian cancer. *Gynecologic Oncology* 2011;121:230–8.
128. Attar R, Agachan B, Kuran SB, Toptas B, et al. Genetic variants of vascular endothelial growth factor and risk for the development of endometriosis. *In Vivo* 2010;24: 297-301.
129. Mueller MD, Vigne JL, Minchenko A, Lebovic DI, Leitman DC, Taylor RN. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:10972-10977.
130. Charnock-Jones, D., Sharkey, A., Raffut-Williams, J. et al. Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biol Repro* 1993;48:1120–1128.
131. Grimwood, J., Bicknell, R. and Rees, M.C.P. The isolation, characterization and culture of human decidual endothelium. *Hum Reprod* 1995; 10: 2142–2148.
132. Shifren, J.L., Tseng, J.F., Zaloudek, C.J. et al. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3112–3118.

133. Taylor, R.N., Mueller, M.D., Anti-angiogenic treatment of endometriosis: biochemical aspects. *Gynecol. Obstet. Investig.* 2004; 57:54–56.
134. Horn L, Sandler A. Epidermal growth factor receptor inhibitors and antiangiogenic agents for the treatment of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2009; 15:5040–5048.
135. Jenab-Wolcott J, Giantonio BJ. Bevacizumab: current indications and future development for management of solid tumors. *Expert Opin Biol Ther.* 2009; 9:507–517.
136. Aragon-Ching JB, Dahut WL. VEGF inhibitors and prostate cancer therapy. *Curr Mol Pharmacol.* 2009; 2:161–168.
137. Wright JD, Powell MA, Rader JS, Mutch DG, Gibb RK. Bevacizumab therapy in patients with recurrent uterine neoplasms. *Anticancer Res.* 2007;27:3525-3528.
138. Dirican A, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Varol U, Aksun S, Bayoglu IV, Demir L, Coban E, Sutcu R, Tarhan MO. Impact of pre-angiogenic factors on the treatment effect of bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer. *Med Oncol.* 2014 ;31:905-908
139. Krämer I, Lipp HP. Bevacizumab, a humanized anti-angiogenic monoclonal antibody for the treatment of colorectal cancer. *J Clin Pharm Ther* 2007; 32: 1-14
140. Rinne ML, Lee EQ, Nayak L, Norden AD, Beroukhim R, Wen PY, Reardon DA. Update on bevacizumab and other angiogenesis inhibitors for brain cancer. *Expert Opin Emerg Drugs* 2013; 18: 137- 153
141. Tao X, Sood AK, Deavers MT, Schmeler KM, Nick AM, Coleman RL, Milojevic L, Gershenson DM, Brown J. Antiangiogenesis therapy with bevacizumab for patients with ovarian granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol* 2009; 114: 431-436.
142. Delli Carpini J, Karam AK, Montgomery L. Vascular endothelial growth factor and its relationship to the prognosis and treatment of breast, ovarian, and cervical cancer. *Angiogenesis* 2010; 13: 43-58.
143. McLaren, J., Prentice, A., Charnock-Jones, D.S. and Smith, S.K. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum. Reprod* 1996;11:220–223.

144. Greb, R.R., Heikinheimo, O., Williams, R.F. et al. (1997) Vascular endothelial growth factor in primate endometrium is regulated by oestrogen-receptor and progesterone-receptor ligands in vivo. *Hum Reprod*;12:1280–1292.
145. McLaren, J., Prentice, A., Charnock-Jones, D.S. et al. Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest* 1996;98:482–489.
146. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod* 1996;13:1686–1690.
147. Fasciani A, D'Ambrogio G, Bocci G, Monti M, Genazzani AR, Artini PG. High concentrations of the vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian endometriomata. *Mol Hum Reprod* 2000;6:50–54.
148. Laschke MW, Menger MD. In vitro and in vivo approaches to study angiogenesis in the pathophysiology and therapy of endometriosis. *Hum Reprod Update* 2007;13:331–342.
149. Mueller MD, Lebovic DI, Garrett E, Taylor RN. Neutrophils infiltrating the endometrium express Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF): potential role in endometrial angiogenesis. *Fertil Steril* 2000;74:107–112.
150. Smith, S.K. Vascular endothelial growth factor and the endometrium. *Hum Reprod* 1996;11:56–61.
151. Machado DE, Abrao MS, Berardo PT, Takiya CM, Nasciutti LE. Vascular density and distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 (Flk-1) are significantly higher in patients with deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum. *Fertil Steril* 2008;90:148–155.
152. Cosin R, Gilabert-Estellés J, Ramón LA, Gómez-Lechón MJ, Gilabert J, Chirivella M, Braza-Boils A, España F, Estellés A. Influence of peritoneal fluid on the expression of angiogenic and proteolytic factors in cultures of endometrial cells from women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2010; 25:398-405.
153. Gargett CE, Masuda H. Adult stem cells in the endometrium. *Mol Hum Reprod* 2010;16:818-34.
154. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* 2004;364:1789–1799.

- 155.Nothnick WB. Endometriosis: in search of optimal treatment. *Minerva Ginecol* 2010; 62:17–31.
- 156.Pullen N, Birch CL, Douglas GJ, Hussain Q, Pruijboom-Brees I, Walley RJ. The translational challenge in the development of new and effective therapies for endometriosis: a review of confidence from published preclinical efficacy studies. *Hum Reprod Update* 2011;17:791–802.
- 157.Guo SW. Recurrence of endometriosis and its control. *Hum Reprod Update* 2009;15:441–461.
- 158.Rocha AL, Reis FM, Taylor RN. Angiogenesis and endometriosis. *Obstet Gynecol Int.* 2013;2013:859619.
- 159.Nap AW, Griffioen AW, Dunselman GA, Bouma-Ter Steege JC, Thijssen VL, Evers JL, Groothuis PG. Antiangiogenesis therapy for endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Mar;89(3):1089-95.
- 160.Imesch P, Samartzis EP, Schneider M, Fink D, Fedier A. Inhibition of transcription, expression, and secretion of the vascular epithelial growth factor in human epithelial endometriotic cells by romidepsin. *Fertil Steril.* 2011 Apr;95(5):1579-1583.
- 161.Maderna P, Godson C. Lipoxins: resolutionary road. *Br J Pharmacol.* 2009 Oct;158(4):947-959.
- 162.Machado DE, Berardo PT, Landgraf RG, Fernandes PD, Palmero C, Alves LM, Abrao MS, Nasiutti LE. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses the growth of endometriosis with an antiangiogenic effect in a rat model. *Fertil Steril.* 2010 15;93(8):2674-2679.
163. Xu H, Lui WT, Chu CY, Ng PS, Wang CC, Rogers MS. Anti- angiogenic effects of green tea catechin on an experimental endometriosis mouse model. *Hum Reprod.* 2009 Mar;24(3):608-618.
- 164.Laschke MW, Schwender C, Scheuer C, Vollmar B, Menger MD. Epigallocatechin-3-gallate inhibits estrogen-induced activation of endometrial cells in vitro and causes regression of endometriotic lesions in vivo. *Hum Reprod.* 2008 Oct;23(10):2308-2318.

165. Wieser F, Wu J, Shen Z, Taylor RN, Sidell N. Retinoic acid suppresses growth of lesions, inhibits peritoneal cytokine secretion, and promotes macrophage differentiation in an immunocompetent mouse model of endometriosis. *Fertil Steril*. 2012 Jun;97(6):1430-1437.
166. Laschke MW, Elitzsch A, Scheuer C, Holstein JH, Vollmar B, Menger MD. Rapamycin induces regression of endometriotic lesions by inhibiting neovascularization and cell proliferation. *Br J Pharmacol*. 2006 Sep;149(2):137-144.
167. Sharma I, Dhawan V, Mahajan N, Saha SC, Dhaliwal LK. In vitro effects of atorvastatin on lipopolysaccharide-induced gene expression in endometriotic stromal cells. *Fertil Steril*. 2010 Oct;94(5):1639-1646.
168. Moggio A, Pittatore G, Cassoni P, Marchino GL, Revelli A, Bussolati B. Sorafenib inhibits growth, migration, and angiogenic potential of ectopic endometrial mesenchymal stem cells derived from patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2012 Dec;98(6):1521-1530.
169. Novella-Maestre E, Carda C, Noguera I, Ruiz-Saurí A, García-Velasco JA, Simón C, Pellicer A. Dopamine agonist administration causes a reduction in endometrial implants through modulation of angiogenesis in experimentally induced endometriosis. *Hum Reprod*. 2009 May;24(5):1025-1035.
170. Novella-Maestre E, Carda C, Ruiz-Sauri A, Garcia-Velasco JA, Simon C, Pellicer A. Identification and quantification of dopamine receptor 2 in human eutopic and ectopic endometrium: a novel molecular target for endometriosis therapy. *Biol Reprod*. 2010 Nov;83(5):866-873.
171. Delgado-Rosas F, Gómez R, Ferrero H, Gaytan F, Garcia-Velasco J, Simón C, Pellicer A. The effects of ergot and non-ergot-derived dopamine agonists in an experimental mouse model of endometriosis. *Reproduction*. 2011 Nov;142(5):745-755.
172. Pavlidis ET, Pavlidis TE. Role of bevacizumab in colorectal cancer growth and its adverse effects: a review. *World J Gastroenterol* 2013 Aug 21;19(31):5051-5060.
173. Thornton AD, Ravn P, Winslet M, Chester K. Angiogenesis inhibition with bevacizumab and the surgical management of colorectal cancer. *Br J Surg* 2006; 93: 1456-1463.

174. Mizobe T, Ogata Y, Murakami H, Akagi Y, Ishibashi N, Mori S, Sasatomi T, Shirouzu K. Efficacy of the combined use of bevacizumab and irinotecan as a postoperative adjuvant chemotherapy in colon carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 517-523.
175. Suzumori N, Zhao XX, Suzumori K: Elevated angiogenin levels in the peritoneal fluid of women with endometriosis correlate with the extent of the disorder. *Fertil Steril* 2004, 82:93–96.
176. Hull ML, Charnock-Jones DS, Chan CL, Bruner-Tran KL, Osteen KG, Tom BD, Fan TP, Smith SK: Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88:2889–2899.
177. Yagy T, Kobayashi H, Matsuzaki H, Wakahara K, Kondo T, Kurita N, Sekino H, Inagaki K, Suzuki M, Kanayama N, Terao T: Thalidomide inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 expression in endometriotic stromal cells, possibly through suppression of nuclear factor-kappaB activation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90:3017–3021.
178. Ricci AG, Olivares CN, Bilotas MA, Meresman GF, Barañao RI. Effect of vascularendothelial growth factor inhibition on endometrial implant development in amurine model of endometriosis. *Reprod Sci.* 2011;18:614-622.
179. Ozer H, Boztosun A, Açmaz G, Atilgan R, Akkar OB, Kosar MI. The efficacy of bevacizumab, sorafenib, and retinoic acid on rat endometriosis model. *Reprod Sci.* 2013 ;20:26-32.
180. D'Amato, R.J., et al., Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 4082–4085. Klauber, N., et al., 1997. Critical components of the female reproductive pathway are suppressed by the angiogenesis inhibitor AGM-1470. *Nat. Med.* 1994; 3:443–446.
181. Girling JE, Rogers PA. Recent advances in endometrial angiogenesis research. *Angiogenesis* 2005; 8:89-99.
182. Sawaya R, Radwan W, Hammoud S. Benign reversible encephalopathy syndrome after bevacizumab therapy for metastatic ovarian cancer. *Med Oncol.* 2014;31:831.

183. Shord SS, Bressler LR, Tierney LA, Cuellar S, George A. Understanding and managing the possible adverse effects associated with bevacizumab. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66: 999-1013.
184. Gordon CR, Rojavin Y, Patel M, Zins JE, Grana G, Kann B, Simons R, Atabek U. A review on bevacizumab and surgical wound healing: an important warning to all surgeons. *Ann Plast Surg* 2009; 62: 707-709.
185. Sendur MA, Aksoy S, Ozdemir NY, Zengin N. Necrotizing fasciitis secondary to bevacizumab treatment for metastatic rectal adenocarcinoma. *Indian J Pharmacol*. 2014 Jan;46(1):125-126.
186. Scappaticci FA, Fehrenbacher L, Cartwright T, Hainsworth JD, Heim W, Berlin J, Kabbinavar F, Novotny W, Sarkar S, Hurwitz H. Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J Surg Oncol* 2005; 91: 173-180.
187. Momeni M, Veras L, Zakashansky K. Bevacizumab-induced transient sixth nerve palsy in ovarian cancer: A case report. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2013 Nov 5.
188. Suenaga M, Mizunuma N, Kobayashi K, Shinozaki E, Matsusaka S, Chin K, Kuboki Y, Ichimura T, Ozaka M, Ogura M, Fujiwara Y, Matsueda K, Konishi F, Hatake K. Management of venous thromboembolism in colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *Med Oncol* 2010; 27: 807-814.
189. Mantia-Smaldone GM, Bagley LJ, Kasner SE, Chu CS. Vertebral artery dissection and cerebral infarction in a patient with recurrent ovarian cancer receiving bevacizumab. *Gynecol Oncol Case Rep*. 2013;5:37-39.
190. Drake CJ. Embryonic and adult vasculogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2003;69:73-82.
191. Kaygusuz I, Eser A, Inegol Gumus I, Kosus A, Yenidunya S, Namuslu M, Kafali H. Effect of anti-vascular endothelial growth factor antibody during early fetal development in rats. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014; 1476-7058

192.Laschke MW, Elitzsch A, Vollmar B, Vajkoczy P, Menger MD. Combined inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor, but not inhibition of VEGF alone, effectively suppresses angiogenesis and vessel maturation in endometriotic lesions. *Hum Reprod* 2006;21:262–268.

