

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

RETİNOİK ASİT TÜREVLERİNİN
RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ETKİNLİĞİ

Uzmanlık Tezi

Deniz KULAKSIZ

Trabzon -- 2015

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

RETİNOİK ASİT TÜREVLERİNİN
RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ETKİNLİĞİ

Uzmanlık Tezi

Deniz KULAKSIZ

TEZ Danışmanı: Doç. Dr. Cavit KART

Trabzon – 2015

ÖZET

RETİNOİK ASİT TÜREVLERİNİN RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ETKİNLİĞİ

Yapılan bu randomize kontrollü hayvan çalışmasında, retinoik asit türevlerinin ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş endometriozis modelinde etkinliğini araştırılmıştır.

48 adet, peritoneal endometriotik implant yerleştirilmiş, dişi Sprague Dawley rat randomize olarak dört gruba ayrıldı. Grup I'e hiçbir medikasyon verilmedi. Grup II deki ratlara 10 mg / kg dozlarında isotretionin, Grup III teki ratlara 20 mg / kg dozlarında isotretionin, Grup IV teki ratlara 80 µg / kg alitretionin oral olarak orogastrik tüple 10 gün süreyle verildi. Bütün ratlara 10 gün boyunca tedavi verildikten sonra implant yüzey alanları ölçüldü, vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) düzeylerini belirlemek için kan örnekleri alındı ve histopatolojik inceleme için endometrial implantlar eksize edildi.

Çalışmanın sonunda, Grup II ve Grup III ile kontrol grubu karşılaştırıldığında peritoneal endometrial implantların yüzey alanlarının anlamlı olarak küçüldüğü görüldü. Endometrial implantların ortalama yüzey alanları ilaçla tedaviden sonra; Grup II' de $39,3 \pm 2,3$ mm³ den $35,9 \pm 1,2$ mm³ e ($p=0.018$); Grup III' te $41,2 \pm 2,4$ mm³ den $29,6 \pm 1,2$ mm³ e ($p=0.012$) düştü. Histopatolojik skorlamada ve serum VEGF düzeylerinde kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Sonuç olarak isotretionin peritoneal endometrial implantlar üzerinde belirgin etkiye sahip olduğu görüldü.

SUMMARY

EFFECT OF RETINOIC ACID DERIVATIVES ON RAT ENDOMETRIOSIS MODEL

In this randomized controlled animal study conducted, retinoic acid derivatives activity in rats with experimentally induced endometriosis in the model were investigated.

48 female Sprague-Dawley rats peritoneal endometriotic implants placed, were randomly divided into four groups. Group I, no medication was given. Group II rats in the 10 mg / kg doses isotretin the Group III rats in the 20 mg / kg doses isotretin the Group of IV rats in the 80 µg / kg alitretin orally orogastric tube for 10 days was given. All rats treated for 10 days after administration of the implant surface area was measured, vascular endothelial growth factor (VEGF) levels, and blood samples were taken to determine the endometrial implants were excised for histopathological examination.

At the end of the study, the rats in group II and group III rats in the control group compared with rats with peritoneal surface area of the endometrial implants were found to be significantly reduced. The mean surface area of endometrial implants following intervention was decreased from 39.3 ± 2.3 to 35.9 ± 1.2 mm³ in Group II ($p = 0.018$); from 41.2 ± 2.4 to 29.6 ± 1.2 mm³ in Group III ($p = 0.012$). Comparing whole groups, histopathological scores and serum VEGF levels were not statistically significantly different.

As a result of endometrial implants on peritoneal isotretin was found to have a significant effect.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no:
ÖZET.....	i
SUMMARY.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER.....	vii
TABLolar.....	vii
RESİMLER.....	vii
GRAFİKLER.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 TANIM.....	4
2.2 PREVALANS VE İNSİDANS	4
2.3 ETYOPATOGENEZ.....	4
2.3.1 RETROGRADE MENSTRÜASYON	4
2.3.2 LENFATİK YA DA VASKÜLER YAYILIM.....	5
2.3.3 ÇÖLÖMİK METAPLAZİ.....	5
2.3.4 İNDÜKSİYON TEORİSİ	6
2.4 ENDOMETRİOZİSİN GELİŞİM BASAMAKLARI.....	6
2.4.1 ENDOKRİN FAKTÖRLER.....	6
2.4.2 İMMUN SİSTEM VE ENDOMETRİOZİS.....	7
2.5 RİSK FAKTÖRLERİ.....	8
2.5.1 AİLE HİKAYESİ.....	8
2.5.2 GENETİK.....	8
2.5.3 ANATOMİK ANOMALİLER.....	8

2.5.4 ÇEVRESEL ETKENLER.....	9
2.6 ENDOMETRİOZİS SINIFLAMASI.....	9
2.7 ANATOMİK LOKALİZASYON.....	9
2.8 SEMPTOMLAR.....	10
2.8.1 AĞRI.....	11
2.8.1.1 DİSMENORE.....	11
2.8.1.2 DİSPARONİ.....	11
2.8.1.3 DİZÜRİ.....	11
2.8.1.4 KRONİK PELVİK AĞRI.....	11
2.8.2 İNFERTİLİTE.....	12
2.8.2.1 EVRE I VE II HASTALIKTA İNFERTİLİTE.....	12
2.8.2.2 EVRE III VE IV HASTALIKTA İNFERTİLİTE.....	12
2.8.3 BAĞIRSAK OBSTRÜKSİYONU.....	12
2.9 AYIRICI TANI.....	12
2.10 TANI.....	13
2.10.1 FİZİK MUAYENE.....	13
2.10.2 LABORATUAR TESTLERİ.....	14
2.10.3 GÖRÜNTÜLEME.....	14
2.10.3.1 ULTRASONOGRAFİ.....	14
2.10.3.2 MANYETİK REZONANS.....	14
2.10.4 LAPAROSKOPİ.....	15
2.10.5 HİSTOPATOLOJİ.....	15
2.11 TEDAVİ.....	15
2.11.1 İZLEM.....	16
2.11.2 CERRAHİ.....	16

2.11.3 MEDİKAL TEDAVİ.....	16
2.11.3.1 ORAL KONTRASEPTİFLER	17
2.11.3.2 GnRH AGONİSTLERİ	17
2.11.3.3 PROGESTİNLER	17
2.11.3.4 LEVONORGESTEREL	17
2.11.3.5 DANAZOL.....	18
2.11.3.6 NONSTEROİD ANTİİNFLAMATUARLAR.....	18
2.11.3.7 SELEKTİF ÖSTROJEN RESEPTÖR MODÜLATÖRLERİ (SERM).....	18
2.11.3.8 SELEKTİF PROGESTERON RESEPTÖR	18
2.11.3.9 MİFEPRİSTON (RU486).....	18
2.11.3.10 MATRİKS METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRLERİ.....	19
2.11.3.11 DİĞER AJANLAR.....	19
2.12 ENDOMETRİOZİSTE ANTİANJİYOGENETİK RETİNOİK ASİTLER	19
3.HİPOTEZ.....	20
4. AMAÇ.....	21
5.MATERYAL VE METOD.....	22
5.1 ARAŞTIRMA YERİ VE ORTAMI.....	22
5.2 ANESTEZİ	22
5.3 ARAŞTIRMA GRUPLARI	22
5.4 ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ VE YÖNTEMİ.....	23
5.5 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	25
5.6 VEGF DEĞERLENDİRİLMESİ.....	26
5.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	26
6. SONUÇLAR.....	27

6.1 YÜZEY ALANI.....	27
6.2 HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA.....	28
6.3 KAN VEGF DÜZEYİ.....	28
7. TARTIŞMA.....	30
8. SONUÇ.....	33
9. KAYNAKLAR.....	34



ŞEKİLLER

1. Ratlarda endometriozis modeli.....	24
---------------------------------------	----

TABLolar

1. Amerikan Üreme Tıbbi Derneği Endometriozis Skorlaması.....	10
2. Endometriozis Ayırıcı Tanısı.....	13
3. Endometriozisin histopatolojik skorlaması.....	26

RESİMLER

1. Abse oluşumu.....	25
2. Endometriozis.....	25
3. Adezyon oluşumu.....	25

GRAFİKLER

1. Tedavi öncesi ve sonrası endometriotik odak büyüklüğü.....	27
2. Endometriozis histopatolojik skorlaması.....	28
3. VEGF Seviyesi.....	29

1.GİRİŞ

Endometriozis nedeni tam olarak bilinmeyen doğurganlık çağında kadınların %10'una yakınında görülebilen, infertilite ve pelvik ağrıya neden olabilen kronik, ilerleyici ciddi bir hastalıktır. Endometrioziste endometrial doku benzeri yapılar uterus dışına yerleşmiştir ve kronik inflamatuvar bir süreç mevcuttur(1). Prevalansı tam olarak bilinmemekle birlikte çalışmalarda %2-10 arasında değişmektedir. İnfertil kadınlarda prevalansı %50'ye yaklaşmaktadır(2, 3). Bu hastalık, 1927 yılında endometrial dokunun peritoneal kaviteye menstrüel yayılımı sonucu oluştuğunu ifade eden John Sampson'a ithaf edilmiştir. İlk defa tanımlandığı 1860'tan bu zamana kadar yapılan yoğun çalışmalara rağmen hastalığın etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır.

Endometriozisin tanısında hastanın hikayesi, semptomları ve bulguları fiziksel muayene ve görüntüleme yöntemleri perspektifinde değerlendirilir. Kesin tanısı histopatolojik örneklemeyle konulur. Vaginal lezyondan, skardan veya laparoskopik örnekleme yapılabılır. Laparoskopik olarak lezyonların görsel olarak tanımlanması yanlış pozitiflikler verebilir. Deneyimli cerrahlar tarafından bu tanımlama yüksek oranda doğruluk içersede altın standart biyopsilerdir.

Laparoskopi esnasında deneyimli cerrahlar tarafından hem tanı hem de tedavi aynı seansta tamamlanabilir. Ancak derin pelvik endometriozis ve gizli peritoneal odak bulunması durumunda bu tedavi tam olarak sağlanamaz. Laparoskopik olarak evreleme sistemi oluşturulmuştur(4). Bu sisteme göre minimal, hafif, orta ve ciddi olarak gruplama yapılır. Ancak bu evrelendirmenin pelvik ağrı ve infertilite ile doğrudan ilişkisi bulunmamaktadır.

Endometriozis tedavisinde medikal yöntemler, cerrahi yöntemler ve bu ikisinin birlikte uygulanması kullanılmaktadır. Endometriozisin medikal tedavisinde temel Sampson'un retrograd menstruasyon teorisine ve anormal yerleşmiş endometriumun hemen benzer şekilde normal endometrium gibi cevap vermesine dayanmaktadır.

Günümüzde endometriozisin medikal tedavisinde oral kontraseptifler (OKS), progestasyonel ilaçlar, danazol, gestrinone ve gonadotropin saliverici hormon (GnRH) analogları kullanılmaktadır. Medikal tedavilerde temelde hipoöstrojenik bir durum elde edilmeye

çalışılmaktadır. Ancak bu hipoöstrojenik durum ortadan kalktığında hastalığın nüks oranları yüksektir.

Cerrahi tedavide normal anatomik ilişkilerin sağlanması, görünür tüm hastalığın olabildiğince geniş çıkarılması temel amaçtır. Endometriotik odakların koterizasyonu veya eksizyonu, adezyolizis, endometrioma eksizyonu, aspirasyonu ve koterizasyonu kullanılabilir. Kronik pelvik ağrıya için laparoskopik uterosakral sinir ablasyonu (LUNA) ve presakral nörektomi gibi yöntemler denenmektedir.

Endometriozisin patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber genetik, moleküler ve biyokimyasal metotlarla yapılan son araştırmalarda hastalık için yeni mekanizmalar ve tedavi modaliteleri belirlenmeye çalışılmaktadır. Endometriozis tedavisinde çalışılan yeni ajanlar GnRH antagonistleri, östrojen reseptör beta agonistleri, selektif progesteron veya östrojen modülatörleri, antiprogestajenler, immunmodülatörler, aromataz inhibitörleri, sikloksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri, TNF-alfa inhibitörleri, matrix metalloproteinaz (MMP) inhibitörleri ve anjiyogenezis inhibitörleridir.

Endometriotik odak oluşumunda anjiyogenezisin önemli bir rol oynamakta ve bu odaklarda vaskülarizasyon artış göstermektedir. VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü) ve onunla ilişkili solubl tirozin kinaz reseptörünün endometriozis patogenezinde rol aldığı ileri sürülmüştür. Peritoneal sıvı ve endometrial VEGF konsantrasyonlarının endometriozisli kadınlarda yükseldiği bulunmuştur(5, 6).

VEGF özellikle hipoksik kalan endometriotik hücreler ve peritoneal boşluktaki aktive olmuş makrofajlardan salgılanmaktadır. Angiogenezis ve adezyonla ilgili oldukları düşünülmektedir. Hayvan modellerinde angiogenezis inhibitörleri denenmektedir. Endometrioziste anjiyogenezisi uyaran en önemli ajan olan VEGF ye yönelik tedavilerde denenmektedir.

Retinoik asit büyüme ve gelişmede rol oynayan bir vitamin A türevidir. Retinoik asit sentez eksikliği olan dişi ratlarda infertilite geliştiği gösterilmiştir. Retinoik asit, normal ve malign hücrelerde diferansiasyonu indükler. Dolayısıyla VEGF nin aşırı eksprese edildiği kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır(7). Bir çalışmada bevacizumab, sorafenib, and 13-

cis-retinoik asit(10mg/kg) endometriozisin rat modelinde kullanılmış ve hepsinin tedavide etkin olduğu bulunmuştur(8).

Endometriozis oluşumunda, endometrial dokunun peritona implantasyonunu ve anjiyogenezisin rolünü göz önüne alarak VEGF inhibitörü olan retinoik asit türevlerinin medikal tedavide denenebileceğini düşünmekteyiz.

Bu deneysel çalışmada amaç endometriozis tedavisinde iki retinoik asit türevinin [13-cis-retinoik asit(10 ve 20 mg/kg) ve 9-cis-retinoik asit] endometrial implant ve kan VEGF düzeyi üzerine etkisini göstermektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 TANIM

Endometriozis normal olarak uterusda bulunması gereken endometriyal bez ve stromanın uterus dışında; özellikle pelvik peritonda, overler, tubalar, rektovaginal fasya, üreter, nadiren de mesane, perikardium ve plevra gibi birçok bölgede bulunması şeklinde tanımlanan ve pelvik ağrı ile infertilitenin eşlik ettiği kronik inflamatuvar bir süreçtir(9, 10, 11).

2.2 PREVELANS VE İNSİDANS

İlk tariflenmesi 1860 yılına Von Rokitansky'ye aittir(11). Kesin tanısı histopatolojik olarak konulduğundan ve çoğunlukla hastalık asemptomatik seyrettiğinden tam bir prevalans vermek mümkün değildir. Cerrahi olarak endometriozis tanısı 15 ile 49 yaş arası kadınlarda 1000'de 1,6 vaka olarak saptanmıştır(12). Asemptomatik kadınlarda, endometriozis sıklığı %2-22 dir(2, 13, 14). İnfertil kadınlarda yaygınlığı %20 ile %50 arasında değişmekteyken; pelvik ağrının eşlik etmesi durumunda bu oran %40 ile %50 arasında değişmektedir(3, 15, 16).

2.3 ETYOPATOGENEZ

Endometriozisin etyopatogeneziyle ilgili ilk teori 1927 yılında endometrial dokunun peritoneal kaviteye menstrüel yayılımı olarak Dr. John A. Sampson tarafından öne sürülmüştür(17). Bu teori tüm endometriozis vakalarında etyopatogenezi açıklamamakla beraber peritoneal endometrioziste primer mekanizmayı açıklamada en büyük yardımcıdır. Yapılan çalışmalarla birlikte dört ana teori ortaya konulmuştur.

2.3.1 RETROGRAD MENSTRÜASYON

İlk ve en yaygın kabul edilen bu teoriye göre endometrial hücrelerin tubalardan regurjitasyonu ve peritoneal kaviteye implantasyonu sonucunda endometriotik odakların

oluştugu düşünölmektedir(17). Geri kaçan endometrial fragmanlar peritona yapışmakta ve peritoneal mezoteldeki kan akımı ile beslenmeye başlamakta, büyüme ve hücre devamlılığını bu şekilde sağlamaktadırlar(18).

Uterus hiperperistaltizm ve disperistaltizmi olan endometriozisli kadınlar kaydedildi ve sonrasında bu kadınlarda artmış endometrial reflü belirlendi(19). Uterus anomalileri, serviks darlığı, vajen atrezisi ve imperfore himen gibi retrograd menstrüasyonu arttıran durumlarda endometriozisin daha fazla görülmesi bu teoriyi desteklemektedir. Ek olarak menometrorajili kadınlarda endometriozis daha sık görölmektedir(20). Retrograd menstrüasyon teorisi pelvik endometriozisi açıklamaya yardımcı olurken diğer bölgelerde oluşan endometriozisi tanımlamaya açıklık getirmemektedir. Ek olarak kadınların %70-80'inde retrograd menstrüasyon görülmesine rağmen endometriozis insidansı bu grupta %7dir(21).

2.3.2 LENFATİK YA DA VASKÜLER YAYILIM (HALBAN TEORİSİ)

Yapılan çalışmalardaki kanıtlarda aberan lenfatiklerle yayılım ve damarsal yayılımı destekler niteliktedir (22). Mesane ve kasık gibi yaygın olmayan bölgelerdeki endometriozisi bu teori ile açıklamak mümkündür(23, 24). Retroperitoneal bölge yaygın bir lenfatik ağı sahiptir. Bu teoriyle izole retroperitoneal endometriotik odakları açıklamak mümkündür(25). Endometrial adenokarsinomanın da lenfatik yolla yayılımı bu teoriyi destekler niteliktedir(26). Bu teori endometriozisi açıklamaya yardımcı olsa da deneysel çalışma sayısının az oluşu bu teorinin bir çelişkisidir.

2.3.3 ÇÖLÖMİK METAPLAZİ

Bu teoriye göre endometriozisin, müler ve wolf kanalı artıklarından bulunduğu yerde spontan metaplastik değişimle geliştiği öne sürölmüştür.

1919 yılında Meyer tarafından öne sürölen bu teoriye göre periton boşluğunu döşeyen hücreler, hormonal veya inflamatuvar uyarılara maruz kaldığında endometrium hücrelerine dönüşmektedir(27).

Erkeklerde, prepubertal ve adolesan kız çocuklarında, hiç adet görmemiş kadınlarda ve plevral kavite gibi nadir bölgelerde görülen endometriozis vakaları bu teoriyi destekleyen bulgulardır. Ancak hastalığın neden çok nadir durumlar dışında kadınlarda ve özellikle de reproduktif çağda görüldüğü bu teori tarafından açıklanamamaktadır(28, 29).

2.3.4 İNDÜKSİYON TEORİSİ

Bu teoriye göre farklılaşmasını tamamlamamış hücreler hormonal ve biyolojik faktör ya da faktörlerle endometrial hücrelere dönüşmektedir(30).

İn vitro olarak over yüzey epitelyum hücrelerinin östrojenle endometrial hücrelere dönüşümü gösterilmiştir(31). Ancak birçok faktör tüm kadınlarda olmasına rağmen bazılarında endometriozis oluşup bazılarında neden oluşmadığını açıklamamaktadır.

2.4 ENDOMETRİOZİSİN GELİŞİM BASAMAKLARI

Endometriozis gelişim sürecinde ilk basamak endometrial hücrelerin peritona adheze olmasıdır. Sonrasında bu hücreler mezotelyuma invaze olurlar. İnflamatuar hücrelerin bu bölgeye göçü ile angiogenesis süreci başlar. Son olarak endometrial hücre proliferasyonu ile süreç tamamlanır. Bu süreç hormonal, immün sistem genetik ve çevresel faktörlerle iç içedir.

2.4.1 ENDOKRİN FAKTÖRLER

Endometrioziste etkinliği ispatlanmış tek hormon östrojendir(32). Üreme çağındaki kadınlarda östrojenin ana kaynağı overdir. Ancak periferik dokularda aromatisasyonla östrojen oluşumu mevcuttur. Endometriotik implantlarda aromataz enzimi olmasına rağmen inaktive edici mekanizma olan 17 beta hidroksisteroid dehidrogenaz tip II bulunmamaktadır(33, 34).

Uterusta bulunan endometrial hücreler aromataz üretmezken östrojen inaktive edici enzim olan 17 beta hidroksisteroid dehidrogenaz tip II yi üretmektedirler. Sonuç olarak bu durum östrojen yanıtını azaltırken progesteron etkisine bu hücreleri daha etkin kılmaktadır(35).

Prostoglandin E2 en güçlü aromataz aktive edici mekanizmadır(36). Artan östradiol ile COX-2 aktivitesi artmakta bu da PGE2 nin daha çok üretilmesine neden olmaktadır(32, 37). Bu pozitif feedback ile endometriotik implantta östrojen devamlılığı sağlanmaktadır.

2.4.2 İMMUN SİSTEM VE ENDOMETRİOZİS

Retrograd menstrüasyon oluşan tüm kadınlarda endometriozis gelişmemesinin açıklaması immün sistemi aktif olarak çalışan kadınlarda immün hücrelerin bu endometrial hücreleri temizlemesidir(38).

Makrofajlar endometriozisli kadınlarda periton boşluğunda artmış olarak bulunurlar(39). Ancak bu durum sanılanın aksine yapılan in vitro çalışmalarda endometriotik odakları yok etmemekte aksine onlara kaynak oluşturmaktadır(40). Önemli olan makrofaj sayısı değil, makrofajların fonksiyonlarını tam olarak ifa edebilmeleridir.

Peritoneal sıvıda saptanan natural killer(NK) hücre sayısı endometriozisli kadınlarda değişmemekle beraber endometriotik dokuya azalmış bir sitotoksik etki mevcuttur(41).

Endometriozisli kadınlarda T lenfositlerde de fonksiyon bozuklukları izlenmektedir(42).

Hücre sel immünite kadar humoral immünitinin de bozuk olduğunu gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada endometrial dokulara özgü serum IgG seviyesi endometriozisli kadınlarda daha yüksek saptanmıştır(43).

İnterlökin-1 β (IL-1 β) , IL-6 ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi sitokinlerin endometriozis gelişim sürecinde değişime uğradığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir(44, 45, 46).

Vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) anjiogenik bir faktördür ve endometriozisli kadınların periton sıvısında artmış olarak izlenmektedir(47).

2.5 RİSK FAKTÖRLERİ

2.5.1 AİLE HİKAYESİ

Mendelyan bir genetik paterni izlenmemekle birlikte artmış ailesel yatkınlık mevcuttu. Monozigot ikizlerde yapılan çalışmalarda artmış ailesel yatkınlık saptanmıştır(48, 49). Yine endometriozisli kadınlarda yapılan bir ailesel yatkınlık çalışmasında hasta bireylerin kız kardeşlerinde %5,9 ve annelerinde % 8,1 endometriozis saptanmıştır(50).

2.5.2 GENETİK

Binin üzerinde endometriozisten etkilenmiş birey üzerinde yapılan kız kardeş çifti çalışmasında 10q26 kromozomunda bir bölge ve 20p13 kromozomu üzerinde küçük bir bölge saptanmıştır(51).

Başka bir çalışmada EMX2 geninin endometriozisli kadınların endometriumunda anormal eksprese edildiği saptanmıştır(52). Bir başka ilişkili gen olarak PTEN tanımlanmıştır(53). Araştırmalar çeşitli gen polimorfizmlerini tanımlamakla beraber hastalığıdaki rolleri tam olarak tanımlanmamıştır.

2.5.3 ANATOMİK ANOMALİLER

Retrograd menüasyon teorisine uygun olarak anatomik bozukluklar endometriozise neden olabilir(54). K r uterin hornlu, imperfore himenli ve transvers septumlu bireylerde endometriozis sıklığı artmıştır(55).

Anatomik bozuklukların düzeltilmesinin endometriozisi azaltacağı d ş n lmektedir(56). Bu alışmalar ışığında endometriozis için yapılan laparoskopi sırasında anatomik rekonstrüksiyon önerilmektedir.

2.5.4 ÇEVRESEL ETKENLER

Yapılan çalışmalarda çevresel etkenlerden en çok dioksinler üzerine durulmuştur. Özellikle 2, 3, 7, 8- tetraklorodibenzo- p- dioksin(TCDD) endometriozisle ilişkili bulunmuştur. TCDD sitokrom p-450 üzerinden artmış enzim aktivitesi ile endometriozisi uyardığı düşünülmektedir. Ayrıca östrojenin endometriotik odak üzerindeki etkisini ağırlaştırmakta ve progesteronun etkisini baskılamaktadır(57).

TCDD bir endüstriyel yan üründür. Endometriozisli infertil kadınlarda fertil kadınlardan daha yüksek serum dioksini saptanmıştır(58).

2.6 ENDOMETRİOZİS SINIFLAMASI

Endometriozisin tanısında histopatoloji altın standarttır. İlk olarak Amerikan fertilitte Derneği (American Fertility Society / AFS) tarafından bir endometriozis sınıflaması yapılmış Amerikan Üreme Tıbbi Derneği (American Society for Reproductive Medicine / ASRM) tarafından yeniden tanımlama yapılmıştır. Ancak bu skorlama sistemleri infertilite ve pelvik ağrı ile doğrudan ilişkili görülmemektedir ve prognostik bilgi vermemektedir(59). 1996 yılında ASRM bu ilişkiyi sağlamak açısından skorlama sistemini revize etse de tam bir prognoz öngörüsü sağlamamaktadır. Bu skorlamaya göre evre I minimal, evre II hafif, evre III orta ve evre IV ciddi hastalığı tariflemektedir.

2.7 ANATOMİK LOKALİZASYON

Endometriozis pelvis içinde ve dışında görülebilir. En sık yerleşim yerleri pelvik periton, over, ön ve arka cul de sac ve uterosakral ligamanlardır. Bir makaleye göre dalak dışında endometriozisin her organda bulunabilir(60). Atipik siklik semptomlarla endometriozis değişik bölgelerde görülebilir. Üretere yerleştiğinde hematüri, rektuma yerleştiğinde rektal kanama, plevraya yerleştiğinde hemoptizi ile karşımıza çıkabilir(61, 62, 63, 64).

PERİTON	ENDOMETRİOZİS		< 1 cm	1-3 cm	> 3 cm
	Yüzeysel		1	2	4
	Derin		2	4	6
OVER	Sağ	Yüzeysel	1	2	4
		Derin	4	16	20
	Sol	Yüzeysel	1	2	4
		Derin	4	16	20
DOUGLAS BOŞLUĞU OBLİTERASYONU			Parsiyel	Komplet	
			4	40	
ADEZYONLAR			< 1/3'ü örtülü	1/3-2/3'ü örtülü	> 2/3'ü örtülü
OVER	Sağ	İnce	1	2	4
		Yoğun	4	8	16
	Sol	İnce	1	2	4
		Yoğun	4	8	16
TÜP	Sağ	İnce	1	2	4
		Yoğun	4*	8*	16
	Sol	İnce	1	2	4
		Yoğun	4*	8*	16

* Eğer fallop tüpünün fimbrial ucu tamamen kapalı ise puanı 16 ile değiştiriniz.

Evre I (minimal): 1-5, Evre II (hafif): 6-15, Evre III (orta): 16-40, Evre IV (şiddetli): >40

Tablo 1: Amerikan Üreme Tıbbi Derneği Endometriozis Skorlaması

2.8 SEMPTOMLAR

Kadınların çoğu asemptomatik olsa da semptomatik olduğunda genelde kronik pelvik ağrı ve infertilite görülür. Bu yakınmaların şiddeti ASRM nin sınıflandırması ile ilişkisizdir.

2.8.1 AĞRI

Ağrının niteliği oldukça değişkendir. Siklik veya kronik olabilir(65). Oluşan bu pelvik ağrının sebebi tam olarak açıklanmamış olmakla beraber peritona dağılan sitokin ve prostoglandinler bu duruma neden olabilir(10). Endometrioziste ağrının sinir invazyonundan kaynaklandığı da düşünülmektedir(66). Nedeni ne olursa olsun endometrioziste geniş bir ağrı skalası mevcuttur.

2.8.1.1 DİSMENORE

Endometriozise bağlı dismenorede ağrı 24 ile 48 saat önce başlar ve ağrı kesicilere az yanıt verir. Özellikle 5 mm nin üzerinde derinliğe yayılan endometrioziste bu dismenore şiddeti artmaktadır(67).

2.8.1.2 DİSPARONİ

Rektovaginal septum tutulumu, uterosakral ligaman ve over tutulumu ile ilişkilendirilmiştir(68, 69). Ağrısız cinsel ilişki öyküsü sonrası yeni gelişen disparonide endometriozis akılda tutulmalıdır(70). Disparoni endometriozisle ilişkili görülmele beraber hastalığın evresi ile ilişkisizdir(71).

2.8.1.3 DİZÜRİ

Negatif idrar kültürü hastalarda ağrılı idrar yapma, siklik pollaküri ve urgency durumlarında endometriozis ayıcı tanıda düşünülmelidir(72).

2.8.1.4 KRONİK PELVİK AĞRI

Endometrioziste en yaygın semptomdur. Kronik pelvik ağrılı kadınların laparoskopisi sırasında % 40 ile % 60 arasında endometriozis saptanmıştır(2). Rektovaginal septum ve uterosakral ligaman tutulumunda rektum ve bele yayılan ağrı gözlenirken arka periton ve siyatik sinir tutulumunda bacağı yayılan ağrı gözlenmektedir (73, 74).

2.8.2 İNFERTİLİTE

Subfertilite kadınlarda endometriozis sıklığı %20-30 dur(75). Ayrıca ileri evre endometriozis sıklığı infertil kadınlarda daha fazladır. İnfertilitenin sebepleri arasında pelvik adezyonlar, normal oosit tutulumunun bozulması ve transportun bozulması bulunmaktadır.

2.8.2.1 EVRE I VE II HASTALIKTA İNFERTİLİTE

Bu hafif formların infertilite ilişkisi tam olarak gösterilememiştir(76, 77). Endometriozisi infertilite ilişkisini açıklayan insan çalışması yoktur. Ancak infertil kadınlarda endometriozis sıklığının fazla olması bu ilişkiyi dolaylı yoldan açıklamaktadır.

2.8.2.2 EVRE III VE IV HASTALIKTA İNFERTİLİTE

Bu evrelerde anatomi çoğunlukla bozulmuştur. Bu evrede infertilite görülmesi beklenen bir sonuçtur. Bir çalışmada hafif endometriozisli olgularda aylık gebelik oranı %8,7; orta derecede %3,2 ve ileri evrede sıfır olarak bulunmuştur(78). Bu evrelerde cerrahi restorasyon gebelik oranlarını izlem yapılan hastalara göre arttırmıştır(79).

2.8.3 BAĞIRSAK OBSTRÜKSİYONU

İnce bağırsak tutulumu ile obstrüksiyona neden olabilen endometriozis çekum, appendiks ve rektosigmoid kolonda görülebilir(80, 81, 82). Tanı ve tedavi atipik şikayetler nedeniyle zordur. Malignite ile karışabilir. Obstrüksiyon geliştiğinde tedavi tutulan bölgenin rezeksiyonu şeklindedir. Kesin tanı histopatolojik örnekleme ile mümkündür.

2.9 AYIRICI TANI

Tanı cerrahi sonrasında konulduğundan operasyon öncesi ayırıcı tanıda akılda bulundurulması gereken bazı durumlar söz konusudur (Tablo 2).

TABLO 2: Endometriozis Ayırıcı Tanısı

JİNEKOLOJİK	JİNEKOLOJİK OLMAYAN
Tubo-ovaryan apse	İnterstisyel sistit
Salpenjit	İdrar yolu enfeksiyonu
Endometrit	Böbrek taşı
Hemorajik over kisti	İnflamatuvar bağırsak hastalığı
Over torsiyonu	İrritabil bağırsak sendromu
Primer dismenore	Divertikülit
Dejenere myom	Mezenterik lenfadenit
	Kas-iskelet sistemi bozuklukları

2.10 TANI

2.10.1 FİZİK MUAYENE

İnspeksiyonda genelde bulgu saptanmamaktadır. Ancak skar endometriozisinde odakları izlemek mümkündür(83, 84). Perine ve perianal bölgede spontan olarak gelişebildiğini gösteren bir vaka sunumu mevcuttur(85).

Spekulum muayenesiyle de bulguları saptamak pek mümkün görünmemekle beraber bir çalışmada derin endometriozisli hastaların spekulum muayenesinde %14 ünde endometriotik odak tespit edilmiştir(67).

Bimanuel muayenede anatomik bozukluklar oluştuğunda endometriozisten şüphelenilebilir. Ancak tam bir özgüllük mümkün değildir. Derine infiltre endometriozis olgularının %43 ünde ele gelen nodül saptanmıştır(67). Nezhat ve arkadaşlarının 1994 yılındaki çalışmasında 91 endometriozisli olgunun % 47 sinde bimanuel muayene normal olarak izlenmiştir. Başka bir çalışmada endometriotik odakların menstrüasyon sırasında kolayca palpe edilebileceği öne sürülmüştür(86).

2.10.2 LABORATUAR TESTLERİ

İlk değerlendirmede ayırıcı tanıda tam kan sayımı, tam idrar tetkiki, servikal ve vaginal sürüntü değerlendirilmesi yardımcı olabilir.

Bunun dışında Kanser Antijeni 125 (CA125) tanıda yardımcı olarak kullanılabilir. Monoklonal antikor analizlerinde CA 125 artışının endometriozis şiddeti ile korele görünmektedir(87). Ancak hafif hastalık durumunda duyarlılığı düşüktür. Mol ve arkadaşlarının 1998 yılındaki çalışmasında CA 125 in duyarlılığı %28 ve özgüllüğü %90 olarak görülmektedir. Bu belirteç evre III ve IV te iyi bir test olarak görülmekle beraber klinik pratikte bir tarama ve kesin tanı testi değildir.

Bir çalışmada Kanser Antijeni 19-9(CA 19-9) endometriozis şiddeti ile ilişkili olarak bulunmuştur(88). Serum plasental protein 14, interlökin-6 tümör nekrozis faktör birçok endometriozis çalışmasında kullanılmıştır. Bu testler araştırmalar dışında kullanılmamaktadır.

2.10.3 GÖRÜNTÜLEME

2.10.3.1 ULTRASONOGRAFİ

Hem transabdominal hem de transvaginal(TVS) yolla kullanılabilir. TVS endometriozisin değerlendirilmesinde ve endometriomaların saptanmasında doğru ve güvenilir bilgiler vermesine rağmen yüzeysel endometrioziste ve adhezyonların tanımlanmasında yardımcı olamamaktadır.

Endometriomaların çapları 20 mm veya daha fazla ise çoğu zaman TVS tanıda yeterli duyarlılıktadır. Endometriomalar genelde düşük düzey internal ekolar içeren kistik yapılar olarak izlenirler. Bazen de kalın septalı, kalın duvarlı olabilirler(89, 90).

2.10.3.2 MANYETİK REZONANS

Görüntüleme yöntemi olarak sıklığı artmaktadır. Endometrioma T1 ağırlıklı sekanslarda hiperintens ve T2 ağırlıklı sekanslarda hipointens olarak izlenmektedir(91).

2.10.4 LAPAROSKOPI

Bulgular değişik olmakla beraber endometriozis tanısındaki en büyük yardımcıdır. Lezyonlar değişik renklerde izlenmektedir. Koyu renkler menstrüel salgıdaki hemosiderinle oluşmaktadır. Kırmızı ve beyaz lezyonlar endometriozisin histolojisi ile bağlantılıdır(92). Renk değişikliği dışında şekil değişiklikleri de izlenmektedir. Ağrı ile laparoskopik bulgular arasında çok belirsiz bir ilişki izlenmektedir(93).

Endometriomalar düzgün duvarlı, koyu renkli, çikolata görünümlü sıvı ile dolu yapılardır. Overde izlenen bu yapılar 3 cm'den büyük olduklarında daha çok multiloküledirler(94). Endometriomaya spesifikliğin %95 olması sebebiyle biyopsi gereklidir(95).

2.10.5 HİSTOPATOLOJİ

Histolojik tanı olmadan endometriozis tanımlaması yapmak fazladan tanıya neden olmaktadır. Laparoskopik ve histolojik bulgu uyumsuzluğu en çok skar oluşturmuş lezyonlardadır(96). Histopatolojik tanı uterus dışında yerleşen lezyonda yapılan biyopside endometrial gland ve stroma saptanması ile konur(68).

2.11 TEDAVİ

Endometrioziste medikal ve cerrahi tedavi seçenekleri hastanın yaşı, semptomların şiddeti, fertilitate arzusu gibi durumları göz önünde bulundurularak planlanmalıdır. En sık şikayet olan ağrı ve infertiliteye hastaya öncelikle zarar vermeme prensibi ile tedavi sağlanmaya çalışılmalıdır. Buna dikkat edilmediği takdirde hastalara gereksiz cerrahi ve medikal tedaviler uygulanmaktadır(97).

2.11.1 İZLEM

Perimenapozal, minimal hastalığı olanlarda tedavisiz izlem uygulanabilir. Minimal hastalık saptanması durumunda gebelik istemeyen hastalarda oral kontraseptiflerle tedavi yerine tedavisiz izlem yapılabilir. Perimenapozda östrojen azalması sonrasında hastalık kendiliğinden gerileyebilir(98).

2.11.2 CERRAHİ

Cerrahide amaç anatomik rekonstrüksiyon ve endometriotik odakların mümkün olduğunca çıkarılmasıdır. Evre III ve IV hastalarda tedavide bir seçenektir. Özellikle infertilite de eşlik ediyorsa bu grupta medikal tedaviye göre daha başarılıdır.

Özellikle endoskopik cerrahi, hem tanı hem de tedavide uygulanabilir bir yöntemdir. Cerrahi uygulamalar lezyonların çıkarılması, adezyolizis, endometriomanın çıkarılması, presakral nörektomidir. Bazı olgularda histerektomi ve bilateral salpingooferektomi uygulanabilir.

Endometrioma ve derin infiltratif endometrioziste cerrahi tedavi önerilir. Eğer fertilitte arzusu yok ise adjuvan medikal tedavi eklenebilir. Neoadjuvan medikal tedavinin faydası gösterilememiştir(99).

2.11.3 MEDİKAL TEDAVİ

Endometriumun östrojen bağımlı bir doku olması sebebiyle uterus dışına yerleşen endometrial doku da östrojen bağımlıdır. Endometriozisin reproduktif çağda görülmesi ve doğum yapmanın koruyucu etkisi olması da bunu desteklemektedir. Endometriozisin medikal tedavisinde amaç bu östrojen duyarlılığını düzenlemektir. Medikal tedaviler arasında etkinliği ispatlanmış preparat yoktur(100). Medikal tedaviler semptomlarda düzelme sağlasa da infertilite üzerine etkisi yoktur(101). Her geçen gün medikal tedavi ajanları ile ilgili çalışmalar artmaktadır.

2.11.3.1 ORAL KONTRASEPTİFLER

Siklik ve devamlı kullanım şekilleri bulunan bu preparatlar hafif ağrı üzerine etkili olmakla beraber uzun süreli kullanımda ektopik endometrium üzerine atrofik etkiye sahip olabilirler(102).

2.11.3.2 GnRH AGONİSTLERİ

GnRH analogları gonadotropin reseptörlerine bağlanarak önce FSH ve LH salınımına sonrasında reseptör down regülasyonu ile FSH ve LH baskılanmasına neden olurlar. Menopozu taklit eden bir tablo oluştururlar. İnfertilite üzerine etkisi olmamakla beraber ağrıyı azaltıp, endometriotik odakları küçültürler(103). Bu ilaçlar genelde endometriozis cerrahisi sonrası adjuvan tedavide kullanılmaktadır. Hipoöstrojenik yan etkiler oluşmaktadır. Bunlar emosyonel labilite, vaginal kuruluk, uykusuzluk ve sıcak basması gibi kısa dönem etkileri olabildiği gibi altı aydan uzun süre kullanımda kemik mineral dansitesi azalması da olabilir.

2.11.3.3 PROGESTİNLER

Progesteronun desidualizasyon etkisine dayanmaktadır. Ek olarak peritoneal inflamatuvar etkiyi de baskırlarlar(104). Ağrı semptomu üzerine etkili olmakla beraber infertiliteye etki göstermezler. Megestrol asetat, gestrinon, medroksiprogesteron asetat, drospirinone içeren preparatlar kullanılabilir. Yan etki olarak sıvı retansiyonu, başağrısı, yorgunluk, meme hassasiyeti yapabilirler. Oral kontraseptiflerin kontrendike olduğu durumlarda tercih edilebilirler.

2.11.3.4 LEVONORGESTEREL

Levonorgestrel içeren intrauterin araçlar ağrı semptomu için sistemik progesterona alternatiftir(105). Gebelik istemi olmayan hastalarda menstrüel kan kaybını azaltıcı ve dismenoreyi önleyici etkisi ile uzun süreli tedavide öne çıkmaktadır(106).

2.11.3.5 DANAZOL

Danazol siklus ortasında oluşan LH pikini inhibe ederek anovulatuvar durumu neden olur. Hiperandrojenik ve hipoöstrojenik bir ortam oluşturur. Amenoreyle retrograde endometrial hücre ekilmesini engeller. Kilo alımı, ödem, akne, meme atrofisi gibi yan etkileri bulunan bu medikasyon ağrı semptomlarına karşı etkilidir.

2.11.3.6 NONSTEROİD ANTIİNFLAMATUARLAR

Siklooksijenaz enzimi inhibisyonuyla ağrı kontrolünde kullanılırlar. Kronik pelvik ağrıda medikal tedavide öncelikli tercih edilirler(107). Ağrının yanı sıra endometriotik odakların büyümesini de engelleyebilir(108).

2.11.3.7 SELEKTİF ÖSTROJEN RESEPTÖR MODÜLATÖRLERİ (SERM)

Östrojen varlığında antiöstrojenik, östrojen yokluğunda östrojenik etki gösteren preparatlardır. Raloksifen nonsteroid bir SERM dir. Endometriotik odakları küçültürler ancak vazomotor yan etkiler kullanımı sınırlar. Genistein de non steroid bir fitoestojendir. Aynı şekilde bu preparatla da endometriotik odaklar da küçülme görölmektedir(109).

2.11.3.8 SELEKTİF PROGESTERON RESEPTÖR

Lokal etkili olarak endometrial damarları etkileyerek amenore ve endometrial proliferasyon supresyonu yaparlar. Özellikler COX-2 ve PGF 2 α üzerinden dismenoreye etkilidirler(110).

2.11.3.9 MİFEPRİSTON (RU486)

Ovülasyonu ve endometrial bütünlüğü bozan mifepriston endometriotik odakları küçültür ve ağrıyı azaltır(111).

2.11.3.10 MATRİKS METALLOPROTEİNAZ İNHİBİTÖRLERİ

Endometriozisli kadınlarda progesterona duyarlılığı azalan bu enzimin etkisiyle endometriotik odakların östrojen duyarlılığı artmaktadır. Bu enzimin inhibisyonu ile endometriozis oluşumu ve ilerlemesi durdurulabilir(112).

2.11.3.11 DİĞER AJANLAR

GnRH antagonistleri, aromataz inhibitörleri, COX-2 inhibitörleri, TNF alfa inhibitörleri, östrojen reseptör beta agonistleri, interferon alfa-2b, pentoksifilin, tiazolidinler (PPAR agonistleri), gossypol, HCG, metotreksat, sulindac, melatonin, xiaochaihu decoction (113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128).

2.12 ENDOMETRİOZİSTE ANTİANJİYOGENETİK RETİNOİK ASİTLER

Anjiyogenezis yani yeniden damar oluşumudur ve vücutta bir denge içindedir. Kanser tedavisinde etkinliği kabul edilen antiangiogenetikler birçok hastalık için tedavi alanında denenmektedirler (129).

Anjiyogenezis reproduktif sistemde de etkin rol oynamaktadır. Endometrioziste de ekilen endometriotik odakların invazyonu ve büyümesinde rol oynamaktadır. Retrograde menstrüasyon teorisine göre peritoneal implantasyon için angiogenezis gerekmektedir (130).

Endometrioziste rol alan birçok sitokin angiogenezis ile ilişkilidir. Artan fonksiyonu bozuk peritoneal makrofaj ve lenfositler angiogenezisi uyarmaktadır. Endostatin, angiostatin, anginex hayvan deneylerinde etkinliği gösterilmiş angiogenezis inhibitörleridir (131). Potent bir angiogenetik olan VEGF'nin inhibisyonu ile endometriozis tedavisi denemektedir. Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) gibi farklı VEGF reseptör tipleri mevcuttur. Östrojen ve prostoglandin yapımı ile ilgili olan aromataz ve COX-2 enzimleri de dolaylı olarak VEGF ile ilişkilidirler. Retinoik asit de VEGF inhibitörü etkisiyle endometriozis tedavisinde denenmiştir (8).

3.HİPOTEZ

Endometriozisin patogeneğinde angiogeneğis önemli bir yer tutmaktadır. Kronik bir hastalık olan endometriozis tedavisinde antiangiogenik ajan kullanımı üzerinde birçok deneysel çalışma yapılmaktadır. Değişik alanlarda kullanımı olan retinoik asitler VEGF inhibisyonu ile endometriozis ilerlemesini durdurabilir.



4. AMAÇ

Endometriozisin patogenezi ile ilgili moleküler çalışmalar göz önüne alınarak yapılan bu deneysel çalışmanın amacı; ratlarda endometriozis modeli oluşturup, retinoik asit derivelerinin, peritoneal endometrial implantlar ve kan VEGF düzeyleri üzerindeki etkilerini saptamak ve karşılaştırmaktır.



5.MATERYAL VE METOD

5.1 ARAŞTIRMA YERİ VE ORTAMI

Araştırma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 1752235/402 sayılı ve 12.06.2013 tarihli onayı alındıktan sonra ve 'Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Yönergesi' kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Deneyde kullanılan hayvanlar KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi, Üretim Ünitesinden temin edildi.

Toplam 48 dişi rat(10-12 haftalık, Sprague Dawley, ağırlıkları 180-220 gram arasında) KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezinde çalışmaya alındı. Ratlar 12 saat gündüz gece siklusuyla 22°C lik çevrede kontrollü şartlarda barındırıldılar. Standart rat yemi ve su oral yolla verildi. Tüm ratlar bu çevre şartlarında deney öncesi bir hafta süreyle barındırıldılar.

5.2 ANESTEZİ

Bütün hayvanların anestezisi 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar; eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent-İstanbul) ve 7 mg/kg xylazine hidrokloritin (Rompun-Bayer Şişli-İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

5.3 ARAŞTIRMA GRUPLARI

Deneyisel çalışma, bir tez çalışmasında geçerliliği kanıtlanmış hayvan modeline uygun olarak planlandı(109). Bu çalışmada 35 Wistar-Albino rat (250-300gram) standart rat yemi ve su ile beslenmişti. Ratlar 12 saat gündüz gece siklusuyla 22°C lik çevrede kontrollü şartlarda barındırılmışlardı. Tüm ratlar bu çevre şartlarında deney öncesi bir hafta süreyle barındırılmışlardı.

Aynı şekilde bizim çalışmamızda da 48 dişi rat, 12 saat gündüz gece siklusuyla 22°C lik çevrede kontrollü şartlarda barındırıldılar. Standart rat yemi ve su oral yolla verildi. Tüm ratlar bu çevre şartlarında deney öncesi bir hafta süreyle barındırıldılar. Ratlarda laparotomi ile endometrial implantlar oluşturulduktan ve 14 gün süreyle hiçbir medikasyon verilmeksizin

gözlendikten sonra kontrol laparotomilerinde endometrial implant odakları başarılı biçimde oluşan ratlar tespit edildi, randomize seçilen 4 grup üzerinde yapıldı.

Grup I: Kontrol grubu (n=10)

Grup II: 10 mg / kg dozlarında isotretionin, peroral, 10 gün (n=10)

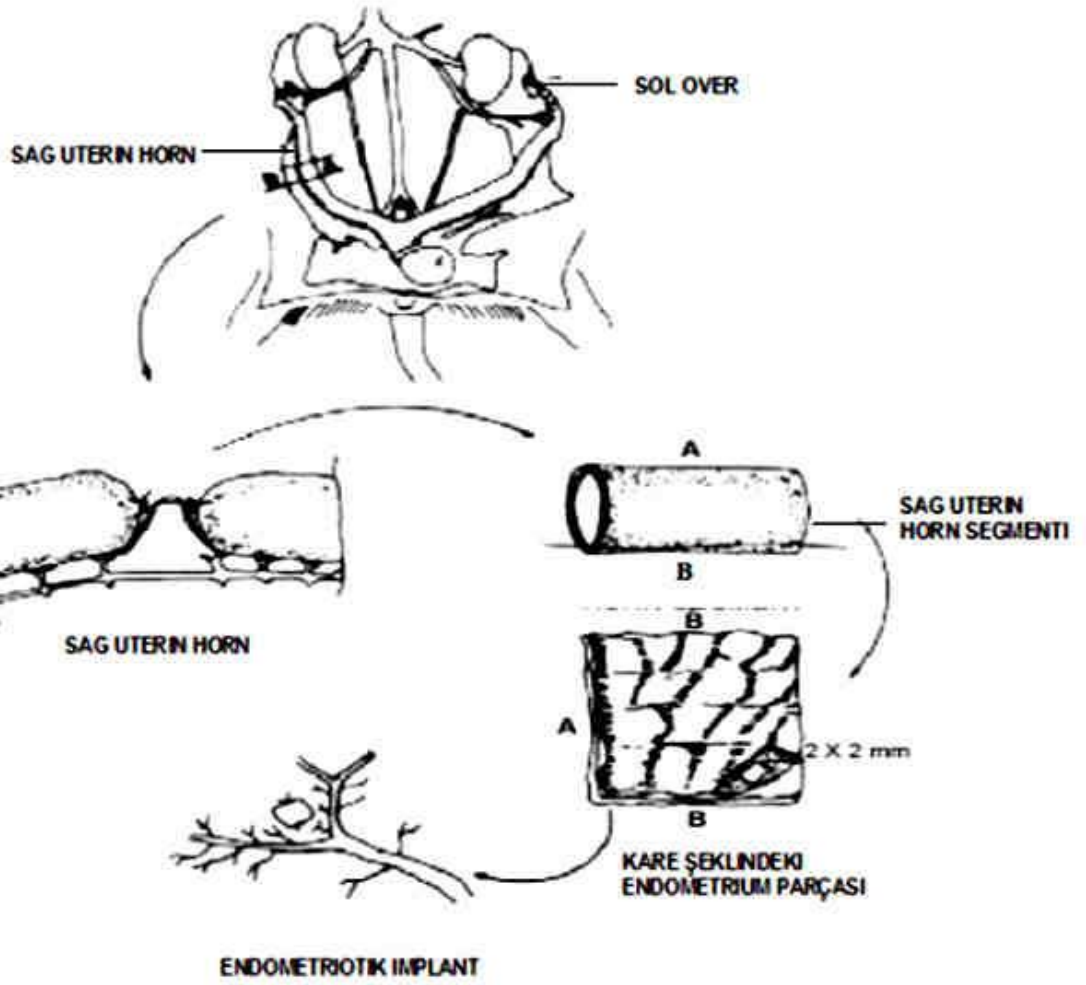
Grup III: 20 mg / kg dozlarında isotretionin, peroral, 10 gün (n=10)

Grup IV: 80 µg / kg alitretionin, peroral, 10 gün (n=10)

5.4 ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ VE YÖNTEMİ

Araştırma için işlemler 3 aşamada yapıldı;

1. aşama: Araştırmaya 48 adet rat ile başlandı. Ratların tamamına ilk işlem sırasında %10 povidone iodin solüsyonu kullanılarak cilt antisepsisi sağlandı. Bütün ratlarda, 50 mg/kg ketamin HCL ve 5-7 mg/kg Xylazin HCL aseptik şartlarda intraperitoneal verilerek anestezi sağlandı. Laparotomi ile 3 cm alt orta hat insizyonu yapıldıktan sonra uterin horn, uterotubal junction ve servikal bölge arasında tutulup kesilerek uzaklaştırıldı. Alınan dokudan endometrium diseke edilerek salin solüsyona yerleştirildi. Takiben batın ön duvarı peritonuna vaskülarizasyonun yoğun gözlendiği alanlara endometrial doku 4/0 vicryl sutür ile tutturuldu. Batın ön duvarı ve cilt 3/0 vicryl kullanılarak kapatıldı. Tüm operasyonlar standart şekilde tek bir araştırmacı tarafından uygulandı.



Şekil 1: Ratlarda endometriozis modeli

2. aşama: Tüm ratlar, 14 gün boyunca sadece günlük besinlerini alacak şekilde ek bir ilaç verilmeden takip edildi. Ondört günlük takip süresi sonrası bütün ratlara endometrial implantların durumlarını gözlemek ve implantlarının alanlarının ölçülerini yapmak üzere ikinci laparotomi işlemi aynı yöntemler ile uygulandı. İşlem sırasında endometrial implantların kırk adet ratta başarı ile oluştuğu gözlemlendi. Endometriotik odak oluşmayan ya da abse oluşumu gözlenen ratlar kansızlaştırma yöntemi ile usulüne uygun olarak çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya uygun ratlarda odakların çapları mikrometreyle invivo ölçülerek ve elipsoid hacim formülü($\pi/6 \times \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{yükseklik}$) kullanılarak hesaplandı ve tek tek not edildi. Batın ön duvarı ve cilt 3/0 vicryl kullanılarak kapatıldı. Tüm operasyonlar standart şekilde tek bir araştırmacı tarafından uygulandı.



Resim 1 Abse oluşumu

Resim 2 Endometriozis

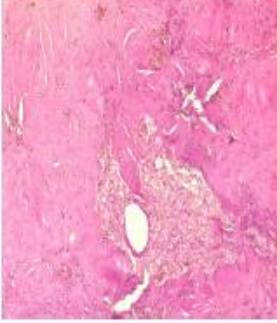
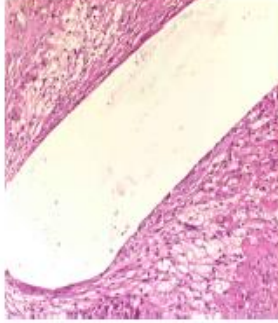
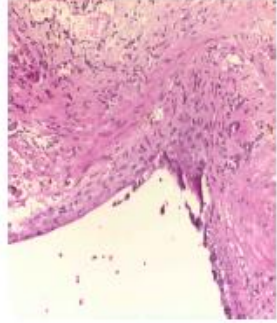
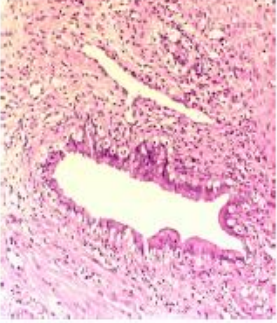
Resim 3 Adezyon oluşumu

3. aşama: İkinci operasyondan sonra hayvanlar dört gruba random olarak ayrıldı ve üç günlük dinlenme periyoduna alındı. Grup I(kontrol grubu,n=10)'e hiçbir medikasyon verilmedi. Grup II deki ratlara 10 mg/kg,Grup III teki ratlara 20 mg/kg dozlarında isotretionin, grup IV teki ratlara 80 µg/kg alitretonin oral olarak orogastrik tüple 10 gün süreyle verildi. Dozlar daha önce yapılmış iki çalışmaya göre belirlendi (132, 133). Bir hafta sonrasında, üçüncü laparotomi işlemi yapıldı. İşlem sırasında, Grup II deki iki hayvan, Grup III teki bir hayvan ve Grup IV teki üç hayvan abse gelişimi nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Geri kalan tüm ratlarda endometriotik odakların çapları tek tek ölçülerek not edildi, endometrial implantlar eksize edildi ve abdominal aortadan VEGF için kan örneği alındı. Kansızlaştırma ile ötenazi yapıldı.

5.5 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Endometrial implantlar eksize edilerek, histolojik inceleme yapılmak üzere %10 formalin solüsyonu ile tespit edildi. Örnekler parafine gömülecek ve 5 µm lik kesitler halinde kesildi. Kesitler hematoxylin ve eosin (H&E) ile boyanacak ve ışık mikroskobu altında incelendi. Endometrial implantlardaki epitel hücrelerinin varlığı yarı kantitatif olarak şu şekilde skorlandı, 0:epitelyum yok, 1:zayıf olarak korunmuş epitelyum, 2:orta derecede korunmuş ve lökosit infiltrasyonu olan epitelyum, 3:iyi korunmuş epitel tabakası. Bu skora sistemi ve değerlendirme önceki endometriozis çalışması temel alınarak yapılmıştır (134).

Tablo 3: Endometriozisin histopatolojik skorlaması

			
Skor 0 Epitel hücresi yok	Skor 1 Kötü korunmuş epitelyal tabaka	Skor 2 Orta derecede korunmuş epitelyal tabaka	Skor 3 İyi korunmuş epitelyal tabaka

5.6 VEGF DEĞERLENDİRİLMESİ

Kan örnekleri 300g ile 15 dakika santrifüj edildikten sonra supernatantlarda toplandı, -80 C° 'de saklandı ve ELISA yöntemiyle kantitatif olarak VEGF düzeyleri ölçüldü.

5.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS for windows release 13.0 programı ile yapıldı. Gruplar arası farklılıklar için nonparametrik Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ve Wilcoxon sign testi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

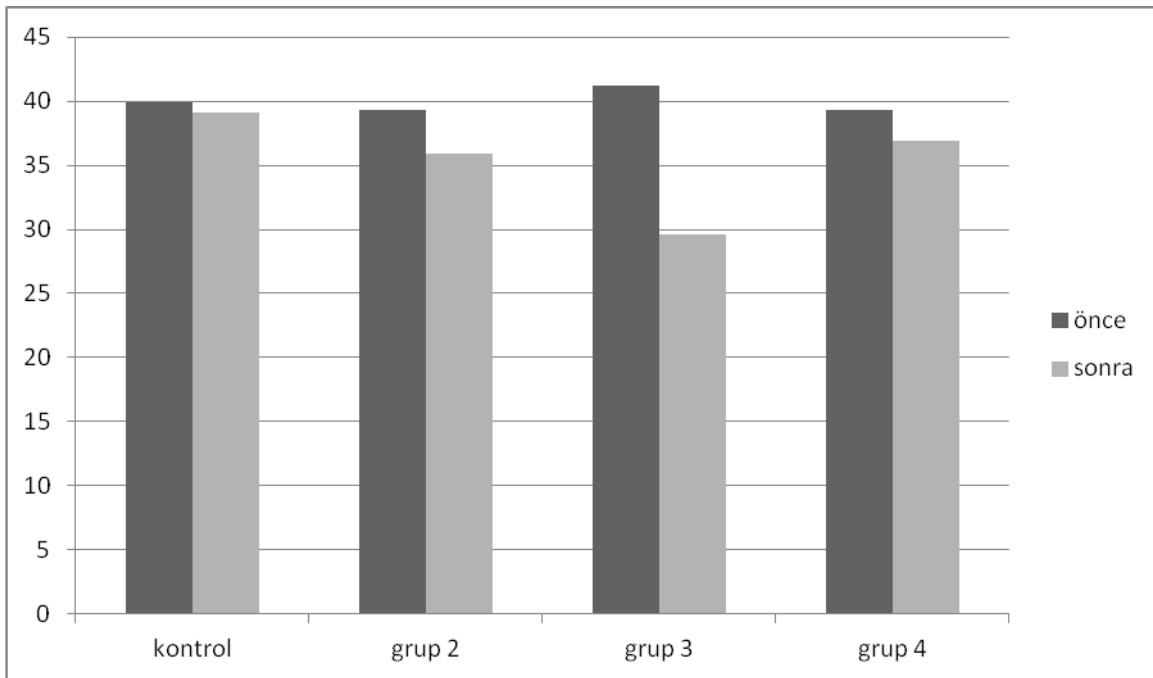
6. SONUÇLAR

Tedavi öncesinde tespit edilen peritoneal endometrial implantların yüzey alanları tedavi sonrası değerler ile karşılaştırıldı. Tedavi sonrası gruplar arasında kan VEGF seviyeleri karşılaştırıldı. Tedavi sonrasında, endometriozis dokusunun hematoksil-eozin ile yapılan boyama sonrası elde edilen histopatolojik skorlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

6.1 YÜZEY ALANI

Grup II ve Grup III te peritoneal endometrial implantların yüzey alanlarının anlamlı olarak küçüldüğü görüldü. Endometrial implantların ortalama yüzey alanları ilaçla tedaviden sonra; Grup II' de $39,3 \pm 2,3 \text{ mm}^3$ ten $35,9 \pm 1,2 \text{ mm}^3$ e ($p=0.018$); Grup III' te $41,2 \pm 2,4 \text{ mm}^3$ ten $29,6 \pm 1,2 \text{ mm}^3$ e ($p=0.012$) düştü. Grup IV te anlamlı bir farklılık görülmedi. Grup IV te medikasyon öncesi $39,3 \pm 3,1 \text{ mm}^3$ olan yüzey alanı $36,9 \pm 3,7 \text{ mm}^3$ ye ($p=0,173$) geriledi. Kontrol grubunda yüzey alanı değişimi beklenildiği gibi anlamlı bir değişiklik göstermedi. Kontrol grubunda $39,9 \pm 3,2 \text{ mm}^3$ yüzey alanı $39,1 \pm 2,4 \text{ mm}^3$ e ($p=0,475$) düştü.

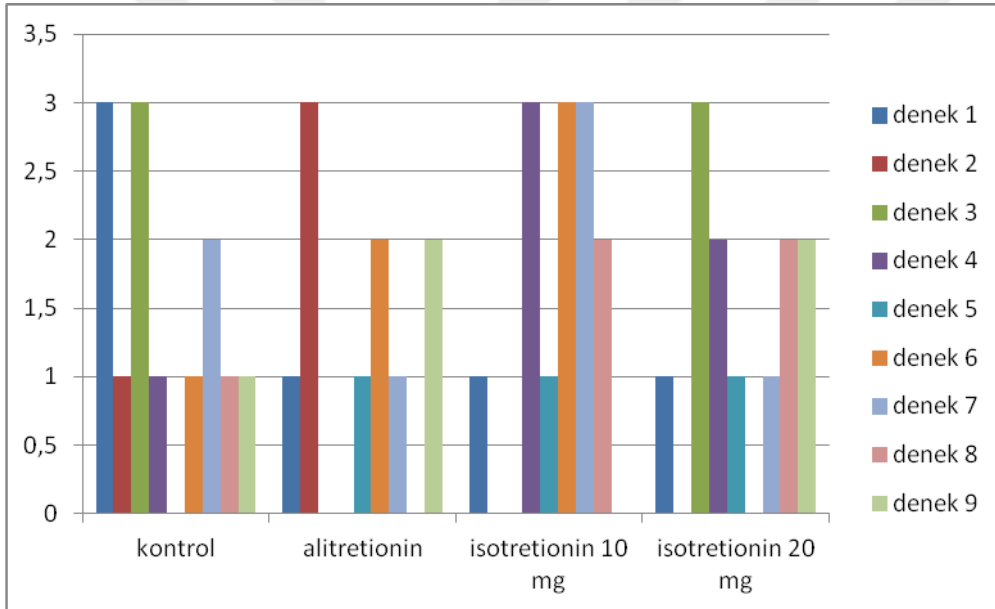
Grafik 1: Tedavi öncesi ve sonrası endometriotik odak büyüklüğü



6.2 HİSTOPATOLOJİK SKORLAMA

Histopatolojik skorlamada kontrol grubuyla diğer gruplar arasında anlamlı bir değişim saptanmadı(p=0,847). Kontrol grubunda histopatolojik skor $1,44 \pm 1,01$; Grup II de skor $1,85 \pm 1,21$; Grup III te skor $1,5 \pm 0,92$ ve Grup IV te skor $1,66 \pm 0,81$ olarak saptandı.

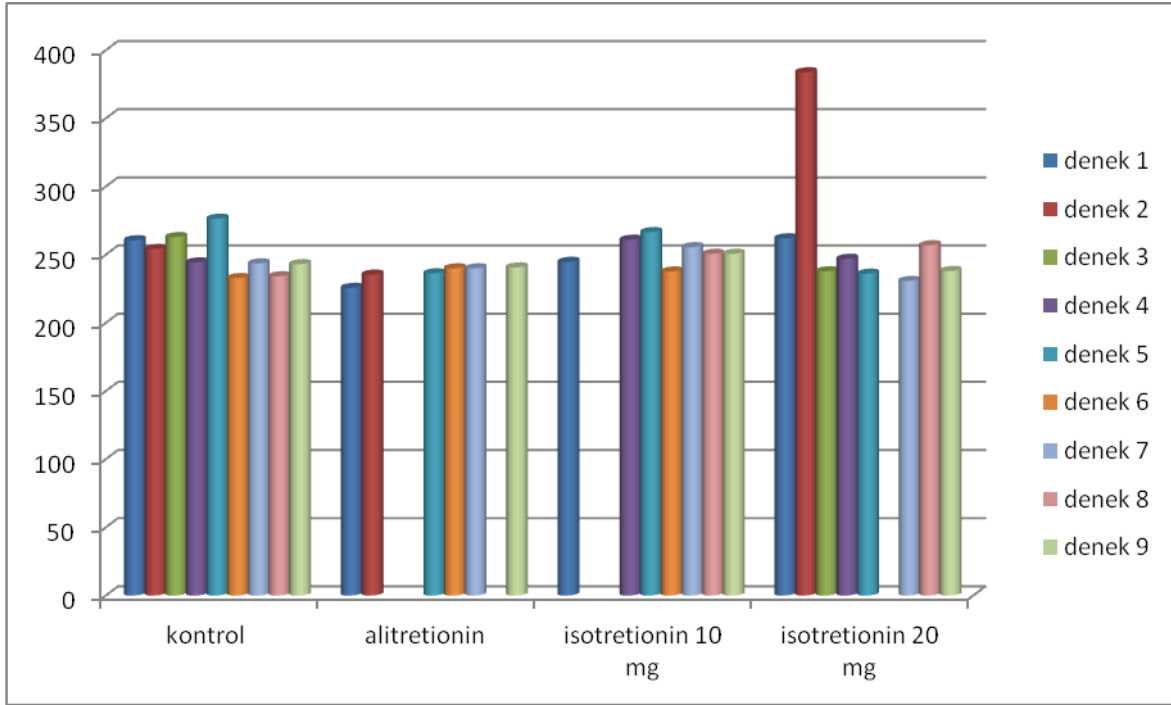
Grafik 2: Endometriozis histopatolojik skorlaması



6.3 KAN VEGF DÜZEYİ

VEGF düzeyleri kontrol grubuyla diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi(p=0,105). Grup I de kan VEGF seviyesi $250,2 \pm 14,9$ pg/ml; Grup II de VEGF seviyesi $252,4 \pm 5,6$ pg/ml ; Grup III te VEGF seviyesi $261,5 \pm 50,5$ pg/ml ve Grup IV te VEGF seviyesi $236,3 \pm 5,6$ pg/ml olarak saptandı.

Grafik 3: VEGF Seviyesi



7. TARTIŞMA

Retrograde menstrüasyon teorisi temelinde endometriozisin gelişim sürecinde endometrial hücrelerin öncelikle peritona dökülmesinden sonra mezotelyuma invazyonu gerçekleşir. Fonksiyonları bozuk olan inflamatuvar hücrelerin bu odaklara gelişi ile angiogenesis uyarılır. Sonrasında endometriotik odakların proliferasyon süreci başlar. Bu süreçte endokrin, immün, genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır.

Bu davranış biçimi kanser hücrelerinin metastazdaki yayılımına benzemektedir. Bir çalışmada laparoskopik olarak endometriozisli hastalar kontrol grubundaki hastalarla karşılaştırılmış, epitelyal ve stromal hücreler semi kantitatif immünohistokimyasal boyama ile skorlama yapılmıştır. Bu çalışmada yayılımda angiogenesis basamağında ana rolü oynayan VEGF olarak değerlendirilmiştir(130). Fibroblast büyüme faktörü, soluble truncated receptör gibi birçok ajan endometrioziste artış göstermektedir(131). Antiangiogenik ajanlar ile endometriozis tedavisinde terapötik etki sağlanabileceği önerilmiştir. Bu çalışmalar ışığında yapılan bu deneysel çalışmada amaç retinoik asitler ile VEGF inhibisyonu sağlayarak endometriotik odalarda angiogenesisin durdurulmasını sağlamaktır. Böylelikle endometriotik odakların küçülmesi de sağlanabilir.

Endometriozis için klasik medikal tedavide amaç endojen steroid üretimini azaltarak ağrı ile ilgili semptomların azaltılmasını sağlamaktır. Danazol, medroksi progesteron asetat, gestrinon, oral kontraseptifler ve GnRH analogları endometriozis tedavisinde kullanılmış ancak bu tedaviler infertilite üzerine olumlu bir gelişme sergileyememiştir. Bununla beraber uzun süreli kullanımda yan etkileri nedeni ile kullanımları sınırlıdır(101). Bu nedenlerden yola çıkarak biz de yeni tedavi modalitelerini değerlendirmek amacıyla retinoik asitlerin endometriozis üzerine etkilerini gözlemledik.

Retinolün hücre içine girişinde STRA-6 ve CRABP-2 rol oynamaktadır. Pavone ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometriotik odalarda bu genlerin ekspresyonunun azaldığı ve VEGF üzerine etkili olan retinoidlerin endometriotik odakta bulunan hücreler tarafından alımının kısıtlandığı görülmüştür. Bu durum retinoik asit tedavisinin endometriotik odaklardaki etkinliğini azaltmaktadır.

Antiangiogenik bir ajan olan bevacizumab ratlarda postoperatif adezyon üzerine çalışılmış, adezyonları azalttığı ve infertilite üzerine tedavi başarısını arttırmada faydalı olabileceği izlenmiştir(135). Bu etkisini VEGF inhibisyonu ile göstermektedir. Biz de VEGF inhibitörü olan retinoik asit ile endometriozisli hastalarda adezyonları azaltarak infertilite üzerine etkili olmayı planladık.

Tee ve arkadaşlarının çalışmasında endometriumda nötrofil benzeri hücre kabul edilen HL-60 hücrelerinde VEGF yi retinoik asitin inhibe ettiği gösterilmiştir. Endometriumdaki bu nötrofiller VEGF için zengin bir kaynaktır(136, 137). Biz de bu etkiyi göz önünde bulundurarak lokal olarak endometriozisin gelişiminde angiogenezisi baskılamayı planladık. Çalışmamızda da sistemik bir VEGF azalması izlenmemekle birlikte isotretionin verilen ratlarda endometriotik odakların yüzey alanının küçüldüğü izlendi.

Retinoik asitlerin anti-inflamatuar etkisinden cilt hastalıklarında faydalanılmaktadır. Bu etkileri interlökinlerin ekspresyonunun modülasyonu ile mümkündür(138). Ayrıca hücre döngüsünde inhibitör mekanizmada rol oynayan protein p21 üzerinden antiproliferatif etki göstermektedir(139). Retinoik asit, RA-gene-8 üzerinden ovaryan rezerv üzerinde etki göstererek infertilite tedavisine de katkı sağlamaktadır(140). Biz de bu ovaryan rezerv havuzu üzerindeki pozitif etki ile retinoik asitin infertilite sorununa çözümde fayda sağlayacağımızı düşünüyoruz.

Çalışmamız temel olarak retrograde menstrüasyon(Sampson) teorisine uygun endometriotik odakların retinoik asitlerle geriletilmesi prensibine dayandırılmıştır. Önceki çalışmalardan farklı olarak kan ve periton sıvısının benzerliğinden faydalanılarak kan VEGF seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Medikasyon sonrasında kan VEGF seviyelerinde gruplar arasında farklılıklar görülmedi. Bir farklılık izlenmemesi retinoik asitin etkisini endometriotik odaktaki hücelere angiogenezis üzerine lokal etkisinden kaynaklanabileceği gibi bu hücrelerde retinoik asitin hücre içine alımının düşük gerçekleşmesinden de olabilir.

Çalışmamızda her iki laparotomiden sonra abse ile karşılaşmış ve abse ile karşılaşıl原因 ratlar çalışma dışı bırakılmıştır. Abse oluşumu steril şartların tam olarak sağlanamamasına bağlanmıştır.

Endometriotik odakların skorlaması yapıp gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu durum retinoik asitin angiogenezis üzerinden endometriotik odağın küçülmesine neden olduğu ancak endometrial hücelere direkt bir sitotoksik etki oluşturmamasıyla açıklandı. Bu endometriotik odaklarda retinoik asit ve diğer antiangiogenik faktörlere karşı hücelerde direnç gelişimi de izlenebilir.

Yüzey alanları tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında ise isotretioninin anlamlı bir küçülme sağlarken alitretonin anlamlı bir küçülme sağlayamadı. Retinoik asit türevlerinin hücre içine transportu ve reseptörleri farklılık gösterebilir. Bu nedenle lokal etkide farklı hücelere üzerine farklı dozlarda etki gösterebilirler.

8. SONUÇ

Antiangiogenik ajanlar ile kanser tedavisindeki prensiplere benzer temelerde endometriozis tedavisinde kullanılabilirler. VEGF üzerine olan etkileri ile hem endometriozisin küçülmesini hem de adezyonların azalmasını sağlayabilirler. Ovaryan rezerv artırıcı etkileri ile klasik medikal tedavilerden farklı olarak uzun süreli kullanımda infertilite üzerinde de olumlu etki sağlanabilir. Endometriozis tedavisinin geleceğinde uzun süreli kullanımı olan yan etkisi en az düzeyde yeni preparatlar geliştirilecektir.



9.KAYNAKLAR

1. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20:2698-2704.
2. Eskenazi B and Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24:235–258.
3. Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, et al: High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril* 92:68, 2009
4. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996, 1997
5. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod.* 1998;13(6):1686–1690.
6. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1996;11(1):220–223.
7. Tee MK, Vigne JL, Taylor R. All-trans retinoic acid inhibits vascular endothelial growth factor expression in a cell model of neutrophil activation. *Endocrinology.* 2006;147(3):1264–1270.
8. Özer H, Boztosun A, Açmaz G, Atılgan R, Akkar Ö, Kosar Mİ, The Efficacy of Bevacizumab, Sorafenib, and Retinoic Acid on Rat Endometriosis Model *Reprod Sci.* 2013;20(1):26-32
9. Comiter CV: Endometriosis of the urinary tract. *Urol Clin North Am* 29:625,2002
10. Giudice LC, Kao LC: Endometriosis. *Lancet* 364:1789, 2004
11. Von Rokitsansky C: Ueber Uterusdrusen-neubildung in Uterus and Ovarilsarcomen. *Z Ges Aerzte Wein* 37:577, 1860
12. Houston DE, Noller KL, Melton LJ III, et al: Incidence of pelvic endometriosis in Rochester, Minnesota, 1970–1979. *Am J Epidemiol* 125:959, 1987
13. Mahmood TA, Templeton A: Prevalence and genesis of endometriosis. *Hum Reprod* 6:544, 1991
14. Moen MH, Schei B: Epidemiology of endometriosis in a Norwegian county. *Acta Obstet Gynecol Scand* 76:559, 1997

15. Balasch J, Creus M, Fabregues F, et al: Visible and non-visible endometriosis at laparoscopy in fertile and infertile women and in patients with chronic pelvic pain: a prospective study. *Hum Reprod* 11:387, 1996
16. Eskenazi B, Warner M, Bonsignore L, et al: Validation study of nonsurgical diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril* 76:929, 2001
17. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obst Gyn* 1927; 14:422
18. Giudice LC, Kao LC: Endometriosis. *Lancet* 364:1789, 2004
19. Leyendecker G, Kunz G, Herbertz M, et al: Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 1034:338, 2004
20. Cramer DW, Wilson E, Stillman RJ, Berger MJ, Belisle S, Schiff I, Albrecht B, Gibson M, Sradel BV, Schoenbaum SC. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *JAMA*. 1986 Apr 11; 255 (14): 1904-8
21. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG and Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 151-4
22. Ueki M: Histologic study of endometriosis and examination of lymphatic drainage in and from the uterus. *Am J Obstet Gynecol* 165:201, 1991
23. Mitchell AO, Hoffman AP, Swartz SE, et al: An unusual occurrence of endometriosis in the right groin: a case report and review of the literature. *Mil Med* 156:633, 1991
24. Pollack R, Gordon PH, Ferenczy A, et al: Perineal endometriosis. A case report. *J Reprod Med* 35:109, 1990
25. Moore JG, Binstock MA, et al: The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 158:1291, 1988
26. McMeekin DS, Tillmanns T: Endometrial cancer: treatment of nodal metastases. *Curr Treat Options Oncol* 4:121, 2003
27. Lauchian SC. The secondary Mullerian system. *Obstet Gynecol Surv* 1972;27:133-46
28. Dictor M, Nelson CE, Uvelius B: Priapism in a patient with endometrioid prostatic carcinoma. A case report. *Urol Int* 43:245, 1988
29. Pinkert TC, Catlow CE, Straus R: Endometriosis of the urinary bladder in a man with prostatic carcinoma. *Cancer* 43:1562, 1979
30. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, et al: Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 96:21, 2001
31. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, et al: Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 47(Suppl 1):18, 1999
32. Gurates B, Bulun SE: Endometriosis: the ultimate hormonal disease. *Semin*

- Reprod Med 21:125, 2003
33. Kitawaki J, Noguchi T, Amatsu T, et al: Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biol Reprod* 57:514, 1997
 34. Zeitoun K, Takayama K, Sasano H, et al: Deficient 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17 beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 83:4474, 1998
 35. Satyaswaroop PG, Wartell DJ, Mortel R: Distribution of progesterone receptor, estradiol dehydrogenase, and 20 alpha-dihydroprogesterone dehydrogenase activities in human endometrial glands and stroma: progestin induction of steroid dehydrogenase activities in vitro is restricted to the glandular epithelium. *Endocrinology* 111:743, 1982
 36. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM, et al: Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 82:600, 1997
 37. Bulun SE, Yang S, Fang Z, et al: Estrogen production and metabolism in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 955:75, 2002
 38. Seli E, Arici A: Endometriosis: interaction of immune and endocrine systems. *Semin Reprod Med* 21:135, 2003
 39. Haney AF, Muscato J, Weinberg JB: Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 35:696, 1981
 40. Braun DP, Muriana A, Gebel H, et al: Monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis. *Fertil Steril* 61:78, 1994
 41. Wilson TJ, Hertzog PJ, Angus D, et al: Decreased natural killer cell activity in endometriosis patients: relationship to disease pathogenesis. *Fertil Steril* 62:1086, 1994
 42. Gleicher N, Dmowski WP, Siegel I, et al: Lymphocyte subsets in endometriosis. *Obstet Gynecol* 63:463, 1984
 43. Odukoya OA, Wheatcroft N, Weetman AP, et al: The prevalence of endometrial immunoglobulin G antibodies in patients with endometriosis. *Hum Reprod* 10:1214, 1995
 44. Mori H, Sawairi M, Nakagawa M, et al: Peritoneal fluid interleukin-1 beta and tumor necrosis factor in patients with benign gynecologic disease. *Am J Reprod Immunol* 26:62, 1991
 45. Tseng JF, Ryan IP, Milam TD, et al: Interleukin-6 secretion in vitro is upregulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1118, 1996
 46. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, et al: Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 17:426, 2002

47. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, et al: Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest* 98:482, 1996
48. Hadfield RM, Mardon HJ, Barlow DH, et al: Endometriosis in monozygotic twins. *Fertil Steril* 68:941, 1997
49. Treloar SA, O'Connor DT, O'Connor VM, et al: Genetic influences on endometriosis in an Australian twin sample. *Fertil Steril* 71:701, 1999
50. Simpson JL, Elias S, Malinak LR, et al: Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol* 137:327, 1980
51. Treloar SA, Wicks J, Nyholt DR, et al: Genomewide linkage study in 1,176 affected sister pair families identifies a significant susceptibility locus for endometriosis on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 77:365, 2005
52. Daftary GS, Taylor HS: EMX2 gene expression in the female reproductive tract and aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2390, 2004
53. Bischoff FZ, Simpson JL: Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum Reprod Update* 6:37, 2000
54. Breech LL, Laufer MR: Obstructive anomalies of the female reproductive tract. *J Reprod Med* 44:233, 1999
55. Schattman GL, Grifo JA, Birnbaum S: Laparoscopic resection of a noncommunicating rudimentary uterine horn. A case report. *J Reprod Med* 40:219, 1995
56. Joki-Erkkila MM, Heinonen PK: Presenting and long-term clinical implications and fecundity in females with obstructing vaginal malformations. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 16:307, 2003
57. Rier S, Foster WG: Environmental dioxins and endometriosis. *Semin Reprod Med* 21: 145, 2003
58. Mayani A, Barel S, Soback S, et al: Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod* 12:373, 1997
59. Guzick DS, Silliman NP, Adamson GD, et al: Prediction of pregnancy in infertile women based on the American Society for Reproductive Medicine's revised classification of endometriosis. *Fertil Steril* 67:822, 1997
60. Markham SM, Carpenter SE, et al: Extrapelvic endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 16:193, 1989
61. Price DT, Maloney KE, Ibrahim GK, et al: Vesical endometriosis: report of two cases and review of the literature. *Urology* 48:639, 1996
62. Roberts LM, Redan J, Reich H: Extrapelvic endometriosis with catamenial pneumothoraces: a review of the literature. *JSL* 7:371, 2003
63. Ryu JS, Song ES, Lee KH, et al: Natural history and therapeutic implications of patients with catamenial hemoptysis. *Resp Med* 101(5):1032, 2007
64. Sciume C, Geraci G, Pisello F, et al: [Intestinal endometriosis: an obscure cause of cyclic rectal bleeding]. *Ann Ital Chir* 75:379, 2004

65. Mathias SD, Kuppermann M, Liberman RF, et al: Chronic pelvic pain: prevalence, health-related quality of life, and economic correlates. *Obstet Gynecol* 87:321, 1996
66. Berkley KJ, Rapkin AJ, Papka RE: The pains of endometriosis. *Science* 308:1587, 2005
67. Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V, et al: Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 9:115, 2002
68. Murphy AA: Clinical aspects of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 955:1, 2002
69. Fauconnier A, Chapron C, Dubuisson JB, et al: Relation between pain symptoms and the anatomic location of deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 78:719, 2002
70. Ferrero S, Esposito F, Abbamonte LH, et al: Quality of sex life in women with endometriosis and deep dyspareunia. *Fertil Steril* 83:573, 2005
71. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, et al: Pain symptoms associated with endometriosis. *Obstet Gynecol* 79:767, 1992
72. Vercellini P, Meschia M, De Giorgi O, et al: Bladder detrusor endometriosis: clinical and pathogenetic implications. *J Urol* 155:84, 1996
73. Possover M, Chiantera V: Isolated infiltrative endometriosis of the sciatic nerve: a report of three patients. *Fertil Steril* 87(2):417.e17, 2007
74. Vilos GA, Vilos AW, Haebe JJ: Laparoscopic findings, management, histopathology, and outcome of 25 women with cyclic leg pain. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 9:145, 2002
75. Waller KG, Lindsay P, Curtis P, et al: The prevalence of endometriosis in women with infertile partners. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 48:135, 1993
76. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, et al: The cycle pregnancy rate is normal in baboons with stage I endometriosis but decreased in primates with stage II and stage III-IV disease. *Fertil Steril* 66:809, 1996
77. Schenken RS, Asch RH: Surgical induction of endometriosis in the rabbit: effects on fertility and concentrations of peritoneal fluid prostaglandins. *Fertil Steril* 34:581, 1980
78. Olive DL, Stohs GF, Metzger DA, et al: Expectant management and hydrotubations in the treatment of endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 44:35, 1985
79. Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, et al: Role of laparoscopy in the treatment of endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 53(Suppl 1):33, 2002
80. Cameron IC, Rogers S, Collins MC, et al: Intestinal endometriosis: presentation, investigation, and surgical management. *Int J Colorectal Dis* 10:83, 1995

81. Varras M, Kostopanagiotou E, Katis K, et al: Endometriosis causing extensive intestinal obstruction simulating carcinoma of the sigmoid colon: a case report and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol* 23:353, 2002
82. Wickramasekera D, Hay DJ, Fayz M: Acute small bowel obstruction due to ileal endometriosis: a case report and literature review. *J R Coll Surg Edinb* 44:59, 1999
83. Koger KE, Shatney CH, Hodge K, et al: Surgical scar endometrioma. *Surg Gynecol Obstet* 177:243, 1993
84. Zhu L, Wong F, Lang JH: Perineal endometriosis after vaginal deliver clinical experience with 10 patients. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 42:565, 2002
85. Watanabe M, Kamiyama G, Yamazaki K, et al: Anal endosonography in the diagnosis and management of perianal endometriosis: report of a case. *Surg Today* 33:630, 2003
86. Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, et al: Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma CA-125 concentration. *Fertil Steril* 65:280, 1996
87. Hornstein MD, Harlow BL, Thomas PP, et al: Use of a new CA 125 assay in the diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod* 10:932, 1995
88. Harada T, Kubota T, Aso T: Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril* 78:733, 2002
89. Athey PA, Diment DD: The spectrum of sonographic findings in endometriomas. *J Ultrasound Med* 8:487, 1989
90. Patel MD, Feldstein VA, Chen DC, et al: Endometriomas: diagnostic performance of US. *Radiology* 210:739, 1999
91. Carbognin G, Guarise A, Minelli L, et al: Pelvic endometriosis: US and MRI features. *Abdom Imaging* 29:609, 2004
92. Jansen RP, Russell P: Nonpigmented endometriosis: clinical, laparoscopic, and pathologic definition. *Am J Obstet Gynecol* 155:1154, 1986
93. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, et al: ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 20:2698, 2005
94. Nezhat C, Nezhat F: A simplified method of laparoscopic presacral neurectomy for the treatment of central pelvic pain due to endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 99:659, 1992
95. Vercellini P, Vendola N, Bocciolone L, et al: Reliability of the visual diagnosis of ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 56:1198, 1991
96. Walter AJ, Hentz JG, Magtibay PM, et al: Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 184:1407, 2001
97. Marques A, Bahamondes L, Aldrighi JM, Petta CA. Quality of life in Brazilian women with endometriosis assessed through a medical outcome questionnaire. *J Reprod Med.* 2004 Feb;49(2):115-20.

98. Roman H. Guidelines for the management of painful endometriosis. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2007 Apr;36(2):141-50.
99. Adamson D. Surgical management of endometriosis. *Semin Reprod Med*. 21:223,2003
100. Vercellini P, Trespidi L, Colombo A, Vndola N, Marchini M, , A gonadotropin releasing hormone agonist versus a low-dose oral contraceptive for pelvic pain associated with endometriosis, *Fertil Steril* 60:75, 1993
101. Hughes E, Federkow D, Collins C, Vandekerckhove P Ovulation suppression for endometriosis, *Cochrane Database Syst Rev*, 2003
102. Edelman AB, Gallo MF, Jensen JT, Nichols MD, Schulz KF, Grimes DA. Continuous or extended cycle vs. cyclic use of combined oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005
103. Dlugi AM, Miller JD, Knittle J. Lupron depot (leuprolide acetate for depot suspension) in the treatment of endometriosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Lupron Study Group. Fertil Steril*. 1990 Sep;54(3):419-27.
104. Roman H. Guidelines for the management of painful endometriosis. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2007 Apr;36(2):141-50. Epub 2007 Feb 2
105. Lockhat F.B., Emembolu J.O. and Konje J.C. The evaluation of the effectiveness of an intrauterine-administered progestogen (levonorgestrel) in the symptomatic treatment of endometriosis and in the staging of the disease. *Human Reproduction*, Vol. 19, No. 1, 179-184, January 2004
106. Vercellini P, Vigano P, Somigliana E. The role of the levonorgestrel-releasing intrauterine device in the management of symptomatic endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2005 Aug;17(4):359-65
107. Allen C, Hopewell S, Prentice A. *Cochrane Database Syst Rev*. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. 2005 Oct 19;(4):CD004753
108. Efstathiou JA, Sampson DA, Levine Z, Rohan RM, Zurakowski D, Folkman J, D'Amato RJ, Rupnick MA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially suppress endometriosis in a murine model. *Fertil Steril*. 2005 Jan;83(1):171-81
109. Yavuz E, Oktem M, Esinler I, Toru SA, Zeyneloglu HB. Genistein causes regression of endometriotic implants in the rat model. *Fertil Steril*. 2007 Jun.
110. DeManno D, Elger W, Garg R, Lee R, Schneider B, Hess-Stumpp H, Schubert G, Chwalisz K Asoprisnil (J867): a selective progesterone receptor modulator for gynecological therapy. *Steroids*. 2003 Nov;68(10-13):1019-32
111. Grow DR, Williams RF, Hsiu JG, Hodgen GD. Antiprogestin and/or gonadotropin-releasing hormone agonist for endometriosis treatment and bone maintenance: a 1-year primate study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 May;81(5):1933-9

112. Osteen KG, Yeaman GR, Bruner-Tran KL. Matrix metalloproteinases and endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2003 May;21(2):155-64.
113. Schultze-Mosgau A, Griesinger G, Altgassen C, von Otte S, Hornung D, Diedrich K. New developments in the use of peptide gonadotropin-releasing hormone antagonists versus agonists. *Expert Opin Investig Drugs.* 2005 Sep;14(9):1085-97
114. Ebert AD, Bartley J, David M. Aromatase inhibitors and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in endometriosis: new questions--old answers? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Oct 1;122(2):144-50. Epub 2005 Sep 12
115. Hefler LA, Grimm C, van Trotsenburg M, Nagele F. Role of the vaginally administered aromatase inhibitor anastrozole in women with rectovaginal endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril.* 2005 Oct;84(4):1033-6
116. Barrier BF, Bates GW, Leland MM, Leach DA, Robinson RD, Propst AM. Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy in the treatment of spontaneous endometriosis in baboons. *Fertil Steril.* 2004 Mar;81 Suppl 1:775-9
117. Uygur D, Aytan H, Zergeroglu S, Batioglu S. Leflunomide--an immunomodulator--induces regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis. *J Soc Gynecol Investig.* 2006 Jul;13(5):378-83. Epub 2006 May 19.
118. Harris HA, Bruner-Tran KL, Zhang X, Osteen KG, Lyttle CR. A selective estrogen receptor-beta agonist causes lesion regression in an experimentally induced model of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005 Apr;20(4):936-41. Epub 2004 Dec 23
119. Ingelmo JM, Quereda F, Acien P. Intraperitoneal and subcutaneous treatment of experimental endometriosis with recombinant human interferon-alpha-2b in a murine model. *Fertil Steril.* 1999 May;71(5):907-11
120. Alborzi S, Ghotbi S, Parsanezhad ME, Dehbashi S, Alborzi S, Alborzi M. Pentoxifylline therapy after laparoscopic surgery for different stages of endometriosis: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Minim Invasive Gynecol.* 2007 Jan-Feb;14(1):54-8.
121. Aytan H, Caliskan AC, Demirturk F, Aytan P, Koseoglu DR. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone reduces the size of experimental endometriosis in the rat model. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2007 Aug;47(4):321-5
122. Badawy SZ, Souid AK, Cuenca V, Montalto N, Shue F. Gossypol inhibits proliferation of endometrioma cells in culture. *Asian J Androl.* 2007 May;9(3):388-93
123. Huber AV, Huber JC, Kolbus A, Imhof M, Nagele F, Loizou D, Kaufmann U, Singer CF. Systemic HCG treatment in patients with endometriosis: a new perspective for a painful disease. *Wien Klin Wochenschr.* 2004 Dec 30;116(24):839-43.

124. Agostini A, De Lapparent T, Collette E, Capelle M, Cravello L, Blanc B. In situ methotrexate injection for treatment of recurrent endometriotic cysts. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Jan;130(1): 129-31
125. Tee MK, Vigne JL, Taylor RN. All-trans retinoic acid inhibits vascular endothelial growth factor expression in a cell model of neutrophil activation. *Endocrinology.* 2006 Mar;147(3):1264-70
126. Wieser F, Vigne JL, Ryan I, Hornung D, Djalali S, Taylor RN. Sulindac suppresses nuclear factor-kappaB activation and RANTES gene and protein expression in endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Dec;90(12):6441-7
127. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertil Steril.* 2007 Jun 18
128. Zheng H, Zuo LD. Experimental study on treatment of endometriosis with xiaochaihu decoction *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2006 Jun;26 Suppl:119-22.
129. Veeravagu A, Hsu AR, Cai W, Hou LC, Tse VC, Chen X. Vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor inhibitors as antiangiogenic agents in cancer therapy. *Recent Patents Anticancer Drug Discov.* 2007 Jan;2(1):59-71
130. Wingfield M, Macpherson A, Healy DL, Rogers PA. Cell proliferation is increased in the endometrium of women with endometriosis. *Fertil Steril.* 1995 Aug;64(2):340-6
131. 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 Jun;88(6):2889-99.
132. O'Dwyer PJ, Ravikumar TS, McCabe DP, Steele G Jr Effect of 13-cis-retinoic acid on tumor prevention, tumor growth, and metastasis in experimental colon cancer. *J Surg Res.* 1987;43(6):550-557.
133. Yin LH, Shen H, Diaz-Ruiz O, Bäckman CM, Bae E, Yu SJ, Wang Y. Early post-treatment with 9-cis retinoic acid reduces neurodegeneration of dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *BMC Neurosci.* 2012 Oct 6;13:120. doi: 10.1186/1471-2202-13-120
134. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, Chen TT, Caudle 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(1):135-141
135. Moraloglu O, Isik H, Kilic S, et al. Effect of bevacizumab on postoperative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model and the correlation with vascular endothelial growth factor and Ki-67 immunopositivity. *Fertil Steril.* 2011;95(8):2638-2641.

136. Mueller MD, Lebovic DI, Garrett E, Taylor RN. Neutrophils infiltrating the endometrium express vascular endothelial growth factor: potential role in endometrial angiogenesis. *Fertil Steril*. 2000; 74(1):107-112.
137. Gargett CE, Lederman F, Heryanto B, Gambino LS, Rogers PA. Focal vascular endothelial growth factor correlates with angiogenesis in human endometrium. Role of intravascular neutrophils. *Hum Reprod*. 2001;16(6):1065-1075.
138. Na SY, Kang BY, Chung S, et al. Retinoids inhibit interleukin-12 production in macrophages through physical associations of retinoid X receptor and NF κ B. *J Biol Chem*. 1999;274(12):7674-7680.
139. Bollag W, Majewski S, Jablonska S. Cancer combination chemotherapy with retinoids: experimental rationale. *Leukemia*. 1994;8(9):1453-1457.
140. Niikura Y, Niikura T, Wang N, Satirapod C, Tilly JL. Systemic signals in aged males exert potent rejuvenating effects on the ovarian follicle reserve in mammalian females. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(12):999-1003.