

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ENDOMETRİYOTİK DOKULARDA İNTERLÖKİN 6 VE TÜMÖR
NEKROZ FAKTÖR ALFA EKSPRESYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Nimet Fulya FURUCU

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Sait POLAT

ADANA-2015

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ENDOMETRİYOTİK DOKULARDA İNTERLÖKİN 6 VE TÜMÖR
NEKROZ FAKTÖR ALFA EKSPRESYONUNUN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Nimet Fulya FURUCU

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Sait POLAT

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TF2014YL1'nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No:.....

ADANA-2015

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sırasında her zaman beni destekleyen, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sait POLAT'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim üyeleri, Prof. Dr.Turan ÇETİN'e ve Doç. Dr. İbrahim Ferhat ÜRÜNSAK'a, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Prof. Dr. Derya GÜMÜRDÜLÜ'ye ve çalışmalarım sırasında yardım ve desteğini hiç esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Yrd. Doç. Dr. Leman SENCAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Yüksek Lisans eğitimim sırasında, bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalımızın bütün öğretim üyeleri ile akademik ve idari personellerine de çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime başlamamda teşvik eden ve yol gösteren, değerli kuzenim Dr.Mahmut ÖZCAN'a, her konuda yardım ve dostluklarını esirgemeyen hep yanımda hissettiğim arkadaşlarıma, Arş.Gör.Gülfidan COŞKUN'a, Latife ÇELİK'e, Sinem HAZİR'a ve Ahmet DÜKÜNLÜ'ye, yaşamımın her alanında olduğu gibi, yüksek lisans eğitimim sırasında da, beni her zaman yürekten destekleyen, sevgili annem Nesrin FURUCU ve babam Durmuş Ali FURUCU'ya ayrıca canım kardeşlerim Cansu, Bensu ve Can'a da sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Nimet Fulya FURUCU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER VE TABLO DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Uterus Histolojisi	4
2.2. Endometriyum Yapısı	5
2.2.1. Proliferatif (Foliküler) Evre	7
2.2.2. Progestasyonel (Luteal, Sekretuvar) Evre	7
2.2.3. İskemik (Premenstrüel) Evre	8
2.2.4. Menstrüel Evre	8
2.3 . Endometriyumun İnce Yapısı	9
2.3.1. Menstrüel evre	9
2.3.2. Proliferatif evre	10
2.3.2.1. Mikrovilluslu hücreler	11
2.3.2.2. Pinopodlu hücreler	11
2.3.2.3. Veziküler hücreler	11
2.3.2.4. Silyalı hücreler	12
2.4. Endometriyozis	12
2.4.1. Endometriyozisin tanımı	12
2.4.2. Endometriyozis epidemiyolojisi	13
2.4.2.1. Frekans	13
2.4.2.2. Risk faktörleri	14

2.4.2.2.1. Yaş	14
2.4.2.2.2. Sosyal sınıf	14
2.4.2.2.3. Menstrüel ve üreme faktörleri	14
2.4.2.2.4. Aile öyküsü	14
2.4.3. Endometriyozisin sınıflandırılması	15
2.4.4. Endometriyozis Teorileri	15
2.4.4.1. Retrograd menstruasyon	15
2.4.4.2. Metaplazi	16
2.4.4.3. Hormonlar	16
2.4.4.4. İmmün Sistem Bozuklukları	17
2.4.4.5. Apoptoz-Endometriyozis ilişkisi	18
2.4.4.6. Genetik	18
2.4.4.7. Kök Hücreler	19
2.5. Sitokinler	20
2.5.1. Sitokin kaynakları	22
2.5.2. İnterlökin 6 (IL-6)	23
2.5.3. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α)	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hasta seçimi	26
3.2. İmmünohistokimyasal yöntemler	26
4. BULGULAR	28
4.1. Histolojik Bulgular	28
4.1.1. Kontrol Endometriyum	28
4.1.2. Ektopik Endometriyum	31
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	34
4.2.1. Kontrol Endometriyum	34
4.2.1.1. TNF- α	34
4.2.1.2. IL-6	37
4.2.2. Deney grubu	40
4.2.2.1. TNF- α	40

4.2.2.2. IL-6	43
4.2.3. Negatif kontroller	48
4.2.4. Pozitif kontroller	52
4.2.4.1. TNF- α	52
4.2.4.2. IL-6	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇLAR	63
7. KAYNAKLAR	64
8. ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİLLER ve TABLO DİZİNİ

ŞEKİL 1: Endometriyoziste rol alan sitokinlerin hücresel kaynağı, rolleri ve birbirleriyle olan ilişkileri.	21
ŞEKİL 2: Kontrol endometriyumun ışık mikroskopik görünümü.	29
ŞEKİL 3: Kontrol endometriyumun ışık mikroskopik görünümü.	30
ŞEKİL 4: Ektopik endometriyumun ışık mikroskopik görünümü.	32
ŞEKİL 5: Ektopik endometriyumun ışık mikroskopik görünümü.	33
ŞEKİL 6: Kontrol endometriyumda TNF- α immünreaktivitesi.	35
ŞEKİL 7: Kontrol endometriyumda TNF- α immünreaktivitesi.	36
ŞEKİL 8: Kontrol endometriyumda IL-6 immünreaktivitesi.	38
ŞEKİL 9: Kontrol endometriyumda IL-6 immünreaktivitesi.	39
ŞEKİL 10: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda TNF- α immünreaktivitesi.	41
ŞEKİL 11: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda TNF- α immünreaktivitesi.	42
ŞEKİL 12: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi.	44
ŞEKİL 13: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi.	45
ŞEKİL 14: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi.	46
ŞEKİL 15: Deney grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi.	47
ŞEKİL 16: Negatif kontrol. Ektopik endometriyum TNF- α immünreaktivitesi.	48
ŞEKİL 17: Negatif kontrol. Lenf düğümü TNF- α immünreaktivitesi.	49
ŞEKİL 18: Negatif kontrol. Ektopik endometriyum IL-6 immünreaktivitesi.	50
ŞEKİL 19: Negatif kontrol. Pankreas IL-6 immünreaktivitesi.	51
ŞEKİL 20: Pozitif kontrol. Lenf düğümü TNF- α immünreaktivitesi.	52

ŞEKİL 21: Pozitif kontrol. Pankreas TNF- α immünreaktivitesi.	53
TABLO 1: Kontrol ve ektopik endometriyumda IL-6 ve TNF- α immünreaktivitesi	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AEC	Aminoetilkarbozol
Bcl-2	B hücreli lenfoma 2
Bax	BCL 2 ilişkili X Proteini
CD45	Cluster of differentiation 45
CTNF	Siliyar İnhibitör Faktör
CT-1	Kardiyotropin
DNA	Deoksiribonükleik asit
H&E	Hematoksilen-Eozin
IL-1	İnterlökin 1
IL-1β	İnterlökin 1 Beta
IL-2	İnterlökin 2
IL-4	İnterlökin 4
IL-5	İnterlökin 5
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
IL-9	İnterlökin 9
IL-10	İnterlökin 10
IL-12	İnterlökin 12
IL-13	İnterlökin 13
IL-27	İnterlökin 27
IL-31	İnterlökin 31
IFN-γ	İnterferon Gama
kD	Kilodalton
LIF	Lösemi İnhibitör Faktör
Mcl-1	Miyeloid hücreli lösemi 1

MCP-1	Monosit kemoatraktan protein 1
MCP-2	Monosit kemoatraktan protein 2
MIF	Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör
MMP-3	Matriks metalloproteinaz 3
mRNA	Messenger ribonükleik asit
NK	Natural Killer (Doğal öldürücü) Hücre
NPN	Nöropoietin
OSM	Onkostatin
PBS	Fosfat Buffer Solüsyonu
sTNFR	Çözünebilir Tümör Nekroz Faktör Reseptörü
SF	Serum Fizyolojik
TGF-β	Transforming growth factor
Th1	Yardımcı T Hücresi 1
Th2	Yardımcı T Hücresi 2
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNFR1	Tümör Nekroz Faktör Reseptörü 1
TNFR2	Tümör Nekroz Faktör Reseptörü 2
μm	Mikrometre
ml	Mililitre
M	Molar
pg/ml	Pikogram/mililitre

ÖZET

Endometriyotik Dokularda İnterlökin 6 ve Tümör Nekroz Faktör Alfa Ekspresyonunun İmmünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi

Endometriyum, üreme periyodu boyunca yapısal ve fonksiyonel değişim gösteren, insan vücudunun eşsiz bir parçasıdır. Endometriyozis, endometriyal dokunun normal uterus mukozası dışında vücudun diğer doku ve organlarına yerleşmesi sonucu oluşan bir hastalıktır. Üreme çağındaki kadınların yaklaşık %10-15'inde görülen bu hastalığın, kronik pelvik ağrı, dismenore ve infertilite sorunları olan hastalarda görülme sıklığı %50 oranına kadar çıkmaktadır. Endometriyozis günümüze kadar, üzerinde pek çok araştırma yapılan hastalıklardan birisi olmakla birlikte, oluşumu ve patogenezi hala tam olarak açık değildir. Retrograd menstrüasyon teorisi, günümüzde endometriyozis oluşumunu açıklayan ve en çok kabul gören görüş olma özelliğini korumaktadır. Hastalığın patogenezi genetik, hormonal, immünolojik ve çevresel faktörlerin kombinasyonunun birlikte etken olabilecekleri kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, endometriyozis oluşumu ile enflamatuvar reaksiyonlar arasında yakın bir ilişkinin varlığını göstermektedir. Bu bağlamda peritoneal sıvı içerisinde yer alan hücre popülasyonu ile başlıca sitokinler ve diğer çözünebilir faktörlerin endometriyozisin implantasyonu ve ilerlemesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Sitokinler, hücre gelişim ve büyüme, doku onarımı, homeostaz, tümör oluşumu, bağışıklık ve hemopoieziste anahtar rol oynayan, multifonksiyonel proteinlerdir. Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) doku yaralanması veya kronik enflamasyona tepki olarak üretilen en etkili proenflamatuvar sitokindir. İnterlökin 6 (IL-6) ise, enflamasyonun düzenlenmesinde, hücre farklılaşmasında, hücre çoğalmasında, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, hemopoieziste ve tümör oluşumunda rol oynayan diğer bir sitokindir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, TNF- α ve IL-6 varlığı endometriyozise sahip hastalarda, çeşitli yöntemlerle gösterilmiş olmasına rağmen, normal ve endometriyotik dokulardaki varlıkları ile hücre tiplerindeki dağılımlarını gösteren karşılaştırmalı immünohistokimyasal bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada, insanda normal endometriyum ve endometriyotik dokularda TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının immünohistokimyasal yöntemler ile araştırılması amaçlandı. Çalışmada incelenen doku kesitleri, 20-40 yaşları arasındaki 24 kadından alınan ektopik endometriyum doku biyopsilerinden elde edildi. Ayrıca herhangi bir endometriyal fonksiyon bozukluğu bulunmayan, ancak dilatasyon veya küretaj nedeniyle, 10 hastadan elde edilen endometriyum dokularından alınan kesitler de kontrol grubu olarak değerlendirildi. Işık mikroskopik ve immünohistokimyasal yöntemler ile hazırlanan doku kesitleri, ışık

mikroskopta incelendi. TNF- α ve IL-6 ekspresyonunun kontrol grubunda yüzey ve bez epitelinde zayıftan orta dereceye kadar değişen düzeylerde olduğu gözlemlendi. Buna karşın stromal hücrelerde belirgin bir boyanmaya rastlanmadı. TNF- α ve IL-6'nın endometriyotik dokulardaki immünreaktivitesinin kontrol endometriyum ile karşılaştırıldığında, epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda belirgin olarak artış gösterdiği bulundu. TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının, ektopik endometriyal dokuda, güçlü olarak eksprese olması, her iki sitokin de hastalığın oluşumu ve gelişimi sürecinde, birbirleriyle paralel etkilere sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, TNF- α ve IL-6'nın endometriyozis oluşumu ve patogenezinde rol alan önemli sitokinler oldukları kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Endometriyozis, İmmünohistokimya, IL-6, TNF- α .

ABSTRACT

Expression of Interleukin 6 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Endometriotic Tissues: An Immunohistochemical Study.

Endometrium is a unique part of the human body that showing structural and functional changes during reproductive period. Endometriosis is a disease that occurs by the settlement of the endometrial tissue outside the normal uterine mucosa such as other tissues and organs of the body. This disease occurs in about 10-15 % of women in reproductive age and incidence of the disease is up to 50 % in patients which suffers from chronic pelvic pain, dysmenorrhea and infertility. Although endometriosis is one of the most investigated disease of gynecology, its pathogenesis is still not clear completely. Retrograd menstruation theory has the feature of being the most widely accepted opinion for explaining the pathogenesis of endometriosis. It is contemplated that the combination of genetic, hormonal, immunological and environmental factors have influence in the pathogenesis of the disease. Studies in recent years indicates the existence of a relation between inflammatory reactions and pathogenesis of endometriosis. In this context, it is thought that cell population in the peritoneal fluid, major cytokines and other soluble factors are responsible for the implantation and progression of the endometriosis. Cytokines are multifunctional proteins which has a key role in cellular growth and development, tissue repair, homeostasis, tumorigenesis, immunity and hemopoiesis. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) is the most effective proinflammatory cytokine produced in response to tissue injury and chronic inflammation. Interleukin 6 (IL-6) is another cytokine involved in the regulation of inflammation reactions and immune system, cell differentiation, cell proliferation, hemopoiesis and tumorigenesis. In spite of the studies done so far shows that TNF- α and IL-6 presence in patient with endometriosis, there was no comparative immunohistochemical study shows the presence of these cytokines in normal and endometriotic tissue and the distribution in the cell types. In this study it is aimed to investigate TNF- α and IL-6 expressions of normal and endometriotic tissues in the human by immunohistochemical methods. Tissue sections that were examined in this study obtained from tissue biopsies of ectopic endometriums taken from 24 women between the ages of 20-40. Additionally, the tissue sections taken from the normal endometrium obtained from 10 patients without any endometrial dysfunction due to dilation or curettage are also evaluated as a control group. It was observed that TNF- α and IL-6 expressions are at varying levels from weak to moderate in the control groups in surface and glandular epithelium. However there is no evidence of a significant staining of the stromal cells. It is found that TNF- α and IL-6

immunoreactivity is significantly increased in the epithelial cells, stromal cells and macrophages which are in endometriotic tissues when these immunoreactivity rates in control endometrium are compared. Expression of TNF- α and IL-6 are both strong in ectopic endometrial tissues. This situation give rise to the thought of the two cytokines may have the same, parallel effects during the process of pathogenesis and development of the disease. When we evaluated the results together, we achieved the conclusion that bothTNF- α and IL-6 are important cytokines that involved in the pathogenesis of the endometriosis.

Keywords: Endometriosis, Immunohistochemistry, IL-6, TNF- α .

1. GİRİŞ

Endometriyum, uterusun iç yüzeyini döşeyen, menstrüel siklus sırasında yapı ve fonksiyonu oldukça değişen, vücudun ilginç dokularından birisidir¹. Endometriyum, yüzey epiteli ile endometriyal stroma olarak adlandırılan lamina propriyadan oluşmuştur. Silyalı hücre gruplarını da içeren ve prizmatik tipte olan yüzey epiteli, lamina propriya içerisine doğru invajine olarak, çok sayıda tübüler tipte endometriyal bezleri oluşturmaktadır. Endometriyum, hipotalamo-hipofiziyal-ovaryan hormonal kontrol aktivitesine bağlı olarak yaklaşık 28 günde bir tekrarlanan döngüsel değişiklikler göstermektedir².

Endometriyozis, üreme çağındaki kadınlarda, dismenore, pelvik ağrı ve infertilite gibi, önemli sağlık sorunlarına sebep olan ve endometriyal dokunun uterus kavitesi dışında, diğer doku ve organlarda yerleşmesi ile karakterize, kronik, enflamatuvar bir hastalıktır^{3,4,5,6,7}. Endometriyozis, günümüze kadar üzerinde en fazla araştırma yapılan hastalıklar arasında yer almasına rağmen, patogenezi hala tartışma konusudur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, endometriyozis oluşumu ile enflamatuvar cevaplar arasındaki ilişkiler üzerinde yoğunlaşmıştır^{3,7}.

Üreme çağındaki kadınlarda görülme sıklığının yaklaşık %10-15 olduğu, infertil kadınlarda bu oranın daha da yükseldiği rapor edilmiştir^{6,7}. Bunun yanı sıra, kronik pelvik ağrı, dismenore ve infertilite yakınması olan ergenlerde endometriyozis görülme sıklığı %50'lere kadar çıkmaktadır⁸.

Endometriyozis oluşumunda genetik yatkınlık, endometriyum dokusundaki yapısal anormallikler ile bozulmuş immün yanıtın da önemli olabileceği düşünülmektedir. İmmün sistemde meydana gelen bozuklukların, endometriyozis patogenezindeki rolü günümüze kadar birçok çalışmada ele alınmış olmakla birlikte, bu konuda tam bir fikir birliğine varılamamıştır⁸.

Peritoneal sıvı içerisinde yer alan hücre popülasyonu ile sitokinler ve diğer çözünebilen faktörlerin, endometriyotik dokunun implantasyonu ve ilerlemesinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Endometriyozis ile ilişkili enflamatuvar cevaplar, doku tamiri ve neovaskülarizasyon büyük ölçüde

peritoneal sıvıda bulunan makrofajlar ve sitokinlere bağlıdır⁹. Dolayısıyla sitokinler, hücre aktivasyonu, motilitesi, adhezyonu, kemotaksisi, morfogenezi ve proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan, multifonksiyonel proteinlerdir. İnterlökin (IL) 1,2, 6 ve 10 yanında Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ile İnterferon gama (IFN- γ) gibi, sitokinlerin endometriyozis patogenezinde etkili oldukları kabul edilmektedir¹⁰. İnterlökin 6 (IL-6) birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol alan, immün cevapta, karaciğerin akut-faz cevabında, hemopoieziste, nöronal fonksiyonlar ile osteoklast oluşumunun düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir sitokindir. IL-6'nın endometriyotik dokularda artış gösterdiği, buna bağlı olarak da hastalığın patogenezinde önemli role sahip olabileceği düşünülmektedir. Gerçekten de multifonksiyonel bir sitokin olan IL-6'nın, endometriyozise sahip hastaların peritoneal sıvılarında yüksek konsantrasyonda bulunduğu gösterilmiştir¹¹.

Endometriyozis patogenezinde önemli olduğu düşünülen, diğer bir sitokin olan TNF- α ise, TNF süper ailesine aittir ve esas olarak monosit ve makrofajlar tarafından, çeşitli enflamatuvar ve immüno-modülatör uyarılara cevap olarak üretilmektedir. TNF- α , çok geniş bir biyoaktiviteye sahiptir ve çoğu hücreler, TNF- α 'ya duyarlıdır. Normal fizyolojik koşullarda TNF- α , immün cevabın oluşmasında, hücresel homeostaziste, hücre yaşamı, proliferasyonu, migrasyonu ve diferensiasyonunda görev almaktadır¹². Endometriyumda bulunan farklı hücre tiplerinde de (fibroblast, makrofaj, bez epitel hücreleri, kan damarı epitel hücreleri gibi) bu sitokinin varlığı ortaya konulmuştur. Endometriyal bezlerde, erken proliferatif fazda, TNF- α proteini negatif veya zayıf olarak gözlenirken, proliferatif fazda protein miktarı artmakta, geç proliferatif fazda ise maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Bu ekspresyon sekretuvar faz boyunca yüksek oranda kalmaktadır¹².

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, TNF- α ve IL-6 varlığı endometriyozise sahip hastalarda çeşitli yöntemlerle gösterilmiş olmakla birlikte, normal endometriyum ve ektopik endometriyal dokudaki ekspresyonları ile hücre tiplerindeki dağılımlarını gösteren, karşılaştırmalı immünohistokimyasal bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada, insanda normal endometriyum ve ektopik endometriyotik dokularda TNF- α ve IL-6

ekspresyonlarının immünohistokimyasal yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Uterus Histolojisi

İnsan uterusu, mesane ve rektum arasında, pelviste bulunan içi boş, armut şekilli bir organdır. Organ yaklaşık 30-40 g ağırlığında 7,5 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır. Lümeni uterin tüpler ve vajina ile devamlılık gösterir. Gelişimin morula safhasında embriyo uterin tüpler ile uterus lümenine ulaşır. Bundan sonraki bütün embriyonik ve fetal gelişim uterus endometriyumu içerisinde gerçekleşir.

Uterus anatomik olarak iki bölgeye ayrılır:

1-Korpus uteri (Gövde) : Uterusun üst genişlemiş kısmıdır. Ön yüzeyi düz, arka yüzeyi dışbükeydir. Fundus her iki yanda uterin tüpler ile devam eder².

2-Serviks (Boyun) : Uterusun fiçi görünümündeki alt kısmıdır. Serviks lümeni her iki ucunda, dar bir açıklığa sahiptir. Bu açıklıklardan internal os uterus boşluğu ile devamlılık gösterirken, eksternal os vajina ile devam eder². Serviks fibröz bağ dokusundan oluşmuş daha sıkı bir yapıya sahiptir. Uterusun konumu diğer pelvik organlar, kas tabakası yada pelvis diyaframı, bazı ligamentler ve periton kıvrımları ile desteklenmekte ve düzenlenmektedir¹.

Uterus duvarı, lümeden dışa doğru 3 tabakadan meydana gelmiştir.

1. Endometriyum (Tunika mukoza)
2. Miyometriyum (Tunika muskularis)
3. Perimetriyum (Tunika seroza)

Uterusun mukoza tabakası olan endometriyum, kalın kas tabakası, miyometriyumla devamlılık gösterir. Miyometriyum ise, uterus ve vajina ile süreklilik gösterir. En dışta ise, pelvik ve abdominal periton ile devamlılık gösteren, mezotel ile döşeli, ince gevşek bağ dokusu tabakasından oluşan perimetriyum yer alır. Mezotel örtüsünün altındaki elastik doku tabakası genellikle belirgindir. Perimetriyum uterusun arka kısmını ve ön yüzeyinin bir

bölümünü kaplar. Geri kalan ön yüzeyi de bağ dokusu ile örtülmüştür.

Miyometriyum ile endometriyum her ay, embriyonun implantasyonuna uterusu hazırlamak için, döngüsel değişikliklere uğrar. Bu değişiklikler, menstrüel siklus olarak tanımlanır. Eğer embriyo implantasyonu gerçekleşirse, siklus durur ve hamilelik sırasında her iki tabakada da ciddi bir gelişim ve farklılaşma meydana gelir^{1,2}.

2.2. Endometriyum yapısı

Uterusun iç tabakası olan endometriyum, uterin kaviteyi döşemektedir¹. Miyometriyuma sıkıca yapışmış olan bu tabaka, ovaryumun salgı aktivitesine bağlı olarak döngüsel değişiklikler gösterir. Bu değişiklikler, doku nekrozu ve hemoraji şeklinde ortaya çıkar, mukozanın yıkımı ile sonlanır ve bu olay menstrüasyon olarak adlandırılır. Menstrüasyon ortalama 28 günde bir görülür ve 3-5 günde sonlanır. Menstrüasyonun ilk günü, menstrüel siklusun ilk günü olarak kabul edilir. Endometriyum, yüzey epiteli ve endometriyal stroma olarak adlandırılan kalın bir lamina propriyadan oluşmuştur. Yüzey epiteli, dağınık halde silyalı hücre gruplarını içeren, basit prizmatik tip epiteldir. Epitel, lamina propriya içerisine doğru invajine olarak, çok sayıda tübüler tipte olan uterin bezleri oluşturur. Uterin bezler, yüzey epitelinden başlar ve stromanın bütün derinliği boyunca uzanırlar. Uterin bezler, basit tübüller şeklinde olup, bazal kısımda dallanma gösterebilirler ve birbirlerinden de stromanın bağ dokusu ile ayrılmışlardır. Stromal hücreler, yıldız şekilli olup, büyük ovoid bir çekirdeğe sahiptirler. Stromal hücreler, retiküler lif ağı içerisinde yer alırlar. Epitel, altında bulunan stromadan bazal lamina ile ayrılır. Stroma içerisinde dağınık halde, lenfositlere, granüler lökositlere ve makrofajlara da rastlanmaktadır².

Endometriyum 3 alt tabakadan oluşur;

Bu tabakalar, lümenden başlayarak sırasıyla stratum kompaktum, stratum spongiosum ve stratum bazale olarak isimlendirilirler. Uterus kavitesine en yakın tabaka olan stratum kompaktumda, uterus bezlerinin boyun kısımları bulunur. Kalın orta tabaka, stratum spongiosum, uterin bezlerin ana bölümlerini

ve çok sayıda kan damarlarını içerir. Bu tabakanın stromal hücreleri daha gevşek biçimde düzenlenmiştir ve stratum kompaktumda bulunan hücrelere göre daha geniştirler. En derinde yer alan tabaka olan stratum bazale ise, bezlerin taban kısımlarını içerir ve uterusun kas tabakasıyla temas halindedir. Endometriyumun, miyometriyuma komşu 1/3 bazal kısmının yapısı daha farklıdır. Bu tabakada, lamina propria fibröz bağ dokusundan oluşur. Stratum bazale'yi içeren bu kısım, endometriyum bazale olarak da isimlendirilmektedir. Endometriyumun, bazal tabakası dışında kalan 2/3 yüzeyel kısmı, puberteden sonra her 28 günde bir periyodik değişiklikler gösterdiği için, endometriyumun fonksiyonel tabakası olarak adlandırılmaktadır. Endometriyumdaki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, ovaryumdan salgılanan steroid hormonlar olan başlıca östrojen ve progesteronun etkisiyle gerçekleşir. Bu hipofizyal hormonların salgılanmasıyla, ovaryan siklus başlar ve siklus ile birlikte ovaryumda foliküllerin gelişimi gerçekleşir, aynı zamanda fertilize ovumun implantasyonu için uterus hazırlanır. İmplantasyon gerçekleşmez ise, endometriyumun fonksiyonel tabakası dejenere olur ve menstrüel kanama başlar^{1,2,13}.

Menstrüel siklus sırasında endometriyumda birbiriyle devamlılık gösteren fonksiyonel evreler ayırt edilir:

1- Proliferatif (Foliküler) evre: Ovaryumda foliküler büyüme ve östrojen sekresyonu ile aynı zamana rastlar. Endometriyum rejenere olmaktadır. 14. günde ovulasyonla birlikte bu evre biter.

2- Progestasyonel (Luteal, Sekretuar) evre: Ovaryumda bulunan aktif korpus luteumun salgıladığı progesteron sekresyonunun etkisindeki yaklaşık 14 gün süren bu evrede, 21. günde endometriyum kalınlığı 5-6 mm'ye kadar ulaşır. Bezler genişler ve aşırı salgı üretirler.

3- İskemik (Premenstrüel) evre: Ovulasyondan 13-14 gün sonra başlar. Bu evrede kıvrıntılı (spiral) arterler içerisindeki kan akımı bozulur ve vasküler değişiklikler gözlenir.

4- Menstrüel evre: Bu süre içerisinde menstrüel atılım vardır. Endometriyum yıkımı başlar ve bu evre yaklaşık 4-5 gün devam eder.

2.2.1. Proliferatif (Foliküler) Evre

Bu safha menstrüel kanamanın bitişinden itibaren başlar ve menstrüasyondan sonra geriye kalan ince tabakadan, endometriyum hızla rejenere olur. Parçalanmış bezlerin kalıntılarına ait epitelyal hücreler, mukozanın aşınmış yüzeyine doğru ilerler. Bezlerde ve endometriyal stromada yer alan hücrelerde sıklıkla mitoz bölünme gözlenir. Mukozanın kalınlığı 1 mm'den yaklaşık 3 mm'ye kadar artar. Bu artışta, ovaryan foliküllerin büyümesi ve östrojen salgılamaları etken olmaktadır. Bezler proliferatif olur, boyları artar ve sıkıca bir araya gelirler. Stromal hücrelerin mitotik aktivasyonu ve temel maddelerin depolanması sonucu lamina propria tekrar eski halini alır. Proliferatif safhanın sonuna doğru bezlerin lümeni genişler ve ondüleli bir görünüm kazanır. Hücrelerin bazal bölgelerinde glikojen birikir. Kıvrıntılı arterler, rejenere olmuş doku içerisine doğru büyürler ancak endometriyumun 1/3 üst yüzeyinde görülmezler, burada yalnızca kapillerler, lakünalar ve venüller bulunur. Proliferatif safha ovulasyona kadar sürer ve böylece siklusun ortasına kadar devam eder.

2.2.2. Progestasyonel (Luteal, Sekretuar) Evre

Bu evre ovulasyondan sonra başlar. Endometriyumun kalınlığı, overlerde korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisiyle artarak 5-6 mm'ye kadar ulaşır. Artış çoğunlukla bez hücrelerinin hipertrofisine ve interselüler sıvı artışına bağlıdır. Bezler şişer ve çok miktarda salgılamada bulunur. Salgı maddeleri başlangıçta hücrelerin bazal kısımlarında lokalize olur. Safhanın son yarısı sırasında ise salgı hücrelerin apikaline doğru ilerler ve daha sonra da bezlerin lümenine atılır. Salgı koyu kıvamlıdır ve glikojenden zengindir. Bezler kıvrıntılı bir görünüm kazanır ve lümenleri genişler. Kıvrıntılı arterler, hemen hemen yüzeye ulaşacak şekilde büyürler. Bu safhanın sonuna doğru stromal hücreler genişler ve desidüal hücrelere dönüşürler. Hücrelerin sitoplazmalarında, çok miktarda serbest ribozom, çok sayıda granüler endoplazmik retikülüm ve dağınık vaziyette glikojen partikülleri bulunur. Bu hücreler, kıvrıntılı arterler etrafında ve yüzey epiteli altında kümeler halinde toplanırlar. Bu safha ile ilgili

yapısal değişiklikler belirgin hale geldiğinde, endometriyumun 3 tabakası belirgin olarak ayırt edilebilir.

1- Kompakt tabaka: Yüzeye en yakın olan kompakt tabaka, nispeten dardır. Bu tabakada bezlerin düz boyun kısımları bulunur ve çok az ödem görülür.

2- Süngerimsi tabaka: Bu tabakanın altında kalın, süngerimsi tabaka yer alır. Süngerimsi tabakada bezlerin kıvrıntılı kısımları bulunur. Bezler birbirlerinden ödematöz olan lamina propriya ile ayrılmışlardır. Kompakt ve süngerimsi tabakaya birlikte fonksiyonel tabaka adı verilir. Endometriyumun fonksiyonel tabakası, menstrüasyon ve doğumda atılmaktadır.

3- Bazal tabaka: En derinde ise, ince bazal tabaka görülür, burada bezlerin kör olarak sonlanan uç kısımları yer almaktadır. Bazal tabaka döngüsel değişikliklere çok az katkıda bulunur, dolayısıyla da menstrüasyon ve doğumda atılmamaktadır.

2.2.3. İskemik (Premenstrüel) Evre

Ovulasyondan 13-14 gün sonra görülür ve yaygın vasküler değişikliklerle karakterizedir. Kıvrıntılı arterler aralıklı olarak büzüşürler. Fonksiyonel tabaka soluk bir renk alır, anemi ve anoksiye bağlı olarak büzüşürler. Stromanın densitesi artar ve lökositler tarafından infiltre edilir. Bazal tabakada yer alan düz arterlerde kan akımı devam eder.

2.2.4. Menstrüel Evre

Fonksiyonel tabaka nekroza uğrar ve atılır. Birkaç saat sonra, kıvrıntılı arterler gevşer, yüzeye yakın olan damarların duvarları yıkılır, bezlerin salgısına ve nekrotik endometriyal dokuya kan da ilave olur. Doku kısımları duvardan ayrılır ve atılır. Yüzeyel tabakanın nekrozu sonucu açığa çıkan damarlardan kan dışarı sızar. Bu nedenle, menstrüel atılımda, arteryel ve venöz kan, dejenere olmuş epitel hücreleri ve stromal hücreler ile bezlerin salgısı yer almaktadır.

Evrenin sonunda endometriyumun fonksiyonel tabakası bütünüyle atılır, geriye üst yüzeyi atılmış, düzgün olmayan bir tabaka kalır. Ancak bazal tabaka yıkılmamaktadır, bezlerin yırtılmış son kısımlarından, epitelyal hücreler dışa doğru proliferer olur ve menstrüel atılım sona erdiğinde yüzey epiteli tekrar hızla yenilenir².

2.3. Endometriyumun İnce Yapısı

2.3.1. Menstrüel Evre

Döngünün 28. ve 1. günlerinde endometriyum kalın, kırmızı ve yumuşak bir yapıdadır. Aynı zamanda yüzey epiteli altındaki stroma, kan gölcükleri, parçalanmış stromal hücreler ve enflamatuvar bir sızıntı içerir. Bunlar hızlı bir şekilde yayılarak sert pürüzlü ve refraktil hemorajik bir yüzey oluştururlar. Endometriyum üst 2/3'lük kısmında fonksiyonel tabaka ve bu tabakanın altında endometriyal döngü sırasında çok az değişen bir bazal tabaka bulunmaktadır. Siklusun 2. gününde fonksiyonel tabaka düzensizdir ve predesidual stromal hücreler ile karışık salgı bezi epitel hücrelerini içerir. Siklusun bundan önceki günlerinde östrojen ve progesteronun seviyelerinin hızlı düşüşüyle her iki hücresel sistemde apoptotik hücre ölümü başlar. Bu sistemik olaylar uterusun fundus ve gövde bölgesinde endometriyal mukoza boyunca yayılır. Siklusun 1. ve 2. günlerinde epitelyal hücrelerde DNA sentezi meydana gelmez. Dolayısıyla fonksiyonel tabakanın hücresel komponentleri, menstrüel dönemde atılmadan önce geri dönüşümsüz hücre hasarına uğramaktadırlar. 2. ve 3. günlerde fonksiyonel tabaka bazal tabakadan ayrılmaya başlar ve geride uterin bezlerin tabanlarının açıldığı, düzensiz yüzeye sahip bazal tabaka kalır. Bunu takiben bu bezlerin epitel proliferasyonu dökülme bölgelerinde başlar. Endometriyum yüzeyi yeniden epitelize olur, kalın bez epiteli dökülen yüzey üzerine yayılır. Siklusun 5. günü yüzey epiteli tamamen yenilenir. Yüzeyin tam anlamıyla yenilenmesi menstrüel kanamanın kesilmesiyle aynı zamana denk gelmektedir. Postmenstrüel dönemdeki endometriyum, yüzey epitel hücrelerinin çoğalması ve hücresel göçü ile onarılmaktadır. Yenilenen hücreler pseudopodial çıkıntılara sahip yassı ve iç şekillidir. Daha önceki in-vitro çalışmalarda, epitelyal hücreler

tarafından desmozomal tip bağlantılar ve bazal lamina benzeri materyallerin üretildiği gösterilmiştir. Bazal lamina, epitel hücrelerinin çoğalmasında, göçünde ve farklılaşmasının kontrolünde destek sağlar. Epitelyal rejenerasyonun temel bileşenlerini, rejeneratif yüzey epiteli altında toplanan stromal hücreler oluşturur. Endometriyal stromal hücreler; büyümeyi, steroid hormonların etkisini ve epitelyal hücrelerin fonksiyonel farklılaşmasını modüle ederler. Siklusun 5. günüyle bir konfluent yüzey tabakası rejenera edilene kadar, hücre bölünmesi ve göçü eş zamanlı olarak olaylanmaktadır. Nükleik asit sentezindeki ani artış ve rejeneratif hücrelerin DNA sentez fazının hızlandırılması doku yenilenmesi ile sonuçlanır. Hızlandırılmış doku yenilenmesi ve göçünün bu özellikleri insan endometriyumunun olağan üstü hızlı yara iyileşmesi yeteneğini açıklayabilir¹⁴.

2.3.2. Proliferatif Evre

Preovulator endometriyum; bezlerde, stromal hücrelerde ve vasküler sistemde proliferatif değişiklikler gösterir. Bez hücreleri çok sayıda mitoz bölünme geçirerek daha uzun, geniş ve kıvrımlı bir şekil kazanır. Stroma vaskülarize olur. Artan çoğalma endometriyal mukozada önemli bir kalınlaşmaya neden olur. Uterusun fundus ve gövde bölgesinde DNA sentezinde önemli bir artış görülür.

Proliferatif fazda endometriyumda ve kanda östrojen reseptörleri ve progesteron reseptörlerinin konsantrasyonu da artmaktadır. Proliferatif yüzey ve bez hücrelerinin diğer karakteristik özelliği silyum ve mikrovillus sayılarında artışın olmasıdır. Bunların sekresyon fazında önemli ölçüde azalması, endometriyal silya ve mikrovillus gelişiminin östrojene bağımlı olduğunu düşündürmektedir. Silyalı hücreler özellikle bezlerin açıldıkları yerlerin çevrelerinde çok sayıda bulunmaktadır¹⁴. Bu evrede yüzey ve bez epitelinde 4 tip hücre tanımlanmıştır.

Bunlar mikrovilluslu hücreler, pinopodlu hücreler, veziküllü hücreler ve silyalı hücrelerdir¹⁵.

2.3.2.1. Mikrovilluslu Hücreler

Mikrovilluslu hücreler en sık görülen hücre tipidir. Bunlar orta yoğunlukta sitoplazmaya sahiptirler ve luminal yüzeyleri çok sayıda mikrovillus ve stereosilya içerir. Apikal bölgede bazen küçük sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Bazal bölgelerinde özellikle lipid damlacıkları ve glikojen toplulukları bulunur.

Çekirdeği ovoid ve düzensiz hatlarda uzatılmıştır ve genellikle apikal yerleşimlidir. Bazı hücrelerde çekirdekçik, nüklear membran invajinasyonu ve erken gelişim aşamasında nüklear kanal sistemi ile ilişkilidir. Sitoplazmada dağılmış çok sayıda uzun mitokondriyonlar vardır ve çoğu endoplazmik retikülüm ile ilişkilidir. Dev mitokondriyonlara sıklıkla rastlanır. Ayrıca sitoplazmada çok sayıda düz endoplazmik retikülüm sisternaları ve çok sayıda glikojen birikimleri görülür. Supranüklear konumda özellikle iyi gelişmiş Golgi kompleksi bulunur. Ayrıca çok sayıda vezikül ve sekonder lizozom da yer almaktadır. Epitel hücrelerinin luminal hücre sınırları sıkı bağlantılar ile bağlanmıştır. Lateral membranlar da apikal bölgede iki yada daha fazla küçük nokta desmozomlarla bağlıdır. Lateral sitoplazmik zarlar, özellikle bazal alanlarda çok sayıda invajinasyonlara sahiptir¹⁵.

2.3.2.2. Pinopodlu Hücreler

Bu hücreler pinopod denilen büyük sitoplazmik apikal çıkıntılar ile karakterizedir. Bu çıkıntılar hücrenin lümene bakan yüzeyini işgal eden ve neredeyse mikrovilluslardan yoksun düzenli bir yapıdadır. Çekirdek sentrobazal yerleşimli olup, düzgün yüzeyli oval bir şekle sahiptir. Pinopodlu hücrelerinin sitoplazması organellerden fakirdir ve az sayıda endoplazmik retikülüm sisternası, küçük mitokondriyonlar, mikrofilaman ve glikojen partiküllerini içerir¹⁵.

2.3.2.3. Veziküler Hücreler

Hücreler, apikal yüzeylerinde bulunan büyük salgı vezikülleri ile karakterizedirler. Bu veziküller iyi gelişmiş endoplazmik retikülüm ve Golgi kompleksi ile ilişkilidir. Hücrelerin apikal yüzeyinde az sayıda stereosilya ve

mikrovillus bulunur. Sitoplazmada, özellikle subnüklear yerleşimli az miktarda glikojen birikimi, birkaç lipid damlacığı, çok sayıda yoğun vezikül ve endoplazmik retikülümle ilişkili küçük mitokondriyonlar bulunur. Bu hücrelerde dev mitokondriyonlar görülmez. Çekirdek düzgün yüzeyli, oval ve merkezi yerleşimlidir. Komşu hücreler arasında az sayıda desmozom tipi bağlantılar görülür. Bu tip hücrelerin apoptoza gitme oranı yüksektir. Sitoplazmadaki dejeneratif özellikler, hem bazal ve hemde apikal bölgelerde sitoplazmik kayıplar, organel şişlikleri ve otofagozomlar olarak gözlenir¹⁵.

2.3.2.4. Silyalı Hücreler

Silyalı hücreler, yüzey epitel hücreleri arasında en az sayıda görülen hücre tipidir. Elektron dens bir sitoplazmaya sahiptirler. Apikal yüzeyleri silyum ile doludur ve genellikle düzgündür. Çekirdek yoğun, düzensiz şekilli ve sentrobazal yerleşimlidir. Apikal sitoplazmada, çok sayıda küçük mitokondriyon bulunmakla birlikte dev mitokondriyonlara bu hücrelerde rastlanmamaktadır. Diğer hücre tiplerine oranla, endoplazmik retikülüm ve Golgi kompleksi az gelişmiştir. Bunların yanında, sitoplazmada az miktarda glikojen birikimi, yoğun kesecikler, lizozomlar ve az sayıda lipid damlacıkları da yer almaktadır¹⁵.

2.4. Endometriyozis

2.4.1. Endometriyozisin Tanımı

Endometriyozis, üreme çağındaki kadınlarda yaygın olarak gözlenen, pelvik ağrı ve infertiliteyle ilişkili önemli bir hastalıktır. Endometriyal dokunun uterus kavitesi dışında yerleşmesi ve yayılması ile karakterizedir^{3,7}. Pelvik periton üzerinde, normal konumu dışında, aynı zamanda overlerde, rektovajinal septumda ve nadiren de perikard, plevra ve hatta beyinde, endometriyum dokusunun varlığı gösterilmiştir⁹. Endometriyozis immün sistemle ilişkili kronik enflamatuvar bir hastalıktır^{3,4,5,6,7}. Üreme çağındaki kadınlarda yaklaşık %10-15 oranında görülmekle birlikte, infertil kadınlarda bu oran daha da artmaktadır^{6,7,8}.

Kronik pelvik ağrı ve dismenore yakınması olan erişkin hastalarda endometriyozis görülme sıklığı %50'lere kadar çıkmaktadır⁸.

Endometriyozis, ilk defa 1860 yılında, Carl Freiherr Von Rokitansky tarafından tanımlanmıştır¹⁶. Günümüze kadar hastalıkla ilişkili pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen, henüz patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır^{3,7}. Endometriyozisin oluşumunda genetik yatkınlık ve endometrium dokusundaki intrinsik anormallikler yanında, bozulmuş immün cevabın da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. İmmün ve enflamatuvar reaksiyonlarda meydana gelen, hücresel ve moleküler değişiklikler, endometriyotik implantasyonun gelişimi ve devamlılığına neden olabilmektedir⁷. İmmün sistemde oluşan bozuklukların endometriyozis patogeneziindeki rolü günümüze kadar birçok çalışmanın konusu olsa da, sürecin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu net olarak belirlenememiştir⁸.

Endometriyozisli kadınlarda görülen enflamatuvar reaksiyonlardaki belirgin yüksekliğin nedeninin, periton sıvısında lökosit varlığının, sıvı hacminin ve sıvıdaki enflamatuvar sitokinlerin artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur⁴. Endometriyozisle ilişkili enflamatuvar cevap, doku tamiri ve neovaskularizasyon, peritoneal sıvıdaki makrofaj^{3,4,5} ve sitokine bağlıdır⁹. Çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri endometriyozis patogeneziinde önemli rol oynamaktadır^{3,10,17}. Endometriyozis, kesin tanısı laparoskopi veya laparotomi ile konulan bir hastalıktır⁸. Ağrısı olan kadınlar için cerrahi işlem genellikle geçici bir rahatlama sağlar, ancak 2 yıl içinde semptomlar %75 oranında tekrarlayabilir ve ameliyat pek çok durumda gerekli olabilmektedir⁹.

2.4.2. Endometriyozis Epidemiyolojisi

2.4.2.1. Frekans

Üreme çağındaki kadınların %3-10'unda, infertil kadınların %25-80'inde, postmenopozal kadınların %2-5'inde ve pelvik ağrı şikayeti olan kadınların ise %40-80'inde endometriyozis görülebilmektedir¹⁸. Üreme çağındaki kadınlarda pelvik endometriyozis vakalarında artış olduğu rapor edilmiştir¹⁹.

2.4.2.2. Risk Faktörleri

2.4.2.2.1. Yaş

Pelvik endometriyozis menarştan önce nadir görülür ve menopozdan sonra da azalma eğilimindedir. 50 yaşın altındaki kadınlarda yapılan çalışmalarda endometriyozis görülme sıklığının, menopoza kadar yaşla birlikte arttığı öne sürülmüştür. Fakat yeni çalışmalar bunu doğrulamamaktadır. Farklı seçim kriterleri, bu farkların bazılarını açıklamakla birlikte, endometriyozisin şiddeti ile yaş arasında kesin bir ilişki ortaya konulmamıştır¹⁹.

2.4.2.2.2. Sosyal Sınıf

Sosyal sınıfı yüksek olan kadınlar arasında endometriyozis görülme sıklığının daha fazla olduğu rapor edilmiştir^{19,20}.

2.4.2.2.3. Menstrüel ve Üreme Faktörleri

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, erken menarşlı, kısa ve uzun menstrüel sikluslu kadınların endometriyozis yönünden daha yüksek risk altında oldukları gösterilmiştir^{19,20}.

2.4.2.2.4. Aile Öyküsü

Endometriyozis görülme sıklığı, hastalığa sahip olan kadınların, anne veya kız kardeşlerinde daha yüksektir. 1980'da Simpson ve arkadaşları, endometriyozisli kadınların kız kardeşlerinin endometriyozise yakalanma olasılığının 6 kat daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda da hasta kadınların 1. derece akrabalarında endometriyozis frekansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir^{19,18}. Bunun yanısıra, beslenme şekli, sigara, alkol, kafein kullanımı, yaşam standartları, boy ve kilo gibi etkenlerde endometriyozis oluşumunda önemli rol oynamaktadır¹⁹.

2.4.3. Endometriyozisin Sınıflandırılması

Endometriyozis patogenezinin farklılıklar göstermesi, hastalığın sınıflandırılmasının önemli nedenlerinden birisidir. Amerikan Fertilite Cemiyeti, endometriyozisi, histopatolojik özelliklerinin yanı sıra, anatomik özelliklerini de içeren birçok kritere göre, periton ve overlerdeki derin lezyonlardan yüzeysel lezyonlara kadar değişen derecelerde sınıflandırır. Derin endometriyozis, peritona infiltre olan ve 5 mm'den büyük lezyonlar olarak tanımlanır. Fakat geçerli sınıflandırma sistemi, hastalığın derecesi, histolojik özellikleri ve endometriyotik biyopsi örnekleme teknikleri arasındaki farklılıklar nedeniyle tam mükemmel değildir. Son zamanlarda derin endometriyozis için ayrı bir sınıflandırma sistemi (ENZIAN score) ortaya çıkmıştır, fakat bu sisteminde geliştirilmesi gerekmektedir. Şiddetli ağrının %95 oranında derin endometriyozise bağlı olduğunun bulunması, yüzeysel endometriyozis ile derin endometriyozis arasındaki klinik farkları ortaya çıkarmıştır. Bu durum bazı araştırmacılara göre farklı patogeneze ve iki farklı hastalık olarak sınıflanırken, diğerlerine göre ise farklı görünümde aynı hastalık olarak tanımlanmaktadır²¹.

2.4.4. Endometriyozis Teorileri

Endometriyozis patogenezi ile ilgili bugüne kadar birçok teori öne sürülmüştür^{21,22,23,24,25,26}.

2.4.4.1. Retrograd Menstrüasyon

Retrograd menstrüasyon teorisi endometriyozis etiyolojisini açıklayan en eski teoridir. Bu teori menstrüasyon sırasında dökülen endometriyal hücrelerin, retrograd akım ve uterin tüpler yoluyla pelvik kavite içine yerleşmesiyle gerçekleşir. Bununla birlikte endometriyozis gelişimi, kadınların %76-90'ında uterin tüplerde retrograd menstrüasyona bağlı olurken, diğer kadınlarda farklı şekillerde gelişmektedir²¹.

Primatlarda yapılan çalışmalarda, doğrudan pelvik boşluğuna menstrüel doku aşıl原因 hayvanların %46'sında endometriyotik lezyonların geliştiği

gösterilmiştir. Ancak ardışık iki kürete endometriyum aşılmasını takiben hayvanların %100'ünde lezyon gelişimi elde edilmiştir. Spontan endometriyozis oluşum oranı ise çok düşük bulunmuştur. Bu lezyonların histolojik ve klinik olarak daha çok insan ektopik endometriyotik lezyonlarına benzediği rapor edilmiştir²².

2.4.4.2. Metaplazi

Köломik metaplazi teorisinde, endometriyozisin, visseral ve abdominal peritondaki mezotelde mevcut olan özel hücrelerin metaplazisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hormonal veya immünolojik faktörlerin, endometriyum benzeri doku şeklinde normal peritoneal dokunun dönüşümünü teşvik ettiği düşünülmektedir. Köломik metaplazi teorisi prepubertal kızlarda endometriyozis oluşumunu açıklayabilir. Fakat endometriyal büyümeyi teşvik eden östrojen, prepubertal dönemdeki kızlarda mevcut olmadığından, gelişen endometriyozis üreme çağındaki kadınlardan farklı olabilir²¹.

Ektopik endometriyal doku dişi fetuslarda da tespit edilmiştir ve gelişen endometriyozisin, embriyogenez defektine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre endometriyozis, östrojene yanıt olarak endometriyotik lezyon gelişimiyle ve Wolffian yada Müllerian duktusun embriyonik kalıntılarının devamlılığı sonucu meydana gelebilmektedir^{21,23}. Bununla birlikte Müllerian kanalın dışındaki alanlarda da endometriyotik lezyonların bulunması nedeniyle, bu teori hala tartışmalıdır²¹.

2.4.4.3. Hormonlar

Endometriyozis etiyolojisinde steroid hormonların esas olarak rol aldığı kabul edilmektedir. Hormon tedavisi görmeyen postmenapozal kadınlarda endometriyozis görülmezken, üreme çağındaki kadınlarda daha sıklıkla görülmektedir. Benzer şekilde ötopik endometriyum ve ektopik lezyonların büyümesinin ovarian steroid hormonlar tarafından düzenlendiği düşünülmektedir. Östrojen, endometriyal proliferasyonunun en önemli tetikleyici

gücüdür ve ektopik lezyonlar, östrojen cevabını arttırabilir, böylece endometriyozis gelişimi uyarılabilmektedir. Bunun dışında, dioxin gibi çevresel toksinler de endometriyozis etiyojisinden sorumlu tutulmaktadır²¹.

Progesteron, genellikle sağlıklı endometriyumda östrojenin çoğalmayı teşvik edici etkisini önlemektedir. Endometriyozis patogeneğinde önemli rol oynayan progesteronun, bu etkisinin endometriyum direnci ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır²¹.

2.4.4.4. İmmün Sistem Bozuklukları

Endometriyozis patogeneğinde hastaların immün cevap reaksiyonlarındaki bozuklukların etken olabilecekleri yaygın olarak kabul edilmektedir. Endometriyozisli kadınlarda otoimmün hastalıkların daha yaygın olması da bu olasılığı destekler niteliktedir. Endometriyozisli hastalar, yüksek konsantrasyonda aktif makrofaj, hücrel immünite de azalma ve bastırılmış doğal öldürücü (Naturel Killer; NK) lenfosit özelliklerine sahiptir. Periton içerisinde, endometriyal hücrelerin yetersizliği yerel olarak lökositlerin ve aktif makrofajların artmasını ve enflamatuvar cevabı tetikler. Bu enflamatuvar cevap, ektopik alanlarda endometriyal hücrelerin büyümesini ve implantasyonunu stimüle etmektedir. Ayrıca reaksiyonlar sonucunda menstrüel kalıntıların ortadan kalkması engellenmekte ve buna bağlı olarak yetersiz bir immün cevaba sebep olunmaktadır. İmmün sistemin bu ektopik hücreleri maskeleymesi endometriyotik hücrelerin immün hücre aracılı lizise karşı direnç oluşturmalarına ve hayatta kalmalarına neden olabilir. Hem immün hücreler hem de endometriyal hücreler, proliferasyonu ve anjiyogenezi teşvik eden, sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgırlar. Böylece ektopik lezyonların büyümesi ve implantasyonu teşvik edilir. Muhtemelen endometriyozisli kadınların periton sıvılarındaki anjiyogenezi ve hücre proliferasyonunu teşvik eden vasküler endotelial büyüme faktörü ve sitokinlerin yüksek ekspresyonu bunun bir sonucudur²¹.

2.4.4.5. Apoptoz-Endometriyozis İlişkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli faktörlerin etkisiyle endometriyozisli hastalarda apoptoz oranının sağlıklı kadınlara oranla azaldığı ve periton kavitesinde, canlı hücre sayısının arttığı rapor edilmiştir^{24,25}. Spontan apoptoz, endometriyumun ektopik alanlarda anormal implantasyona ve lezyonların büyümesine sebep olmaktadır²⁶. Ayrıca yapılan araştırmalarda endometriyozisli hastaların ektopik endometriyotik dokularında, hücrelerin apoptoza gitme oranlarının, kadınların menstrüel sikluslarının geç sekretuar/menstrüel ve erken proliferatif fazları sırasında, daha da yüksek olduğu bulunmuştur²⁷. Periton kavitesinde ektopik lezyonların oluşmasında ve bu lezyonların sürdürülmesinde, endometriyal hücrelerin hayatta kalma oranları son derece önemlidir²⁸.

Endometriyozisli hastalarının endometriyumunda anti-apoptotik faktörler, sağlıklı kadınlarla karşılaştırıldığında yüksek seviyede eksprese olmaktadır²⁹. Yapılan birçok çalışmada, Bcl-2³⁰, Mcl-1³¹ anti-apoptotik proteinlerin ektopik stromal hücrelerde büyük ölçüde eksprese olduğu^{30,26}, Bax ve benzeri apoptotik proteinlerin sentezinin ise azaldığı gösterilmiştir²⁶. Ayrıca apoptoz ile ilişkili genlerin değişmiş ekspresyonları, bazı bireylerin hastalığa neden daha çok yatkın olduklarını da açıklamaktadır³². Enflamasyon, hücre proliferasyonu ve anjiyogenezi teşvik eden genlerin, transkripsiyonel aktivasyonunun endometriyal hücre apoptozunun inhibisyonunda etkin olabileceği de düşünülmektedir^{21,29}.

2.4.4.6. Genetik

Günümüze kadar yapılan birçok çalışmada genetik polimorfizm ve endometriyozis gelişimi arasında yakın bir ilişkinin varlığı rapor edilmiştir. İkizlerde ve birinci dereceden akraba olanlarda endometriyozise sahip olma oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir³³.

Endometriyozis, pek çok genin katılımı ile gerçekleşen kompleks bir hastalıktır. Endometriyozise sahip olan ve olmayan hastalar arasında gen ve protein ekspresyonunda önemli farklılıklar rapor edilmiştir. Östrojen

reseptörlerindeki polimorfizm, doğuştan gelen immün sistemle ilgili genler ve detoksifikasyon enzimlerinin kodlanmasını içeren genlerdeki eksikliklerin, endometriyozis patogenezesinden sorumlu olabilecekleri kaydedilmiştir³⁴.

Diğer taraftan, genetik yatkınlık hücresel hasarın frekansını da arttırabilir. Son on yılda yapılan çalışmalarda, gen ilişkili endometriyozisi tanımlamak için gen dizileri kullanılmıştır. Lazer Capture Mikrodiseksiyon ve yüksek çözünürlüklü ve yüksek verimli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon dizileri kullanılarak, endometriyozis olan kadınlarda, ötopik ve ektopik endometriyumda, önemli genomik değişimlerin olduğu rapor edilmiştir. Bütün bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, farklı endometriyozis tiplerinin, spesifik hücresel fonksiyonel sapmaları düzenleyen farklı gen kümelerinin değişimi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir³⁵.

2.4.4.7. Kök Hücreler

Menstrüasyon sonrası endometriyumun aylık rejenerasyonu, doğum veya cerrahi küretaj sonrası endometriyumun reepitelizasyonu, endometriyumda kök hücre havuzunun varlığını desteklemektedir. Endometriyumun bazal tabakası menstrüel siklus sırasında fonksiyonel tabaka'nın aksine dökülmemektedir, bu nedenle kök hücrelerin endometriyumun özellikle bazal tabakasında yer aldığı düşünülmektedir. Son zamanlarda, insan endometriyumunda kök hücre popülasyonunu temsil ettiği düşünülen klonojenik hücrelerin, ektopik endometriyal lezyon oluşumuna dahil olabileceği ileri sürülmüştür³⁶.

Kök hücreler, bir veya birkaç hücre tipine farklanma potansiyeline sahip, kendi kendini yenileyebilme özelliğindeki hücrelerdir³⁷. Farklılaşma hücrenin gen ekspresyonundaki değişime bağlı olarak, hücre fenotipindeki değişimler olarak tanımlanır. Bu değişimler hücrenin spesifik bir fonksiyon kazanmasını sağlar. Endometriyumun kendi kendini yenilemesi, endometriyum spesifik nişi içinde kök hücreler aracılığıyla gerçekleşebilir²¹. Yerleşik kök hücrelere ek olarak, dolaşımdaki kemik iliği kaynaklı kök hücreler de endometriyumun döngüsel rejenerasyonuna katkıda bulunabilir³⁸. Ayrıca endometriyotik yatakların

oluşumunda, kök hücrelerin katılımı ve retrograd menstrüasyon yoluyla, normal bazal tabakanın anormal translokasyonu sonucu olarak gerçekleşebilir³⁹. Brosens ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada, yeni doğan kızlarda görülen uterin kanamanın, yüksek miktarda endometriyal progenitör hücre içerdiğini rapor etmişlerdir. Bu hücrelerin bazıları ovaryan hormonların da etkisiyle, ergenlerde yeniden aktive olabilirler ve retrograd menstrüasyondan sonra periton kavitesinde depo edilerek hayatta kalabilirler⁴⁰.

Kendini yenileme yeteneği nedeniyle endometriyal kök hücreler yeni endometriyotik alanların oluşmasına yol açabilir. Endometriyozisli kadınlar ile sağlıklı kadınlar karşılaştırıldığında, hastalığa sahip bireylerde, kök hücre açısından zengin olan bazal tabaka çok daha fazla dökülmektedir⁴¹.

Ekstrauterin yapılara endometriyal kök hücreler için erişim sağlayan retrograd menstrüasyon olasılığı göz ardı edilmemelidir. Alternatif olarak, bu kök hücreler ektopik alanlara, lenf ya da kan damarı yolları üzerinden de nakledilebilir. Bazı endometriyal kök hücrelerin kemik iliği kökenli oluşu da bu hücrelerin hematogen yayılma teorisini desteklemektedir²¹.

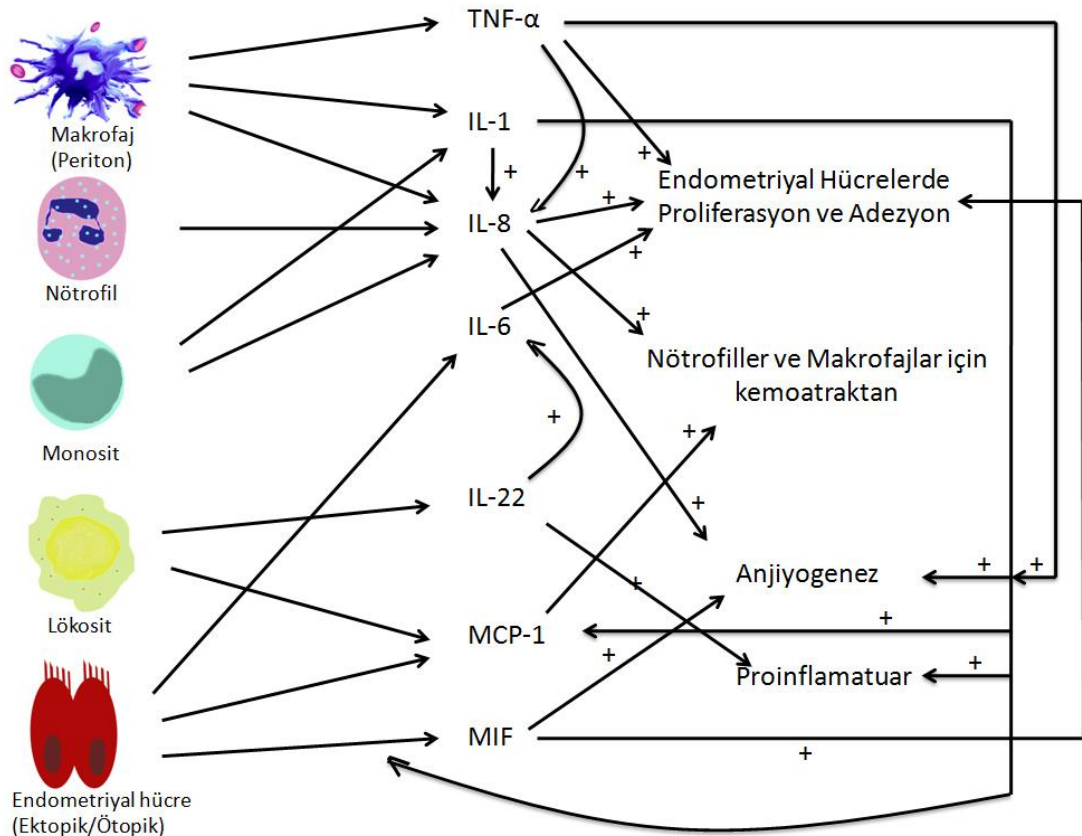
Diğer yandan kök hücrelerin ektopik endometriyum alanından kararlı yada anormal olarak taşınması endometriyum benzeri lezyonları oluşturabilir. Endometriyal dokular çeşitli kemokinler ve anjiyogenik sitokinler üretirler, bu nedenle, lezyonların oluşumunu sağlayan neovaskülarizasyon, ektopik alanlarda kolaylıkla takip edilebilir⁴².

Endometriyozis ile kök hücreler arasındaki ilişkinin diğer bir kanıtı da, endometriyum benzeri dokular üzerinde, peritoneal, hemopoietik veya ovaryan kök hücrelerin transdiferansiyasyonudur. Periton kavitesi uterus boşluğuna doğrudan bağlanır ve iki ortam arasında sitokin ve kemokinden zengin sıvının serbest akışı vardır. Bu direkt bağlantı periton kavitesinde yerleşik endometriyum benzeri farklılaşmış kök hücre popülasyonunu düzenleyebilir²¹.

2.5. Sitokinler

Sitokinler, hücresel gelişim ve büyüme, doku onarımı, homeostaz, tümör oluşumu, bulaşıcı hastalık, bağışıklık ve hemopoiezde anahtar rol oynayan,

multifonksiyonel proteinlerdir. Bağışıklık sistemi, periton boşluğunda çeşitli hücre tipleri ile bunların otokrin/parakrin etkileşime girebilen sitokinler gibi salgılarını da içine alan karmaşık bir ağıdır¹⁰. Endometriyozis ile ilişkili enflamatuvar yanıt, doku onarımı ve neovaskülarizasyon, periton sıvısındaki makrofajlar ve bunların salgı ürünleri olan sitokinlere bağlıdır. Dolayısıyla sitokinler hücre aktivasyonu, motilitesi, adhesyonu, kemotaksisi, morfogenezi ve proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli rollere sahiptirler. Sitokinlerlerden, özellikle İnterlökin (IL) 1,2,6,10, TNF- α , ve İnterferon gama (IFN- γ) endometriyozis patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca aşırı sitokin salınımının, endometriyozisli kadınlarda infertilite ile de ilişkili olduğuna inanılmaktadır^{43,44}.



Şekil 1: Endometriyoziste rol alan sitokinlerin hücresel kaynağı, rolleri ve birbirleriyle olan ilişkileri gösterilmiştir⁴⁵.

2.5.1. Sitokin kaynakları

Endometriyozisli kadınların peritoneal sıvılarındaki sitokin miktarının artışına, periton kavitesinde yerleşmiş olan peritoneal makrofajların, lenfositlerin, ektopik endometriyal lezyonların ve peritondaki mezotelyal hücrelerin sebep olduğu düşünülmektedir¹⁰.

Peritoneal makrofajlar, periton kavitesinde yerleşmiş olan en önemli hücrelerdir. Bu hücrelerin varlığı, genellikle enflamatuvar reaksiyonlarla ilişkilidir ve retrograd endometriyal dokularda olduğu gibi, süreçte diğer patojenik hücrelerin yok edilmesinden sorumludurlar. Yapılan araştırmaların çoğunluğunda, endometriyozis vakalarında peritoneal makrofajların aktivitesi ve sayılarındaki artış rapor edilmiştir. Endometriyozisi olan kadınlarda peritoneal makrofajların sayısının artışı, periton boşluğunda bulunan endometriyal dokunun yabancı olarak kabul edildiğinin ve ortadan kaldırılması gerektiğinin işareti olarak yorumlanabilir. Aktif peritoneal makrofajlar periton sıvısı içerisine, IL-1⁴⁶, 6⁴⁷, 8⁴⁸, 10⁴⁹, TNF- α ⁴⁷, TGF- β ⁵⁰ ve VEGF⁵¹,yi de içeren farklı sitokinleri salgırlar. Endometriyozisli kadınların periton sıvısında IL-1 β seviyesinin yükseldiği bulunmuştur. IL-1 β artışı, VEGF ve IL-6 artışıyla birlikte, endometriyotik lezyonları çevreleyerek, neovaskülerizasyonda önemli rol oynamaktadır⁵². Ayrıca IL-6, peritoneal makrofajlar yanında, keratinositler, endotelyal hücreler, fibroblastlar, monositler ve endometriyal hücreler tarafından da salgılanan multifonksiyonel bir sitokindir⁵³. IL-10'nunda endometriyozisli kadınların periton sıvılarında ve hücre kültürü ortamlarında arttığı da gösterilmiştir⁴⁹. Ayrıca Th2 hücreleri de IL-10 salgılamaktadır⁵⁴. Aktif makrofajlar tarafından salgılanan TNF- α 'nın da enflamatuvar, sitotoksik ve anjiyogenik özellikleri bulunmaktadır⁵⁵.

T hücre türevli sitokinler, B hücreleri, makrofajlar, NK hücreleri ve T hücrelerini etkileyebilirler. T hücrelerinin alt grubu olan Th1 hücreleri farklılaşmak için IL-12'ye ihtiyaç duyarlar ve bu hücreler karakteristik olarak IL-2 ve IFN- γ üretirler ve enflamatuvar reaksiyonları uyarak, hücre aracılı immün yanıtı kolaylaştırırlar. Th2 hücreleri de farklılaşmak için IL-4'e ihtiyaç duyarlar ve karakteristik IL-4, 5, 6, 9, 10, 13'ü üretirler. Bu nedenle T hücrelerinin fonksiyonlarının bozulması da, endometriyozise sebep olan önemli faktörler

olarak gösterilmektedir⁵⁶.

IFN- γ , NK hücreleri tarafından üretilen başlıca sitokindir⁵⁷. Yapılan bazı araştırmalarda her ne kadar önemli bir fark bulunmadığı bildirilmekle birlikte, çoğu çalışmada endometriyozisli kadınlarda IFN- γ seviyesinin periton sıvılarında azalmış olduğu rapor edilmiştir¹⁰.

2.5.2. İnterlökin 6 (IL-6)

IL-6, 184 amino asitten oluşan yaklaşık 26 kD'luk bir sitokindir. IL-6'nın reseptörü, 80 kD'luk bağlayıcı bir protein ve 130 kD'luk sinyal ileten bir alt birimden oluşur. IL-6 ailesi içinde, IL-11, Lösemi inhibitör faktör (LIF), Onkostatin (OSM), Siliyar inhibitör faktör (CTNF), Kardiyotropin-1(CT-1), Nöropoietin (NPN), IL-27 ve IL-31 yer almaktadır⁵⁸.

IL-6, başlıca T ve B lenfositler, monositler, fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, astrositler, kemik iliği stromal hücreleri ve mezenşimal hücreler tarafından sentez edilir⁵⁹. IL-6'nın etkileri en iyi hepatositler ve B lenfositleri üzerinde tanımlanmıştır⁶⁰.

IL-6, enflamasyonun düzenlenmesinde, hücre farklılaşmasında, hücre çoğalmasında, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, hemopoiezisde ve tümör oluşumunda rol oynayan ve geniş spektrumlu biyolojik etkinliği olan, pleotropik bir sitokindir. Aynı zamanda B hücrelerinden immünglobulin yapımının uyarılmasında, T hücre aktivasyonunda, IL-2 sentezinin stimülasyonunda rol oynamaktadır. IL-6'nın ayrıca, büyüme hormonu ve luteinizan hormonun salgılanmasında, glukokortikoid sentezinin uyarılmasında, osteoklast aktivasyonunda ve keratinosit büyümesinin stimülasyonunda da görev aldığı rapor edilmiştir⁵⁸. Yapılan invitro çalışmalarda, IL-6'nın T hücreleri ve timositlerin kostimulatörü olarak görev yaptığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra, IL-6, diğer sitokinlerle birlikte, kemik iliği hemopoietik kök hücreleri için, erken dönemde büyüme kofaktörü olarak da etki göstermektedir^{60,61}.

Endometriyozisin etiyopatogenezinin pek çok sitokinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hem ötopik hem de ektopik endometriyumda, IL-6 salınımı olmaktadır^{4,7}. Ayrıca IL-6 reseptörünün, blastokist, trofoblast ve endometriyum

tarafından da eksprese edildiği rapor edilmiştir⁶². Endometriyozisli hastalarda, endometriyal stromal hücreler ile peritoneal ve periferik makrofajlarda IL-6 cevabının bozulduğu ileri sürülmüştür^{63,64,65}. Endometriyozise ve pelvik yapışıklığa sahip olan kadınların, peritoneal sıvılarında IL-6 konsantrasyonu artmaktadır⁴¹.

2.5.3. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α)

TNF- α doku yaralanması veya kronik enflamasyona tepki olarak üretilen, en etkili proenflamatuvar sitokindir⁶⁶. TNF- α çeşitli hücre tipleri üzerindeki proenflamatuvar etkisi ile bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlara karşı savunmada da önemli rol oynamaktadır⁵⁵. TNF- α 'nın esas hücresel kaynağı lipopolisakkarit ile aktive olan mononükleer fagositer hücrelerdir. Ayrıca T hücreleri, aktif NK hücreleri ve mast hücreleri de bu proteini salgılamaktadır⁶⁷. TNF, bir transmembran proteinidir ve molekül ağırlığı 17 kD'dır. TNF'nin iki tipi bulunmaktadır. Genellikle makrofajlardan salgılanan TNF- α ve T hücrelerinden salgılanan TNF- β (Lenfotoksin)'dir^{68,69}. TNF- α , aynı zamanda kaşektin olarak da isimlendirilir⁷⁰. İki tip TNF reseptörü vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNFR1 (75-80 kDa) ile T hücre proliferasyonuna neden olan TNFR2 (55-60 kDa)'dır^{69,70,71,72}. Aynı zamanda, TNF reseptörlerinin çözünebilen formları (sTNFR) da mevcuttur ve genellikle hücre yüzeyindeki TNF reseptörlerinin yıkımı sonucu meydana gelen proteinlerden kaynaklanırlar^{66,71,72}. TNF sinyalleri, TNFR1 ve TNFR2 reseptörleri üzerinden, hücrenin hayatta kalması, aktivasyonu, farklılaşması, proliferasyonu ve ölümü gibi, çeşitli hücresel etkileri başlatırlar. Ortaya çıkan bu hücresel cevaplar, immünolojik ve enflamatuvar yanıtları teşvik ederler, aynı zamanda zararlı sistemik etkiler ve enfeksiyon alanlarında da lokal doku hasarına yol açabilirler⁷³. TNF, düşük yoğunluklarda (yaklaşık 10^{-9} M'da) lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir⁶⁰. Periton ve over yüzeyinde gelişen endometriyotik lezyonlarda, kronik enflamasyon gelişimiyle birlikte çok sayıda sitokin salgılanır. TNF- α da enflamasyonda rol oynayan önemli bir sitokindir. Endometriyum da dahil olmak üzere, üreme ile ilgili dokularda eksprese olmaktadır. TNF- α aynı zamanda,

menstrüasyon ve embriyo implantasyonu gibi, fizyolojik enflamatuvar olaylarda da salgılanmaktadır⁵⁵.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmada incelenen doku kesitleri, 2012-2014 yılları arasında, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına pelvik ağrı, adet düzensizliği ve özellikle dismenore ve infertilite sorunu nedeniyle başvuru yapan, 20-40 yaşları arasındaki 24 kadından alınan ovaryan endometriyotik doku örneklerinden, histereskopi ve laparaskopi sırasında, tanı amacıyla alınan doku biyopsilerinden, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında hazırlanan parafin doku bloklarından elde edildi. Ayrıca herhangi bir endometriyal fonksiyon bozukluğu bulunmayan, ancak dilatasyon veya küretaj nedeniyle, 10 hastadan elde edilen endometriyum dokularından hazırlanan bloklardan alınan kesitler de kontrol grubu olarak değerlendirildi. Araştırma projesi öncelikle Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandıktan sonra başlatıldı.

Işık mikroskopik ve immünohistokimyasal incelemeler için parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitlere Hematoksilen-Eozin boyası ile boyama işlemi yapıldı ve ışık mikroskopunda incelendi. Bloklardan ayrıca immünohistokimyasal incelemeler için de doku kesitleri alınarak uygun yöntemlerle hazırlandı.

3.2. İmmünohistokimyasal Yöntemler

TNF-α ve IL-6 aktivitesinin belirlenmesi amacı ile parafin bloklardan elde edilen 5 µm histolojik kesitler, polilizin kaplı lamalar üzerine alındı. Kesitler ilk önce fön makinesi ile kurutuldu ve buzdolabında 15 dakika süreyle bekletildi ardından tekrar fön makinesi ile kurutuldu. Deparafinize işlemi için 60 °C'deki etüvde ksilol içerisinde 15 dakika bekletildikten sonra, kesitler oda ısısında ksilol içerisine alındı ve derecesi giderek azalan alkol serileri içerisinde hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Daha sonra sitrat tamponu (Citrat Buffer) solüsyonu

içerisine alınan kesitler, 30 dakika Benmaride 95°C'de 30 dakika bekletilerek antijen açığa çıkarma işlemi gerçekleştirildi. Süre sonunda oda ısısında 45 dakika soğumaya bırakıldı. Distile suyla yıkanan kesitler endojen peroksitlerin bloklanması için %3'lük Hidrojen peroksit (H₂O₂) içerisine alındı ve 6-7 dakika bekletildikten sonra tekrar distile su içerisinde yıkandı. Daha sonra fosfat tamponunda (PBS, pH: 7,2) çalkalandı. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silinip, kurulandıktan sonra, üzerine nonspesifik bağlanmayı engellemek amacıyla serum damlatıldı ve oda ısısında, nemli ortamda 10 dakika bekletildi. Ardından, kesitler fosfat tamponundan geçirildi, dokuların etrafı kurulandı ve 1/400 oranında dilate edilen, anti-IL-6 (IL-6; anti-human rabbit polyclonal antibody, ab6672, Abcam, USA.) ve 1/2000 oranında dilate edilen, anti-TNF- α (TNF- α ; anti-human rabbit polyclonal antibody, ab66579, Abcam, USA.) primer antikorları damlatıldı. Bu işlem her iki antikör tipi için ayrı ayrı uygulandı. Anti-TNF- α ve anti-IL-6 antikorları damlatılan kesitler +4°C'de, nemli ortamda bir gece bekletildi. Negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikörler yerine, tampon solüsyonu damlatıldı. Primer antikörle muamele edildikten sonra, kesitler distile su ve PBS'den geçirildi ve ardından, üzerlerine Biotin (ABF125, Logan, Utah USA.) damlatılarak 15 dk süreyle oda ısısında tutuldu. Takiben distile su ve PBS'de çalkalandı ve kesitlerin etrafı kurulandıktan sonra Avidin (ABG125, Logan, Utah USA.) damlatılarak, 20 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, Aminoetilkarbozol (AEC) solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi, çeşme suyu içerisinde yıkandı ve doku kesitleri, zıt boyama için hematoksilen solüsyonunda 30 saniye bekletilerek boyandı ve ardından çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı ve Olympus BX51 (Japan) ışık mikroskobu ile incelenerek fotoğrafları çekildi.

4. BULGULAR

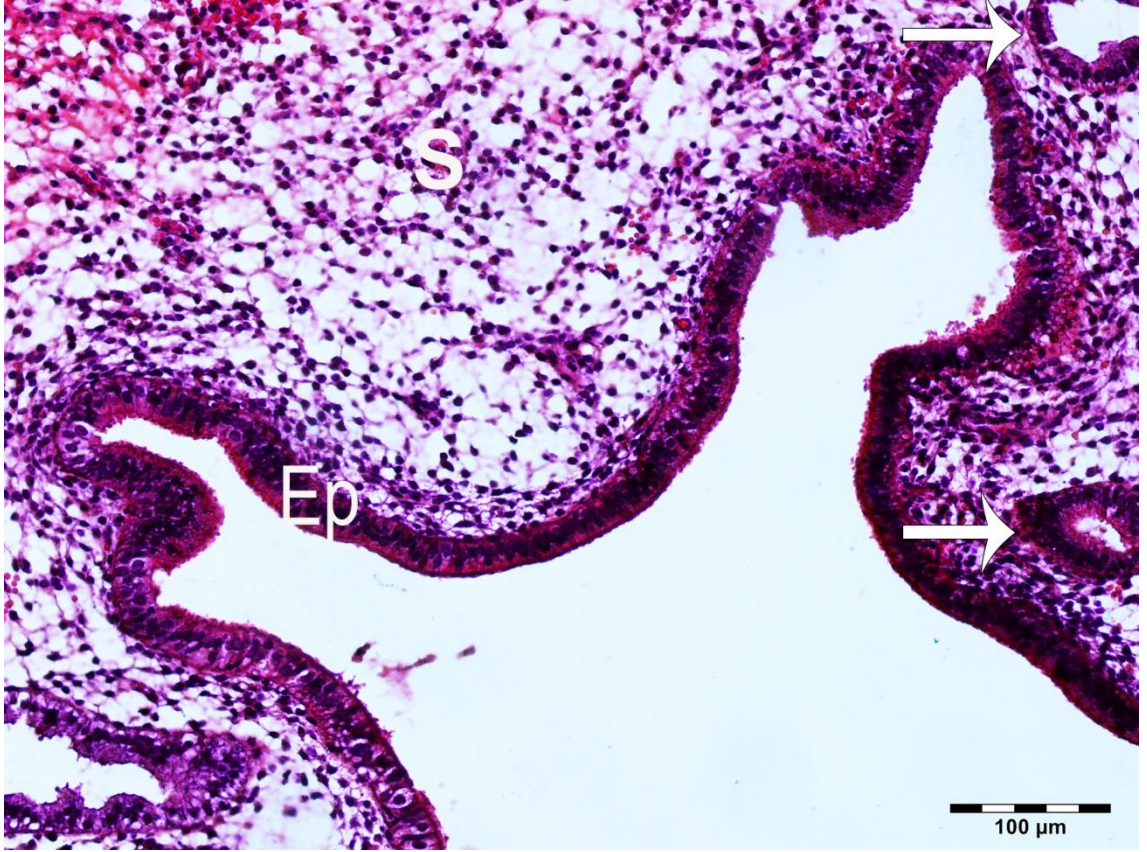
4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. Kontrol Endometriyum

Kontrol hastalarından elde edilen endometriyum doku biyopsilerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, endometriyum tipik yüzey epiteli, endometriyal bezler ve stromadan oluşmaktaydı. Yüzey epiteli prizmatik tipte olup, hücreler lümene bakan, apikal yüzeylerinde mikrovillus ve silyumlara sahipti. Yüzeyden stroma derinlerine doğru uzanmakta olan tübüler tipte endometriyal bezler, prizmatik bez epiteli ile döşeliydi. Endometriyal stroma içerisinde, stromal hücreler, makrofajlar, bağdokusu lifleri ile kan damarları ayırt edilmekteydi (Şekil 2 ve 3).



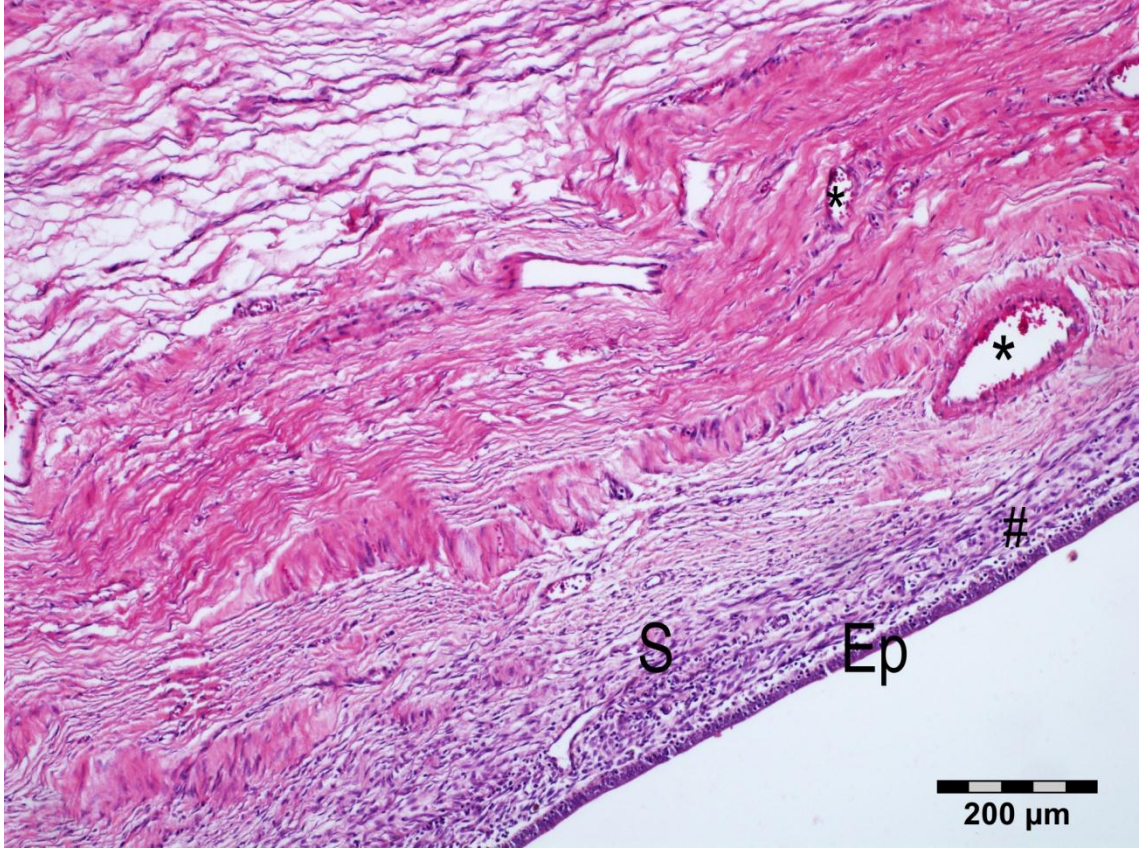
Şekil 2: Kontrol endometriyumun ışık mikroskopik görünümü. Endometriyumun ışık mikroskopik incelenmesinde, yüzey epiteli (Ep) ve epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde mikrovilluslar ve silyumlar (*) görülmektedir. Stromanın (S) derinliklerine uzanan tübüler tipte endometrial bezler (siyah oklar) ve kan damarları (beyaz oklar) izlenmektedir (H&E. Bar= 200µm).



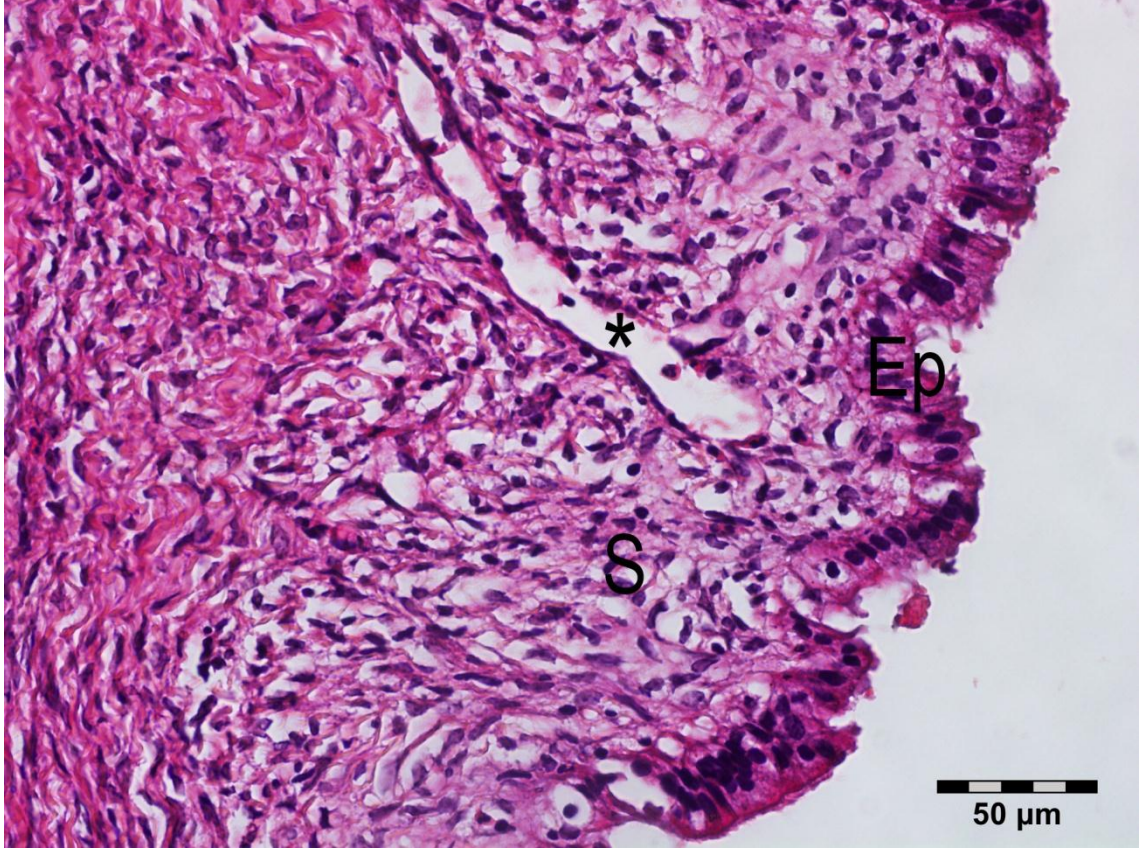
Şekil 3: Kontrol endometriyumun ışık mikroskopik görünümü. Endometriyumun tipik yüzey epiteli (Ep), endometriyal bezler (oklar) ve epitel altında stromanın (S) içerisinde, stromal hücreler, makrofajlar, bağdokusu lifleri görülmektedir (H&E. Bar= 100µm).

4.1.2. Ektopik Endometriyum

Ovaryan endometriyozisli hastalardan elde edilen, endometriyotik dokuların ışık mikroskopik incelenmesinde, dokunun genellikle yüzey epiteli ve altında yer alan stromadan oluştuğu izlenmekteydi. Endometriyotik dokularda çok belirgin olarak ayırt edilmemekle birlikte, sınırlı alanlarda, bez yapılarına da rastlanmaktaydı. Epitel ve subepiteliyal alanlarda bulunan stroma alttan yoğun fibröz bir doku ile çevrelenmişti. Endometriyotik dokuda normal endometriyuma göre doku kalınlığı oldukça incelmışti ve çevre dokular ile sınırları net olarak ayırt edilemiyordu. Stromada yuvarlak çekirdekleriyle karakterize çok sayıda stromal hücreler ile makrofajlar yer almaktaydı. Ektopik endometriyumda, subepiteliyal alanlarda ve stroma derinlerinde makrofaj ve göç etmiş lökositlerin sayılarında belirgin bir artışın varlığı dikkati çekmekteydi. Bunların haricinde stroma içerisinde, çok sayıda kapiller damarlar ve geniş ödematöz alanların varlığına da rastlandı (Şekil 4 ve 5).



Şekil 4: Ektopik endometriyumun ışık mikroskopik görünümü. Ektopik endometriyumun, yüzey epiteli (Ep) ve altında yer alan stromadan (S) oluştuğu izlenmektedir. Epitel ve subepitelyal (#) alanlarda bulunan stroma alttan yoğun fibröz bir doku ile çevrelenmiştir. Stromada ödematöz alanlar ve kan damarları (*) izlenmektedir (H&E. Bar= 200µm).



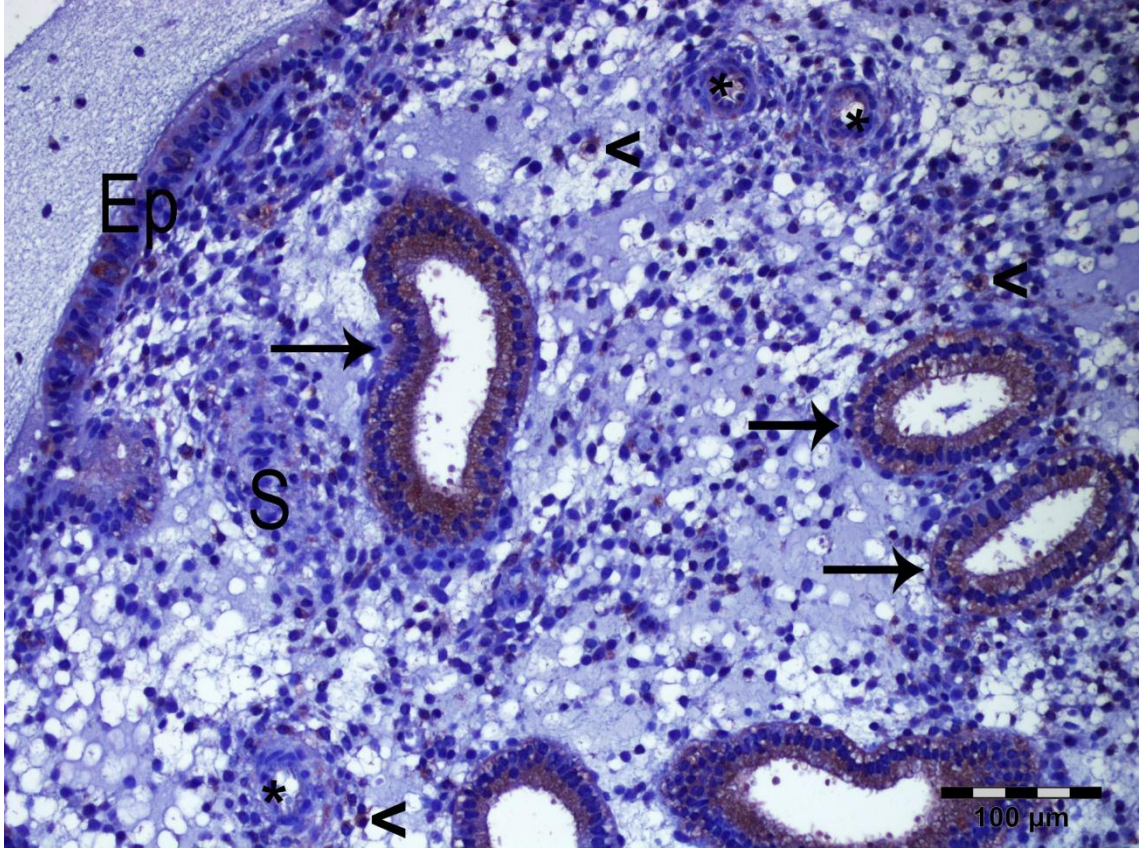
Şekil 5: Ektopik endometriyumun ışık mikroskopik görünümü. Endometriyumun mikrovillus ve silyum içeren yüzey epiteli (Ep) ve stroması (S) görülmektedir. Stroma içerisinde, geniş kapillerler (*) ve yuvarlak çekirdekleriyle karakterize çok sayıda stromal hücreler ile makrofajların bulunduğu izlenmektedir (H&E. Bar= 50µm).

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

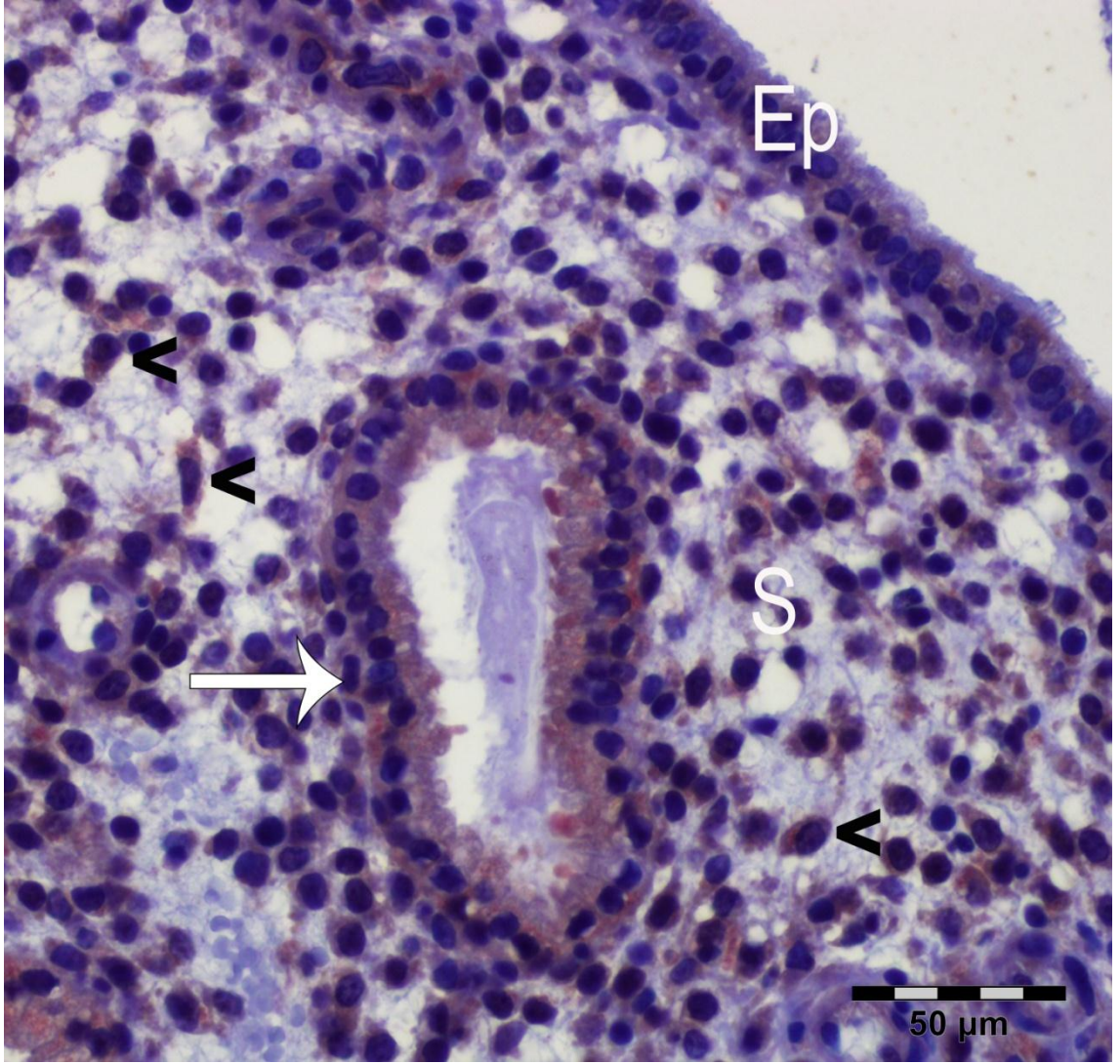
4.2.1. Kontrol Endometriyum

4.2.1.1. TNF- α

Kontrol grubu hastalarından elde edilen endometriyum doku kesitlerinin TNF- α immünohistokimyasal işaretlenmesinde yüzey epitel hücrelerinde zayıf derecede TNF- α immünreaktivitesi gözlemlendi. Bazı epitel hücrelerinde ise zayıftan orta dereceye kadar değişen derecede TNF- α ekspresyonu izlendi. Buna karşın, stromal hücrelerde belirgin bir boyanma tespit edilmedi. Ayrıca, kan damarları etrafında ve stromada yer alan makrofajların sitoplazmalarında TNF- α immünreaktivitesinin varlığı da dikkati çekti (Şekil 6 ve 7).



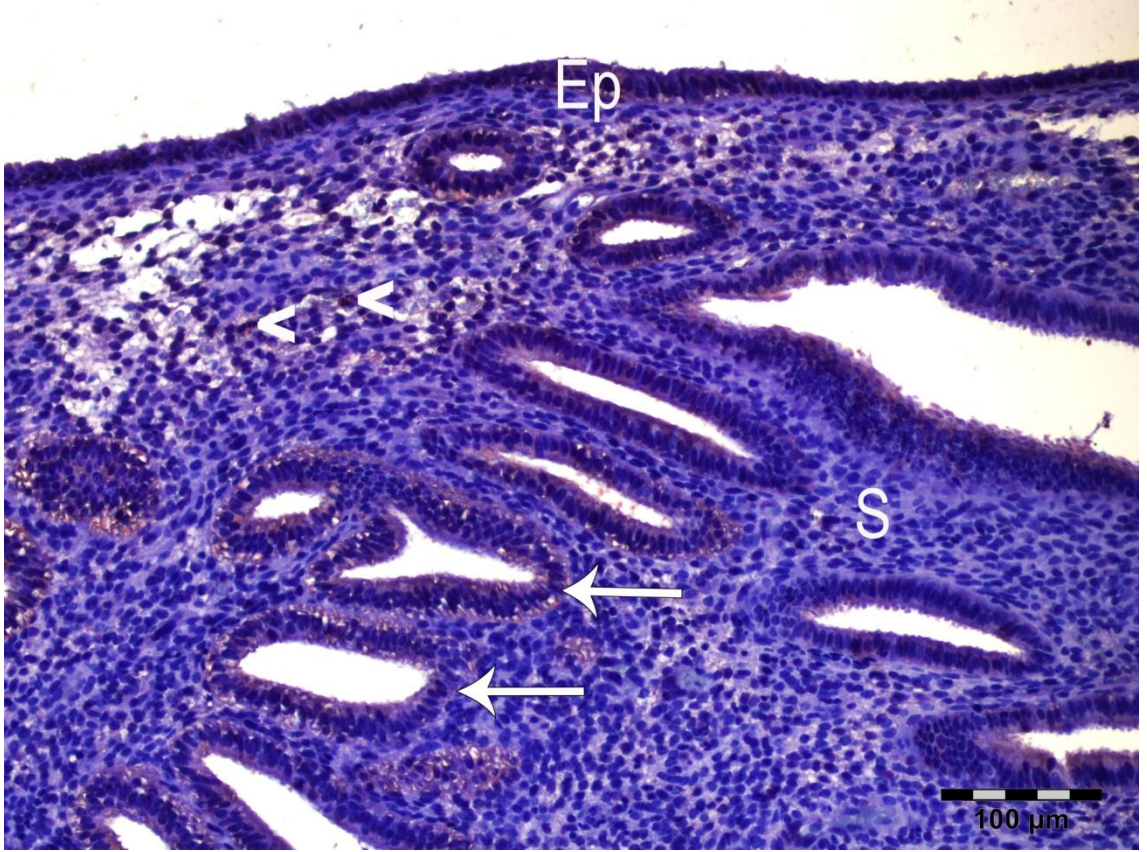
Şekil 6: Kontrol endometriyumda TNF- α immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep), bez epiteli (oklar) ve makrofajların hücre sitoplazmalarında TNF- α immünreaktivitesi izlenmekle birlikte stromal hücrelerde (S) belirgin bir reaktivite görülmemektedir. Kan damarları çevresinde (*) ve stromada (S) yer alan makrofajlarda (okbaşı) belirgin immünreaktivitenin olduğu görülmektedir (Bar=100 μ m).



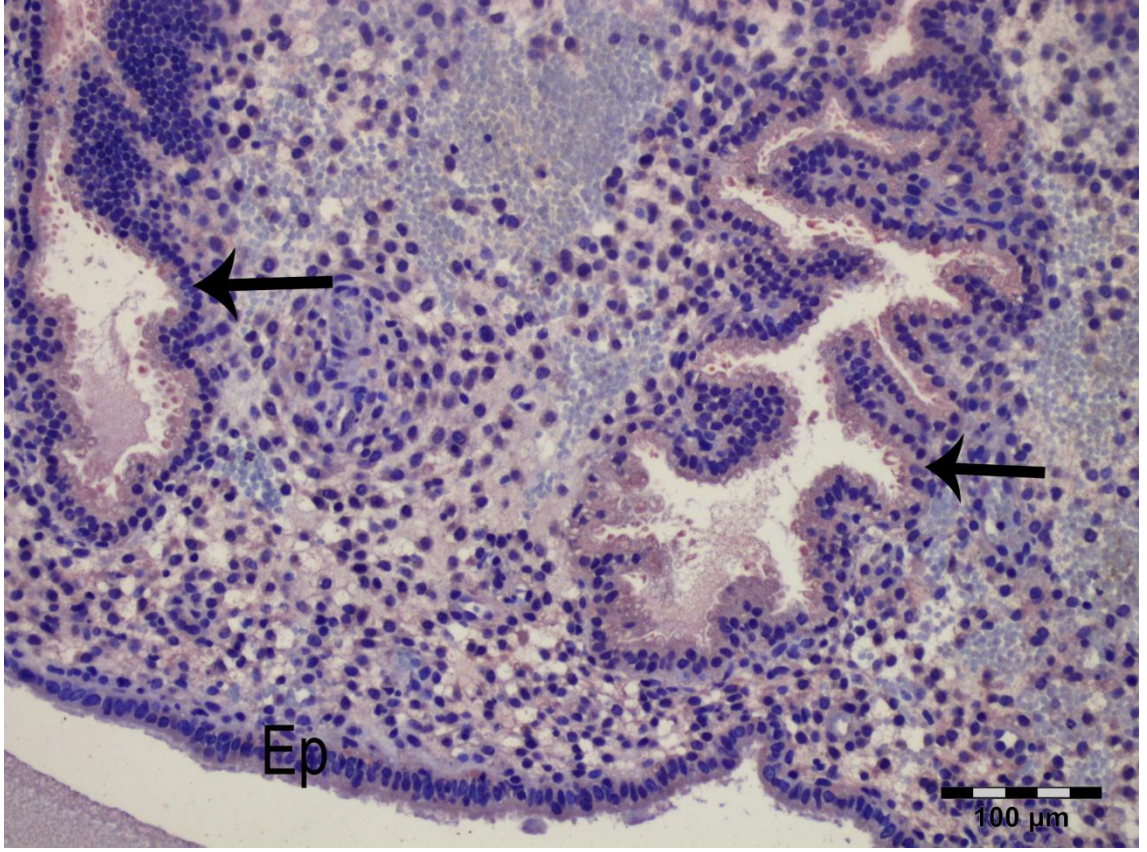
Şekil 7: Kontrol endometriyumda TNF- α immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep) ve bez epitel hücre (beyaz ok) sitoplazmalarında TNF- α immünreaktivitesi izlenmekle birlikte, stromal hücrelerde (S) belirgin bir reaktivite görülmemektedir. Buna karşın makrofajlarda pozitif immünreaktivite izlenmektedir (siyah ok başları) (Bar= 50 μ m).

4.2.1.2. IL-6

Kontrol grubuna ait endometriyum doku kesitlerinde, endometriyum yüzey epitelinde IL-6 ekspresyonunun, bazı alanlarda zayıf şekilde eksprese olduğu izlenmekle birlikte, çoğu alanlarda belirgin bir boyanma gözlenmedi. Bez epitelinde de yüzey epiteline benzer şekilde, hücrelerin bazal ve apikal sitoplazmalarında genellikle çok zayıf bir IL-6 immünreaktivitesi tespit edildi. Bunların yanında, stromada yer alan makrofajlarda IL-6 ekspresyonunun oldukça belirgin olduğu, ancak stromal hücrelerde IL-6 immünreaktivitesinin olmadığı belirlendi (Şekil 8 ve 9).



Şekil 8: Kontrol endometriyumda IL-6 immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep) ve bez epiteline ait (oklar) hücre sitoplazmalarında IL-6 immünreaktivitesi izlenmekle birlikte, stromal hücrelerde (S) belirgin bir reaktivite görülmemektedir. Bununla birlikte makrofajlarda (ok başları) immünreaktivite pozitifdir (Bar= 100µm).

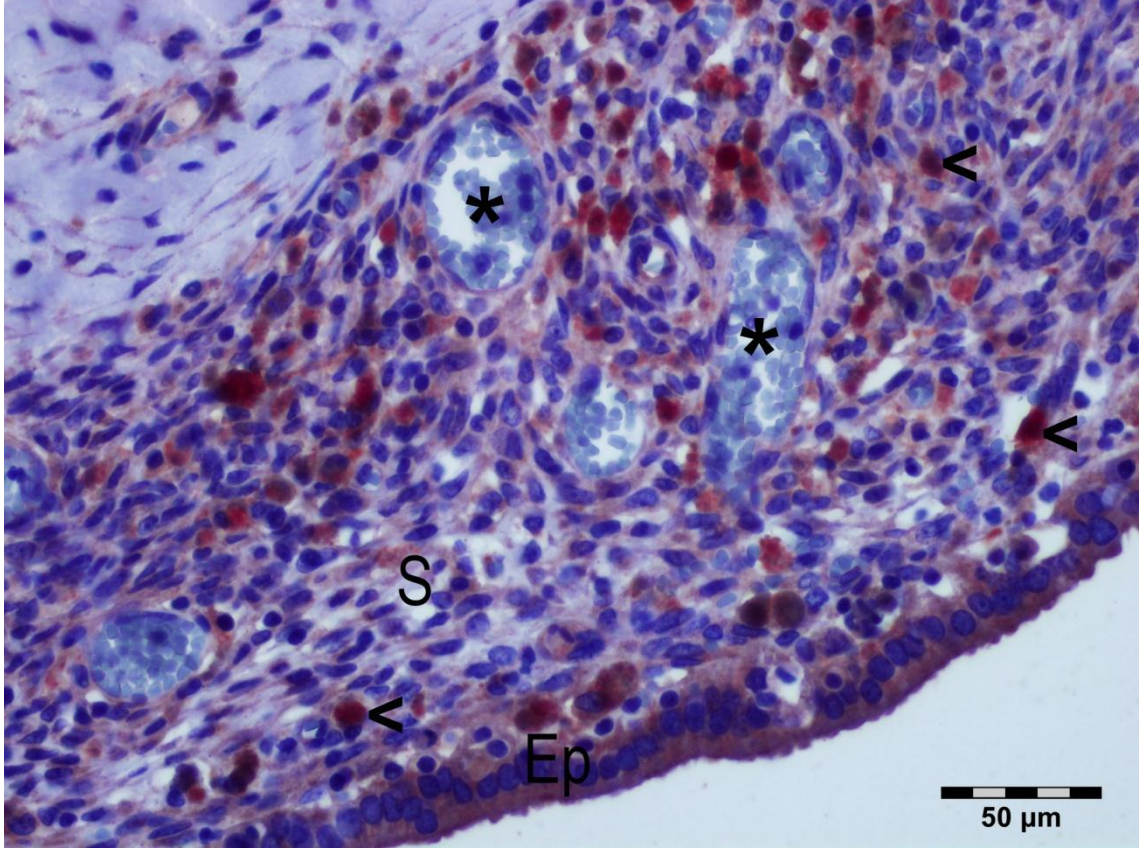


Şekil 9: Kontrol endometriyumda IL-6 immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep) ve bez epitelinde (oklar) IL-6 immünreaktivitesinin zayıf olarak işaretlendiği görülmektedir (Bar= 100).

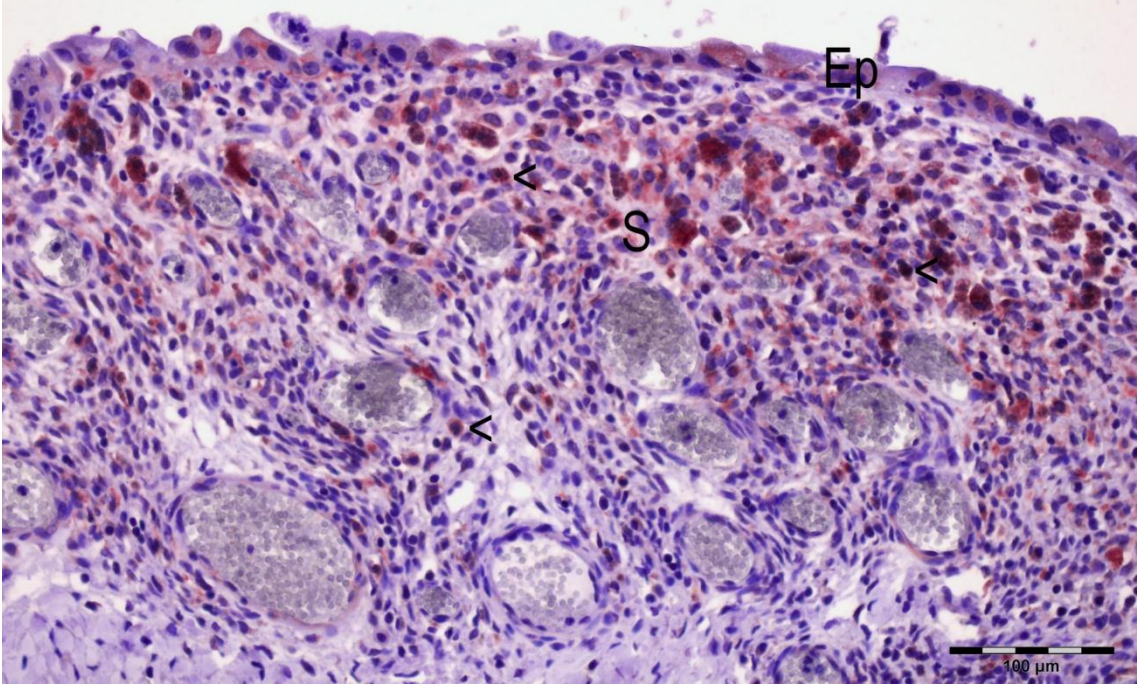
4.2.2. Deney Grubu

4.2.2.1. TNF- α

Ovaryan endometriyozise sahip hastalardan elde edilen ektopik endometriyum doku kesitlerinin TNF- α immünohistokimyasal boyamasında, yüzey epitel hücrelerin sitoplazmalarında belirgin TNF- α immünreaktivitesi görüldü. Aynı zamanda epitele yakın stromal hücrelerde ve kan damarları çevresinde yer alan makrofajlarda da orta dereceden güçlü boyanmaya kadar değişen derecelerde TNF- α işaretlenmesi kaydedildi (Şekil 10 ve 11).



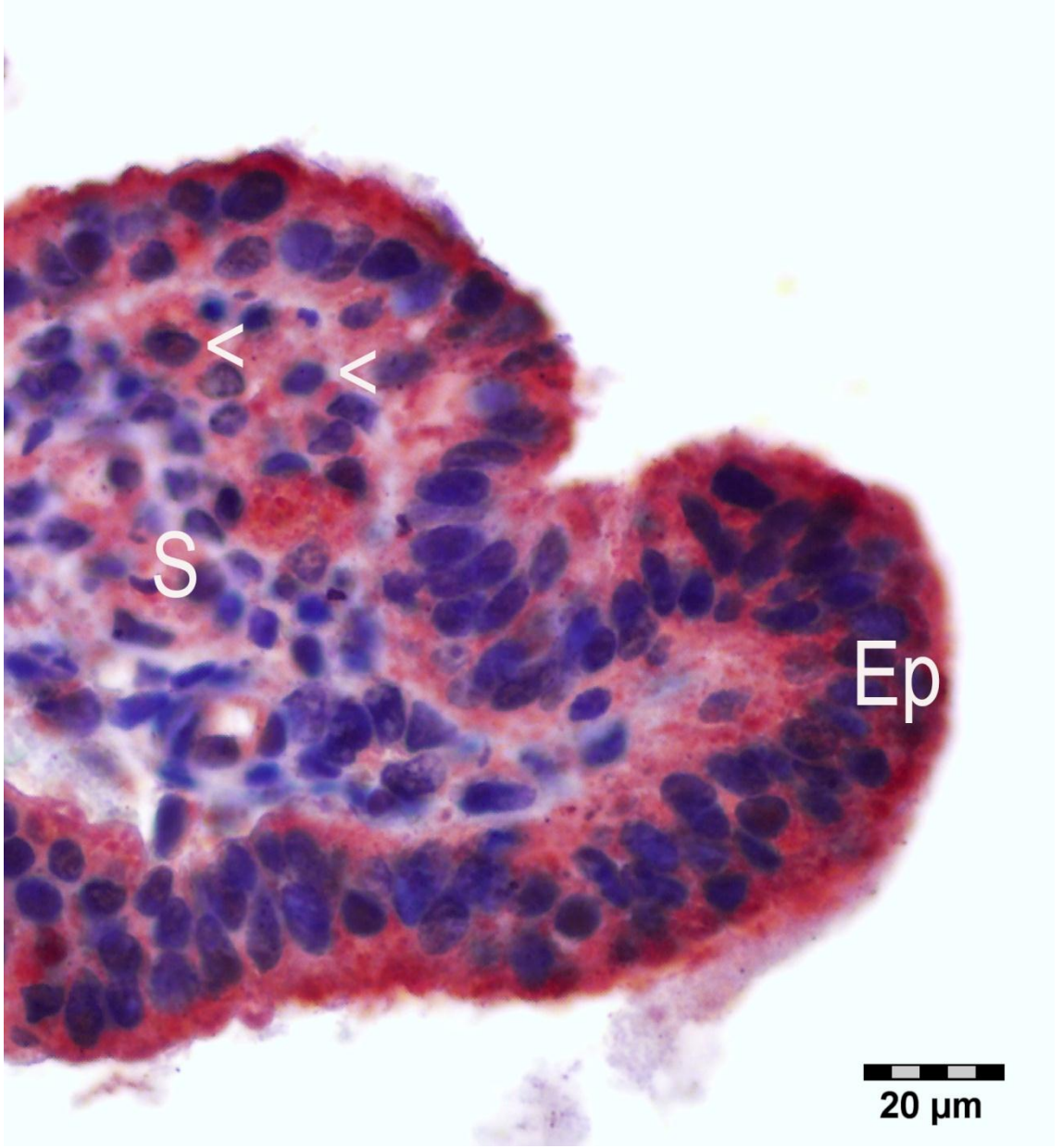
Şekil 10: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda TNF- α immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep) hücre sitoplazmalarında TNF- α immünreaktivitesi izlenmektedir. Ayrıca stromal hücrelerde (S) belirgin bir boyanma görülmektedir. Kan damarları çevresinde (*) ve stromada (S) yer alan makrofajlarda (ok başları) güçlü bir boyanmanın olduğu da dikkati çekmektedir (Bar= 50 μ m).



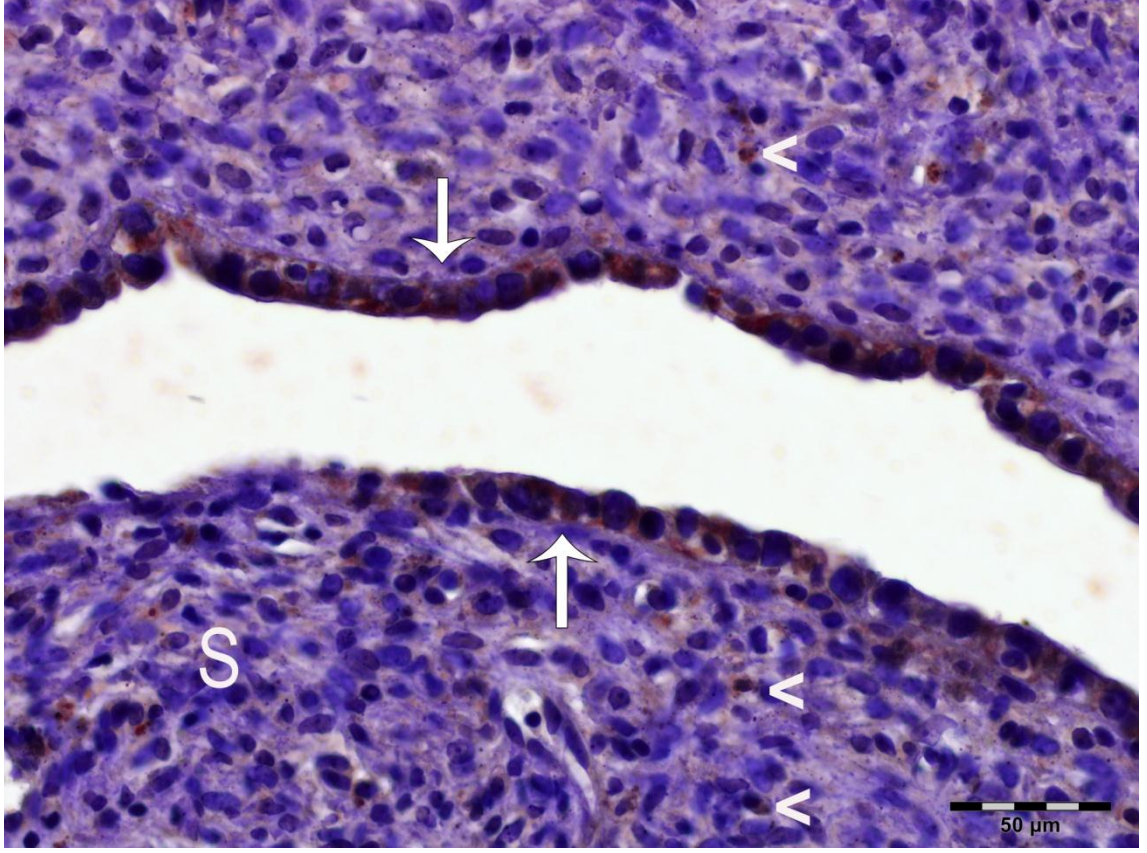
Şekil 11: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda TNF- α immünreaktivitesi. Yüzey epitelinde (Ep), stromal hücrelerde (S) ve makrofajlarda (ok başları) belirgin TNF- α boyanması izlenmektedir (Bar= 100 μ m).

4.2.2.2. IL-6

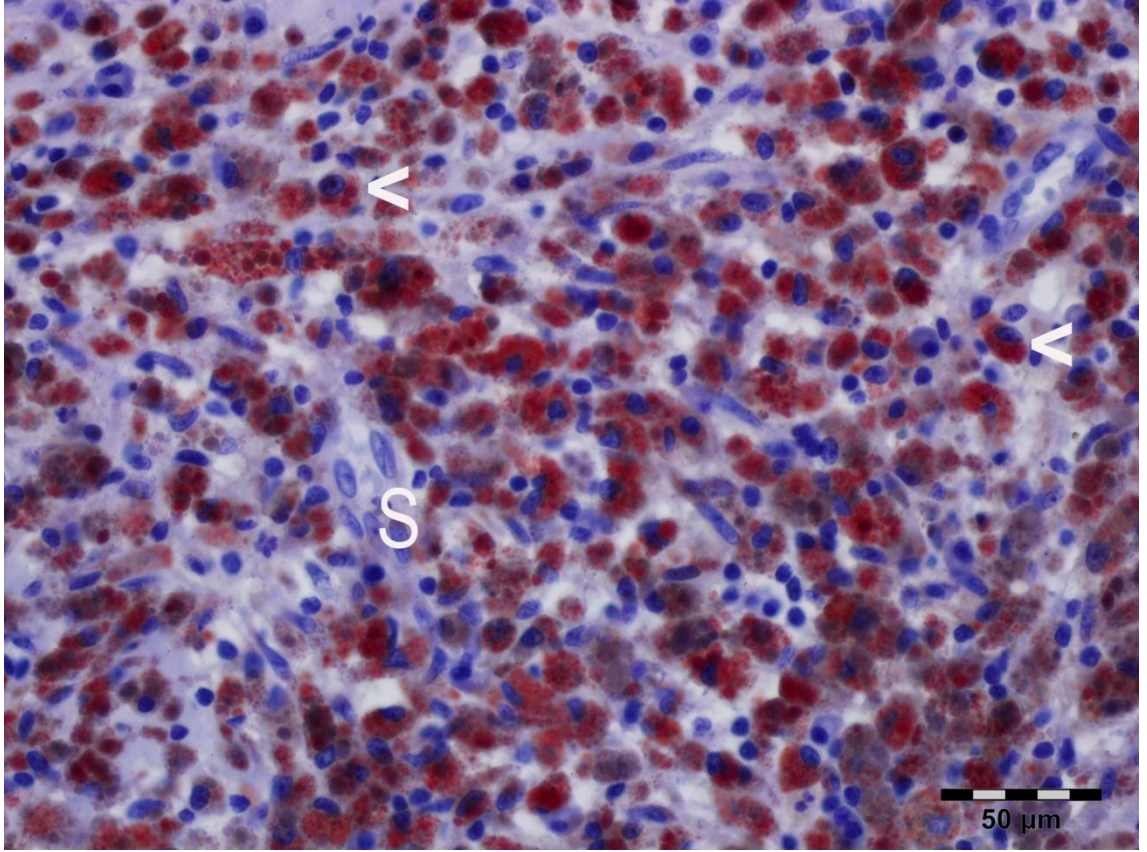
Ovaryan endometriyozisli hastalardan elde edilen, ektopik endometriyotik doku kesitlerinin IL-6 immünohistokimyasal incelenmesinde, yüzey epiteli ve altında yer alan stromal hücrelerde IL-6 işaretlenmesinin belirgin olduğu izlendi. IL-6 ekspresyonunun, epiteliyal hücrelerin daha çok, bazal sitoplazmalarında belirgin olduğu dikkati çekti. Bunların yanında, stromal hücrelerde de belirgin IL-6 ekspresyonu izlenmemekle birlikte, stroma içerisinde bulunan, makrofajlarda IL-6 immünreaktivitesinin çok daha yoğun olduğu gözlemlendi. Bunlara ilaveten ektopik endometriyumda yer alan, endometriyal bez yapılarında da zayıf ya da orta derecede IL-6 ekspresyonunun varlığı tespit edildi (Şekil 12, 13, 14 ve 15).



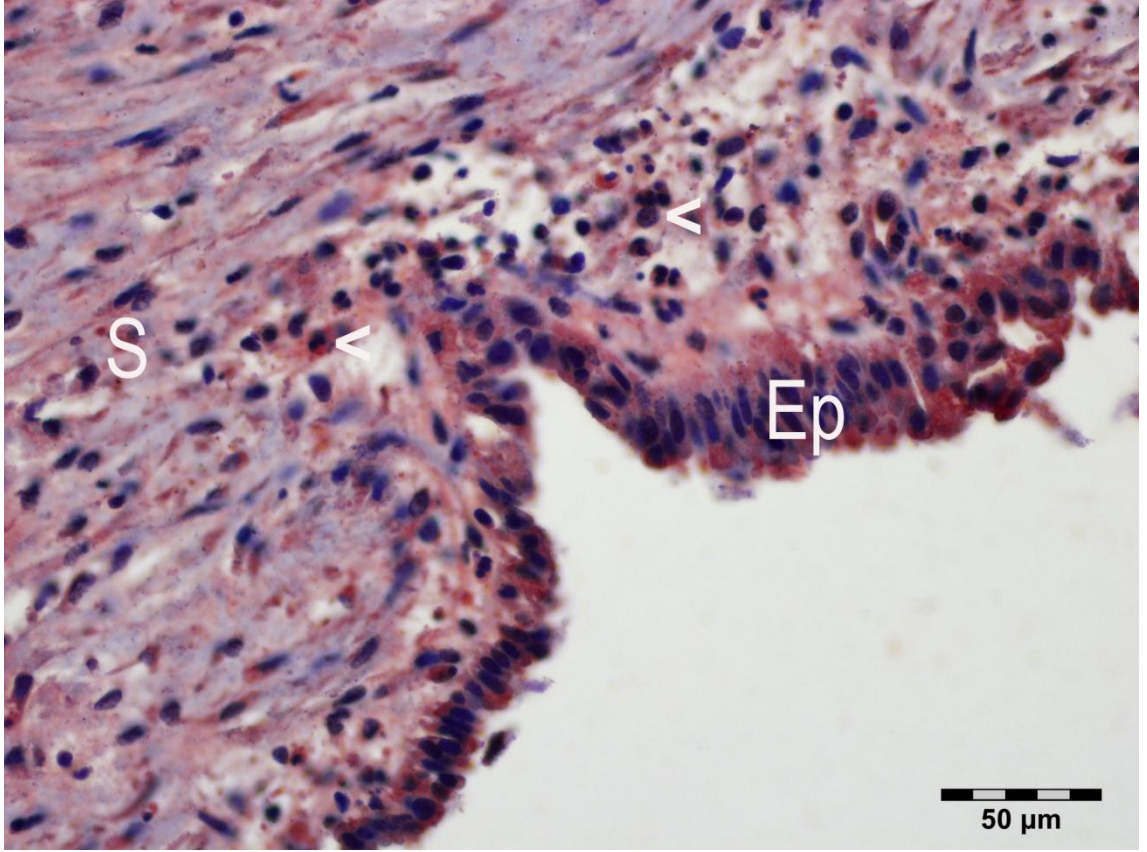
Şekil 12: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi. Yüzey epitel (Ep) ve stroma (S)'da yer alan hücrelerin sitoplazmalarında belirgin IL-6 immün boyanma izlenmektedir. İmmün işaretlenmenin makrofajlarda (ok başları) çok daha güçlü olduğu dikkati çekmektedir (Bar= 20µm).



Şekil 13: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi. Yüzey epitel hücrelerinde (oklar) IL-6 immün boyanması görülmektedir. Stromal hücreler (S) ve makrofajlarda (ok başları) işaretlenme izlenmektedir (Bar= 50µm).



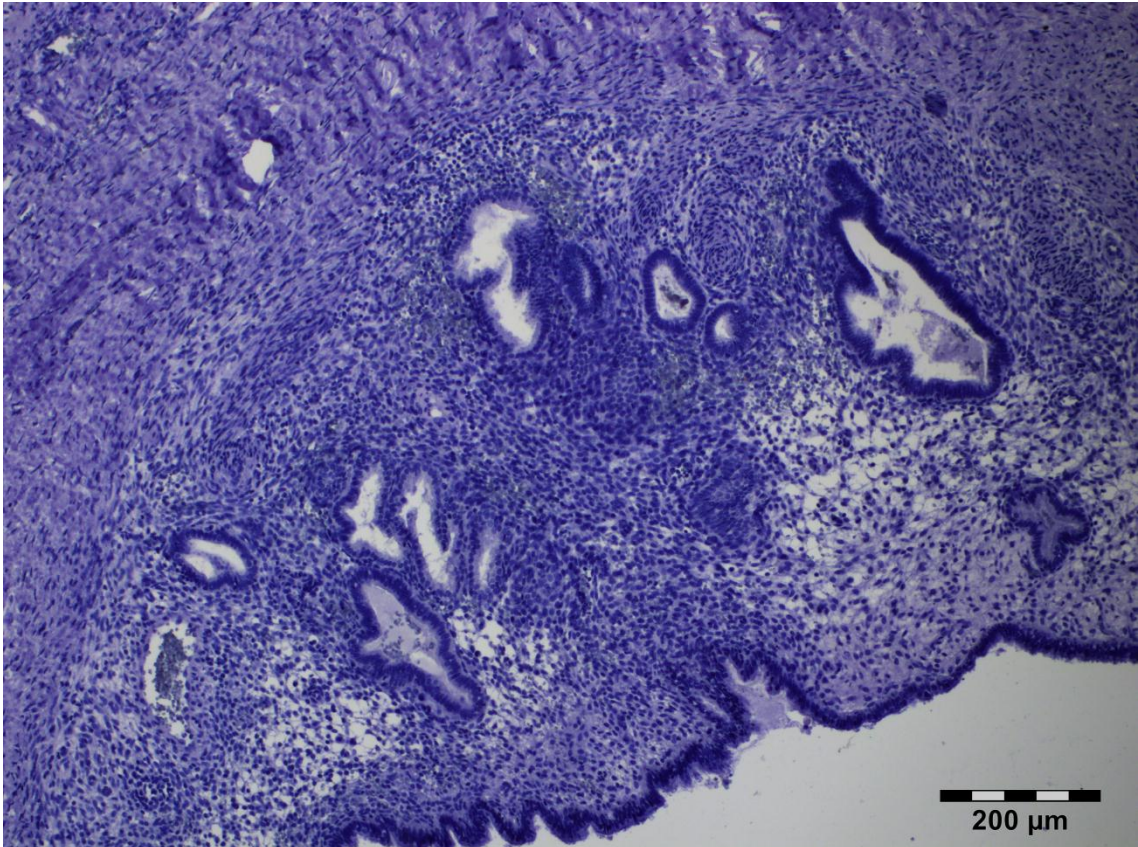
Şekil 14: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi. Stromal (S) hücrelerde ve makrofajlarda (ok başları) IL-6 immünreaktivitesi izlenmektedir (Bar= 50µm).



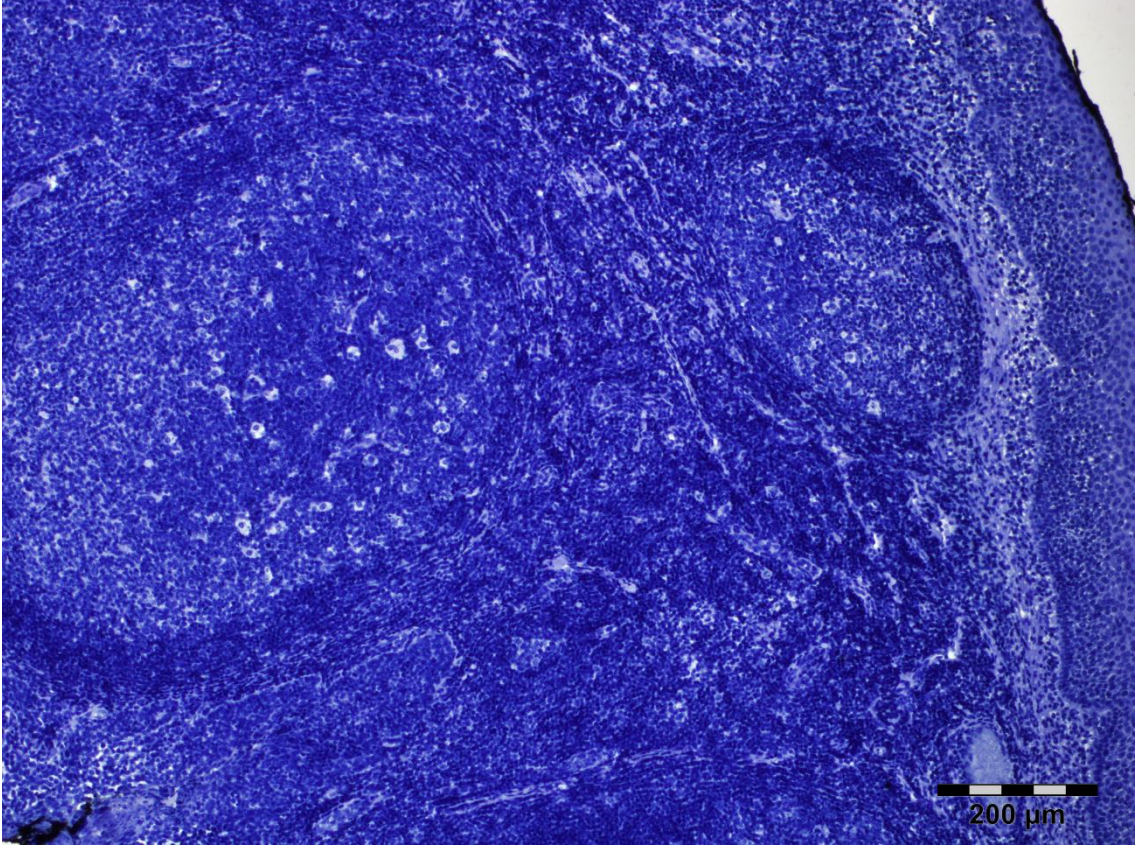
Şekil 15: Deney Grubu. Ektopik endometriyumunda IL-6 immünreaktivitesi. Yüzey epiteli (Ep) stromal hücreler (S) ve makrofajlarda (ok başları) belirgin IL-6 immünreaktivitesi izlenmektedir (Bar= 50µm).

4.2.3. Negatif Kontroller

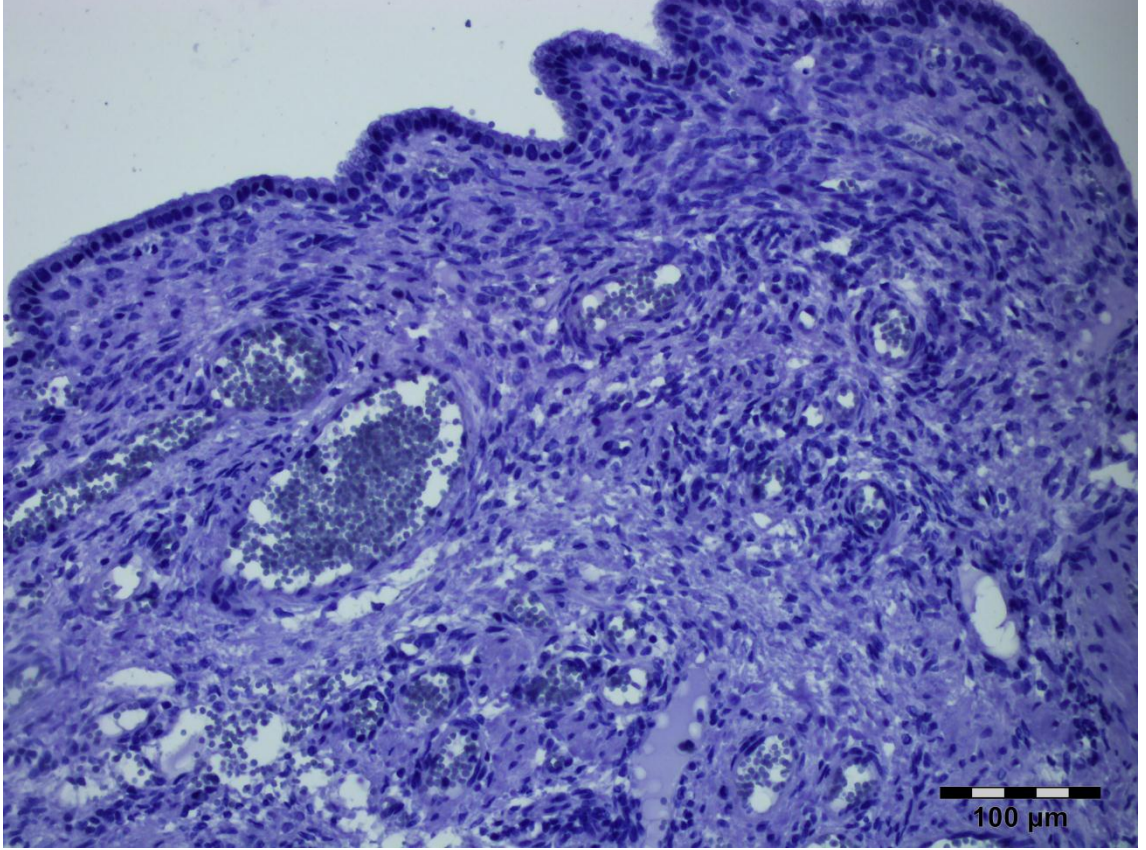
Negatif kontrol amacıyla incelenen doku kesitlerine, TNF- α ve IL-6 primer antikorları yerine, serum fizyolojik (SF) damlatılarak yapılan incelemelerde, her iki sitokin için de, kontrol kesitlerde herhangi bir işaretlenme gözlenmedi. Negatif kontrol amacıyla TNF- α için; insan ektopik endometriyum ve lenf düğümü doku kesitleri (Şekil 16 ve 17), IL-6 için ise; insan ektopik endometriyum ve pankreas doku kesitleri (Şekil 18 ve 19) kullanıldı.



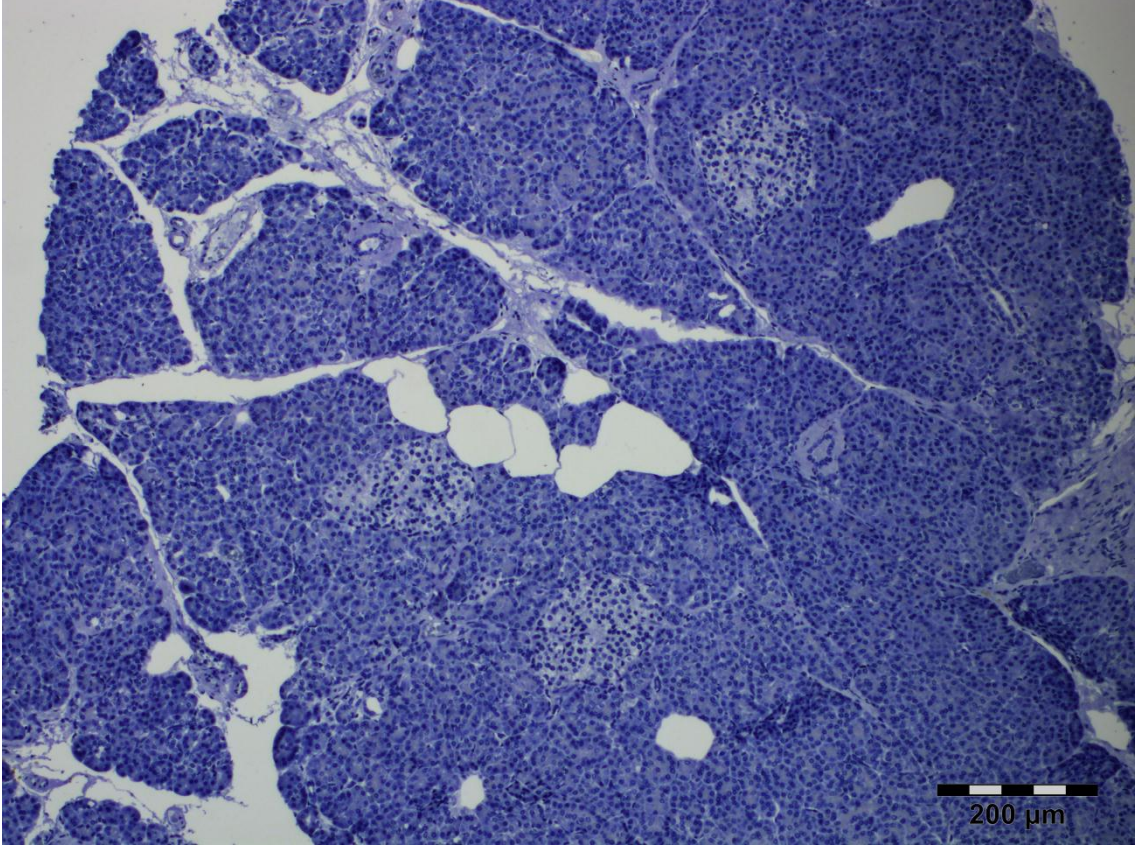
Şekil 16: Negatif Kontrol. TNF- α primer antikorunun damlatılmadığı ektopik endometriyum kesitlerinde herhangi bir immünreaktivite izlenmemektedir (Bar= 200 μ m).



Şekil 17: Negatif Kontrol. TNF- α primer antikorunun damlatılmadığı insan lenf düğümü kesitlerinde herhangi bir immünreaktivite izlenmemektedir (Bar= 200 μ m).



Şekil 18: Negatif Kontrol. IL-6 primer antikorunun damlatılmadığı ektopik endometriyum kesitlerinde herhangi bir immünreaktivite izlenmemektedir (Bar= 100µm).

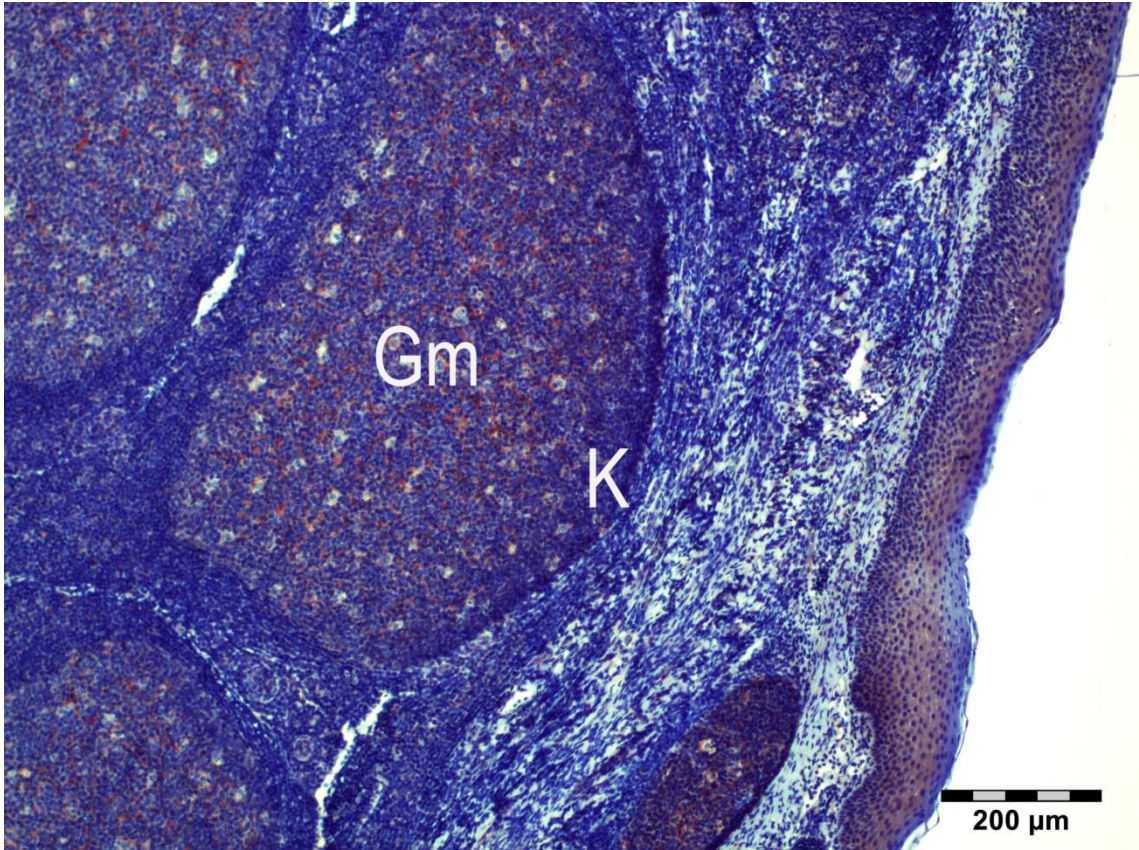


Şekil 19: Negatif Kontrol. IL-6 primer antikorunun damlatılmadığı insan pankreas kesitlerinde herhangi bir immünreaktivite izlenmemektedir (Bar= 200µm).

4.2.4. Pozitif Kontroller

4.2.4.1. TNF- α

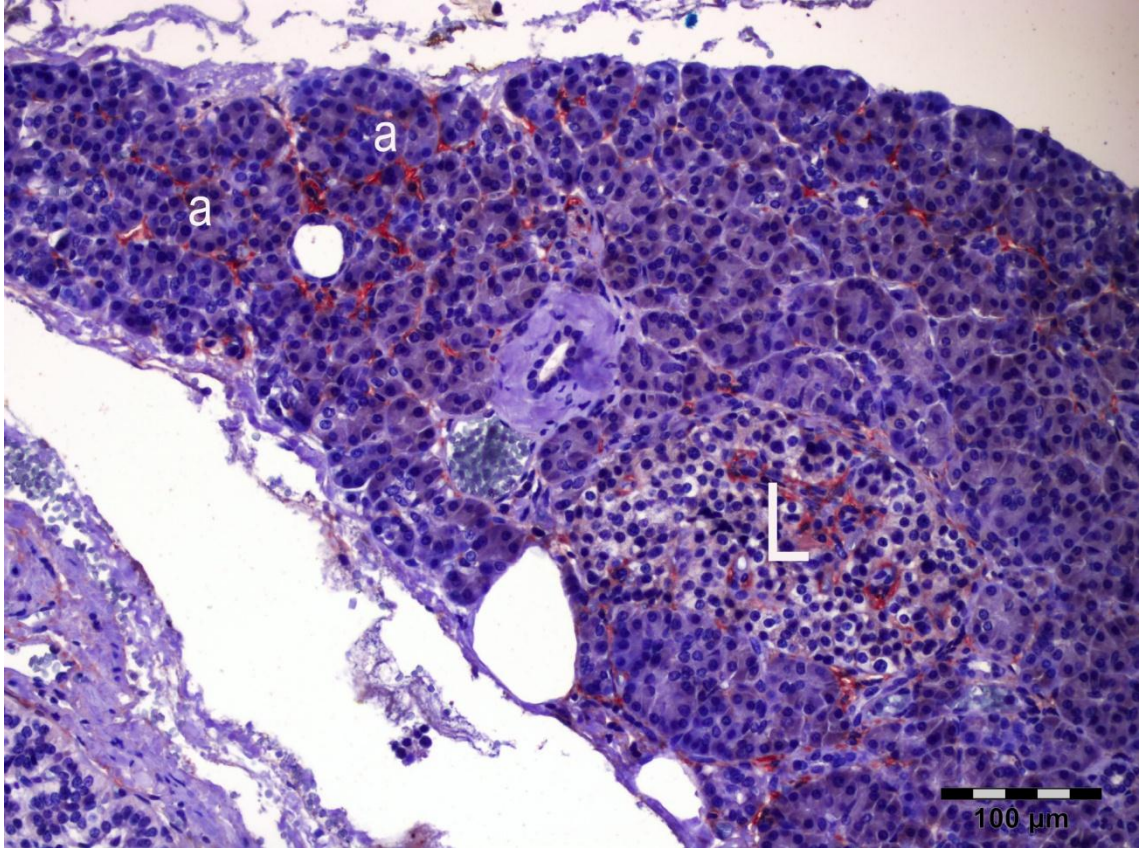
İnsan lenf düğümünden elde edilen biyopsi örnekleri TNF- α için pozitif kontrol amacıyla değerlendirildi. TNF- α immünreaktivitesinin, lenf foliküllerinin korteks ve germinal merkezlerinde yer alan makrofajlarda çok belirgin olduğu dikkati çekmekteydi (Şekil 20).



Şekil 20: Pozitif Kontrol. İnsan lenf düğümünde, follikül germinal merkezi (Gm) ve korteksinde (K) belirgin TNF- α immünreaktivitesi görülmektedir (Bar= 200μm).

4.2.4.2. IL-6

İnsan pankreas bezinden alınan biyopsi örnekleri IL-6 için pozitif kontrol olarak değerlendirildi. Bu amaçla yapılan boyamada, seröz asinuslar ve Langerhans adacık hücreleri arasındaki kan damarları çevresinde IL-6 immünreaktivitesi belirgin olarak izlendi (Şekil 21).



Şekil 21: Pozitif Kontrol. Pankreasta, seröz asinuslar (a) ve langerhans adacık (L) hücreleri arasındaki IL-6 immünreaktivitesi belirgin şekilde izlenmektedir (Bar= 100µm).

Tablo 1: Kontrol ve ektopik endometriyumda IL-6 ve TNF- α immünreaktivitesi*

	Kontrol Endometriyum		Ektopik Endometriyum	
IL-6	Yüzey Epiteli	+	Yüzey Epiteli	++
	Bez Epiteli	+	Bez Epiteli	+
	Stromal Hücre	-/+	Stromal Hücre	++
	Makrofaj	++	Makrofaj	+++
TNF- α	Yüzey Epiteli	+	Yüzey Epiteli	+++
	Bez Epiteli	+	Bez Epiteli	+
	Stromal Hücre	-/+	Stromal Hücre	++
	Makrofaj	++	Makrofaj	+++

*: Yok: - , Zayıf: + , Orta: ++ , Şiddetli: +++

5. TARTIŞMA

İnsanda normal ve ektopik endometriyum dokularında Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) ve İnterlökin 6 (IL-6) ekspresyonlarının immünohistokimyasal yöntemlerle araştırıldığı bu çalışmada, kontrol endometriyum ile karşılaştırıldığında, endometriyotik dokularda TNF- α ve IL-6 immünreaktivitesinin epitel ve stromal hücrelerde belirgin olarak artış gösterdiği bulundu.

Günümüze kadar sağlıklı ve endometriyozise sahip kadınların periton sıvılarında pek çok sitokinin ekspresyon seviyeleri karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır^{4,5,6,11,48,49,50,51}. Harada ve arkadaşları endometriyotik lezyonu olan infertil hastaların periton sıvılarında TNF- α ve IL-6 seviyelerinin endometriyozisli hastalarda, normal kadınlara oranla daha yüksek olduğunu bulmuşlar ve sitokinlerde ki bu artışın, endometriyozis gelişimi ve dolayısıyla da infertilite ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir⁴⁷. TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının birlikte ilk defa endometriyotik dokuda immünohistokimyasal olarak araştırıldığı çalışmamızda, TNF- α ekspresyonunun kontrol grubunda yüzey ve bez epitelinde zayıftan orta dereceye kadar değişen düzeylerde olduğu gözlemlendi. Buna karşın stromal hücrelerde belirgin bir boyanmaya rastlanmadı (Şekil 6 ve 7). Endometriyozisli hastalardan elde edilen ektopik endometriyal dokuda ise yüzey epitelinde, TNF- α ekspresyonunun belirgin olarak artış gösterdiği belirlendi (Şekil 10 ve 11). Aynı zamanda stromal hücrelerde ve makrofajlarda yüksek seviyede TNF- α işaretlenmesi belirlendi (Şekil 10).

Endometriyozis, enflamatuvar bir hastalık olup, endometriyal epitel ve stromanın uterus dışında yerleşimi ile karakterizedir⁴⁵. Hastalığın patogenezi günümüzde hala tartışmalı olmakla birlikte, oluşumu ve yayılmasında, çevresel, genetik, endokrin ve immünolojik faktörlerin etkili oldukları yaygın olarak kabul edilmektedir. Endokrin ve immünolojik yaklaşımların birlikte dikkate alınması nedeniyle de, endometriyozis, östrojen bağımlı, kronik enflamatuvar bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Hastalığın oluşumunda, özellikle immün sistemde meydana gelen bozuklukların ön plana çıktığı günümüzde, endometriyozise

sahip hastaların periton sıvılarında hücrel ve hümoral faktörlerdeki değişiklikler dikkati çekmektedir. Gerçekten de yapılan araştırmalarda endometriyozise sahip kadınların periton sıvısında makrofaj ve immün sistemde fonksiyon yapan hücrelerde belirgin bir artışın olduğu rapor edilmiştir^{3,7,19,21}.

Başlıca makrofajlar ve lökositler gibi diğer hücrelerden salgılanan sitokinler ve çeşitli büyüme faktörlerinin, periton sıvısında birikmesinin hastalığın patogenezi ile ilişkili olabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir^{8,45}. Gerçekten de endometriyozise sahip kadınların peritoneal sıvılarında yapılan araştırmalarda, TNF- ^{5,69,74}, IL-1⁴⁶, IL-6⁴⁷, IL-8^{48,75}, IL-10⁴⁹, VEGF⁵¹, MCP-1⁷⁵ ve MCP-2 gibi, pek çok sitokin ve büyüme faktörlerinin varlığı, normal kadınlar ile karşılaştırıldığında, belirgin olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Sitokinlerin periton sıvısında yüksek oranda bulunmasının endometriyozis oluşumunu tetikleyeceği düşünülmektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalarda, endometriyozise sahip hastalarda, vücut sıvılarında çeşitli sitokinlerin varlığı ve bu sitokinlerin oranında aşırı yükselme gösterilmiş olmakla birlikte, aynı zamanda endometriyal epitel ve stromal hücrelerin de farklı sitokinleri eksprese ettikleri rapor edilmiştir. Dolayısıyla sitokinlerin gerek periton sıvısı gibi, vücut sıvılarında artış göstermeleri ve gerekse de endometriyal hücrelerde eksprese olmaları, hastalığın oluşumu ve yayılmasında karşılıklı bir etkileşimi düşündürmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, endometriyozis hastalarının vücut sıvılarında varlığı gösterilen TNF-  ve IL-6'nın, bu çalışmada normal ve ektopik endometriyal dokudaki ekspresyonları immünohistokimyasal olarak ilk defa gösterildi. Kontrol endometriyumlar ile karşılaştırıldığında, TNF-  ve IL-6'nın ekspresyonlarının her ikisinin de, endometriyotik dokuda, epitel hücreleri, stromal hücreler ve makrofajlarda belirgin olarak artış göstermesi dikkat çekici bulundu.

TNF- , vücutta farklı hücre tipleri tarafından salgılanan immün ve enflamatuvar reaksiyonlarda görev alan önemli bir sitokindir. TNF- 'nın normalde immün sistem reaksiyonlarının kontrolü ve vücut savunmasındaki rolleri yanında, nörolojik travmalarda, homeostazis, hücre proliferasyonu ve hücre diferansiyasyonunda da görev aldığı bilinmektedir. TNF- 'nın,

proenflamatuvar ve immün sistem uyarıcı etkilerinden dolayı vücuttaki pek çok patolojik olaylarla ilişkili olabileceği ileri s r lmektedir^{76,77,78}. Esas olarak monosit ve makrofajlar tarafından salgılanan bu sitokinin geniş spektrumlu biyoaktiviteye sahip olduğu bilinmektedir⁷⁶. Bu nedenle pluripotent ve anjiyogenik sitokin olarak kabul edilen TNF- , IL-8 gibi, pek çok sitokinin salgılanmasını uyarmakta ve endometriyotik dokuda sitokin sentezine neden olmaktadır⁴⁵. Bu özelliğinden dolayı TNF- , periton sıvısındaki diğer sitokinlerin uyarılması ve tetiklenmesinde anahtar konumda bir sitokin olarak kabul edilmektedir.

Diğer taraftan TNF- 'nın dokularda rejenerasyon ve dejenerasyon olmak üzere ikili bir fonksiyonunun bulunduğu da yaygın olarak kabul edilmektedir. TNF- 'nın, bu uyarıcı veya inhibe edici etkilerinin, hücre tipi ile sitokin konsantrasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Gerçekten de yapılan araştırmalarda, düşük doz TNF- 'nın anjiyogenezi uyardığı, buna karşın yüksek dozda damar gelişimini inhibe ettiği g sterilmiştir^{79,80}.

Endometriyozis gelişiminde TNF- 'nın rolü tam olarak açık değildir. Endometriyozisli hastaların periton sıvısında diğer sitokinler ile birlikte TNF-  konsantrasyonunda meydana gelen değişikliklerin hastalığın oluşumu ve ilerlemesinde etkin olabileceği düşünülmektedir. Endometriyozisli hastaların periton sıvısında TNF-  miktarının 5-300 pg/mL arasında olduğu rapor edilmiş, düşük doz TNF- 'nın endometriyozis gelişimini uyardığı ileri s r lm ştir^{47,81}. TNF- 'nın normal endometrium fizyolojisinde görev alan önemli bir sitokin olduğu bilinmekle birlikte, endometriyotik dokularda TNF- 'nın rolü günümüzde hala tam olarak aydınlanmış değildir. Sunulan çalışmada kontrol grubuna göre ektopik endometrial dokuda, epitel hücreleri ile stromal hücrelerde TNF-  ekspresyonunun oldukça belirgin olduğu dikkati çekmektedir (şekil 10 ve 11). Aynı zamanda, endometriyotik doku stromasında yer alan makrofajlarda da TNF-  reaktivitesinin belirgin olması, TNF- - Makrofaj ilişkisinin endometriyozis gelişimi ile yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Endometriyotik dokularda, TNF-  ekspresyonun belirgin olması ve makrofajların da bu bölgelerde yoğun olarak bulunması endometriyozis oluşumu ve endometriyotik dokunun implantasyonunda uyarıcı veya inhibe edici

yönde ortaya çıkan, TNF ve makrofaj ilişkisinin kanıtı olarak değerlendirildi. Gerçekten de endometriyotik dokuların implantasyonunda, IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rolleri kabul edilmekte⁷⁵, bunların yanında, TNF- α 'nın immün sistem hücreleri ve makrofajlar üzerine olan uyarıcı etkileriyle implantasyon alanında, endometriyotik dokuların izole edilmesi aşamalarını da başlatabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir⁸².

Literatürde normal endometriyum ve endometriyotik dokularda TNF- α ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak gösteren çok az çalışma bulunmaktadır. TNF- α 'nın endometriyumda, erken proliferatif fazda bez epitelinde zayıf olarak eksprese olduğu, siklusun ileri safhalarında boyanmanın giderek arttığı, geç proliferatif fazda ise immünreaktivitenin maksimum seviyeye ulaştığı rapor edilmiştir. Bunlara ilaveten, TNF- α ekspresyonunun endometriyumda sekretuar faz boyunca yüksek düzeyde varlığını sürdürdüğünü, buna karşın TNF mRNA seviyesinin siklusun sonlarına doğru azaldığı bildirilmiş, endometriyozisli hastaların periton sıvılarında, TNF- α konsantrasyonunun oldukça yükseldiği, sitokin düzeyi ile hastalığın evresi arasında yakın bir ilişkinin bulunduğu vurgulanmıştır⁸³. Diğer bir çalışmada da⁸⁴ TNF- α 'nın, erken ve orta proliferatif evrede epitel ve stromada zayıf olarak eksprese olduğu, geç proliferatif evrede ise sitokin ekspresyonunun daha belirgin olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da bu bulguya paralel olarak, TNF- α ekspresyonlarının normal endometriyumda epitel ve stromada nispeten zayıf olarak işaretlendiği buna karşın ektopik endometriyumda, epitel hücreleri, stromal hücreler ve makrofajlarda çok daha belirgin olduğu gözlemlendi (Tablo 1).

TNF- α 'nın endometriyum biyolojisi ve endometriyozis gelişimindeki rolleri günümüzde hala önemli araştırma alanı olarak güncelliğini korumaktadır. TNF- α düzeyi ile endometriyotik implantların yerleşim ve gelişimleri arasında yakın bir ilişkinin varlığı ileri sürülmektedir⁸². Bu bağlamda, TNF- α 'nın in vitro koşullarda endometriyotik hücrelerin, implantasyon alanında dokuda bulunan laminin, fibronektin ve kollajene bağlanmasını arttırdığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, TNF- α varlığında Matriks Metalloproteinaz 3 (MMP3) seviyelerinin de yükseldiğini belirtmişlerdir⁸⁵. Yuge ve arkadaşları⁸⁶ da deneysel araştırmalarında in vitro koşullarda TNF- α 'nın endometriyal stromal hücrelerde

kasılmayı uyardığını rapor etmişler, endometriyumun menstrüel siklus sırasında geçirdiği dinamik süreçler ile menstrüasyon sonrası dokuların yeniden şekillenmesinde TNF- α 'nın önemini vurgulamışlardır.

Bizim çalışmamızda da TNF- α 'nın özellikle endometriyotik dokularda hem epitel hücrelerinde ve hem de stromal hücreler ve makrofajlarda belirgin olarak işaretlendiği gözlemlendi. TNF- α 'nın proenflamatuvar etkisiyle, endometriyotik implant alanında başta makrofajlar ve immün sistemde görevli diğer hücrelerin toplanmasına neden oldukları, ayrıca diğer sitokin ve büyüme faktörlerinin etkisiyle, fibrozisin uyarılacağı ve endometriyotik dokunun bulunduğu alandan izole edileceği, stromal hücrelerde kasılmayı uyarak, bölgesel kan damarlarının kasılmasını sağlayarak, kan akımını azaltabileceği, buna bağlı olarak da endometriyal implantın hücresel dinamiklerinin bozulacağı ileri sürülmektedir^{76,77}. Gerçekten de Philippeaux ve arkadaşları, TNF- α mRNA miktarının endometriyumda belirgin olarak artış gösterdiğini ve epitel ile endometriyum kıvrıntılı arterlerinin duvarında da güçlü bir TNF- α işaretlenmesinin bulunduğunu rapor etmişler, damar duvarlarındaki aşırı TNF- α varlığının menstrüasyon süreciyle ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir⁸³.

Çalışmamızda IL-6 immünreaktivitesinin kontrol grubunda yüzey ve bez epitelinde zayıf derecede eksprese olduğu, stromal hücrelerde de belirgin bir boyanmanın olmadığı gösterildi (Şekil 8 ve 9). Buna karşın, endometriyotik dokularda epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda oldukça belirgin IL-6 ekspresyonunun varlığı dikkati çekti (Şekil 12-15).

IL-6, pleiotropik bir sitokin olup, vücutta farklı hücre tipleri tarafından salgılanan ve çoğu fizyopatolojik olayda rol oynayan önemli bir sitokindir. IL-6'nın, enflamasyon reaksiyonlarında, hücre farklılaşmasında, hücre çoğalmasında, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, hemopoieziste ve tümör oluşumu gibi, pek çok biyolojik etkinliği bulunmaktadır⁵⁸. Başlıca T ve B lenfositleri ile monositler ve makrofajlardan⁵⁹ salınan bu sitokinin endometriyozisli hastalarda yüksek seviyede eksprese olduğu rapor edilmiştir⁴³. Salmassi ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarında, endometriyozisli hastaların ektopik ve ötopik endometriyal dokuları ile sağlıklı kadınların endometriyumlarında, IL-6 seviyelerini karşılaştırmışlar ve IL-6 mRNA

seviyesinin, endometriyotik epitel ve stromal hücrelerde belirgin olduğunu rapor etmişlerdir⁴. Diğer taraftan, IL-6'nın üreme fizyolojisi ile ilgili bir sitokin olduğu ve ovaryan stereoid hormon sentezi, folikülogenez ve erken dönem implantasyon evrelerinde rol oynadığı rapor edilmiştir⁴⁵. Ayrıca IL-6'nın ötopik ve ektopik endometriyumda eksprese olduğu da gösterilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise, IL-6'nın endometriyotik dokularda INF- γ ile birlikte makrofajlardan İnterselüler adezyon molekül-1'in salgılanmasının artışına neden olduğu bildirilmiş, bu sitokinin, endometriyozis patogenezinde önemli bir role sahip olduğu vurgulanmıştır¹⁰.

Yapılan diğer bir araştırmada ise, endometriyozisin ilerleyen safhalarında, periton sıvısında IL-6 ve IL-8 konsantrasyonlarında belirgin bir artış olduğu kaydedilmiştir. Araştırmacılar, hastalığın ilerlemesinde bu sitokinlerin miktarındaki artışın etken olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bunların yanında, günümüzde endometriyozis patogenezinde IL-1 β , TNF- α , INF- γ ve IL-12 gibi, sitokinlerin de büyük oranda rol aldıkları görüşü de büyük oranda benimsenmiştir⁵². Ancak endometriyoziste özellikle enflamatuvar reaksiyonların, endometriyotik dokunun adezyonuna neden olduğu ve bu sırada da, başlıca IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında belirgin bir artışın meydana geldiği yaygın olarak kabul edilmektedir^{5,46}.

Çalışmamızda özellikle ektopik endometriyumda epitel hücrelerinde TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının belirgin olması, ayrıca stromal hücreler ve makrofajlarda da IL-6 işaretlenmesinin varlığı, endometriyozis gelişiminde, TNF- α yanında IL-6'nın da rol alabileceğinin bir göstergesi olarak değerlendirildi. TNF- α ve IL-6'nın, otokrin, parakrin ve endokrin etkileri ile endometriyozis gelişimi ve devamlılığında, karşılıklı olarak düzenleyici görevlere sahip olabilecekleri ileri sürülebilir. Gerçekten de çalışmamızda, önemli sitokinler olan TNF- α ile IL-6 ekspresyonlarının, endometriyotik dokulardaki varlığının birbiri ile örtüşmesi bu görüşü destekler niteliktedir. Nitekim Hadisaputra ve arkadaşları⁵, IL-6 ve TNF- α düzeyleri ile diğer sitokinleri karşılaştırdıkları araştırmalarında, bu iki sitokinin endometriyozis tanısında en önemli serum markırları olduğunu belirtmişler, Harada ve arkadaşları da, TNF- α düzeyi ile endometriyotik

lezyonun sayı ve büyüklüğü arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğunu rapor etmişlerdir⁴⁷.

Endometriyoziste bugüne kadar periton sıvısında pek çok sitokin miktarlarının yükselmiş olduğu belirlenmiş, bu sitokinlerin hastalığın patogeneziindeki muhtemel etkileri geniş olarak ele alınmıştır. Bunların yanında, endometriyotik implantların da önemli miktarda sitokin sentezledikleri rapor edilmiştir. Bununla birlikte, endometriyotik dokularda meydana gelen hücresel sitokin ekspresyonları ile hastalığın patogenezi arasındaki ilişki bugüne kadar çok az çalışmada değerlendirilmiştir. Yapılan araştırma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, özellikle endometriyotik dokuda meydana gelen aşırı sitokin ekspresyonları ile endometriyozis oluşumu ve implantasyon başarısızlığı arasında yakın bir ilişkinin varlığına dikkat çekilmiştir.

Diğer yandan, üreme fizyolojisi ve patolojisinde endometriyumdaki çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanan sitokinler ve kemokinler arasındaki ilişki günümüzde hala tartışma konusudur. Nitekim Ulukış ve arkadaşları⁷⁵, normal, ötopik ve ektopik endometriyumda yaptıkları karşılaştırmalı, immünohistokimyasal çalışmalarında, IL-8 ve MCP-1 ekspresyonlarının menstrüel siklus evrelerine göre farklı derecelerde olmak üzere, endometriyum epitel ve stromal hücrelerinde belirgin olduğunu rapor etmişler, ektopik endometriyumda ekspresyonun daha belirgin olduğunu, IL-8 ve MCP-1'nin hastalığın patogeneziinde rol oynayabileceklerini rapor etmişlerdir.

Boric ve arkadaşları⁶⁹ da normal ve endometriyozise sahip kadınlarda ötopik endometriyumunda yaptıkları immünohistokimyasal çalışmalarında, TNF, TNFR1, TNFR2 ve CD45 ekspresyonlarını göstermişler, sitokin ve sitokin reseptörlerinin immünreaktivitesinin, menstrüel siklus aşamalarına göre değişebildiğini, özellikle orta ve geç sekretuar fazda ekspresyonun yüksek düzeyde olmasının, endometriyoziste görülen düşük implantasyon oranıyla ilişkili olabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar sitokinlerde gözlenen farklı ekspresyon düzeylerinin, ötopik ve ektopik endometriyumda hücre ölüm oranını etkileyebileceğini belirtmişler, bu durumun ektopik endometriyal implantların oluşumu ve uterus dışında gelişiminde çok önemli olduğuna işaret etmişlerdir. Sitokin ve kemokinlerin menstrüel siklus boyunca

farklı düzeylerde ekspresyonları, şüphesiz ki normal endometriyal fizyolojinin bir gereğidir. Bununla birlikte, bir ya da birden fazla sitokinin, herhangi bir nedenle, gerek doku düzeyinde ve gerekse de periton sıvısında aşırı miktarda artışı veya azalması, fizyolojik dengenin bozulmasına neden olacak ve normal endometriyal biyolojiye de zarar verebilecektir.

Bizim çalışmamızda, TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının, kontrol endometriyumlarında zayıf olarak işaretlenmesine karşın, ektopik endometriyal dokuda, epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda güçlü olarak eksprese olması, her iki sitokinin de hastalığın oluşumu ve gelişimi sürecinde, birbirleriyle paralel etkilere sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Nitekim sitokin ve kemokinlerin birbirleriyle ve immün sistem hücreleriyle olan karşılıklı ilişkilerinin, normal endometriyum biyolojisi ve endometriyotik doku gelişimi üzerinde önemli bir denge unsuru oldukları yaygın olarak kabul edilmektedir.

Sonuç olarak, insan normal ve endometriyotik dokularında TNF- α ve IL-6 ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak gösterildiği bu çalışmada, TNF- α ve IL-6 immünreaktivitesinin her ikisinin de kontrol endometriyumla karşılaştırıldığında, endometriyotik dokularda, epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda belirgin olarak artış gösterdiği bulundu. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, TNF- α ve IL-6'nın endometriyozis oluşumu ve patogeneğinde rol alan önemli sitokinler oldukları kanaatine varıldı.

6. SONUÇLAR

İnsan normal ve ektopik endometriyum dokularında Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) ve İnterlökin 6 (IL-6) ekspresyonlarının immünohistokimyasal yöntemlerle araştırıldığı bu çalışma sonucunda;

1- Kontrol grubunda TNF- α immünreaktivitesinin, yüzey epitelinde zayıf olduğu, bez epitelinde zayıftan orta dereceye değişkenlik gösterdiği, stromada ise belirgin boyanmanın olmadığı,

2- TNF- α immün işaretlenmesinin ektopik endometriyumda yüzey epitel hücrelerinin sitoplazmalarında belirgin olarak işaretlendiği, immünreaktivitenin stromal hücrelerde ortadan güçlü dereceye değişen seviyede olduğu,

3- Stromada yer alan makrofajlarda kontrol endometriyumunda orta derecede TNF- α boyanmasının olduğu, ektopik endometriyumda ise bu hücrelerde güçlü immünreaktivitenin bulunduğu,

4- IL-6'nın kontrol endometriyumda epitel ve stromada çok zayıf olarak eksprese olduğu,

5- Ektopik endometriyumda yüzey ve bez epitel hücreleri ile stromal hücrelerde IL-6 immünreaktivitesinin belirgin olduğu,

6- Ektopik endometriyumda stromada yer alan makrofajlarda güçlü IL-6 ekspresyonunun bulunduğu gösterildi.

TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının, kontrol endometriyumlarda zayıf olarak işaretlenmesine karşın, ektopik endometriyal dokuda, epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda güçlü olarak eksprese olması, her iki sitokinin de hastalığın oluşumu ve gelişimi sürecinde, birbirleriyle paralel etkilere sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, TNF- α ve IL-6'nın endometriyozis oluşumu ve patogeneğinde rol alan önemli sitokinler oldukları kanaatine varıldı.

5. KAYNAKLAR

- 1- **Rogers K.** The reproductive system, The human body. 1st ED, New York: *Britannica Educational Publishing*, **2011**: 42-47.
- 2- **Ross MH, Pawlina W.** Histology: A text and atlas. 6th ED, Philadelphia: *Lippincott Williams & Wilkins*, **2011**: 848 – 853.
- 3- **Tagashira Y, Taniguchi F, Harada T.** Interleukin-10 attenuates TNF- α -induced interleukin-6 production in endometriotic stromal cells. *Fertility and Sterility*, **2009**; 91(5).
- 4- **Salmassi A, Acil Y, Schmutzler A G, Koch K, Jonat W, Mettler L.** Differential interleukin-6 messenger ribonucleic acid expression and its distribution pattern in eutopic and ectopic endometrium. *Fertility and Sterility*, **2008**; 89(3).
- 5- **Hadisaputra W.** Clinical signs, symptoms and serum level of interleukin-6 and tumor necrosis factor in women with or without endometriosis. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **2013**; 2(2): 142-145.
- 6- **Wickiewicz D, Chrobak A, Gmyrek G B, Halbersztadt A, Gabrys´ M S, Goluda M, Chelmon´ska-Soyta A.** Diagnostic accuracy of interleukin-6 levels in peritoneal fluid for detection of endometriosis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **2013**; 288(4): 805-814.
- 7- **Ponce C, Torres M, Galleguillos C, Sovino H, Boric A, Fuentes A, Johnson C.** Nuclear factor kB pathway and interleukin-6 are affected in eutopic endometrium of women with endometriosis. *Reproduction*, **2009**; 137: 727–737.
- 8- **Baştu E, Mutlu M F, Yaşa C, Attar N E.** Endometriyozis ve İmmünoloji. *Turkish Journal of Immunology*, **2013**; 1(2):54-62.
- 9- **Giudice L C.** Endometriosis. *The New England Journal of Medicine*, **2004**; 364: 1789–99.
- 10- **Wu M Y, Ho H N.** The Role of Cytokines in Endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, **2003**; 49: 285–296.
- 11- **Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, et al.** Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Human Reproduction*, **2002**;17: 426-431.
- 12- **Haider S, Knöfler M.** Human tumor necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta*, **2009**; 30: 111-123.

- 13- **Critchley H O D, Kelly R W, Brenner R M, Baird D T.** The endocrinology of menstruation- a role for the immune system. *Clinical Endocrinology*, **2011**; 55: 701-710.
- 14- **Ferenczy A.** The Endometrial Cycle. *The Global Library of Woman's Medicine* (Electronic Journal), **2008**; (ISSN: 1756-2228): DOI 1 0.3 843 /GLOWM.1 02 93.
Erişim:
http://www.glowm.com/section_view/heading/The%20Endometrial%20Cycle/item/292
- 15- **Bartosch C, Lopes J M, Beires J, Sousa M.** Epithelium Cell Types Human Endometrium Ultrastructure During the Implantation Window: A New Perspective of the Epithelium Cell Types. *Reproductive Sciences*, **2011**; 18(6): 525-539
- 16- **Batt R E.** A History of Endometriosis. *New York:Springer-Verlag London Limited*, **2011**; 1
- 17- **Pitman H, Innes B A.** Altered expression of interleukin-6, interleukin-8 and their receptors in decidua of women with sporadic miscarriage. *Human Reproduction*, **2013**; 28(8): 2075-2086.
- 18- **Nezhat F, Datta MS, Hanson V, Pejovic T, Nezhat C, Nezhat C.** The relationship of endometriosis and ovarian malignancy: a review. *Fertil Steril*, **2008**; 90(5): 1559-1569.
- 19- **Vigano P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P.** Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Elsevier*, **2004**; 18(2): 177–200.
- 20- **Signorello LB, Harlow BL, Cramer DW et al.** Epidemiologic determinants of endometriosis: a hospitalbased case-control study. *Ann Epidemiol*, **1997**; 7(4): 267–274.
- 21- **Sourial S, Tempest N, Hapangama D K.** Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine*, **2014**; Article ID 179515: 9
- 22- **Dehoux J P, Defrère S, Squifflet J, Donnez O, Polet R et al.** Is the baboon model appropriate for endometriosis studies?. *Fertility and Sterility*, **2011**; 96(3): 728-733.
- 23- **Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P.** Therories of endometriosis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, **2001**; 96: 21-34.
- 24- **Gebel HM, Braun DP, Tambur A, Frame D, Rana N.** Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril*, **1998**; 69(6):1042-7.
- 25- **Sutrisno S, Dwina M, Rahayu K.** The effects of genistein on estrogen receptor expression, cell proliferation, and apoptosis in endometriosis cell culture. *J Exp Integr Med*. **2014**; 4(3): 201-206.

- 26- **Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M, Rumi LS.** Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*. **2000**;74(4):760-6.
- 27- **Dmowski WP, Ding J, Shen J, Rana N, Fernandez BB, Braun DP.** Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Human Reproduction*. **2001**; 16(9):1802-8.
- 28- **Hapangama D K, Turner M A, Drury J A, Quenby S, Hart A et al.** Sustained replication in endometrium of woman with endometriosis occurs without evoking a DNA damage response. *Human Reproduction*, **2009**;24(3): 687-696.
- 29- **Uegaki T, Taniguchi F, Nakamura K, Osaki M, Okada F, Yamamoto O, Harada T.** Inhibitor of apoptosis proteins(IAPs) may be effective therapeutic targets for treating endometriosis. *Human Reproduction*,**2015**; 30(1): 149-158
- 30- **Jones RK, Searle RF, Bulmer JN.** Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Human Reproduction*, **1998**; 13(12):3496-502.
- 31- **Korkmaz D, Bastu E, Dural O, Yasa C, Yavuz E, Buyru F.** Apoptosis through regulation of Bcl-2, Bax and Mcl-1 expressions in endometriotic cyst lesions and the endometrium of women with moderate to severe endometriosis. *J Obstet Gynaecol*, **2013**; 33(7):725-8.
- 32- **Harada T, Kaponis A, Iwabe T, Taniguchi F, Makrydimas G, Sofikitis N, Paschopoulos M, Paraskevaides E, Terakawa N.** Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update*, **2004**; 10(1):29-38.
- 33- **Albertsen H M, Chettier R, Farrington P, Ward K.** Genome-Wide Association Study Link Novel Loci to Endometriosis. *PLoS ONE*,**2013**; 8(3): e58257.
- 34- **Augoulea A, Alexandrou A, Creatsa M, Vrachnis N, Lambrinoudaki I.** Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stres. *Archives of Gynecology and Obstetrics*,**2012**; 286: 99-103.
- 35- **Khan M A, Sengupta J, Mittal S, Ghosh D.** Genome- wide expressions in autologous eutopic and ectopic endometrium of fertile women with endometriosis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, **2012**; 10: 84.
- 36- **Deane J A, Gualano R C, Gargett C E.** Regenerating endometrium from stem/progenitor cells: is it abnormal in endometriosis, Asherman's syndrome and infertility?. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*,**2013**; 25:00.
- 37- **Kato K.** Stem cells in human normal endometrium and endometrial cancer cells: Characterization of side population cells. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **2012**; 28: 63-71.

- 38- **Taylor H S.** Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *JAMA*, **2004**; 292(1): 81-85
- 39- **Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Okano H et al.** Stem cell- like properties of the endometrial side population: implacation in endometrial regeneration. *PLoS ONE*, **2010**; 5(4): e10387.
- 40- **Brosens I, Gordts S, Benagiano G.** Endometriosis in adolescents is a hidden, progressive and severe disease that deserves attention, not just compassion. *Human Reproduction*, **2013**; 0(0): 1-6.
- 41- **Leyendecker G, Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Mall G, Kissler S, Noe M, Wildt L.** Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **2004**; 1034: 338-355.
- 42- **Santamaria X, Massasa E E, Taylor H S.** Migration of cells from experimental endometriosis to the uterine endometrium. *Endocrinology*, **2012**;153(11):5566-74
- 43- **Wu M Y, Ho H N, Chen S U, Chao K H, Chen C D, Yang Y S.** Increase in the production of interleukin-6, interleukin-10, and interleukin-12 by lipopolysaccharide-stimulated peritoneal macrophages from women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol*, **1999**; 41(1):106-11.
- 44- **Hornung D, Bentzien F, Wallwiener D, Kiesel L, Taylor RN.** Chemokine bioactivity of RANTES in endometriotic and normal endometrial stromal cells and peritoneal fluid. *Mol Hum Reprod*, **2001**;7(2):163-8.
- 45- **Ilie I, Ilie R.** Cytokines and Endometriosis - the Role of Immunological Alterations. *BIOTECHNOLOGY, MOLECULAR BIOLOGY AND NANOMEDICINE*, **2013**; ISSN: 2330-9326
- 46- **Fakih H, Baggett B, Holtz G, Tsang KY, Lee JC, Williamson HO.** Interleukin-1: a possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril*, **1987**; 47(2):213-7.
- 47- **Harada T, Yoshioka H, Yoshida S, Iwabe T, Onohara Y, Tanikawa M, Terakawa N.** Increased interleukin-6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, **1997**; 176(3):593-7.
- 48- **Ryan IP, Tseng JF, Schriock ED, Khorram O, Landers DV, Taylor RN.** Interleukin-8 concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril*, **1995**; 63(4):929-32.
- 49- **Punnonen J, Teisala K, Ranta H, Bennett B, Punnonen R.** Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, **1996**; 174(5):1522-6.

- 50- **Oosterlynck D J, Meuleman C, Waer M, Koninckx P R.** Transforming Growth Factor- β activity is increased in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Obstet Gynecol*, **1994**; 83: 287-92.
- 51- **McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Millican SA, Müller KH, Sharkey AM, Smith SK.** Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest*, **1996**; 98(2):482-9.
- 52- **Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, Meng YG, Taylor RN.** Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 β . *Mol Hum Reprod*, **2000**; 6(3):269-75.
- 53- **Ray P, Ghosh SK, Zhang DH, Ray A.** Repression of interleukin-6 gene expression by 17 β -estradiol: inhibition of the DNA-binding activity of the transcription factors NF-IL6 and NF- κ B by the estrogen receptor. *FEBS Lett*, **1997**; 409(1):79-85.
- 54- **Rainsford E, Reen DJ.** Interleukin 10, produced in abundance by human newborn T cells, may be the regulator of increased tolerance associated with cord blood stem cell transplantation. *Br J Haematol*, **2002**; 116(3):702-9.
- 55- **Waters JP, Pober JS, Bradley JR.** Tumour necrosis factor in infectious disease. *J Pathol*. **2013**; 230(2):132-47.
- 56- **Skinninger BF, Mak TW.** The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*, **2002**; 99(12):4283-97.
- 57- **Pestka S, Langer J A, Zoon K C, Samuel C E.** Interferons and Their Actions. *Ann. Rev. Biochem*, **1987**; 56:727-77.
- 58- **Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S.** The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta*, **2011**; 1813(5):878-88.
- 59- **Snick J V.** Interleukin-6: An Overview. *Annu. Rev. Immunol*, **1990**; 8: 283-78.
- 60- **Güner İ, Özmen D, Bayındır O.** Sitokinler. *T Klin J Med Sci*, **1997**; 17:65-74
- 61- **Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, Matsuda T, Hirayama T, Yamada H, Fujii Y, Dohi K, Ishikawa H, Ohmoto Y, et al.** Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol*, **1989**; 143(12):3949-55.
- 62- **Bahar L, Baykal T.** Endometriyal Receptivitenin İmplantasyondaki Rolü. *Mersin Univ. Sağlık Bilim Derg*, **2008**; 1(2):1-6.

- 63- **Rier SE, Parsons AK, Becker JL.** Altered interleukin 6 production by peritoneal leukocytes from patients with endometriosis. *Fertil Steril*, **1994**; 61(2):294-9.
- 64- **Tseng JF, Ryan IP, Milam TD, Murai JT, Schriock ED, Landers DV, Taylor RN.** Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, **1996**; 81(3):1118-22.
- 65- **Braun D P, Gebel H, House R, Rana N, Dmowski N P.** Spontaneous and induced synthesis of cytokines by peripheral blood monocytes in patients with endometriosis. *Fertil Steril*, **1996**;65(6):1125-9.
- 66- **Dossus L, Becker S, Rinaldi S, Lukanova A, Tjønneland A, Olsen A.** Tumor necrosis factor (TNF)- α , soluble TNF receptors and endometrial cancer risk: the EPIC study. *Int J Cancer*, **2011**; 129(8):2032-7.
- 67- **Abbas A K, Lichtman A H, Pillai S.** Cellular and Molecular Immunology.8th ED., Philadelphia, **2015**; 493-496.
- 68- **Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A, Blackburn K, Burkhart W, Moyer M, Patel I, Waitt GM, Becherer JD, Moss ML, Milla ME.** The tumor necrosis factor- α converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry* , **2002**; 41(30):9462-9.
- 69- **Boric M A, Torres M, Pinto C, Pino M, Hidalgo P, Gabler F, Fuentes A, Johnson M C.** TNF system in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, **2013**; 3: 271-278.
- 70- **Wen-Ming Chu.** Tumor necrosis factor. *Cancer Letters* , **2013**;328(2): 222–225.
- 71- **Grell M, Douni E, Wajant H, Löhden M, Clauss M, Maxeiner B, Georgopoulos S, Lesslauer W, Kollias G, Pfizenmaier K, Scheurich P.** The transmembran form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell*, **1995**; 83(5):793-802.
- 72- **Higuchi M, Aggarwal BB.** TNF induces internalization of the p60 receptor and shedding of the p80 receptor. *J Immunol*, **1994**; 152(7): 3550-8.
- 73- **Haider S, Knöfler M.** Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta*, **2009**; 30(2):111-23.
- 74- **Li J, Chen Y, Wei S, Wu H, Liu C, Huang Q, Li L, Hu Y.** Tumor necrosis factor and interleukin-6 gene polymorphisms and endometriosis risk in Asians: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hum Genet.* **2014**; 78(2):104-16.
- 75- **Ulukus M, Ulukus E.C, Tavmergen Goker E.N, Tavmergen E, Zheng W, Arici A.** Expression of interleukin-8 and monocyte chemotactic protein 1 in women with endometriosis. *Fertil Steril.* **2009**; 91:687–93.

- 76- **Haider S, Knöfler M.** Human tumor necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta*, **2009**; 30:111-123.
- 77- **Kock A, Schwarz T, Kirnbauer R, Urbanski A, Perry P, Ansel JC, Luger TA.** Human keratinocytes are a source for tumor necrosis factor alpha: evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin or ultraviolet light. *J. Exp Med*, **1990**; 172: 1609-14.
- 78- **von Wolff M, Classen-Linke I, Heid D, Krusche CA, Beier-Hellwig K, Karl C, Beier HM.** Tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human endometrium and uterine secretion: an evaluation by immunohistochemistry, ELISA and semiquantitative RT-PCR. *Molecular Human Reproduction*. **1999**; 5 (2): 146–152,
- 79- **Kalb A, Bluethmann H, Moore MW, Lesslauer W.** Tumor necrosis factor receptors (Tnfr) in mouse fibroblasts deficient in Tnfr1 or Tnfr2 are signaling competent and activate the mitogen-activated protein kinase pathway with differential kinetics. *The Journal of biological chemistry*. **1996**;271:28097-104.
- 80- **Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC.** Dual role of tumor necrosis factor-alpha in angiogenesis. *The American journal of pathology*. **1992**;140:539-44.
- 81- **Taketani Y, Kuo TM, Mizuno M.** Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *American journal of obstetrics and gynecology*. **1992**;167:265-70.
- 82- **Bullimore D.** Endometriosis is sustained by tumour necrosis factor alpha. *Medical Hypotheses*, **2003**; 60: 84-88.
- 83- **Philippeaux MM, Piguet PF.** Expression of tumor necrosis factor alpha and its mRNA in the endometrial mucosa during the menstrual cycle. *Am J Pathol*, **1993**; 143:480-6.
- 84- **Hunt JS, Chen HL, Hu XL, Tabibzadeh S.** Tumor necrosis factor alpha messenger ribonucleic acid and protein in human endometrium. *Biol Reprod*, **1992**; 47:141-7.
- 85- **Dmowski W, Braun D.** Immunology of endometriosis. *Best Practice & Clinical Obstetrics and Gynecology*, **2004**; 18:245-263.
- 86- **Yuge A, Nasu K, Tsusue H, Ikegami E, Nishida M, Matsumoto H, Narahara H.** Regulation of contractility of cultured human endometrial stromal cells by tumor necrosis factor- α . *European Journal of Obstetric & Gynecology and Reproductive Biology*, **2008**; 138: 66-70.

ÖZGEÇMİŞ

Arş.Gör. Nimet Fulya FURUCU, 12.10.1989 tarihinde Adana'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana'da tamamladı. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2011 yılında mezun oldu. 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitime başlayan Nimet Fulya FURUCU, 2014 yılında aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandı. Arş.Gör.Nimet Fulya Furucu halen görevini sürdürmektedir.