

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

**HİSTOPATOLOJİK OLARAK ENDOMETRİOZİS TANISI
KONULAN OLGULARDA GRELİN VE OBESTATİN'İN SERUM
VE DOKU DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Bülent KURKUT**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bilgin GÜRATESH**

**ELAZIĞ
2009**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

.....**Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Aileme.....

TEŞEKKÜR

Yetişmemde sonsuz emeği geçen çok değerli hocalarım Sn. Doç. Dr. Bilgin GÜRATEŞ'e, Sn. Doç. Dr. Hüsnü ÇELİK'E, Sn. Yrd. Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK'e, uzmanlık tez çalışmamda emeği geçen Sn. Prof. Dr.İbrahim Hanifi ÖZERCAN'a, Sn. Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a, Sn. Yrd. Doç. Dr. A. Ferda DAĞLI'ya, acısıyla, tatlısıyla beş yılı paylaştığım asistan arkadaşlarıma ve kliniğimdeki tüm personel arkadaşlarıma, hayatım boyunca bana destek veren, sevginin, dürüstlüğü, çalışmanın, hoş görü ve paylaşmanın değerini öğreten aileme; asistanlık eğitimim süresince hep yanımda olan, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşime ve kızlarıma; bilgi ve becerilerimi geliştirmemi sağlayan ama hiçbir zaman bunun farkında olmayan hastalarıma tezimi yazmamda bana çok yardımcı olan İnt. Dr. Ahmet Cemil ERGÜN kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Endometriozis, fonksiyonel endometrial bezlerin ve stromanın uterusdaki normal anatomik lokalizasyonundan farklı bir lokalizasyonda olması olarak tanımlanır.

Ghreltin, GHS-R ve ghreltin protein mRNA endometriumda bulunduğunun gösterilmesi bu peptidlerin histopatolojik olarak endometriozis tanısı konulan olgularda ektopik endometriumda eksprese edilip edilmediğı, serum düzeylerinde farklılık olup olmadığı endometriozis fizyopatolojisinde olası rollerini araştırmak için bu çalışma planlandı.

Çalışma histopatolojik olarak endometriozis tanısı konulan 30 olgunun ektopik ve ötopik endometrium dokuları ile pelvik patolojisi olmayan 15 olgunun, ötopik endometrium dokularında ghreltin ve obestatinin immunohistokimyasal ve ELİSA yöntemi ile yine bu olguların serum düzeylerini araştırdık.

Endometriozisli olguların ektopik ve ötopik endometriumlarında, kontrol grubu olguların ötopik endometriumlarında grelin ve obestatin her iki yöntem ile eksprese edildiğı, grup içi karşılaştırmada sekretuar fazda proliferatif faza göre ekspresyonun anlamlı bir şekilde daha fazla eksprese edildiğı gösterilmiştir. Gruplar arası doku ve serum düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Endometriozisli hastaların hem ötopik hem de ektopik endometrium dokularında ghreltin ve obestatin ekspresyonu gösterilmiştir. Bu bulgular endometriozisin etyolojisinin normal endometrium olabileceğini göstermiş olup daha ileri çalışmalarla endometrium reseptivitesinin belirlenmesine yeni bir yön verebilir.

Anahtar kelimeler: Endometrium, endometriozis, ghreltin, obestatin

ABSTRACT

Researching Serum And Tissue Level Of Ghrelin And Obestatin In The Cases Histopathologically Identified As Endometriosis

Endometriosis is defined as having different localization apart from normal anatomic location and functional endometrial in uterus.

Now that it was showed that ghrelin is found at GHS-R and ghrelin protein mRNA endometrium, this study was planned to research whether these peptides are expressed in ectopic endometrium of phenomenon identified as endometriosis, serum level and their possible role in endometriosis physiopathology.

In this study we, histopathologically, investigated the serum levels of these cases, the ectopic and eutopic endometrium tissues of 30 cases diagnosed as endometriosis and 15 cases without pelvic pathology, together with the ELISA and immunohistochemistry methods in the eutopic endometrium tissues of ghrelin and obestatin.

In the ectopic and eutopic endometriums of the tissues with endometriosis, it was shown that ghrelin and obestatin was expressed together with both of the methods in the eutopic endometriums of the control group cases and compared to the proliferative phase, the expression in the secretory phase was much higher in the comparision of these internal groups. A meaningful variance has not been detected in the tissue and serum levels of these two groups.

Both in the eutopic and ectopic endometrium tissues of the patients with endometriosis, ghrelin and obestatin expression was detected. Therefore, these findings have revealed that the etiology of endometriosis will probably be normal endometrium and might shape a new direction to the definition of endometrium reseptivness in the further advanced studies.

Key words: Endometrium, endometriosis, ghrelin, obestatin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTARCT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSETESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. ENDOMETRİOZİS	1
1.1.1. Etyoloji	1
1.1.1.1. Retrograd Akım Teorisi	2
1.1.1.2. Çölomik Metaplazi Teorisi	3
1.1.1.3. İndüksiyon teorisi	3
1.1.1.4. Genetik Faktörler	3
1.1.1.5. İmmünolojik Faktörler	4
1.1.2. Prevalans	5
1.1.3. Tanı, Semptom ve Bulgular	6
1.1.4. Klinik İnceleme	8
1.1.5. Laparoskopik Bulgular	9
1.1.6. Histolojik Bulgular	10
1.1.7. Mikroskopik Endometriozis	11
1.1.8. Sınıflama	12
1.1.9. Spontan Evolusyon	13
1.1.10. İnfertilite	13
1.1.11. Tedavi:	15
1.1.11.1. Medikal tedavi	15
1.1.11.2. Cerrahi tedavi	16
1.2. GHRELİN VE OBESTATİN	17
1.2.1. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı	17
1.2.2. Ghrelin Gen Ürünlerinin Doku Dağılımı:	19
1.2.3. Dolaşımdaki Ghrelin Gen Ürünü Peptidler:	20

1.2.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması:	21
1.2.4.1. Ghrelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması	21
1.2.4.2. GHS'lar ve Ghrelininin Sinyal İletisi Yolları	22
1.2.4.3. Obestatin Reseptörü	23
1.2.5. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etkileri	23
1.2.5.1. GH Sekresyonu	23
1.2.5.2. İştah ve Vucut Ağırlığı	23
1.2.5.3. Metabolizma	24
1.2.5.3.1. Glukoz Metabolizması	24
1.2.5.3.2. Lipid Metabolizması	25
1.2.5.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Diğer Organ ve Sistemler Üzerine Etkileri	25
1.2.5.5. Ghrelin Gen Ürünleri ve Reprodüktif Sistem	25
2. MATERYAL –METOD	30
2.1. Hasta Seçimi ve Takibi	30
2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	31
2.3. İmmunohistokimyasal Yöntem	31
2.4. Enzim immunoassay (EIA) ve ELİSA	33
2.5. İstatistiksel Değerlendirme	33
3. BULGULAR	34
3.1. Enzim immunoassay(EIA)	34
3.2. İmmunohistokimya	40
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	57
6. ÖZGEÇMİŞ	73

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 : Endometriozisin Genel Semptomları	7
Tablo 2 : Amerikan Fertilite Cemiyeti Gözden Geçirilmiş Endometriozis Sınıflandırılması	12
Tablo 3 : Ghrelin Gen Ürünlerinin Diğer Organ ve Sistemler Üzerine Etkileri	26
Tablo 4 : Kontrol ve Çalışma Gruplarının Demografik Özellikleri	34
Tablo 5 : Kontrol ve Çalışma Gruplarının Serum Proliferatif ve Sekretuar Faz Ghrelin Düzeyleri	35
Tablo 6 : Kontrol ve Çalışma Gruplarının Serum Proliferatif ve Sekretuar Faz Obestatin Düzeyleri	35
Tablo 7 : Kontrol ve Çalışma Gruplarının Ötopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Doku Ghrelin Düzeyleri	36
Tablo 8 : Kontrol ve Çalışma Gruplarının Ötopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Doku Obestatin Düzeyleri	36
Tablo 9 : Çalışma Gruplarının Ektopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Doku Ghrelin Düzeyleri	37
Tablo 10: Çalışma Gruplarının Ektopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Doku Obestatin Düzeyleri	37
Tablo 11: Kontrol ve Çalışma Gruplarının Proliferatif Faz Ötopik ve Ektopik Endometrium Doku Ghrelin Düzeyleri	38
Tablo 12: Kontrol ve Çalışma Gruplarının Sekretuar Faz Ötopik ve Ektopik Endometrium Doku Ghrelin Düzeyleri	38
Tablo 13: Kontrol ve Çalışma Gruplarının Proliferatif ve Sekretuar Faz Ötopik ve Ektopik Endometrium Doku Obestatin Düzeyleri	39

Tablo 14: İmmunohistokimyasal Olarak Grupların Ortalama Ghrelin Ekspresyonu	48
Tablo 15: İmmunohistokimyasal Olarak Grupların Ortalama Obestatin Ekspresyonu	49
Tablo 16: İmmunohistokimyasal Olarak Grupların Ötopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Ghrelin ve Obestatinin Glandüler Hücrelerde Ekspresyon Şiddeti	49
Tablo 17: İmmunohistokimyasal Olarak Grupların Ektopik Endometrium Proliferatif ve Sekretuar Faz Ghrelin ve Obestatinin Glandüler Hücrelerde Ekspresyon Şiddeti	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Ghrelin Geninden Türemiş Temel Üç Ürünün Üretim Basamakları	18
Şekil 2	: Ghrelinin 28 Aminoasitlik Moleküler Yapısı	19
Şekil 3-a:	Grup I Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler Hücrelerde Güçlü Pozitif Obestatin Ekspresyonu	40
Şekil 3-b:	Grup I Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stomal Hücrelerde Zayıf Pozitif Obestatin Ekspresyonu	41
Şekil 4-a:	Grup I Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler Hücrelerde Güçlü Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	41
Şekil 4-b:	Grup I Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	42
Şekil 5-a:	Grup II Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler Hücrelerde Güçlü Pozitif Obestatin Ekspresyonu	42
Şekil 5-b:	Grup II Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Obestatin Ekspresyonu	43
Şekil 6-a:	Grup II Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler ve Polimorf Hücrelerde Güçlü Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	43
Şekil 6-b:	Grup II Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	44
Şekil 7-a:	Grup III Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler Hücrelerde Güçlü Pozitif Obestatin Ekspresyonu	44
Şekil 7-b:	Grup III Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Obestatin Ekspresyonu	45
Şekil 8-a:	Grup III Ötopik Sekretuvar Faz Endometriumda Özellikle Glandüler	

Hücrelerde Güçlü Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	45
Şekil 8-b: Grup III Ötopik Proliferatif Faz Endometriumda Glandüler ve Stromal	
Hücrelerde Zayıf Pozitif Ghrelin Ekspresyonu	46
Şekil 9-a: Grup III Ektopik (Peritoneal Endometriozis) Endometriumda Özellikle	
Glandüler Hücrelerde Güçlü Pozitif Obestatin Ekspresyonu Peritoneal	
Hücrelerde Daha Hafif Pozitiflik	46
Şekil 9-b : Grup III Ektopik (Peritoneal Endometriozis) Endometriumda	
Glandüler Güçlü Pozitif Ghrelin Ekspresyonu , Peritoneal Hücrelerde	
Soluk Şekilde Ekspresyon	47
Şekil 10-a: Grup II Ektopik (Overiyan Endometrioma) Endometriumda	
Luminal ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Obestatin	
Ekspresyonu	47
Şekil 10-b: Grup II Ektopik (Overiyan Endometrioma) Endometriumda Luminal	
Hücrelerde Güçlü ve Stromal Hücrelerde Zayıf Pozitif Ghrelin	
Ekspresyonu	48

KISALTMALAR LİSTESİ

ABC	: Avidin-biyotin-peroksidaz kompleks
AEC	: Aminoetil Karbazol
AFS	: American Fertility Society
AGRP	: İştah etkili protein
AMPK	: Adenozin monofosfat kinaz
ARC	: Hipotalamik arkuat nukleus
BMI	: Vücut kitle indeksi
Ca⁺²	: Kalsiyum
CL	: Corpus luteum
CPA	: Siproteron asetat
CRF	: Kortikotropin salgılatıcı faktör
DAG	: Diaçil gliserol
DMPA	: Depo medroksi-progesteron asetat
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ELISA	: Enzim ilintili immün test
EVT	: Ekstravillus trofoblast
FSH	: Follikul stimulan hormon
GH	: Büyüme hormonu
GHS-R	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
GHRP-6	: Büyüme hormonu salgılatıcı peptid-6
GIS	: Gastro intestinal sistem
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
GnRH_a	: Gonadotropin salgılatıcı hormon agonisti
GPCR	: G proteini kenetli reseptör
GPCR39	: G proteini kenetli reseptör 39
GSR	: Büyüme hormonu sekresyon reseptörü
HPG	: Hipotalamo-pituiter- gonad
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IGF	: İnsülin-benzeri büyüme faktörü
IL-6	: İnterlökin 6
IL-11	: İnterlökin 11

IP3	: İnosital tri fosfat
IVF	: İn vitro fertilizasyon
LH	: Luteinleştirici hormon
L/S	: Laparoskopi
MGDF	: Makrofaj deriveted faktör
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
Na	: Sodyum
ng/L	: Nanogram/litre
NK	: Naturel killer
NPY	: Noropeptid Y
NSAID	: Non-Steroidal antienflamatuar ilaç
OK	: Oral kontraseptif
PBS	: Phosphate-buffered solusyonu
pg/l	: Pikogram/litre
RT-PCR	: Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α

1. GİRİŞ

Endometriozis, fonksiyonel endometrial bezlerin ve stromanın uterusdaki normal anatomik lokalizasyonundan farklı bir lokalizasyonda olması olarak tanımlanır. Pelvik ağrı ve infertilite gibi iki önemli klinik probleme neden olan kronik bir jinekolojik hastalıktır. Hastalık geniş spektrumlu klinik durumlar gösterir, ilerleme ve tekrar etme eğilimindedir. En sık implantasyon yerleri, pelvik organlar ve periton olmakla birlikte, farklı doku ve organlarda da gözlenebilir. Endometriozis insidansı yüksek bir hastalıktır. Görülme sıklığı, genel kadın popülasyonunda % 5 – 15 iken, infertilite yönünden takip edilen kadınlarda % 40’a kadar çıkar. Sampson tarafından etyolojiye yönelik ilk tarifi yapılabildiği 77 yıl geçmesine rağmen, insidansı böylesi yüksek bu hastalığın etyoloji ve fizyopatolojisi hala tam açıklanamamıştır (1). Ancak endometriozisli kadınların ötopik endometriumu ile ektopik endometriumu, normal kadınların endometriumu ile karşılaştırılınca bazı temel farklılıklar gözlenmektedir. Endometrioziste immun sistemin aktive olduğu ve bazı immun parametrelerin, normal fertil kadınların endometriumuna kıyasla farklılık gösterdiği bilinmektedir. Bunlar; yapısal anomaliler, proliferasyon, immun komponentler, adhezyon molekülleri, proteolitik enzimler ve onların inhibitörleri, steroid ve sitokin üretimi ve cevabı, gen ekspresyonu ve protein üretimi gibi çok çeşitli anormallikler şeklinde kendini gösterebilmektedir. Etyopatogenezdeki mekanizmalardan ilgi toplayan bir tanesi de, endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriumunda farklı düzeylerde protein ekspresyonunun varlığıdır. Bu çalışmamızda histopatolojik olarak endometriozis tanısı konulan olgularda ghrelin ve obestatin düzeylerinin ekspresyonunu araştırmak ve endometriozis fizyopatolojisinde oynayabileceği rolü tartışmaktır.

1.1. ENDOMETRİOZİS

1.1.1. Etiyoloji

Etiyoloji kesin olarak bilinmese de endometriozis patogenezinde çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Fakat teorilerin hiçbiri endometriozis oluşumunu tek başına bütün olarak açıklayamamaktadır. Endometriozis medikal literatürde 1800 yılında tanımlanmıştır. Yaygınlığı 20. yüzyılda saptanabilmiştir. Klinik ve histolojik inceleme, ilk olarak John Sampson tarafından kaleme alınmıştır. Sampson pelvisteki

peritoneal endometriozisin overiyan endometriozisin ekilmesi sonucu olduğu görüşünü savunarak 1927 yılında “Peritoneal kaviteye endometrial dokunun menstrüal disseminasyonu sonucu peritoneal endometriozis” olarak yayınladı.

1.1.1.1. Retrograd Akım Teorisi

Sampson’un sonuçları aşağıdaki incelemelere göre belirlendi (1). Menstrüasyon gören kadınlara yapılan laparoskopi sırasında tüplerin fimbrial uçlarında kan akışı izlenmiştir (2).

Endometriozis en sık pelvisle bağlantılı olan bölümlerde görülür. En sık overler, anterior ve posterior cul de sac, uterosakral ligamentler, daha sonra posterior uterus ve posterior broad ligamentlerde görülür (3). Menstrüel akımdaki endometrial fragmanlar, doku kültürlerinde gelişebilirler ve kadınlarda menstrüasyondan sonra peritoneal sıvıdan elde edilebilirler (4). Maymun serviksleri transpoze edilerek, menstrüasyon peritoneal kavitede oluşturulunca, endometriozis geliştiği gösterilmiştir (5). Menstrüel akım obstrüksiyonu olan kadınlarda endometriozis insidansının daha yüksek olduğu saptanmıştır (6). Endometriozis riski, menstrüel siklusu kısa ve akımı uzun olan kadınlarda (ektopik endometrial implantasyon olasılığı fazla olduğundan) daha yüksektir (7). Retrograd menstrüasyon, endometriozisli kadınlarda hastalığı olmayanlara göre daha sık izlenebilir (2). Menstrüasyon döneminde veya erken foliküler fazda kadınların %59-79’unda, peritoneal sıvıda endometrial hücrelerin varlığı rapor edilmiştir (8). Overiyan endometriozis, uterustan overe lenfatik akım yolu ile veya retrograd menstrüasyon ile açıklanabilir (9). Ekstrapelvik endometriozis nadirdir (%1-2). Endometrial hücrelerin hematojen veya lenfatik yolla vücuttaki diğer organlara ulaşması sonucu ortaya çıkabilir. Ekstrapelvik endometriozis, hemen hemen vücudun tüm organlarında oluşabilir (10). Örneğin pulmoner endometriozis, menses sırasında asemptomatik nodül, pnömotoraks, hemotoraks veya hemoptizi bulguları ile karşımıza çıkar (11). Üretra, bağırsak, akciğerler, plevral kavite, deri, lenf bezleri, sinirler ve beyin de endometriozisin tespit edildiği organlar olarak gösterilmektedir (12). Ekstrapelvik endometriozis, uterus ve overlerin alınmasından yıllar sonra dahi gelişebilir (13). Bu tip endometriozis, hormona rezistandır ve neden geliştiği konusunda sadece spekülasyon yapılabilir. Bir olasılık da cerrahi sırasında endometrial implant transplantasyonu ya da rezidüel hastalık aktivasyonudur. Bir başka olasılık ta diğer

dokuların metaplastik transformasyonu veya embriyonik artıkların aktivasyonudur. Endometriozis hormon spesifik bir hastalıktır. Cerrahi sırasında ovarian doku kalması halinde, rezidüel endometriozis, hormon stimülasyonunun devam etmesi nedeniyle reaktif olabilir. Erkeklerde çok nadir de olsa görülebilen endometriozis, ya östrojen etkisi altında ya da nonspesifik uyarıya bağlı çöломik epitelin endometrial glandlara transformasyonu sonucu gelişmiş olabilir (14).

1.1.1.2. Çöломik Metaplazi Teorisi

Çöломik epitelin endometrial dokuya metaplazisi, endometriozis etyolojisi için düşünülen bir mekanizmadır. Çöломik metaplazi teorisinin savunulduğu parametreler şunlardır (15).

Endometriozis müllerian anomali yokluğunda da adolesan kızlarda olabilir. Endometriozis prepubertal kızlarda rapor edilmiştir (16). Endometriozis hiç menstrüasyon olmayan kadınlarda da görülmüştür (17). Endometriozis, başparmak, uyluk, dizde, mezenkimal ekstremitelerden erken embriyogenez sırasında çöломik epitel yakın kısımlardan gelişmiş olabilir (17). Endometriozis yüksek doz östrojen tedavisi ile bağlantılı olduğundan, erkeklerde de oluşabilir (14).

1.1.1.3. İndüksiyon teorisi

İndüksiyon teorisi, temelde çöломik metaplazi teorisinin bir uzantısıdır. Henüz belirlenememiş endojen biyokimyasal bir faktörün, diferansiye olmamış peritoneal hücreleri, endometrial dokuya dönüşmeleri yönünde indükleyebileceği düşünülmektedir. Tavşanlarda bu gösterilmiş (18), ancak kadınlarda ve primatlarda gösterilememiştir.

1.1.1.4. Genetik Faktörler

Bazı kadınlarda peritoneal kaviteye menstrual debrislere taşınmasına rağmen endometriozis gelişmemesi, genetik ve immünolojik faktörleri düşündürmüştür. Simpson, endometriozisli hastaların birinci derece akrabalarında, riskin 6-7 kat fazla olduğunu göstermiştir (19). Dmowski, endometriozisli maymunlarda, endometrium dokusuna karşı hücrel immünitenin oluştuğunu göstermiştir. Belirgin Mendelyen kalıtım paterni belirlenememiş, multifaktöryel kalıtım kabul edilmiştir (20). Endometriozis ve diğer otoimmün hastalıklar arasında, endometriozis ve bireysel insan lökosit antijenleri arasında olduğu gibi bir ilişki gösterilmiştir (21). Somatik kromozomlardaki genetik alterasyonlar ve tümör supressör genlerini inaktive eden

DNA delesyonlarının, endometriozisin başlangıcı, devamı veya ilerlemesinde katkıda bulunan olaylar olduğu öne sürülmektedir (22). Endometriozis gelişim ve büyümesi östrojen bağımlıdır, östrojen üretiminin ve metabolizmasının, endometriozisde hastalığı ilerletecek şekilde değişikliğe uğradığına dair güçlü kanıtlar mevcuttur (23). Orta ve ağır endometriozisli kadınların ötopik endometriumunda androjenlerin östrojenlere dönüşümünü sağlayan aromataz enzimi, anormal olarak eksprese edilir; hastalık bulunmayan kadınlarda genellikle endometrial aromataz aktivitesi saptanamamıştır (24). Böylelikle, endometriozisli kadınlar, lokal endometrial östrojen üretimini destekleyen genetik anormalliğe sahip olabilirler. Daha da önemlisi, endometriomalar ve peritoneal endometriotik implantlar son derece yüksek aromataz aktivitesi sergilerler (25).

1.1.1.5. İmmünolojik Faktörler

Endometriozisde hem hücressel hem de humoral immünitadaki değişikliklerle etkilenmiş immun yanıt sonucu geriye kaçan menstrüel kalıntının temizlenmesindeki yetersizliğin hastalığın oluşum nedeni olabileceği düşünülmektedir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında artmış miktarda immün hücreler içermelerine karşılık, immün hücrelerin hastalığı önlemekten ziyade ilerletme yönünde etki gösterdiklerine dair kanıtlar mevcuttur. Bu immünolojik anormalliklerin endometriozisin sebebi ya da endometriozis nedeniyle olup olmadığı henüz belirsizdir. Ancak hastalığın patogenezinde önemli rol aldıkları tartışmasızdır. Menstrüasyon sırasında endometrial partüküllerin peritoneal kaviteye reflüsü çok yaygın bir olay olmakla birlikte her kadında endometriozis gelişmez. Endometriozisli kadınlarda immun sistemde değişiklikler olabilir ve hastalık, pelvik kaviteden kaynaklanan canlı endometrial hücrelerin azalmış immünolojik klirensi sonucu gelişebilir (26). Normal durumlarda reflü olan endometrial hücreler ekstraselüler matrikse yapışmaz ve bu hücreler kendi adhezyon reseptörlerinden farklı uyarıları alarak apoptozise uğrarlar. Endometriozisli kadınlarda bu hücreler, peritonun mezotelial hücrelerine yapışma, proliferere olma ve neoangiogenezis oluşturma kapasitesine sahiptir ve bu da aktive endometriozis gelişmesi ile sonuçlanmaktadır (27). Otolog endometrial hücrelere karşı azalmış hücre kaynaklı sitotoksitenin, endometriozisle beraber olduğu rapor edilmiştir (28). Otolog endometrial hücrelerin, bir kadının immun sistemine doğal bir hedef oluşturabilmesi için genetik ve

immunolojik bir takım faktörlerin olması gerekmektedir (29). Endometriozisli kadınlardaki aktive olmuş peritoneal makrofajlar ve dolaşımdaki monositler, ektopik endometrial hücreleri ortadan kaldırmak yerine, ektopik endometriumun proliferasyonunu stimüle eden ve çöpçü fonksiyonlarını inhibe eden büyüme faktörleri ve sitokinler sekrete ederek hastalığın ilerlemesine neden olurlar (30). Diğer otolog dokuların otolog transplantasyonunun genelde başarılı olduğu görülmektedir. Endometriozisli hastaların düşük Naturel Killer (NK) hücre aktivitesine sahip olduğunu bildiren raporlar (31) ve aksine bu hastalarda artmış NK aktivitesini gösteren raporlar da mevcuttur (32). Ancak NK hücre aktivitesinde, normal bireylerde dahi geniş varyasyonlar görülür. NK aktivitesi sigara, ilaç, egzersiz gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Endometriozisli kadınlarda peritoneal makrofajların yüksek bazal aktivasyonu, sperm motilitesini azaltıp, sperm fagositozunu arttırarak veya fertilizasyonu önleyerek fertilitiyi bozmaktadır (33). Bunları olasılıkla, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi sitokinlerin artmış sekresyonu ile yaparlar (34). TNF- α aynı zamanda, ektopik endometriumun pelvik implantasyonunu arttırabilir. İn vitro olarak, insan endometrial stromal hücrelerin mezotelyal hücrelere yapışmasının, TNF- α 'nin fizyolojik dozunun mezotelyal hücrelerle etkileşimi ile arttığı gösterilmiştir. Makrofaj ve diğer hücreler endometrial hücrelerin büyümesini, Epidermal Growth Faktör (EGF), makrofaj derived faktör (MGDF) fibronektin gibi büyüme ve anjiogenetik faktörlerin ve integrinler gibi adhezyon moleküllerinin sekresyonu ile hızlandırır (35). Aktive pelvik makrofajların ve lenfositlerin artmış konsantrasyonunun yanı sıra, büyüme faktörleri ve spesifik sitokinlerin yükselmiş düzeyleri, endometriozis ile immun yanıtın yakın ilişkisi hipotezini desteklemektedir. Tüm düşünülen etyolojik teoriler, hastadan hastaya olan farklılıkları açıklamaya yardımcıdır. Endometrial hücreler mekanik olarak yayılabilir, metaplaziden gelişebilir ve hastalığın progresyonu bireylerin immün yanıtlarından etkilenebilir.

1.1.2. Prevalans

Endometriozis üreme çağı kadınlarda daha sık rastlanılan jinekolojik bir sorun olmasına karşılık 12-80 yaşları arasında da görülebilen bir hastalıktır. Hastalık infertil grupta daha sık olarak izlenir. Önceden fertil olgularda endometriozis % 4 gözlenirken infertil olgularda % 33 civarında izlenebilmektedir. Genel olarak fertil

olgular arasında % 5- 10, infertil olgular arasında %20-40 görülebildiği kabul edilir. Endometriozisli olguların % 30-50'sinde infertilite sorunu ile karşılaşmaktadır (36). Endometriozis geniş değişken bir prevalans gösterir. Üreme çağındaki kadınların % 5- 15'inde, infertil kadınların % 40'ında endometriozis vardır (37). 15-64 yaş arasındaki 1000 kadından 4'ü her yıl endometriozis nedeniyle hospitalize edilmektedir. Bu oran meme kanserinden biraz daha fazladır. Endometriozis 30 yaşın üstünde siktir, siyah kadınlarda daha az rastlanmaktadır. Menarştan önce görülmediği halde, 10'lu yaşlardaki sıklığının arttığı bildirilmiştir (38). Bunların bir kısmı anatomik olarak dışa akım obstrüksiyonu bulunan vakalardır. Genellikle nulliparlarda görülmesine rağmen sekonder infertilitede de hekim dikkatli olmalıdır (39).

1.1.3. Tam, Semptom ve Bulgular

Endometriozis asemptomik olabilir. Ancak subfertilitesi, dismenore ve disparoni veya kronik ağrısı olan kadınlarda endometriozisten şüphelenilmelidir. Eğer ağrısız menstrüasyonlardan yıllar sonra başlayan dismenore varsa endometriozis düşünülmelidir. Dismenore, sıklıkla menstrüel kanamadan önce başlar ve menstrüel dönem boyunca devam eder. Ağrı çoğu zaman bilateraldir, yayılımı değişkendir. Bazı kadınlarda yaygın endometriozis olmasına rağmen, ağrı az veya hiç olmayabilir. Bazen de minimal endometriozisi olup, şiddetli ağrı tanımlayan hastalar görülebilir. Şiddetli pelvik ağrı, derin infiltrate endometriozis ile uyumludur (40). Endometriozisli hastalarda ağrıya neden olan olası mekanizma, lokal peritoneal enflamasyon, doku hasarı ile birlikte olan derin infiltrasyon, adhezyon formasyonu, fibrotik kalınlaşma ve endometriotik implantlarda menstrüel kanın birikimi ve dokuların fizyolojik hareketine bağlı ağrılı çekilmedir (40). Ağrı pelviste yaygın olabilir veya sıklıkla rektumda lokalizedir. Lokal semptomlar rektum, üreter ve mesane tutulumundan kaynaklanabilir. Aşağı bel ağrısı oluşabilir. Üreterde blokaj olursa, sıklık ağrı, dizüri ve hematüri ile sonuçlanabilir. Ekstrapelvik endometriozis, sıklıkla asemptomatik olduğu halde, ağrı ve palpabl bir kitlenin semptomlarının, pelvis dışında sıklık paternde ortaya çıkması ile karakterizedir. İntestinal kanal tutulumu (özellikle kolon ve rektum), ekstra pelvik hastalığın en sık rastlanan şeklidir. Karın ve bel ağrısına, abdominal distansiyon, sıklık kanama, konstipasyon ve obstrüksiyona neden olabilir. Umbilikal bölgede palpabl kitle, sıklık ağrı

durumunda umbilikal endometriozisten şüphelenilmelidir. Endometriozis, sıklıkla anovulasyon, anormal folliküler gelişim, luteal yetmezlik, premenstrüel lekelenme (luteinized unruptured follicle sendromu), galaktore ve hiperprolaktinemi ile beraber görülebilir. Galaktore ile endometriozis arasında ilişki olduğu iddia edilse de, prolaktin değerleri endometriozisli kadınlarda normal kadınlardan yüksek bulunmamıştır. Endometriozis ile premenstrüel damla tarzı kanama arasında korelasyon olduğu düşünülürse de, bir çok vakada menstrüel disfonksiyonun endometriozisle artmadığı gözlenmiştir. Endometriozisi olan kadınlarda endokrinolojik anormalliklerin insidansının arttığına dair yeterli veri bulunmamaktadır (41).

Tablo 1. Endometriozisin Genel Semptomları

Pelvik Semptomlar	Dismenore, Disparoni, Kronik pelvik ağrı Siatik ağrısı, Premenstruel lekelenme
GİS Semptomlar	Konstipasyon, Diare, Diskezia, Tenezm Hematokezia
Üriner Semptomlar	Yan ağrısı, Sırt ağrısı, Abdominal ağrı, Sık idrara çıkma, Hematüri
Pulmoner Semptomlar	Hemoptizi, Katamenial göğüs ağrısı Pnömotoraks

Endometriozis orta derecede veya şiddetli ise, overleri içine almış ise ve oluşan adhezyonlar tubo-overiyan motiliteyi ve ovum pick-up'ını bloke ediyorsa subfertilite ile bağlantılıdır. Bu etki primatlarda ve baboonlarda da gösterilmiştir. Birçok mekanizma (ovulasyon disfonksiyonu, luteal yetmezlik, luteinize unruptured follicle sendromu, tekrarlayan düşükler, değişen immunité ve intraperitoneal enflamasyon) ortaya konulsa da, fertilite ile minimal veya hafif endometriozis ilişkisi hala tartışmalıdır. Tubal ligasyon sırasında endometriozis saptanan bir dizi asemptomatik kadına dayanarak, endometriozis prevalansının, endometriozisli

infertil kadınlarda, fertillerden daha yüksek olmadığı görülmüştür. Fertil kadınların % 80'inde minimal veya hafif, % 20'sinde orta veya ciddi endometriozis rapor edilmiştir (42). Kontrollü retrospektif çalışmalarda endometriozisin, normal spontan abortus oranı olan % 15-25 ile karşılaştırıldığında, %40'a varan artmış spontan abortus oranı ile ilişkili olduğu görülmüştür (43). Spontan abortus oranının cerrahiden sonra düştüğü, tedavi edilmese de azaldığı rapor edilmiştir. Hastalığın evresi ile abortus oranı arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Yapılan birçok çalışmada da, habituel abortus ve spontan abortus oranında, endometriozisli hastalarla normal kadınlar arasında bir fark olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle endometriozis ve spontan abortus ilişkisini yeterince ortaya koymak güçtür (44).

1.1.4. Klinik İnceleme

Ca125, endometriumu da kapsayan çöломik epitel derivelelerinin hücre yüzeyinde bulunan bir antijendir. Müsinöz olmayan epitelyal over karsinomlu kadınların izlenmesinde yararlıdır. Endometriozis tanısı için, elde bir kan testi mevcut değildir. Ancak Ca125 düzeyi, özellikle orta ve ciddi endometriozisli hastalarda yüksektir. Tarama testi olarak kullanılması için sensitivitesi düşük olmakla birlikte tedaviye yanıt ve rekürrens için iyi bir belirteç olabilir. Yüksek değerler medikal tedavi ile azaltılabilse de tedavinin kesilmesi ile beraber hemen tedavi öncesi değerlerine ulaşır; bu durum da klinik kullanımı sınırlar. Serum Ca125 düzeyi benign adneksiyel kistlerin endometriotik olup olmadığını belirleyebilir. Ca125 ayrıca erken gebelik, pelvik inflamatuvar hastalık, myom ve menstrüasyon sırasında da yükselebilir. Ca125 düzeyleri orta ve ciddi endometriozisi bulunan kadınlarda belirgin olarak yüksek, minimal ve hafif endometriozisi olanlarda normal olarak bulunmuştur. Menstrüasyon sırasında, endometriozis ile bağlantılı olmaksızın Ca125 seviyelerinde bir artış gösterilmiştir. Diğer çalışmalarda menses sırasında artış bulunamamıştır (45). Ca125 düzeylerinin orta ve şiddetli endometrioziste artış sebebi açık değildir. Endometriozis lezyonlarının normal endometriumu göre daha fazla miktarda Ca125 içerdiği ve beraberindeki enflamasyonun Ca125'in dökülmesinde artışa yol açtığı hipotezi ortaya konmuştur. Ayrıca normalde peritoneal kaviteden dolaşıma sınırlı miktarda antijen diffüzyonunu sağlayan bir bariyer olan peritonun, endometriotik implant bölgelerinde hasarlanmış olması da dolaşıma daha fazla Ca125 salınmasına neden olmaktadır (46). Ca125'in spesifitesinin, çoğu çalışmalarda

%80'in üzerinde olduğu bildirilmiştir. Ca125'in düşük sensivite düzeyi (%20-50), bu testin endometriozis tanısı için klinik kullanımında sınırlamalara sebep olmuştur. Seri Ca125 kontrolleri, tedavi sonrası endometriozisin yeniden ortaya çıkışını tahmin etmede kullanılabilir (47). Transvajinal ultrasonografisinde endometrioma ile uyumlu kitlesi olan kadınlarda Ca125 düzeyinde yüksek çıkması tanıyı güçlendirir. Ca125 ten başka yine bir tümör belirteci olan Ca19-9 ölçümünün de endometriozisin tanısında faydalı olabileceği bildirilmiştir. Ca19-9 düzeyleri endometriozisli olgularda kontrol grubuna oranla yüksek bulunmuş ayrıca endometrioma kist kapsülü örneklerinin %75'inde immunohistokimyasal boyama teknikleri ile Ca19-9 saptanmıştır (48). Endometriozis tanısında interlökin 6 (İL-6) ve TNF-a kullanılabilse de pratikte uygulama alanı kısıtlıdır (49). Endometriozisli birçok kadında klinik inceleme sırasında hiçbir anormallik saptanmaz. Vulva, vagen ve serviks, endometriozisin herhangi bir bulgusu yönünden incelenmelidir. Diğer endometriozis bulguları, uterosakral ligamentler üzerinde veya cul-de sac'ta nodülarite, rektovaginal septumda ağrılı şişme ve unilateral (kistik) overiyan büyümedir. Daha ileri hastalıkta uterus sık olarak fıkse, retroverttir, over ve fallop tüplerinin mobilitesi azalmıştır. Cul-de sac ve rektovaginal septumda derin infiltratif endometriozis (periton altında 5 mm'den daha derin) kanıtı menstrüasyon sırasında araştırılmalıdır. Klinik incelemenin negatif sonuçları olabilir. Endometriozis tanısında "altın standart" laparoskopidir, kesin tanı patolojik incelemeyle veya patolojik inceleme olmaksızın laparoskopiyle konmaktadır (50). Bu nedenle endometriozis tanısı laparoskopik olarak şüphelenilen lezyonlardan biyopsi ile her zaman konfirme edilmelidir. Ultrasonografi, Bilgisayarlı Tomografi, Manyetik Rezonans Görüntüleme, ek ve doğrulayıcı bilgi sağlamada kullanılabilir, fakat primer tanı amacıyla kullanılmaz.

1.1.5. Laparoskopik Bulgular

Diagnostik laparoskopi (L/S) sırasında pelvik ve abdominal kavite endometriozis varlığı açısından sistemik olarak araştırılmalıdır. Bu inspeksiyon barsak, mesane, uterus, tüpler, overler, cul-de sac ve broad ligamentin künt bir prob ile palpasyonunu kapsamalıdır. Laparoskopideki karakteristik bulgular, peritonun serozal yüzeyinde tipik barut yanığı şeklindeki lezyonlardır. Bunlar siyah, koyu kahverengi veya mavimsi nodüller veya değişken derecede fibrozis ile çevrili eski

hemoraji içeren küçük kistlerdir. Endometriozis kırmızı implantlar (peteşial, veziküler, polipoid, hemorajik, alev benzeri) seröz veya berrak veziküller, beyaz plaklar veya skarlaşma, sarı kahverengi peritoneal diskolorasyon ve suboveriyan adhezyonlardan oluşan lezyonlar şeklinde ortaya çıkabilir (51). Laparoskopik izlenimin histolojik konfirmasyonu sadece atipik lezyonlar için değil aynı zamanda vakaların % 24'ünde histolojik olarak negatif rapor edilen tipik lezyonlar için de endometriozis tanısı yönünden gereklidir (52). Derin endometriozisin hafif formları endometriotik lezyonun altında palpasyon ile veya görünüm olarak normal peritoneum altında palpabl kitlenin bulunması ile özellikle posterior cul-de sac ta saptanabilir. Overiyan endometriozis tanısı her iki overin bütün yüzeylerinin dikkatli inspeksiyonu ile hızlandırılabilir, ileri derecede hastalık durumunda adhezyonların mevcudiyetinde bu işlem zor olabilir. Süperfisyel overiyan endometriozisde, lezyonlar hem tipik hem de küçüktür. Büyük overiyan endometriotik kistler (endometrioma) sıklıkla overin ön yüzünde lokalize olur ve retraksiyon, pigmentasyon ve posterior peritona adhezyon ile beraberdir. Overiyan endometriotik kistler kalın, visköz koyu kahverengi sıvı (çikolata mayi) içerir ki, bu önceki intraovarian hemorajiden kaynaklanan hemosiderinden oluşur (53). Böyle bir sıvı, hemorajik korpus luteum kistleri veya neoplastik kistlerde de bulunabileceğinden, biopsi, hatta histopatolojik onay için kistin çıkarılması gerekebilir.

1.1.6. Histolojik Bulgular

Mikroskopik olarak endometriotik implantlar hemosiderin yüklü makrofajlar içeren veya içermeyen endometrial bezler ve stromadan oluşurlar (54). Bu geçersiz histolojik kriterlerin kullanılmasının, belirgin oranda daha az endometriozis tanısının konulmasına yol açtığı düşünülmektedir. Biopsi almadaki problemler (küçük veziküller), doku işlemlerindeki değişkenlik (seri kesitler yerine step veya parsiyel), yalancı negatif sonuçlara götürebilir. Endometrial stroma endometriotik bezlerden daha çok endometriozis karakterlerine sahip olabilir. Hemosiderin yüklü makrofajlar veya hemorajili endometrial stroma içeren stromal endometriozis, patogeneizde çok erken bir olayı ifade eder (55). Farklı tiplerde lezyonlar, değişik derecede proliferatif veya sekretuar glandüler aktiviteye sahiptir. Vaskülarizasyon, mitotik aktivite ve endometriozis lezyonlarının üç boyutlu yapısı anahtar faktörlerdir. Derin endometriozis, yoğun fibröz ve düz kas dokusunun içinde bezler, stromanın

proliferasyonu ile karakterize spesifik tip pelvik endometriozis olarak tanımlanır (56).

1.1.7. Mikroskopik Endometriozis

“Mikroskopik endometriozis”, makroskopik olarak normal görünen pelvis peritonunda endometrial bezler ve stromanın varlığı şeklinde tanımlanır. Bu durumun endometriozis histogenezinde ve tedavi sonrası rekürrensinde önemli olduğu düşünülmektedir. Mikroskopik endometriozisin klinik prevalansı tartışmalıdır, çünkü uniform olarak izlenmez. Normal peritonu neyin oluşturduğu konusunda belirlenmemiş kriterler kullanılarak orta ve ciddi endometriozise kadar olan 20 hastada laparotomi sırasında 1-3 cm’lik peritoneal biopsiler elde edilmiştir (57). Düşük güçlü scanning elektron mikroskopi (SEM) ile biopsilerin incelenmesi, ışık mikroskobunda konfirme edilemeyen % 25 vakada şüphelenilmeyen mikroskopik endometriozisi ortaya çıkarmıştır. Belirgin hastalık belirtisi olmayan alanlarda ışık mikroskobu ile peritoneal endometriotik odaklar gösterilmiştir. Normal peritonun laparoskopik biopsilerinin seri kesitlerinde % 13- 15 oranında mikroskopik endometriozis gösterilmiştir ve %6’sında makroskopik hastalık olmadan endometriozis bulunmuştur. Tersine diğer çalışmalar, görünüm olarak normal peritonun 2 mm’lik biopsilerinde mikroskopik endometriozisi saptamada başarısız olmuşlardır (58). Normal görünen peritondan daha büyük örneklerin (5-15mm) incelenmesi, çalışılan 55 hastanın sadece 1’inde mikroskopik endometriozisi ortaya çıkarmıştır. Makroskopik olarak normal görünen periton, nadiren mikroskopik endometriozis içermektedir. Diğer yandan bir çalışmada, pelvik ağrı nedeni ile L/S’ye alınan olguların %36’sında görsel olarak endometriozis tespit edilmiş iken, olguların sadece %18’inde histoloji pozitif olarak bulunmuştur (59). Histolojik tanı endometriozisde altın standart olarak kabul edildiğinde, direkt gözle tanı koymanın pozitif tanımlayıcı değeri %45, sensitivitesi %97, negatif tanımlayıcı değeri %99 ve spesivitesi %77’dir (60). Bu nedenle kabul gören görüş endometriozis şüphesi olan bölgelerden biyopsi alınması ile tanının konfirme edilmesidir. Normal görünen bölgelerden biyopsi alınması ise halen tartışmalıdır (61).

1.1.8. Sınıflama

Endometriozis için geçerli evreleme sistemi Amerikan Fertilité Topluluğu (American Fertility Society=AFS)’nun revizyona uğramış şeklidir. İmplantların

görünümü, boyutu, peritoneal ve overiyan implantların derinliği, adneksiyel adhezyonların varlığı, yaygınlığı ve tipi ile cul-de sac obliterasyonuna göre puanlama yapılmaktadır (Tablo 2) (62).

Tablo 2. Amerikan Fertilite Cemiyeti Gözden Geçirilmiş Endometriozis Sınıflandırılması

Periton	ENDOMETRİOZİS	<1cm	1-3cm	>3cm
Over	Yüzeyel	1	2	4
	Derin	2	4	6
	Sağ Yüzeyel	1	2	4
	Derin	4	16	20
	Sol Yüzeyel	1	2	4
	Derin	4	16	20
Over	Posterior Cul-de-sac obliterasyon	Parsiyel 4		Tam 40
	ADHEZYONLAR	<1/3	1/3-2/3	>2/3
	Sağ İnce	1	2	4
	Yoğun	4	8	16
	Sol İnce	1	2	4
	Yoğun	4	8	16
	Sağ İnce	1	2	4
	Yoğun	4*	8*	16
	Sol İnce	1	2	4
	Yoğun	4*	8*	16

* Fallop fimbrial ucu tamamen kapalı ise 16 puan alır. Evre I (Minimal) 1-5 Evre II (Hafif) 6-15 Evre III(Orta) 16-40 Evre IV (ciddi) >40

Bu sistem endometriozis hastalığını yansıtır, fakat ağrı veya infertiliteyi göz önünde bulundurmaz, ayrıca gözlemciden kaynaklanan ve gözlemciler arası belirgin farklılıklar söz konusu olabilir. Hastalığın aktivite parametrelerini kapsayan bir klasifikasyon sistemi düşünülmüştür. Yine de AFS'nin revize edilmiş endometriozis

klasifikasyonu, spontan evolüsyonu değerlendirmek ve terapötik yaklaşımları karşılaştırmak için uluslararası olarak kabul edilmiş tek sınıflandırma sistemidir.

1.1.9. Spontan Evolusyon

Endometriozis progresif bir hastalık olarak görülür. Seri gözlemler sırasında altı aylık bir dönem sonunda detoriasyon (%47), düzelme (%30) ve eliminasyon (%23) saptanmıştır (63). Bir başka çalışmada, 12 aylık dönemde, ilerleyen endometriozis % 64, düzelen % 27 ve değişmeden kalan olgu oranı % 9 olarak bulunmuştur (64). Yine de endometriozis skor ve evrelemede spontan iyileşme, orijinal tanı konulduktan 6-12 ay sonra yapılan laparoskopik takipte, ne kadınlarda ne de baboonlarda saptanamamıştır. Bir kesitsel çalışmada yaşla, tanımı zor lezyonların insidansının azaldığı bulunmuştur. Bu durum 3 yıllık prospektif çalışmada teyid edilmiştir, dahil olan pelvik alanın ve tanımı zor lezyonların hacminin yaşla düştüğü bulunurken, tipik lezyonlarda bu parametrelerin ve infiltrasyon derinliğinin yaşla arttığı gösterilmiştir (39). Kadınlarda, Sinomolgus maymunları ve kemirgenlerde yapılan bir çok çalışma gebelik sonrası, endometriozisin düzeldiğini tariflemişlerdir. Gebelik sırasında endometriozis karakteristikleri değişkendir ve ilk trimesterde lezyonlar büyüme eğilimindedir. Fakat daha sonra regrese olur (65). Baboonlarda yapılan çalışmada endometriotik lezyonların sayısında ve yüzey alanında, gebeliğin ikinci trimesterinde değişiklik saptanamamıştır. Bu sonuçlar üçüncü trimester veya doğum sonrası yararlı bir etkinin potansiyel olarak oluşacağını ekarte etmemiştir. Eksojen verilen östrojen ve progestinler ile yaratılan “psödogebelik durumu” gebelik sırasında endometrial implantların desidualizasyonu sonucu semptomatik iyileşme olacağı inancına dayanır. Bu hipotez yine de desteklenmemiştir.

1.1.10. İnfertilite

Endometriozis infertilite ile güçlü bir şekilde ilişki gösterir. İnfertil kadınların %20 ile %40 ‘ında endometriozis mevcuttur. Endometriozisle ilişkili infertilite 3 primer mekanizma ile açıklanmıştır. a) Bozulmuş adneksiyal anatomi, b) Oosit gelişimi veya erken embriyogenezin engellenmesi, c) Endometrial reseptivitenin azalması ileri evre endometriozis için infertilite olağan olmasına karşın erken evre endometriozisin nasıl infertiliteye katkıda bulunduğudır. Erken evre endometriozisli olgularda infertilite sıklığı endometriozis olmayan olgulara göre daha yüksektir.

Donör inseminasyon yapılan bayanlarda, erken evre endometriozis varlığında gebelik hızı endometriozis olmayanlara göre daha düşüktür. Erken evre endometrioziste follikulogenez, ovulatuvar fonksiyonda veya embriyo gelişiminde sapmalar olabilir. Endometriozisli olgularda %3-19 anovulasyon sıklığı bildirilmiştir (66). Erken evre endometriozisli olgularda, intraperitoneal ortam, endometriozis olmayan olgulara göre sperm ve/veya oosit ve/veya embriyo üzerine toksik olabilir. Erken evre endometriozisli olgularda intraperitoneal sıvı miktarı ve içeriğinde, endometriozis olmayan olgulara göre değişiklikler olabileceği bildirilmiştir. Bu bağlamda erken evre endometrioziste serbest peritoneal sıvı miktarının arttığı bildirilmiştir (67). Erken evre endometrioziste makrofaj sayısı ve salgıladığı sitokin içeriği ve konsantrasyonunda da değişiklikler olduğu bildirilmiştir (68). Endometriozisli olgularda intraperitoneal prostaglandin miktarında artış izlenmiştir (69). Ektopik endometrial implantlar prostaglandin salgılayabilirler. Prostaglandinler tubal motiliteyi ve/veya follikulogenez ve/veya korpus luteum fonksiyonunu olumsuz etkileyebilirler. Endometriozis olgularında infertiliteye yönelik suçlanan bir diğer mekanizma endometrial implantasyon defektidir. Maternal ve embriyonal epitel arası ilişki ve sonuçta başarılı implantasyon bugün için tam açıklanamamıştır. Endometrium reseptivitesinin, implante olacak blastokiste uygun duruma gelmesinde spesifik endometrial peptidler rol oynayabilirler. Luteal faz yetmezliği, endometriozis, hidrosalpinks, tekrarlayan gebelik kayıpları veya açıklanamayan infertilite olgularının bir kısmında endometrial reseptivite kusuru gösterilmiştir. İntegrinler (bir grup hücre adezyon molekülüdür) büyük oranda uterin reseptivite markerları olarak kabul edilir. Vitronektin reseptörü bir alfa-v-beta-3 integrindir ve implantasyon penceresinin başladığı dönemde artar. Bunun ekspresyonu epitelyal estrogen ve progesteron reseptörlerinin down-regülasyonu ile olur. Progesteron reseptörünün selektif kaybı uterin reseptivitenin yerleşmesi ve spesifik büyüme faktörleri ile uygun parakrin ortamın hazırlanması için gereklidir. İntegrinlerin normal paternlerinin kaybı infertiliteye neden olan pek çok durumda izlenmiştir; parakrin ortamın bozulmasına endometriozisle veya tubal hasarla ilgili inflamatuvar sitokinlerin neden olması olasıdır (70).

1.1.11. Tedavi:

Endometriozis tedavisinde temel amaç; semptomların kontrolü, hastalığın ilerlemesinin durdurulması ve fertilitenin korunmasıdır. Tedaviyi medikal, cerrahi ya da kombine tedaviler oluşturur.

1.1.11.1. Medikal tedavi:

Non-Steroidal antienflamatuar ilaçlar ve oral kontraseptifler :

Kronik pelvik ağrılı (3-6 ay süren siklik yada asiklik ağrı) yada dismenore şikayeti ile başvuran olgularda fizik muayene, laboratuvar, görüntüleme metotları ile non-akut jinekolojik bir patoloji (primer dismenore, endometriozis, yada adhezyonlar) öngörülüyor ise öncelikle ampirik medikal tedavi planlanmalıdır. Ampirik tedavi olarak ilk tercih NSAID'lar olmalıdır. NSAID ile birlikte düşük doz bir OK verilmesi menstrüal kanamayı azaltması, ovulasyonu inhibe ederek dismenoreyi azalttığı için tercih edilebilir. NSAID ve OK'lar güvenli şekilde uzun süreli kullanılabilir. OK'lar ara verilerek (28 günlük sikluslar) ya da sürekli olarak (hiç menstrüasyon olmaz) kullanılabilir. 28 günlük, 49 günlük ve sürekli kullanım arasında tedavi başarısı, komplikasyonlar ve morbidite bakımından fark bulunmamıştır (71). Sadece sürekli kullanımda kırılma ara kanamaları izlenebilmektedir. NSAID+OK kombinasyonları endometriozise bağlı semptomların etkin şekilde azaltsalar da endometrial implantların gerilediğini gösteren bulgular yoktur (72). Ampirik tedavilere cevap vermeyen olgularda L/S uygulanmalıdır. Ampirik medikal tedaviye dirençli kronik pelvik ağrılı adolesanların %69'unda endometriozis tespit edilmektedir.

Progestinler:

Endometriozis tedavisinde kullanılan progestinler Noretidrone asetat (15 mg/gün oral), medroksiprogesteron asetat (MPA) (30-50 mg/gün oral) ve depo medroksi-progesteron asetatı (DMPA) (150 mg/1 yada 3 ay). Her bir ajan tek başına endometriozis semptomlarının %80-%100 iyileşmesini sağlar (73). Tedavi dozlarında progestinlerin kilo alımı, bulantı, depresyon ve düzensiz kanama gibi yan etkileri izlenebilir. Riskli olgularda estrogen tedavisi DMPA tedavisine eklenebilir. Endometriozis tedavisinde ilk tercih edilmesi gerek progestinler oral progestinlerdir.

Siproteron asetat:

Siproteron asetat (CPA) bir 17-hidroksiprogesteron ürünüdür. Anti-androjenik ve anti-gonadotropik özelliklere sahiptir. Günlük dozu 12.5 mg ile 27.5 mg/gün arasında değişir. 12.5 mg/gün dozunda 6 ay kullanımı ile OK (0.02 mg etinil estradiol+0.15 mg desogestrel) kullanımı arasında etkinlik olarak bir fark tespit edilmemiştir (74). Bu nedenle OK kullanımı kontraendike ya da yan etkilerin ortaya çıktığı durumlarda CPA alternatif olarak kullanılabilir.

Danazol:

Danazol bir 17_-etinil testosteron türevidir ve düşük estrogen ve yüksek androjen ortamı yaratarak endometrial atrofiye neden olur. Aynı zamanda immünosupresif etkisi (lenfosit proliferasyon inhibisyonu, antikor üretimini supresyonu) de vardır (75). Plasebo ile karşılaştırıldığında endometriozise bağlı ağrının azalmasında çok etkilidir. Etkili olmasına rağmen oldukça fazla yan etkisi vardır. Bunlar, akne, düzensiz adetler, kilo alımı, sıvı retansiyonu, sıcak basmaları, meme küçülmesi, kas krampları, ses kalınlaşması ve hirsutizm olarak sayılabilir. Bu yan etkilerinden dolayı (ortalama %7 oranında görülür) kullanımı kısıtlıdır.

Gonadotropin-salgilayıcı hormon agonistleri (GnRHa):

GnRHa'leri endometriozis tedavisinde etkili olarak kullanılır. 16 yaş üstündeki adolesanlar da rahatlıkla uygulanabilir iken 16 yaş altındakilerde zorunlu kalmadıkça kullanılmamalıdır. Genellikle depo formları kullanılır. GnRHa olarak luprolide asetat, nafaralin, buserelin ve goserelin kullanılabilir. Leuprolit 11.25 mg 12 haftalık subkütan veya 3.75 mg 4 haftalık subkütan kullanımı oldukça etkilidir (76). Gestagen lynestrenol 5 mg (oral 2X1) ile GnRH agonist leuprolit asetat (3.75 mg aylık subkütan) 6 aylık tedaviler karşılaştırıldığında, her iki grupta başarı oranları benzer olmakla birlikte, iyileşme oranları GnRHa grubunda daha fazla olarak bulunmuştur (77). Yan etkiler olarak, sıcak basmaları, baş ağrısı, uyku problemleri, duygu değişiklikleri, depresyon, vajinal kuruluk izlenebilir. Bu dozlar ile %90 olguda amenore ve estrogen düşüklüğü mevcut olduğu için kemik mineral dansitede azalmaya neden olmaktadır (78). Bu nedenle GnRHa tedavileri maksimum 6 ay sürmelidir. 6 aylık tedavinin bitimi sonrası sürekli OK veya progestin tedavisi önerilmektedir.

1.1.11.2. Cerrahi tedavi:

Medikal tedaviye (NSAID, OK veya DMPA) dirençli kronik pelvik ağrı ya da 3 cm'den büyük endometrioma tespit edilen olgularda L/S yapılmalıdır. L/S'de overiyen endometriomalar ekstirpe edilmeli endometriozis odakları görüldüğünde cerrahi rezeksiyon veya destrüksiyon yapılmalıdır. Cerrahi endometriozis semptomlarını %38-%100 oranında iyileştirmektedir (79). Endometriozis odaklarının destrüksiyonu için lazer vaporizasyon, unipolar veya bilopar koterizasyon gibi birçok yöntem kullanılabilir. Cerrahi sonrası uzun dönem rekürrens riski nedeni ile postoperatif dönemde medikal tedaviye devam edilmelidir (80). Medikal tedavi olarak en uygun seçim postoperatif siklik ya da asiklik OK, ya da DMPA (NSAID eklenebilir) uygulamasıdır.

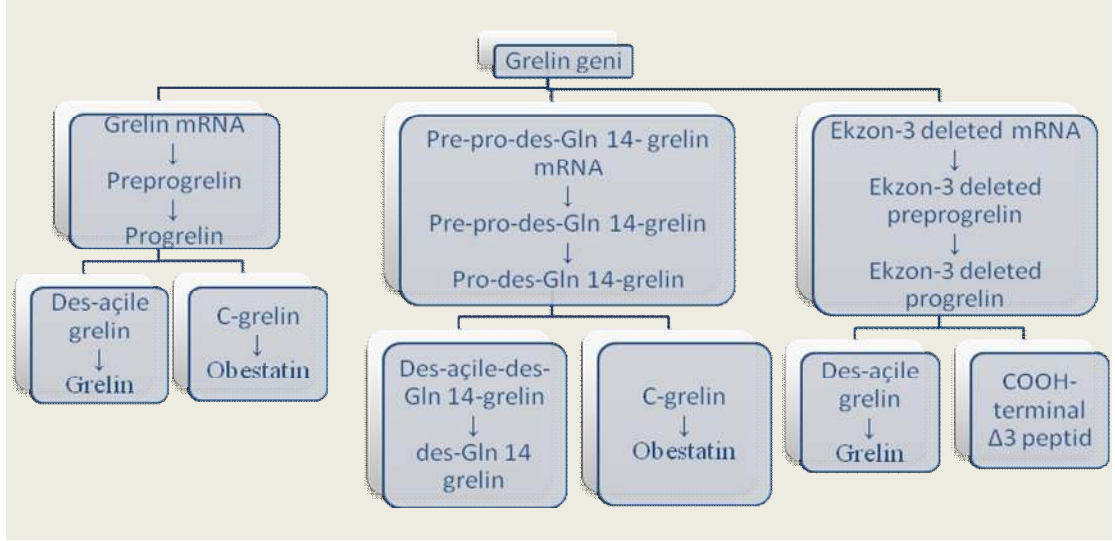
1.2.GHRELİN VE OBESTATİN

Oreksijenik hormon olarak da bilinen ghrelinin; hormon olarak keşfedilmesinden önce, 1996 yılında reseptörü GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) tanımlanmış ve G protein ailesine ait olduğu saptanmıştır (81). Sonraki yıllarda bu reseptörün endojen ligandı aranmaya başlanmış ve Ghrelin 1999 yılında ilk olarak Masayasu Kojima ve ark. tarafından (81) farelerin midesinde GHS-R1a bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanmıştır (82). Daha sonra iştah üzerine olan etkilerinin tespit edilmesi üzerine “appetite hormone” (iştah hormonu) olarak da adlandırılmıştır (83). 2005’de Zhang ve arkadaşları ratların midesinde ghrelin ile ilişkili ve preproghrelinden türemiş bir peptid tanımlamışlardır. Ghrelin ile aynı gen tarafından kodlanan ve selektif olarak orfan reseptör GPR39’ya bağlanana bu proteini obestatin olarak adlandırmışlardır (84).

1.2.1. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı

İnsanlarda ghrelin geni kromozom 3p-25-26’da lokalizedir. Şekil 2’de gösterildiği gibi insan ghrelin geni alternatif splicing ve/veya post translasyonel modifikasyonla ghrelinden başka temel olarak desaçil ghrelin ve obestatin olmak üzere farklı aktif molekülleri de oluşturabilir (85,86,87). Bu moleküller ghrelin ve analogları, C-ghrelin ve obestatin olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılabilir (Şekil 1) (88).

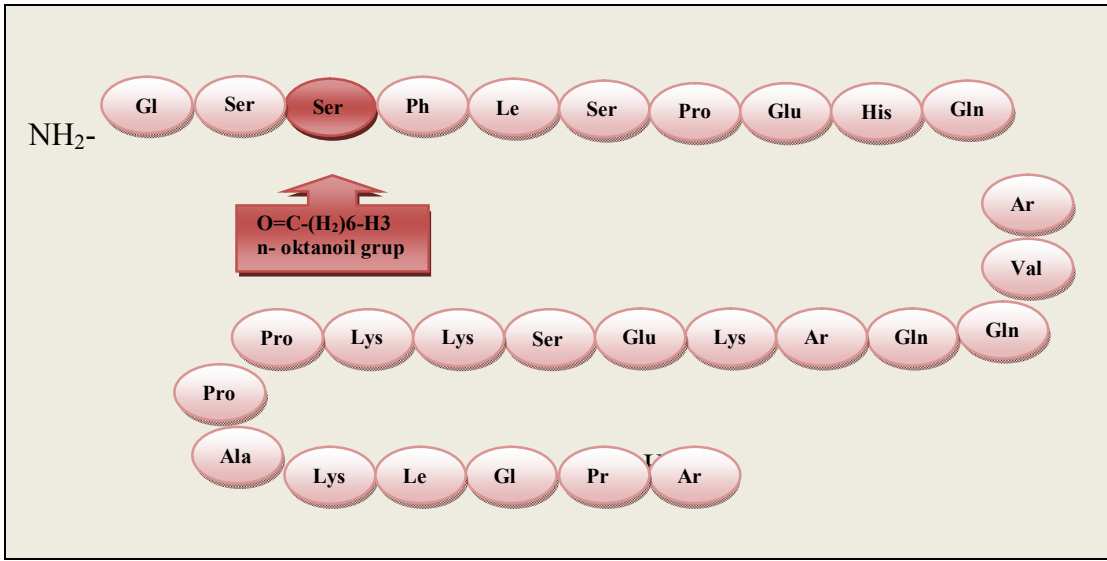
Ghrelin öncülü olan preproghrelin 117 aminoasit'den oluşur. Preproghrelin 23 amino asitlik sinyal peptidi ve 94 amino asitlik proghrelin (1-94) kısımlarını içerir. Proghrelin 28 ammino asitlik matür ghrelin (1-28) ve 66 amino asitlik kuyruk kısmından (29-94) oluşmuştur. Preproghrelinin son ürün olan matür ghreline kadar proteolitik olarak yıkımından sorumlu olan enzimler henüz bilinmemektedir (87).



Şekil 1: Ghrelin geninden türemiş temel üç ürünün üretim basamakları.

İnsan midesinde izole edilen Ghrelin ve analogları aminoasit uzunluklarına göre iki tip [ghrelin (1-28) ve ghrelin (1-27)] ve 3. aminoasiti olan serin kalıntısının açılmasına göre ise dört tiptir [açılmemiş, oktanoillenmiş (C8:0), dekanooillenmiş (C10:0) ve büyük olasılıkla dekanooillenmiş (C10:1) ghrelin]. İnsanlarda ghrelin geninin major aktif ürünü 3. pozisyondaki serin amino asiti bir oktanoil grup açılmemiş matür ghrelin (ghrelin 1-28) olmasına rağmen oktanoil ghrelin (1-28), oktanoil ghrelin (1-27), dekanooil ghrelin (1-28), dekanooil ghrelin (1-27), des-açıl ghrelin (1-28) ve des-açıl ghrelin (1-28) den oluşan farklı ghrelin analoglarında midede olduğu gibi insan plazmasında da tespit edilmiştir (85,86). Ghrelin geninin major aktif ürünü 3. pozisyondaki serin amino asiti bir oktanoil grup (C8:0) ile açılmemiş, matür ghrelin olarak adlandırılan ve 28 aminoasitten oluşan açılmemiş ghrelindir. Ghrelin salınmadan önce sitoplazmada posttranslasyonel olarak N-terminal 3. aminoasidi olan serin kalıntısına n-oktanoil asit eklenerek aktif haline dönüştürülür (Şekil 2).(88)

Ghrelinde oluşan bu açıl modifikasyonu, aktivitesi ve GHS-R'e bağlanması için gereklidir. Ayrıca bu post translasyonel değişimin, ghrelin molekülüne hidrofobik özellik kazandırması, bu hormonun özellikle hipotalamus ve hipofiz'e olmak üzere beyin dokusuna geçişine imkan sağlamaktadır (89). Obestatin proghrelinin C-terminalindeki [preproghrelin (76-98)] 23 amino asit dizisinden türetilmektedir. Obestatin'ın C-terminal Gly–Lys kopyasının amidasyonu biyolojik aktivitesi için gereklidir (90).



Şekil 2: Ghrelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı.

1.2.2. Ghrelin Gen Ürünlerinin Doku Dağılımı:

Vücutta ghrelin üretimi ile ilişkili iki hücresel alan bulunmaktadır. Birincisi oksintik bez; ikincisi ise nöronal hücre gruplarının sinaptik ileti ile ghrelin salınımı yaptığı santral sinir sistemidir. Ghrelin çoğunlukla mide fundus mukozası oksintik bezleri içerisindeki X/A benzeri hücreler tarafından üretilir (91). Dolaşımda bulunan ghrelinin büyük miktarı mideden salgılanır ve geriye kalan kısmın çoğunlu ince barsak kaynaklıdır (92).

Santral sinir sisteminde ghrelin mRNA ve immunoreaktif peptid düzeyleri çok düşüktür. Hipotalamusta ghrelin peptidi ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Hipotalamik arkuat nukleus (ARC)'da sentezlenir, ancak ghrelin pozitif nöronların sayısı düşüktür (93).

Bu dokulara ilave olarak ghrelin; hipofiz, tükürük ve tiroid bezi, ince bağırsak, safra kesesi, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, akciğer,

fallop tüpleri, over, testis, plasenta, göbek kordonu, kordon kanında, fetal tiroid, akciğer ve pankreasta gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde, iskelet kaslarında, ciltte, yağ dokusunda, miyokardda, damar dokularında, nöroendokrin tümörlerden tiroid ve medüller tiroid karsinomaları ve akciğer tümörleri gibi değişik tümör dokularında da tespit edilmiştir (94,95,96,97).

İnsanlarda obestatinin doku dağılımı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Obestatin spesifik antiserumlar kullanılan radyoimmünoassay tekniği ile ratların kalın ve ince barsaklarında, mide, dalak, serebral kortekste ve perinatal rat pankreasında (98) obestatin varlığı gösterilmiştir.

Rat obestatinine karşı antiserumun direkt uygulanması ile gastrik mukoza hücrelerinde, myenterik plexus ve testiste leyding hücrelerinde obestatin immünoaktivitesi gösterilmiştir. Ratların santral nöronlarında obestatinin biyolojik aktivitesinin olduğu kalsiyum mikrofluorimetrik Fura-2 metodu kullanılarak gösterilmiştir (99).

1.2.3. Dolaşımdaki Ghrelin Gen Ürünü Peptidler:

Yarılanma ömrü 15-20 dakika olan ghrelin; vücut sıvılarında dokular da olduğu gibi açile ve desaçile iki formda bulunur. Ghrelinin plazma konsantrasyonu 200-600 ng/L dir. Des-açile Ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin yaklaşık % 80-90'ını oluşturmaktadır. Dolaşımdaki ghrelinin 2/3'ü midedeki oksintik mukozadaki X/A hücreleri tarafından üretilir ve kalan ghrelinin çoğunluğu ince barsaktaki X/A hücrelerinden kaynaklanır. İnsan plazma ghrelininin %90'nını des-açil ghrelin oluşturur. Bu durum ghrelinin sistemik dokularda GHS-R'ye bağlanamaması sonucu dolaşımdan hızla temizlenmesinin sonucu olarak yarılanma ömrünün des-açil ghrelininden daha kısa olmasına bağlı olabilir (100). Ghrelinin yarılanma ömrünün kısa olmasından plazmada desaçil ghreline hızla desaçilasyonu da sorumludur (101). Açıl ve desaçil ghrelin arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Her ikisinde midede olduğu gibi insan plazmasında da bulunur ve benzer ve zıt etkilerde aktiftirler. Bu durumu açıklamak için iki teori ileri sürülmüştür:

(1) iki form farklı düzenleyici yollardan sekrete edildiği için desaçil ghrelin peptidin inkomplet açilasyonu sonucu oluşmuş olabilir. Bu teoride muhtemelen des-açil ghrelin ghrelin geni tarafından direkt olarak üretilen aktif bir peptiddir.

(2) desaçıl ghrelin ghrelinin deaçilasyonu sonucu oluşmuş olabilir (102). Desaçıl ghrelin dolaşımında serbet peptid olarak bulunurken, açıl ghrelinin önemli bir kısmı özellikle lipoproteinler olmak üzere büyük moleküllere bağlı olarak bulunmaktadır (102).

Ghrelinin trigliseridden zengin lipoproteinler (TRL), HDL, çok yüksek dansiteli lipoproteinler (VHDL) ve bir dereceye kadarda LDL ilişkisi mevcuttur. Aktif ghrelinin açıl yan zincirinin hidrofobik özelliğinin artması kan dolaşımında büyük plazma proteinlerine bağlanmasına neden olabilir (102). Ghrelin gen ürünlerinin değişik miktarlarda ekspresiyonuna neden olan faktörler tam olarak bilinmemektedir. Açlık; ghrelin, desaçile ghrelin ve C-ghrelinin düzeylerini aynı oranda artırırken obestatin düzeyini etkilememektedir. Beslenme ise ghrelin, desaçile ghrelin ve C-ghrelin düzeylerini azaltmaktadır (84,103). Ancak, postprandial açıl-ghrelin düzeyleri total ghrelin düzeylerinden daha hızlı bir şekilde azalmaktadır. Bu durum açıl ghrelin sekresyonunda değişimin ve/veya açıl ghrelinin desaçilasyonu sonucu olabilir (84). Beslenmenin obestatin düzeyi üzerine olan etkileri hakkındaki yayınlar çelişkilidir. Beslenmenin obestatin düzeyleri üzerine etkisinin olmadığını ve negatif etkisinin olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (104). Kronik pozitif balans ghrelin /obestatin oranını değiştirebilir. Pre-prandial ghrelin/obestatin oranları aynı yaş ve cinsiyetteki normal kilolu kişilere göre obez kişilerde yüksektir. Vücut kitle indeksi (VKİ) pre-prandial ghrelin/obestatin oranları ile pozitif ilişkili önemli bir bağımsız belirleyicidir (105). Orta zincirli yağ asitlerinin ve orta zincirli triaçilgliserolün her ikisinin de alınması, total (açıl ve desaçıl) ghrelin miktarını değiştirmeden açıl ghrelinin mide konsantrasyonunu arttırmaktadır (106). Son olarak Yoshimoto ve arkadaşları (107) desaçıl ghrelin plazma konsantrasyonunun serum kreatin düzeyi ile anlamlı düzeyde korele olduğunu ve normal böbrek fonksiyonları olan bireylere kıyasla son dönem böbrek yetmezliği olan bireylerde plazma des-açıl ghrelin düzeylerinin 2.8 kat daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

1.2.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması:

1.2.4.1. Ghrelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması:

GHS-R, 3q26.2'de kodlanmış gendedir. Bu genin pre-mRNA'nın GHS-R1'i alternatif işleme tabi tutması sonucu GHS-R1a ve GSR-1b olmak üzere iki izoformu oluşur. Ghrelin GSR-1a' ya bağlanır. GSR-1b, GSR-1a gibi yaygın bir şekilde

eksprese edilir fakat farklı olarak GSR1b' ye ghrelin veya sentetik büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS) bağlanmaz ve GSR-1b'nin fonksiyonel olup olmadığı bilinmemektedir (108). Ghrelinin iştah, gıda alımı ve enerji balansı üzerine etki ettiği bölgeler olan hipofiz bezi ve hipotalamusta GSR-1a reseptörleri yaygın olarak izole edilmiştir (109). İlginç şekilde biyolojik ritim, mood, kognisyon, hafıza, öğrenme gibi fonksiyonların kontrol edildiği santral sinir sisteminin hipokampus, substantia nigranın pars kompakta bölgesinde, mental tegmental bölge, dorsal ve medial raphe ve Edinger–Westphal çekirdekleri ve pyriform kortekste de GHS-R1a ekspresyonu gösterilmiştir (110). Ayrıca, GHS-R1a aktivasyonu ghrelinin bir çok etkisini aracılık eden vagal nod ganglionlarında (110) ve mide, barsak, pankreas, adrenal ve tiroid bezi, gonad, over dokusu, tümöral dokular gibi bir çok periferel organda da (111) gösterilmiştir. GHS-R1a aktivasyonu için Ser3' de açılasyon gereklidir (112). Bütün modifiye açıl-ghrelin analogları, anestezi verilmiş ratlarda GHS-R eksprese eden hücrelerde Ca^{2+} artışını sağlayarak aynı şiddette GH salgılanmasına neden olmaktadır (86). Desaçile ghrelin GHS-R1a' bağlanmadığı için etkilerinin oluşmasına başka reseptörler aracılık etmelidir. Des-açıl ghrelin için spesifik ve des-açıl ghrelin ve açıl ghrelin için ortak reseptörlerin bulunması mümkün olmakla beraber, şu ana kadar bunların hiçbiri karakterize edilememiştir. Desaçil ghrelin'in hücre proliferasyonu ve metabolizma üzerine biyolojik aktivite gösterdiği ve kardiyomyozit, adiposit, prostatik ve iskelet kası hücre membranlarına bağlanmaktadır (113).

1.2.4.2. GHS'lar ve Ghrelininin Sinyal İletisi Yolları:

GHS'lar, GH salınmasını stimule eden sentetik bileşiklerdir. Bunlar G protein ailesinden reseptöre (GPCR) ve GHS reseptörüne (GHS-R) bağlanarak etki gösterirler (114). GHS-R aktivasyonu ve ghrelinin sinyal iletimi, protein kinaz C sistemi ile ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının artışı ile olur. GH salgılayıcı peptid 6 (GHRP-6) hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonlarını iki mekanizma ile artırır:

GHS-R1a'ya bağlanan ghrelin, fosfolipaz C'yi aktifler; plazma membranında depolanmış olan fosfatidil inozitol 4,5 bifosfat hidroliz olur, diacilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP3) ayrılır. IP3, endoplazmik retikulumdaki IP3 reseptörüne bağlanır ve Ca^{2+} depolarından kalsiyum salınır. IP3, GH salınımını kolaylaştırır. Diğer yolda DAG plazma membranındaki protein kinaz C'yi aktifleştirir. Protein

kinaz C tirozin fosforilasyonu yoluyla potasyum kanallarını inhibe eder ve depolarizasyona neden olur, böylece voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanalları açılır. GHRP-6'nın Na^+ 'a duyarlı iyon kanallarının açılımasını kolaylaştırdığı ve depolarizasyona neden olduğu gösterilmiştir (115).

1.2.4.3. Obestatin Reseptörü:

Başlangıçta obestatin'in G protein ailesinde orphan reseptör GPR39'u aktive ettiği belirtilmiş (84) Moechars ve arkadaşları (116) obestatinin gastrointestinal ve metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde GPR39 reseptörü aracılığı ile fonksiyonel rolünün olduğunu belirterek bu fikri desteklemişlerdir. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarla obestatinin bu reseptör üzerine olan etkisi doğrulanamamıştır (117,118,119). Çalışmalardaki bu çelişki nedeniyle günümüzde obestatinin dokulardaki yerleşik reseptörü ya da reseptörleri hala bilinmemektedir.

1.2.5. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etkileri:

1.2.5.1. GH Sekresyonu:

Ghrelin, hipofiz bezindeki somatotropik hücrelerdeki GSR1-a reseptörlerine bağlanır ve doza bağımlı olarak GH salgılanmasına neden olur (120). Hipotalamustaki GHRH-nöronlarına aktivasyon, somatostatin nöronlarını inhibisyon yapar (121) ve vagal afferent aktivasyonu uyarır (110). Normal şartlarda desaçil Ghrelin GHS-R1a'ya bağlanamadığı için GH sekresyonunu etkilemez. Bununla birlikte, transgenik farelerde des-açil ghrelinin aşırı ekspresyonu, GH-IGF-I aksını modüle edebilir (ghrelin verilmesi azalmış GH cevabı) (122). Ratlarda obestatinin intravenöz ve intraserebrovasküler verilmesi GH sekresyonunu etkilememektedir (123).

1.2.5.2. İştah ve Vücut Ağırlığı:

İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yemek yemenin merkezi sinir sistemindeki özellikle hipotalamustaki kompleks mekanizmalar tarafından düzenlendiği kabul edilmektedir (124). Memelilerde ghrelin oreksijenik ve adipogenik bir moleküldür. Oreksijenik etki hızlı başlar ama etkisi kısa sürelidir. Hipotalamus, enerji homeostazisi için kontrol merkezidir. Ghrelin hipotalamusta iştah üzerine etkisini üç yolla yapar: (91)

1. Mideden salgılanan ghrelin kan yoluyla hipotalamik ARC hücrelerine ulaşır ve kan beyin bariyerini geçerek aktif transport yolu ile diğer serebral hücrelere ulaşır.

2. Periferde sentezlenen ghrelin, vagal etkileşimlerle GHSR ekspresyonunu sağlar ve vagal etkileşimler nukleus traktusa ulaşarak hipotalamusu etkiler.

3. Ghrelin lokal olarak hipotalamusta sentezlenir ve Noropeptid Y (NPY)/ iştah etkili protein (AGRP) ve diğer hipotalamik hücrelerle direkt etkileşime girer. Ghrelin üreten nöronlar hipotalamusta ARC bölgesinde bulunur. Bu bölge leptinin de etki ettiği bölgedir. NPY ve AGRP adlı oreksijenik peptidler, ARC’de aynı nöronlarla leptin reseptörü üzerinden etkisini gösterir (96). İntraserebroventriküler ghrelin uygulaması ARC’de NPY ve AGRP mRNA düzeylerini arttırır, periferik ghrelin uygulaması ise hipotalamik nöronları ve gıda alımını stimüle eder (125). Ulaşılabilen yayınların çoğunda desaçil ghrelin ve gıda alımı arasında negatif ilişkinin olduğu belirtilse de (126) gıda alınmasını stimüle ettiğini (127) bildiren yayınlar da mevcuttur. Obestatinin gıda alımı üzerine olan etkileri konusunda insanlar üzerinde yapılan çalışmalar mevcut değildir ve ratlarda yapılan çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Bazı araştırmalarda bazal ve ghrelin ile stimüle edilmiş durumlarda ghrelinin gıda alımını azalttığı ve kilo alınmasını baskılayabileceği belirtilirken (128) bazı araştırmalarda da obestatin’in gıda alımı ve kilo üzerine etkisinin olmadığı belirtilmektedir (129,130).

Son dönemlerde yapılan bir çalışmada bu durum kısmende olsa açıklığa kavuşturulmuştur. Kemirgenlerde intraperitoneal obestatin uygulaması ile gıda ve kilo alımını baskılamış ve U şeklinde doz cevap ilişkisi elde edilmiştir (131).

1.2.5.3. Metabolizma:

1.2.5.3.1. Glukoz Metabolizması:

Ghrelin, beyinde nöronların glukoz duyarlılığını, insulin sekresyon ve aktivitesini ve hepatik glikogenezi düzenleyerek glukoz hemoztaına katılır (132). Akut olarak sistemik ghrelin uygulaması insanlarda insülin salınımını inhibe (93) eder ve plazma glukoz seviyesini arttırır (133). Desaçil ghrelin de glukoz metabolizmasını regüle edebilir. Fare ve ratlardan izole edilen pankreasın adacık hücrelerinde des-açil ghrelin konsantrasyonunun plazma konsantrasyonuyla uyumlu bir şekilde açil ghrelinin 10 kat daha yüksek olduğu ve açil ghrelinin insülin sekresyonu üzerine olan etkilerini ortadan kaldırdığı belirtilmektedir (134). Ayrıca insülinin endojen glukoz üretiminin inhibe etme kapasitesini ortadan kaldırdığı fakat glukoz tüketimini etkilemediği belirtilmektedir. Bu etkiler her iki peptidin aynı anda verilmesi ile elde

edilmektedir (135). Desaçil ghrelin primer hepatositlerden glukoz çıkışı inhibe eder ve ghrelinin glukoz serbestleştirici etkisini baskılar (136). Obestatinin insülin sekresyonu üzerine olan etkileri hakkındaki az sayıdaki çalışmaların sonuçları çelişkilidir ve stimilasyon (137), inhibisyon (134) ve etki etmediği (128) şeklinde birbirleri ile çelişen yayınlar mevcuttur.

1.2.5.3.2. Lipid Metabolizması:

Ghrelinin karaciğer, yağ dokusu ve iskelet kasında lipid metabolizmasının regülasyonunda önemli rol oynar. Karaciğerde yağ asitlerinin oksidasyonunu ve AMPK' yi azaltırken lipogenik patern genlerinin ekspresyonu ve trigliserin içeriğini indükler. Ghrelin gastroknemius kasının trigliserid içeriğini azaltmakta ve mitekondrial oksidatif enzim aktivitesini de arttırmaktadır. Aktif halde iken iskelet kaslarındaki yağ oranını azaltan peroksizom proliferatör aktivatörü reseptör γ 'yı iskelet kaslarında selektif olarak arttırmaktadır (138). Bu şekilde ghrelin karaciğer trigliseridlerinin iskelet kaslarına depozisyonunun sağlamaktadır. Desaçil ghrelinin lipid metabolizması üzerine etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Açıl ghreline benzer şekilde des-açil ghrelinde invivo koşullarda direk olarak lipogenezi arttırmakta (139) ve rat adipositlerinde isoproterenol ile indüklenen lipolizi inhibe etmektedir (97). Obestatinin lipid mekanizması üzerine olan etkileri henüz bilinmemektedir.

1.2.5.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Diğer Organ ve Sistemler Üzerine Etkileri:

Ghrelin gen ürünlerinin değişik sistem ve organ üzerine olan bir çok etkisi tanımlanmış olup tablo 3'de özetlenmiştir.

1.2.5.5. Ghrelin Gen Ürünleri ve Reprodüktif Sistem

Reprodüktif fonksiyonlar temel olarak hipotalamo-pituiter- gonadal (HPG) aksıdaki hipotalamik GnRH, hipofizer gonadotropinler (LH, FSH), gonadlardaki seks steroidleri ve peptid hormonlar arasındaki karmaşık etkileşimler ile düzenlenmektedir (141). Ghrelin ve GHS-R 1a'nın insan overinde periyodik olarak bulunduğu ve hücresel lokalizasyonu poliklonal antikolar kullanılan immunohistokimyasal metodlarla gösterilmiştir (142). Overiyan hilusdaki interstisyel hücrelerde, genç ve matür CL'da ghrelin varlığı gösterilmiş ancak herhangi bir aşamadaki overiyan folikülde, yeni gelişmekte olan CL'da ve gerileyen luteal dokuda ghrelin varlığı gösterilememiştir (143).

Tablo 3. Ghrelin Gen Ürünlerinin Diğer Organ Ve Sistemler Üzerine Etkileri (140)

Etki	Ghrelin	Desaçil ghrelin	Obestatin
Gastrointestinal			
Ekzokrin sekresyon	↑↓↔(mide)/↑	↔ (mide)	↑ (pankreas)
Epitelyal koruma	↑	Eb	eb
Motilite	↑ (mide ve kolon)	↓(mide)/↔	↓(mide- jejunum)
Kardiyovasküler			
Büyük.damarlarda	↑(sistemik)/↓	↑ (sistemik)	eb
Küçük.damarlarda	↑	Eb	eb
Endotel fonksiyonları	↑	Eb	eb
Kalp fonksiyonu	↑	↑	↔
Hücre proliferasyonu	↑↓	↑↓	↑
İmmün hücre üretimi	↑	↔	eb
Sitokin üretimi	↓	↔	eb
Osteoblast üretimi	↑	↑	↔
Osteoblast aktivitesi	↑	Eb	↔
Uyku	↑	↔	↑
Hafıza	↑	↔	↑
Anksiyete	↑	↔	↓
İris kas relaksasyonu			
Sfinkter	↑	↑	eb
Dilatör	↑	↔	eb

(↑), stimülasyon; (↔), etki yok; (↓), inhibisyon; (eb), bilinmiyor.

Ghrelin sinyal sisteminin ligand ve reseptör komponentinin her ikisinde over içerisinde var olması, bu yeni molekülün overdeki fizyolojik ve patolojik durumlarda potansiyel düzenleyici rolünün olabileceği fikrine yol açmaktadır.

İnsan ve primatlarda ghrelinin reproduktif sistemin kontrolündeki potansiyel etkileri hakkında şu ana kadar çok az bilgi mevcuttur. Ghrelinin insanlarda akut olarak verilmesinden sonra prolaktin sekresyonunda stimülatör cevap olduğu

gösterilmiştir (144). Foliküler GHS-R1a peptid ekspresyonu folikül büyümesi ile paralellik gösterir (143). Ghrelin sağlıklı kadınlarda ve hayvan deneylerinde hipofiz bezinde pulstil LH sekresyonunu farklı şekillerde baskılar (145). Overektomize dişi ratların hipotalamusuna yerleştirilen eksplantlarla ghrelinin GnRH salınmasını, prepubertal ve yetişkin ratların estrous sikluslarının farklı safhalarında GnRH ile indüklenen LH salınımını azaltabildiği gösterilmiştir (146). Fareler üzerinde yapılan bu gözlemden elde edilen sonuçlar ghrelinin LH pulsatilitesini etkilediğini ve hipotalamik bölgede gonadotropin aksı üzerine inhibitör etkisinin olduğunu desteklemektedir. Ghrelinin in vivo olarak FSH sekresyonu üzerine olan etkisi konusunda şu ana kadar kayda değer veri yoktur. Reprodüktif aks üzerine santral etkisinin dışında, ghrelinin bir çok bölgede eksprese edildiği ve gonadal seviyede direk olarak spesifik biyolojik etkilerinin olduğunu destekleyen çok sayıda kanıt vardır. Kültüre domuz folikülleri ile yapılan izole bir çalışmada ghrelin tedavisinin östradiol sekresyonu ve aromataz aktivitesinde artma ve caspase-3 aktivitesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (147). Ghrelin aynı zamanda preimplantasyon dönemindeki embriyonun gelişiminin regüle edebilmektedir. Farelerde kültür ortamında preimplantasyon embriyonun gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir (148). Yapılan bir çalışmada ghrelinin spontan veya oksitosinle oluşturulmuş izometrik kontraksiyon durumundaki myometrial liflerde inhibitör etkisinin olduğu gösterilmiştir (149). Menstrüel fonksiyonların başlaması ve düzenli bir şekilde sürmesi için vucut ağırlığının kritik bir düzeyin üzerine çıkması, dolayısıyla vucuttaki yağ miktarının belirli bir düzeyin üzerine çıkması gerekmektedir. Yağ dokusundan kaynaklanan leptin hormonunun tanımlanması ile vücudun enerji hemostazının sürdürülmesinde karmaşık düzenleyici bir nöroendokrin ağın varlığı dikkati çekmiştir. Leptinin ana etki mekanizması, birçok hipofizer hormonun regülasyonunda görev alan ve asıl etkisi iştahı arttırmak olan NPY'nin ARC'den ekspresyonunu ve salınımını inhibe etmektir. Ghrelin ve leptin, "Ying-Yang" prensibi mekanizması dahilinde organizmada görev yapmaktadırlar. Diğer bir anlatımla hipotalamusta bulunan Y nöronları aracılığı ile ghrelin/leptin derişimleri "feed back" mekanizma ile kontrol edilmektedir. Artmış NPY aktivitesi gonadotropin aksını ve seksüel olgunlaşmayı inhibe eder ayrıca gıda kısıtlaması ve enerji azlığında direk etki gösterir. Leptin hipotalamustan NPY salınımını etkilediği

böylece reproduktif fonksiyon ve seksüel olgunlaşmada rol oynadığı düşünülmektedir. İyi beslenme koşullarında artan leptin düzeyi NPY aktivitesini baskılar. Leptin ayrıca NPY'yi inhibe edip gonadotropinlerin ve seks steroidlerinin sentezini stimüle eder (150). Obestatin insanlarda kilo alımı ve enerji tüketiminde ghreline ters etkiler oluşturur (128). Desaçil ghrelin'in yetişkin erkek ratlara akut olarak verilmesi açıl ghrelinin LH sekresyonu üzerine olan inhibe edici etkisine benzer etkiler oluşturmaktadır. Ayrıca tekrarlayan dozlarda desaçil ghrelin uygulamaları, pubertada gonadotropin aksının aktivasyonunun parsiyel süpresyonunda açıl ghrelin kadar etkilidir (151). Obestatin'in reproduktif fonksiyonlara etkisi hakkındaki bilgiler rodentler üzerinde yapılan deneylerden elde edilen bilgiler ile sınırlıdır. Son dönemde yapılan bir çalışmada obestatin in domuz overinde granüloza hücre proliferasyonu, apoptozisi ve progesteron sekresyonunu stimüle ederek granüloza hücre fonksiyonlarını direk olarak kontrol edebileceği belirtilmektedir (152). Ayrıca serum leptin seviyeleri obestatin tedavisinden etkilenmemektedir (153). Normal menstrüel siklusu olan kadınlardaki endometrium dokusundaki ghrelin ekspresyonu ile ilgili çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Menstrüel siklusun proliferatif fazında ve stromal hücrelerde immunohistokimyasal ekspresyonun olmadığını (154) proliferatif fazda zayıf, sekretuar fazda özellikle glandüler hücrelerde şiddetli ekspresyonun olduğunu (155) belirten az sayıda yayın mevcuttur. Endometrioziste ghrelin ekspresyonunu araştıran çalışma olmamakla birlikte immunohistokimyasal olarak overden kaynaklanan bazı benign ve malign tümörlerde GHS-R1a ekspresyonunda farklı sonuçlar bulunmuşlardır (156). Bu çalışma literatür taramasında olmayan ELISA ve immunohistokimyasal yöntem ile ötopik endometrium doku örneklerinde obestatin, ektopik endometrium doku örneklerinde ghrelin ve obestatin ekspresyonunu araştıran ilk çalışma özelliğine sahiptir. Ghrelinin hem ligand hem de reseptör komponentlerinin her ikisinin de endometrium dokusunda var olması, bu yeni molekülün ötopik endometrium ve ektopik endometriumda obestatin ile birlikte fizyolojik ve patolojik durumlarda rollerinin olabileceği fikrine yol açmıştır.

Bu çalışma: (i) overiyan endometrioma ve peritoneal endometriozisli hastalarda serum ve doku örneklerinden total ghrelin, açillenmiş ghrelin, desaçil ghrelin ve obestatin seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre değişiklik gösterip

göstermediğini; (ii) Ghrelin ve obestatinin immunohistokimyasal olarak ekspresyonunun olup olmadığı ve kontrol grubuna göre değişiklik gösterip göstermediğini ortaya çıkarmak için yapılmıştır.

2. MATERİYAL METOD

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ile Patoloji Anabilim Dalı Kliniğinde Ocak 2008- Ocak 2009 tarihleri arasında, FÜTF Dekanlığı Etik Kurulu tarafından 11.07.2008 597 kararı ile onaylandıktan sonra başlatıldı. Hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek, aydınlatılmış onamları alındıktan sonra histopatolojik olarak overiyan ve peritoneal endometriozis tanısı konulan 30 olgu ile kliniğe başvuran laparoskopik ve ultrasonografik olarak tamamen normal pelvik bulgulara sahip 15 gönüllü katılımcı üzerinde yürütüldü.

2.1. Hasta Seçimi ve Takibi:

Çalışmaya, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran histopatolojik olarak overiyan ve peritoneal endometriozis tanısı konulan 30 olgu ile kliniğe başvuran laparoskopik ve ultrasonografik olarak tamamen normal pelvik bulgulara sahip 15 gönüllü katılımcı dahil edildi.

Olguların seçiminde, yaş ve BMI (Body Mass Index) sınırlaması yapılarak 18-40 yaşları arasında BMI'i 18.5 - 24.9 kg/m² olgular çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tüm olguların, başlangıçta ayrıntılı medikal, cerrahi, obstetrik ve jinekolojik öyküleri alınıp, fizik muayenesinde; boy, kilo, kan basıncı ölçümleri yapılarak, BMI standart formül olan vücut ağırlığı (kg) / boyun karesi (m²) olarak, hesaplanmıştır. Olguların tümü galaktore yönünden değerlendirilip, tiroid bezi ve pelvik muayeneleri yapılarak kayıtları tutuldu. Çalışmaya dahil edilen endometriozisli olgulardan, yapılan incelemelerde endometriozis dışında overiyan veya adneksiyal kitlesi olan olgular, myom veya polip ile uyumlu laparoskopik ve ultrasonografik bulguları olan ya da malignite şüphesi, Turner sendromu, tıkalı uyku apnesi, epilepsi, kronik böbrek yetmezliği, hipertansiyon, fonksiyonel dispepsi, Diabet ya da Gestasyonel Diyabet öyküsü, gastrik yada intestinal cerrahi öyküsü, hepatik veya hematolojik hastalığı olanlar, son üç ay içinde herhangi bir nedenden dolayı medikal tedavi almış olanlar, Cushing Sendromu, 21 hidroksilaz eksikliği, konjenital adrenal hiperplazisi, tiroid disfonksiyonu, hiperprolaktinemi gibi herhangi bir endokrin bozukluğu olan olgular çalışma dışında tutuldu. Kontrol grubu ise endometriozis dahil diğer pelvik ve endokrinolojik patolojisi olmayan tamamen sağlıklı olgulardan seçildi.

Çalışmaya dahil edilen olgular üç gruba ayrıldı:

Grup I: Laparoskopik ve ultrasonografik olarak pelvik patolojisi olmayan olgular (n:15)

Grup II: Overiyan endometriozisi olan olgular (n:15)

Grup III: Peritoneal endometriozisi olan olgular (n:15)

Grup II ve Grup III'de Endometriozis tanısı için histopatolojik incelemede endometrial gland, stroma ve hemosiderinli makrofajlardan ikisinin varlığı tanı kriterleri için esas alındı.

2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması:

Çalışma için grup II ve grup III den operasyon öncesi grup I den ise postoperatif olmak üzere her üç gruptan 5 ml kan örnekleri bir gecelik açlık sonrası alınıp, alınan örnekler 4000 rpm 10 dk oda ısısında santrifüj edildikten sonra ghrelin ve obestatin miktarlarının doğru ölçülebilmesi amacıyla her bir ml örnek için bir proteaz inhibitörü olan 20-30 µl aprotinin/ml (400 kallikrein inactivator units, KIU) ve 1/10 hacim kadar 1 N HCl eklendi. Bu örnekler çalışılana kadar – 20 °C'de saklandı. Ektopik ve ötopik endometrium doku örnekleri ise cerrahi olarak çıkarılıp Grup II ve Grup III için histopatolojik olarak endometriozis doğrulandıktan sonra eşzamanlı yapılan endometrial doku biopsisi ve Grup I için histopatolojik olarak normal ötopik endometrium örneklerinden her olgu için bir kısım örnek immunohistokimyasal boyama için formolde tespit edilerek saklandı, yaklaşık 15 mg doku ise peptidlerin proteazlar tarafından parçalanmasını önlemek için 100 °C'de 5 dakika kaynatma işlemine tabii tutulduktan sonra doku; demir moldta ezilerek PBS (%5, w/v) içerisinde homojenize edildi. Homojenasyon 4000 rpm 10 dk oda ısısında santrifüj edilerek üstte kalan berrak (supernatant) kısım ghrelin ve obestatin miktarlarının doğru ölçülebilmesi amacıyla her bir ml örnek için bir proteaz inhibitörü olan 20-30 µl aprotinin/ml (400 kallikrein inactivator units, KIU) ve 1/10 hacim kadar 1 N HCl eklendi. Örnekler çalışılana kadar – 20 °C'de saklandı.

2.3. İmmunohistokimyasal Yöntem:

Çalışmaya dahil edilen tüm ektopik ve ötopik endometrial dokulara Fırat Üniversitesi Patoloji Anabilimdalı laboratuvarında olguların ghrelin ve obestatin ekspresyonunu immunohistokimyasal yöntem ile belirlemek için formalin ile fikse parafine gömülü dokulardan Poly-L- Lysine ile kaplı lamlara minör modifikasyonlar

(Lab Vision Corporation, USA) ile avidin-biyotin-peroksidaz kompleks (ABC) tekniği kullanarak 5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Tüm kesitler deparafinize edilmek üzere 15 dakika etüvde 56°C’de bekletildi. 20 dakika içinde 5 ksilenden geçirilmek suretiyle devam eden deparafinizasyondan sonra yine 20 dakika içinde İnen alkol serilerinden (%96,%90, %80, %70) geçirilip rehidrate edildi. Distile suda 5 dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivite % 3’ lük Hidrojen Peroksit(H₂O₂) ile 10 dakika bloke edildi. ABC üretim protokolüne uygun olarak hazırlandı. Doku kesitleri mikro dalga fırında Citrate Buffer (ph:6) içerisinde 800 W 5+5 dakika ve 640 W 5 dakika uygulama yapıldı. Mikrodalgadan sonra 20 dakika oda ısısında bekletildi. Sonra 0,01 M Fosfat Buffered Saline (PBS) (Ph:7,4) ile yıkandı. Kesitlerin etrafı kurularak cam kalemi ile çizildi. Nonspesifik antikor bağlanmasını önlemek için 10 dakika bloke edici ajan Ultra V Blok inkübe edildi. Ardından kesitlere rabbit anti-ghrelin (human) (1/400 dilüe) (Phoenix Inc.) primer antikor 38 °C’de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından PBS ‘de yıkanarak biotinylated Goat Antiserum (Lab Vision Corporation) ile 38°C’de 10 dakika inkübe edildi. Tekrar PBS’de yıkandıktan sonra Streptavidin-Biyotin-Peroksidaz kompleks her kesite 10 dakika süre ile inkübe edildi. Kesitler iki defa 5 dakika süre ile PBS ‘de yıkandı. Kromogen olarak Aminoetil Karbazol (AEC) damlatılarak 10 dakika süre renk alıncaya kadar inkübasyona bırakıldı. Tüm kesitler çeşme suyunda yıkanarak zıt boyama sağlamak için Mayer Hematoksilende 1-2 dakika bekletildi. 5 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra dokulara zarar verilmeden kenarları silindi. Kesitler Ultramount ile kapatıldı. Işık mikroskopu altında değerlendirildi. Obestatin ekspresyonunu saptamak için aynı aşamalardan oluşan immunohistokimyasal yöntemde Anti Obestatin antikorı (Phoenix Inc.) primer antikor olarak uygulandı. Kesitlerdeki Ghrelin ve obestatin immunhistokimyasal boyanması semikantitatif bir yöntem ile değerlendirildi. Tüm ektopik ve ötopik endometrial dokuların değerlendirilmesinde stromal, glandüler ve luminal hücreler göz önüne alındı. Ghrelin ve obestatin stromal, glandüler ve luminal hücrelerdeki sitoplazmik immun boyanma şiddeti açısından;

0: boyanma yok

+: az boyanma

++: orta yoğunlukta boyanma

+++ : kuvvetli yoğunlukta boyanma olarak değerlendirilmiştir

2.4. Enzim immunoassay (EIA) ve ELISA:

Kan, ektopik ve ötopik endometrium dokularından elde edilen örneklerden obestatin düzeyleri; BACHEM marka (Peninsula Laboratories, LLC, a member of the BACHEM group, San Carlos, CA 94070, USA) Human Obestatin EIA kiti kullanılarak [Lot No: S-1284, limit determinasyonu 0-25000 pikogram (pg/ml)] kullanılarak üretici firmanın katoloğunda belirttiği şekilde çalışıldı.

Kan, ektopik ve ötopik endometrium dokularından elde edilen örneklerden Millipore (Cat.EZGRA-88K) marka Human Ghrelin (Active) ELİSA kiti kullanılarak [LOT No.1460610, determinasyonu 3,6-63.5 pikogram/mililitre (pg/ml), intra assay katsayısı %7.0, inter assay katsayısı %8.2] ve T-Ghr aynı firma tarafından üretilen (Cat.EZGRT-89K) Human Ghrelin (Total) ELISA kiti [LOT No. Egt-2K, determinasyonu aralığı 170-352 pg/ml, intra assay katsayısı %6.3, inter assay katsayısı %7.0] kullanılarak üretici firmanın katoloğunda belirttiği şekilde çalışıldı. Deaçil ghrelin düzeyleri total ghrelin değerlerinden açıl ghrelin değerlerinin matematiksel olarak çıkarılması ile belirlendi. Her üç gruptaki tüm olgulardan alınan venöz kan, ektopik ve ötopik endometriyum dokularından elde edilen örneklerde belirlenen açıl ghrelin, desaçil ghrelin, total ghrelin ve obestatin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması yapılarak immunohistokimyasal boyama ile korelasyonu araştırıldı.

2.5. İstatistiksel Değerlendirme:

İstatistiksel analizler için SPSS 12.0 paket programı kullanıldı. Veriler ortalama±standart deviasyon, şeklinde ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında One-Way ANOVA post hock test olarak tukey's testleri kullanıldı P< 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Grup I; Laparoskopik ve ultrasonografik olarak pelvik patolojisi olmayan 15 olgu, grup II; overiyan endometriozisi olan 15 olgu, grup III; peritoneal endometriozisi olan 15 olgudan oluşuyordu. Demografik özellikleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, grup I, grup II ve grup III arasında yaş ortalamaları (29.00 ± 5.34 , 31.20 ± 5.53 ve 30.88 ± 5.71), VKİ (22.02 ± 2.24 , 22.87 ± 1.39 ve 21.67 ± 1.35) ve bel/kalça çevresi oranı (0.71 ± 0.07 , 0.75 ± 0.06 ve 0.74 ± 0.06) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı ($p > 0.05$) saptandı. (Tablo 4)

Tablo 4. Kontrol ve çalışma gruplarının demografik özellikleri.

	GrupI(n:15)	GrupII(n:15)	GrupIII(n:15)	P değeri
Yaş (yıl)	29.00 ± 5.34	31.20 ± 5.53	30.88 ± 5.71	0.225
VKİ (kg/m²)	22.02 ± 2.24	22.87 ± 1.39	21.67 ± 1.35	0.178
Bel/Kalça oranı	0.71 ± 0.07	0.75 ± 0.06	0.74 ± 0.06	0.176

(Ortalama $\pm$ standart sapma. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$)
(n: olgu sayısı)

3.1. Enzim immunoassay(EIA)

Overiyan endometriyoma, peritoneal endometriozis ve kontrol grubu hastaların proliferatif ve sekretuar faz serum total ghrelin, açile ghrelin, desaçile ghrelin düzeyleri karşılaştırıldığında grup içi ve gruplar arası anlamlı farklılık bulunmadı. (Tablo 5) ($p = 0 > 0.05$).

Overiyan endometriyoma, peritoneal endometriozis ve kontrol grubu hastaların serum proliferatif ve sekretuar faz obestatin düzeyleri karşılaştırıldığında grup içi ve gruplar arası anlamlı farklılık bulunmadı. ($p = 0 > 0.05$). (Tablo 6)

Overiyan endometriyoma, peritoneal endometriozis ve kontrol grubu hastaların proliferatif ve sekretuar faz ötopik endometrium doku total ghrelin, açile ghrelin, desaçile ghrelin düzeyleri grup içi karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. (Tablo7) ($p = 0 > 0.05$). Ancak proliferatif faz ve sekretuar faz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sekresyon fazında proliferatif faza göre anlamlı farklılık bulundu. (Tablo7) (**$p = 0.000$**).

Tablo 5. Kontrol ve çalışma gruplarının serum proliferatif ve sekretuvar faz ghrelin düzeyleri.(pg/ml)

Serum proliferatif faz				
Örnekler	GrupI(n:6)	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Açile Ghrelin	225.50±43.56	216.71±30.84	225.00±37.12	0.987
Desaçile Ghrelin	486.33±148.46	498.42±114.58	532.77±132.86	0.927
Total Ghrelin	711.83±121.94	715.14±115.26	746.66±132.67	0.972
Serum sekretuvar faz				
Örnekler	GrupI(n:9)	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Açile Ghrelin	200.11±22.57	213.37±26.83	222.66±22.72	0.153
Desaçile Ghrelin	503.00±112.74	522.00±116.85	513.50±97.10	0.997
Total Ghrelin	703.11±124.17	735.37±113.07	736.16±115.62	0.975

(Ortalama ± standart sapma. İstatistiksel anlamlılık *P<0.05) (n: olgu sayısı)

Tablo 6. Kontrol ve çalışma gruplarının serum proliferatif ve sekretuvar faz obestatin düzeyleri.(ng/ml)

Serum proliferatif faz				
Örnekler	GrupI(n:6)	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Obestatin	41.38±7.07	37.25±8.89	38.16±8.10	0.732
Serum sekretuvar faz				
Örnekler	GrupI(n:9)	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Obestatin	38.88±8.61	36.10±9.05	36.08±7.51	0.949

(n:olgu sayısı)

Overiyan endometriyoma, peritoneal endometriozis ve kontrol grubu hastaların proliferatif ve sekretuvar faz ötopik endometrium doku obestatin düzeyleri grup içi karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 8). Ancak proliferatif faz ve sekretuvar faz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sekresyon fazında proliferatif faza göre anlamlı farklılık bulundu. (Tablo 8) ($p=0.000$).

Tablo 7. Kontrol ve çalışma gruplarının ötopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz doku ghrelin düzeyleri.(pg/ml)

Ötopik endometrium proliferatif faz				
Örnekler	GrupI(n:6)	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Açile Ghrelin	198.83±17.47	171.85±50.35	178.77±29.38	0.313
Desaçile Ghrelin	1118.66±302.62	1020.57±191.70	936.00±121.68	0.168
Total Ghrelin	1317.33±299.18	1192.42±185.58	997.00±388.93	0.079
Ötopik endometrium sekretuar faz				
Örnekler	GrupI(n:9)	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Açile Ghrelin	527.22±97.64	597.75±120.53	554.33±90.60	0.640
Desaçile Ghrelin	1962.33±156.99	1869.50±203.85	1816.50±142.70	0.233
Total Ghrelin	2499.33±207.49	2466.00±174.98	2370.66±207.09	0.512

(n: olgu sayısı)

Tablo 8. Kontrol ve çalışma gruplarının ötopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz doku obestatin düzeyleri.(pg/ml)

Ötopik endometrium proliferatif faz				
Örnekler	GrupI(n:6)	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Obestatin	30.00±8.94	31.42±10.69	34.44±16.66	0.939
Ötopik endometrium sekretuar faz				
Örnekler	GrupI(n:9)	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Obestatin	311.11±126.92	287.50±112.59	350.00±104.88	0.711

(n: olgu sayısı)

Overiyan endometriyomalı ve peritoneal endometriozisli grupların proliferatif ve sekretuar faz ektopik endometrium doku ghrelin düzeyleri grup içi karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 9). Ancak proliferatif faz ve sekretuar faz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sekresyon fazında proliferatif faza göre anlamlı farklılık bulundu. (Tablo 9) ($p=0.000$).

Tablo 9. Çalışma gruplarının ektopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz doku ghrelin düzeyleri.(pg/ml)

Ektopik endometrium proliferatif faz			
Örnekler	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Açile Ghrelin	208.85±35.58	202.55±29.38	0.964
Desaçile Ghrelin	987.42±177.08	990.77±105.64	0.999
Total Ghrelin	1196.28±170.62	1182.00±97.82	0.999

Ektopik endometrium sekretuar faz			
Örnekler	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Açile Ghrelin	619.12±140.41	580.16±122.51	0.913
Desaçile Ghrelin	2100.00±381.94	1979.50±164.55	0.763
Total Ghrelin	2718.87±418.67	2559.66±265.53	0.660

(n: olgu sayısı)

Overiyan endometriyomalı ve peritoneal endometriozisli grupların proliferatif ve sekretuar faz ektopik endometrium doku obestatin düzeyleri grup içi karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 10). Ancak proliferatif faz ve sekretuar faz grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sekresyon fazında proliferatif faza göre anlamlı farklılık bulundu. (Tablo 10) ($p=0.000$).

Tablo 10. Çalışma gruplarının ektopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz doku obestatin düzeyleri.(ng/ml)

Ektopik endometrium proliferatif faz			
Örnekler	GrupII(n:7)	GrupIII(n:9)	P değeri
Obestatin	34.28±9.75	30.00±12.24	0.828

Ektopik endometrium sekretuar faz			
Örnekler	GrupII(n:8)	GrupIII(n:6)	P değeri
Obestatin	287.50±83.45	283.33±116.90	0.660

(n: olgu sayısı)

Kontrol ve çalışma gruplarının proliferatif faz ötopik ve ektopik endometrium doku ghrelin düzeyleri grup içi ve gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 11)

Tablo 11. Kontrol ve çalışma gruplarının proliferatif faz ötopik ve ektopik endometrium doku ghrelin düzeyleri (pg/ml).

Proliferatif faz	n	Açile Ghrelin	Desaçile Ghrelin	Total Ghrelin
Grup(I) ötopik	6	198.83±17.47	1118.66±302.62	1317.33±299.18
Grup(II) ötopik	7	171.85±50.35	1020.57±191.70	1192.42±183.58
Grup(II) ektopik	7	208.85±35.58	987.42±177.08	1196.28±170.62
Grup(III) ötopik	9	178.77±29.38	936.00±121.68	1114.77±109.11
Grup(III) ektopik	9	202.55±11.24	990.77±105.64	1182.00±97.82
P değeri		0.177	0.313	0.189

(n: olgu sayısı)

Kontrol ve çalışma gruplarının sekretuar faz ötopik ve ektopik endometrium doku Ghrelin düzeyleri grup içi ve gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 12).

Tablo 12. Kontrol ve çalışma gruplarının sekretuar faz ötopik ve ektopik endometrium doku ghrelin düzeyleri (pg/ml).

Sekretuar faz	n	Açile Ghrelin	Desaçile Ghrelin	Total Ghrelin
Grup(I) ötopik	9	537.22±97.64	1962.33±156.99	2499.33±207.49
Grup(II) ötopik	8	597.75±120.53	1869.50±203.85	2466.00±174.98
Grup(II) ektopik	8	619.12±140.41	2100.00±381.94	2718.87±418.67
Grup(III) ötopik	6	554.33±90.60	1816.50±142.70	2370.66±207.09
Grup(III) ektopik	6	580.16±122.51	1979.50±164.15	2559.66±265.53
P değeri		0.671	0.170	0.132

(n: olgu sayısı)

Kontrol ve çalışma gruplarının proliferatif ve sekretuar faz ötopik ve ektopik endometrium doku obestatin düzeyleri grup içi ve gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. ($p=0>0.05$). (Tablo 13).

Tablo 13. Kontrol ve çalışma gruplarının proliferatif ve sekretuar faz ötopik ve ektopik endometrium doku obestatin düzeyleri (pg/ml).

Proliferatif faz	n	Obestatin
Grup(I) ötopik	6	30.00±8.94
Grup(II) ötopik	7	31.42±10.69
Grup(II) ektopik	7	34.28±9.75
Grup(III) ötopik	9	34.44±16.66
Grup(III) ektopik	9	30.00±12.24
P değeri		0.957
Sekretuar faz	n	Obestatin
Grup(I) ötopik	9	311.11±126.92
Grup(II) ötopik	8	287.50±112.59
Grup(II) ektopik	8	287.50±83.45
Grup(III) ötopik	6	350.00±104.88
Grup(III) ektopik	6	283.33±116.90
P değeri		0.781

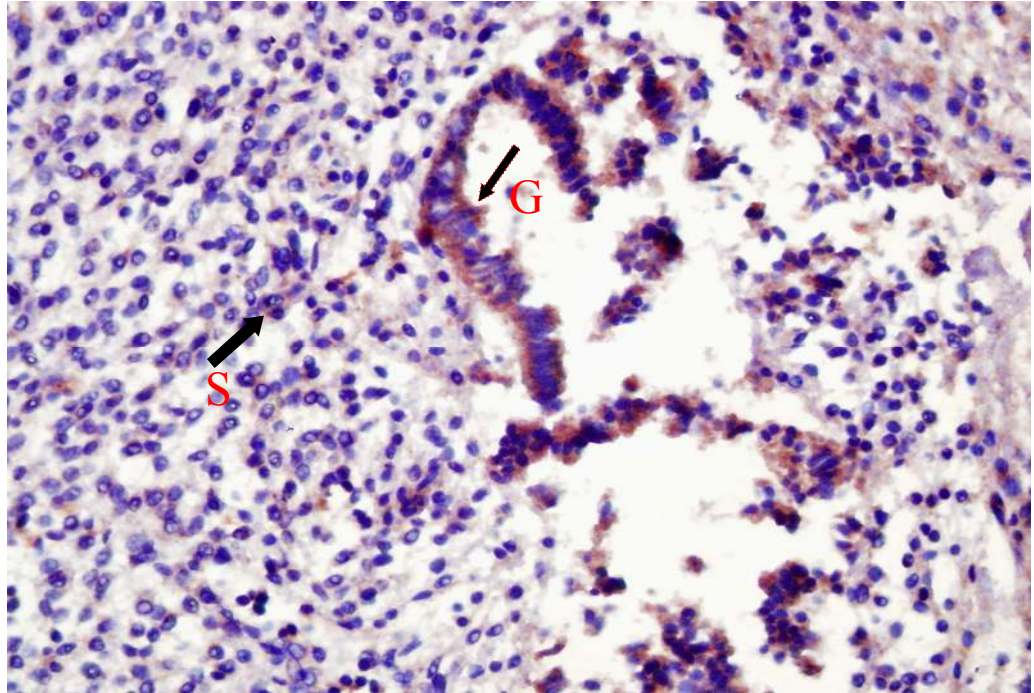
(n: olgu sayısı)

Grup içi ve gruplar arası yapılan açile ghrelin, desaçile ghrelin, total ghrelin ve obestatin ekspresyonu düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. Ötopik ve ektopik endometrium dokusunda sekretuar fazda proliferatif faza göre anlamlı olarak daha yüksek ghrelin ve obestatin eksprese edildiği tespit edildi. Grupların serum düzeylerinde sekretuar ve proliferatif faz arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Ghrelinin esas üretim yeri mide glandüler hücreleri olduğundan

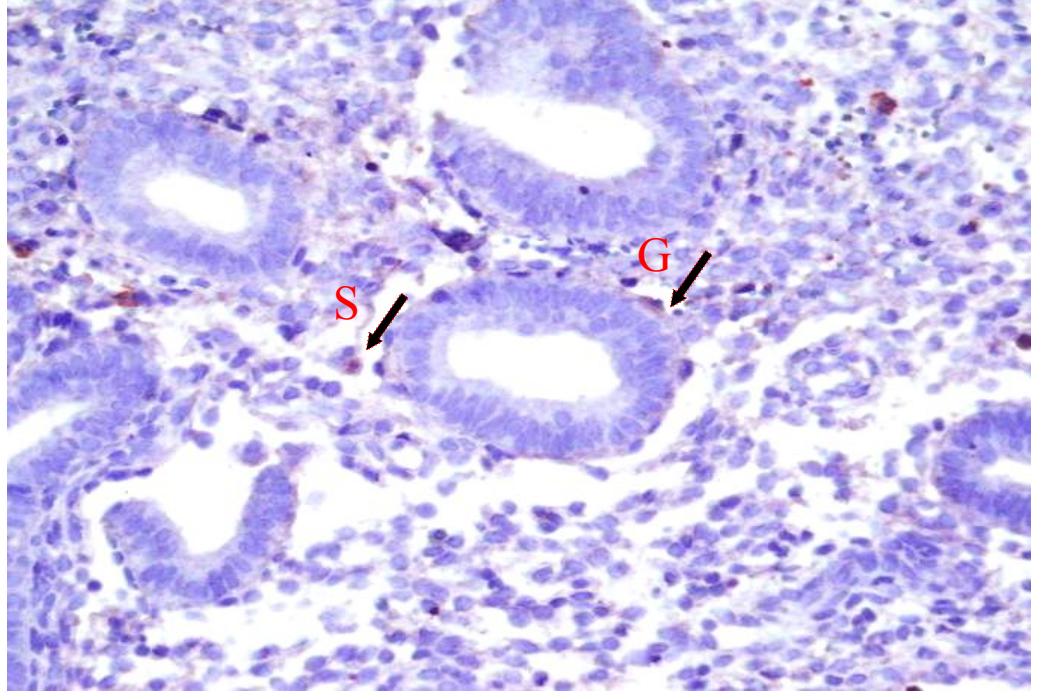
endometriozisde ekspresyon olmasına rağmen serum düzeylerinde farklılığa neden olmamaktadır.

3.2. İmmunohistokimya:

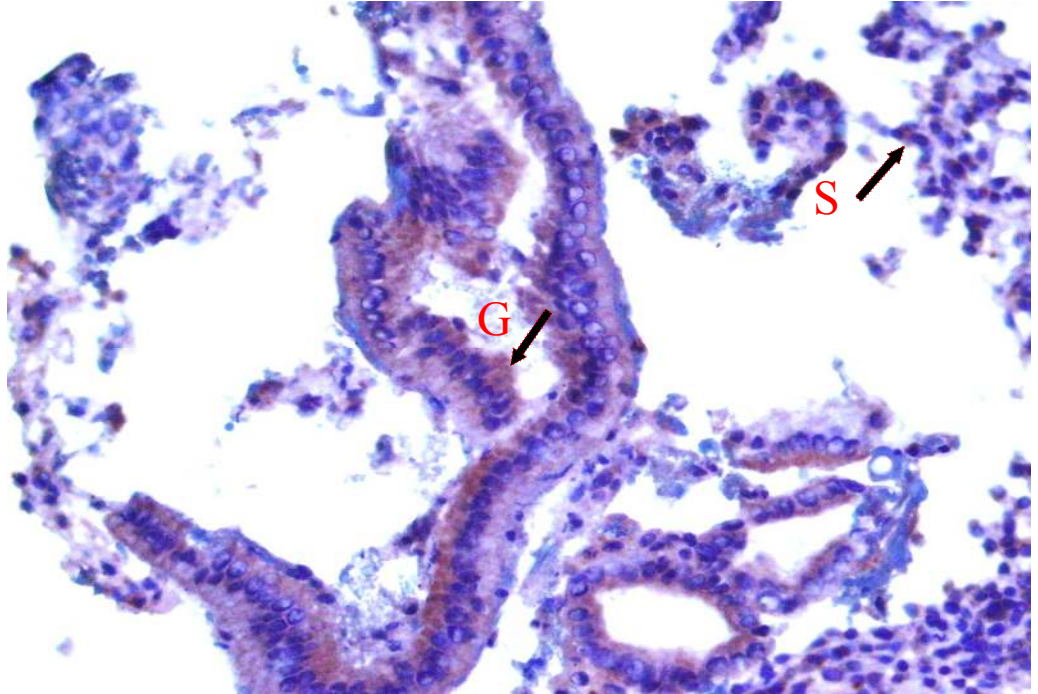
Yapılan analizler sonucunda grup I, grup II ve grup III olgulardaki ötopik endometriumda hem obestatin hem de ghrelin ekspresyonunun sekretuar fazda proliferatif faza göre özellikle glandüler hücrelerde daha belirgin olarak eksprese edildiği gözlemlendi. Stromal hücrelerde soluk boyanma olmasına rağmen ekspresyonda siklik varyasyon gözlenmedi (Şekil3-a, 3-b, 4-a, 4-b, 5-a, 5-b, 6-a, 6-b, 7-a, 7-b, 8-a, 8-b). Grup II (endometrioma) ve grup III (peritoneal endometriozis) ektopik endometriumunda glandüler hücrelerde hem ghrelin hem obestatin ekspresyonu sekretuar fazda proliferatif faza göre belirgin olarak gözlemlendi. Stromal hücrelerde soluk boyanma olmasına rağmen ekspresyonda siklik varyasyon gözlenmedi. (Şekil 9-a, 9-b, 10-a, 10-b)



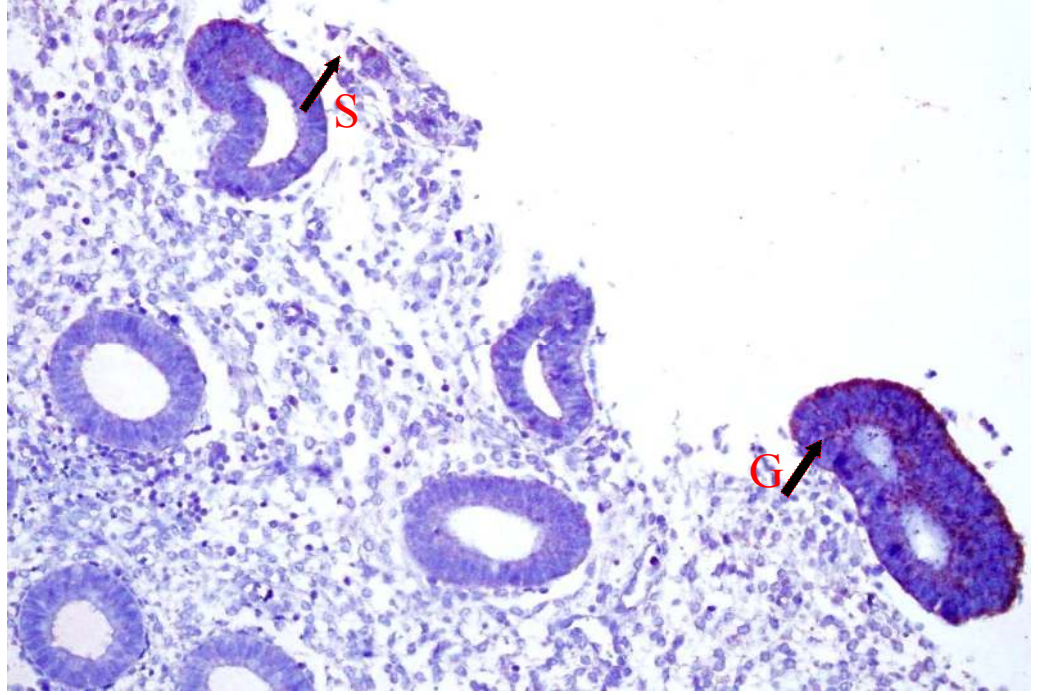
Şekil 3-a: Grup I ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x100).



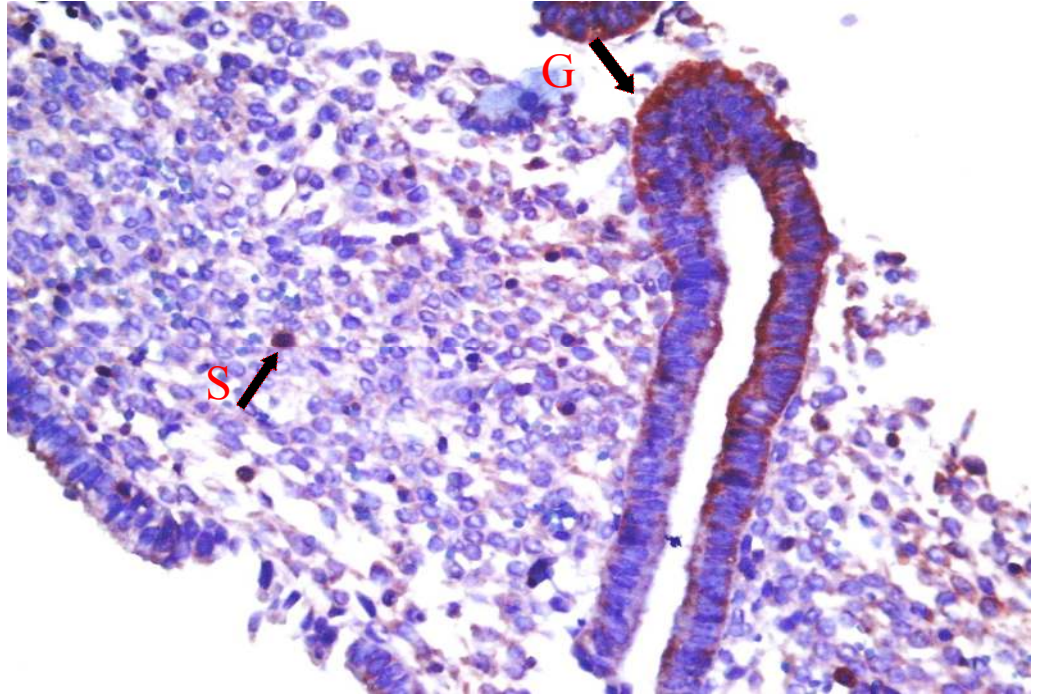
Şekil 3-b: Grup I ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stomal hücrelerde zayıf pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



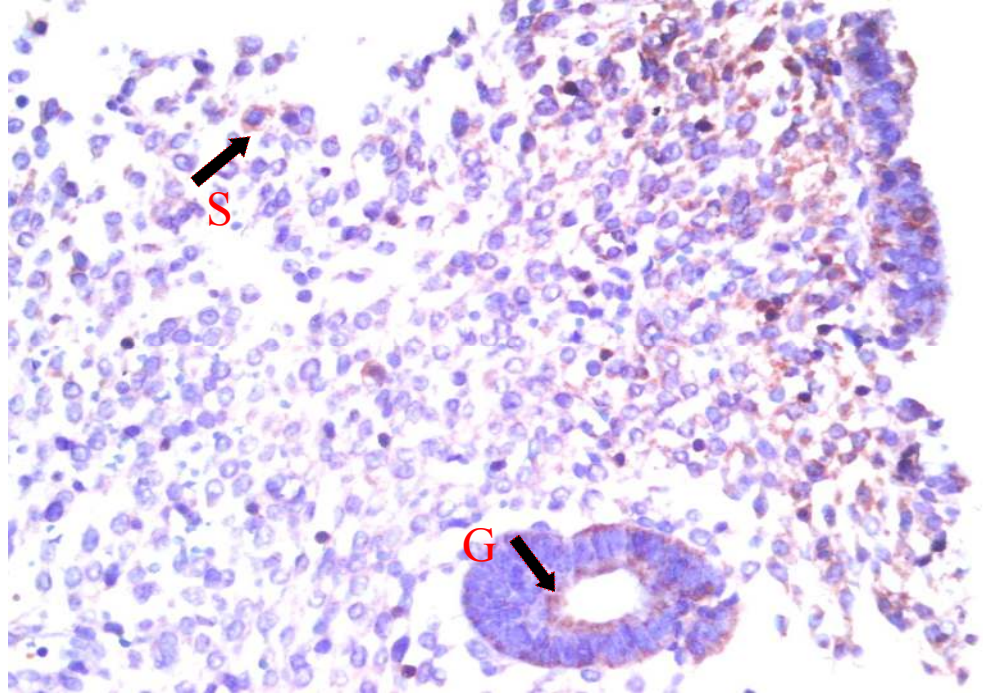
Şekil 4-a: Grup I ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



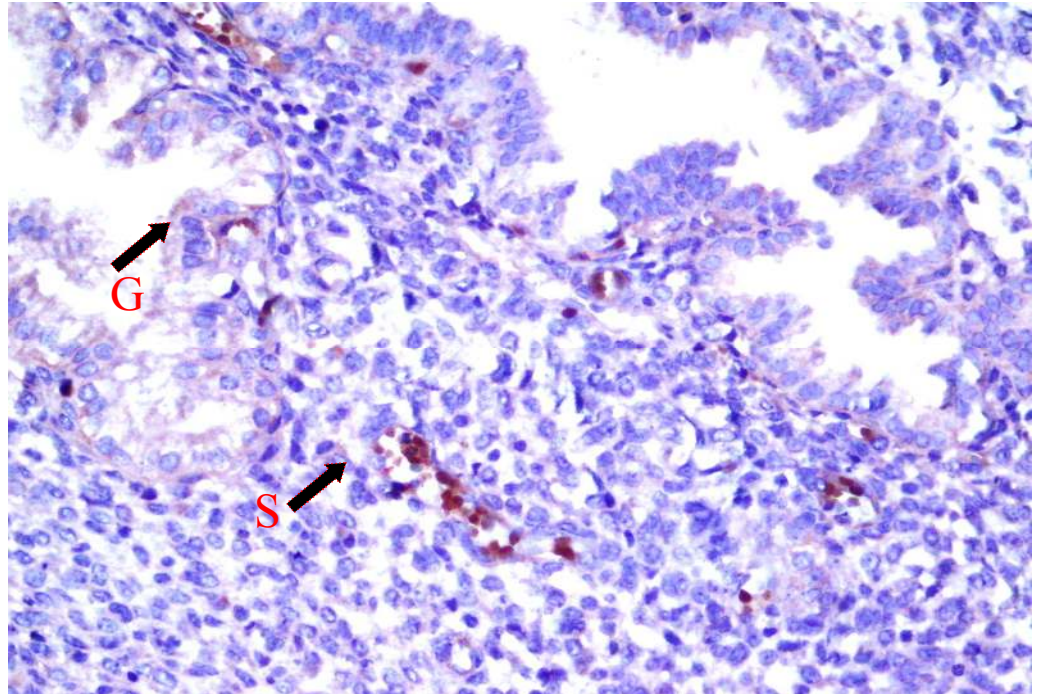
Şekil 4-b: Grup I ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stromal hücrelerde zayıf pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x100).



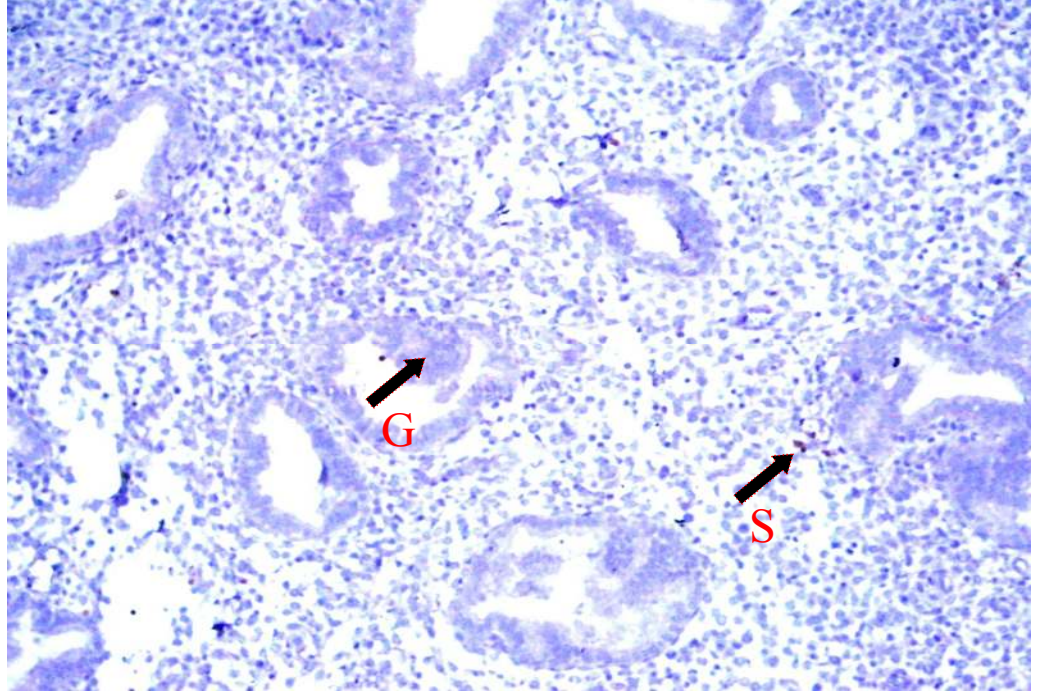
Şekil 5-a: Grup II ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



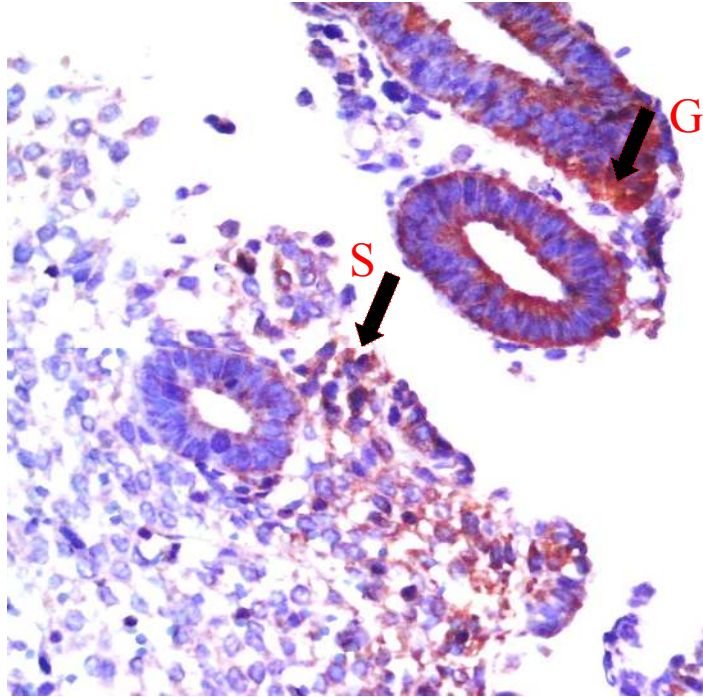
Şekil 5-b: Grup II ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stromal hücrelerde zayıf pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



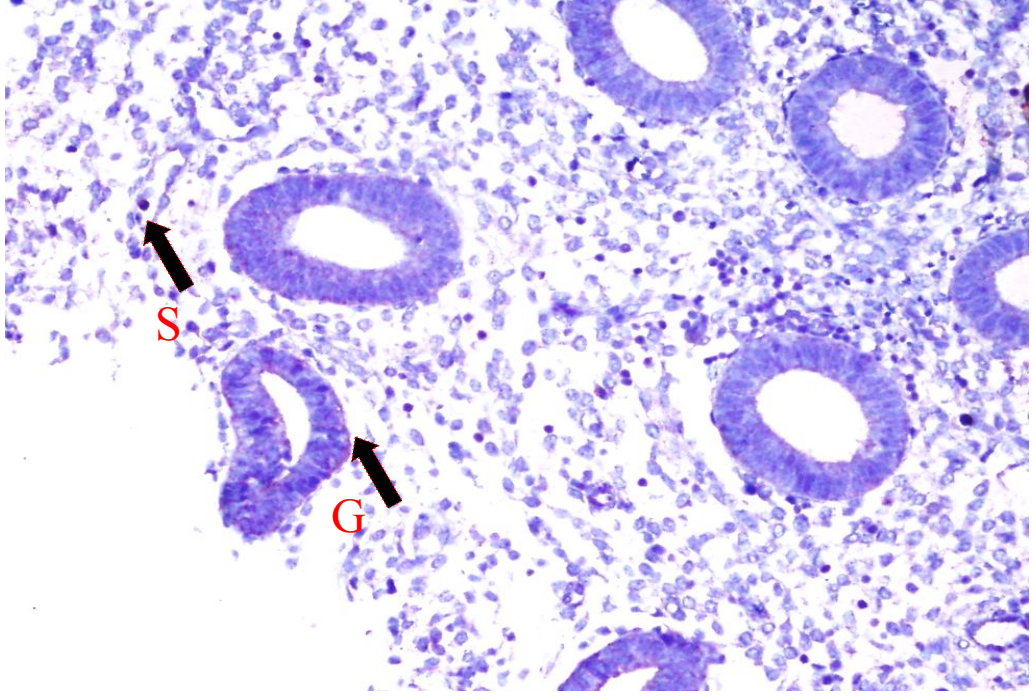
Şekil 6-a: Grup II ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler ve polimorf hücrelerde güçlü pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



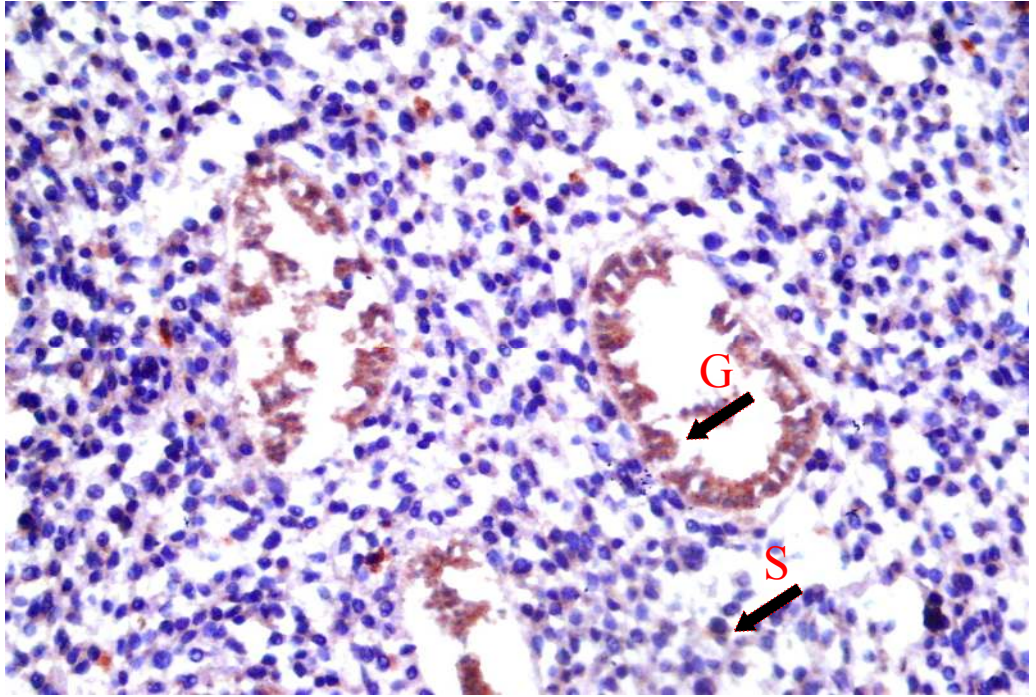
Şekil 6-b: Grup II ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stromal hücrelerde zayıf pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir. **S:** Stromal Hücreler, **G:** Glandüler Hücreler (x100).



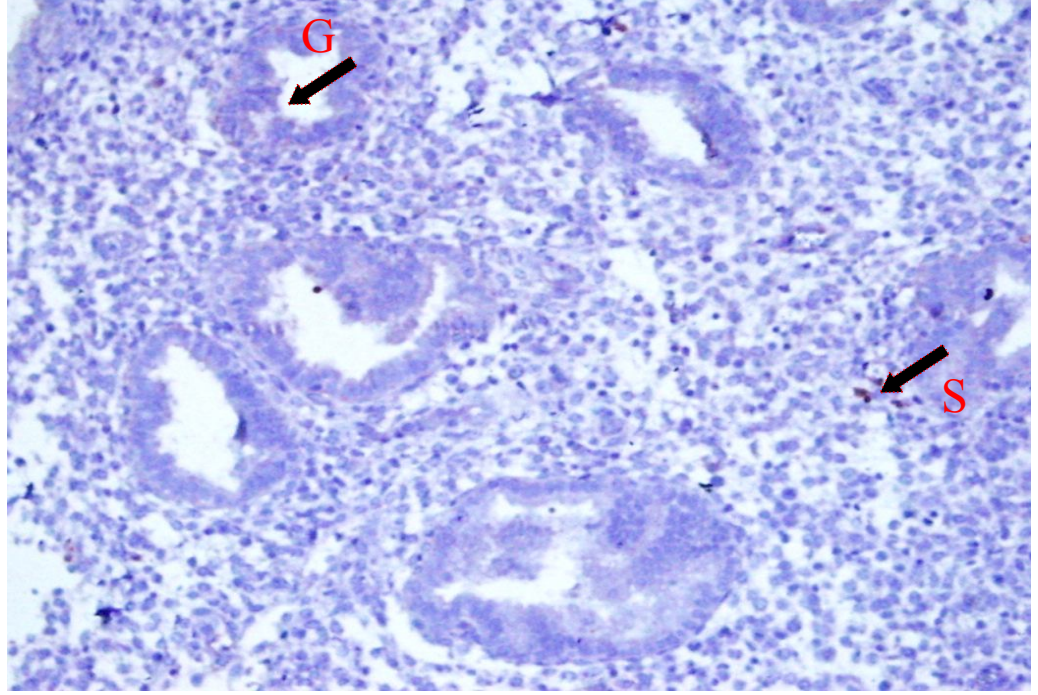
Şekil 7-a: Grup III ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir **S:** Stromal Hücreler, **G:** Glandüler Hücreler (x200).



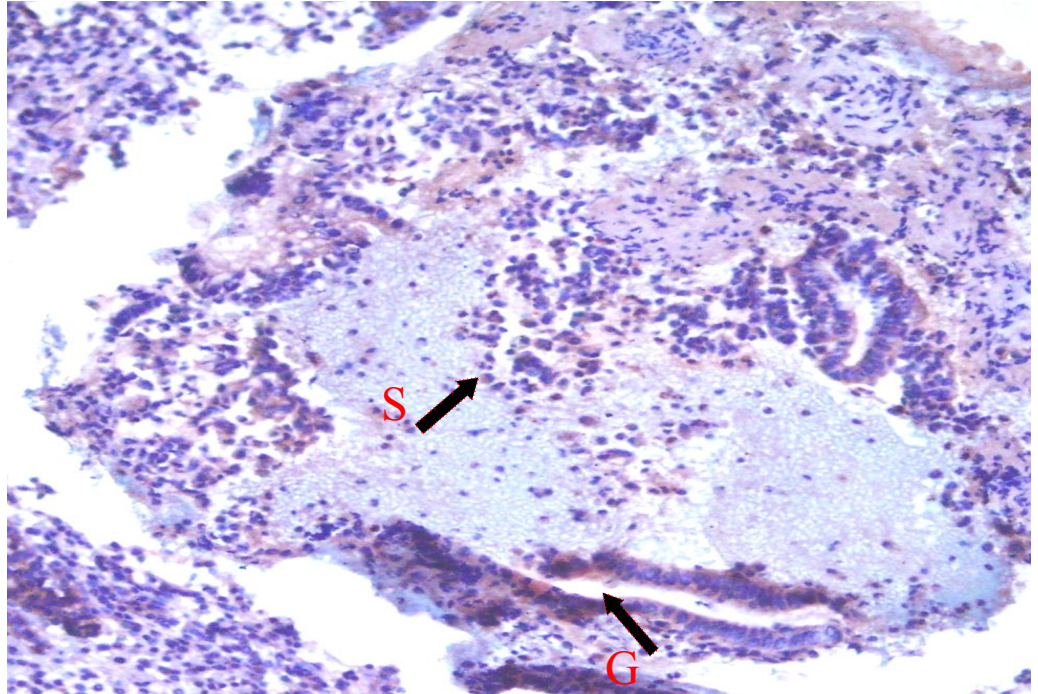
Şekil 7-b: Grup III ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stromal hücrelerde zayıf pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



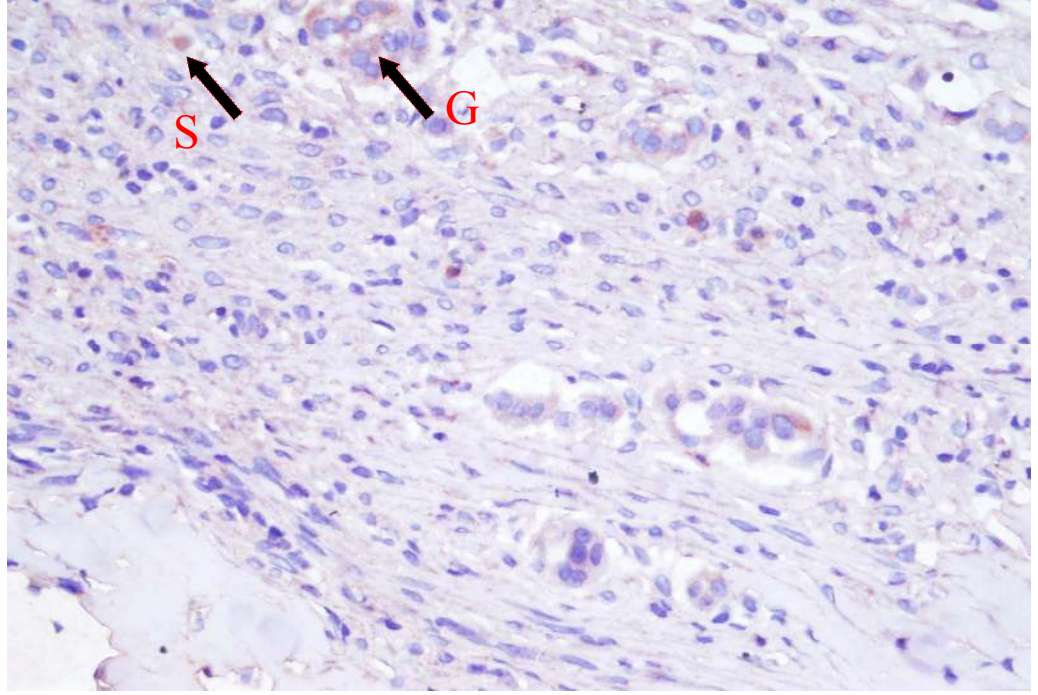
Şekil 8-a: Grup III ötopik sekretuar faz endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



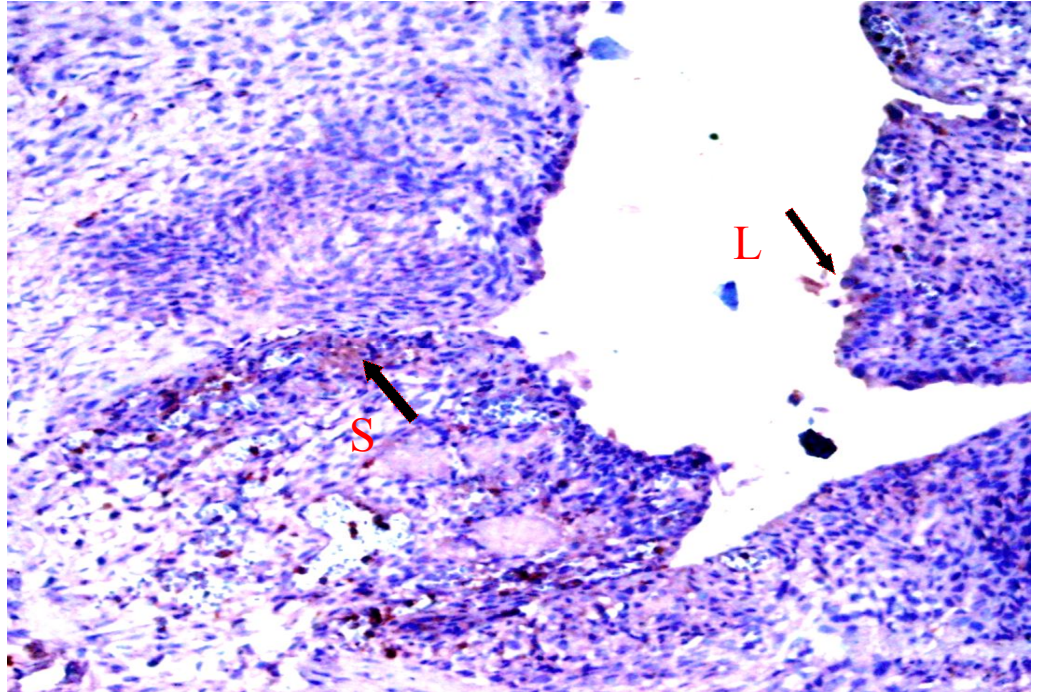
Şekil 8-b: Grup III ötopik proliferatif faz endometriumda glandüler ve stromal hücrelerde zayıf pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x100).



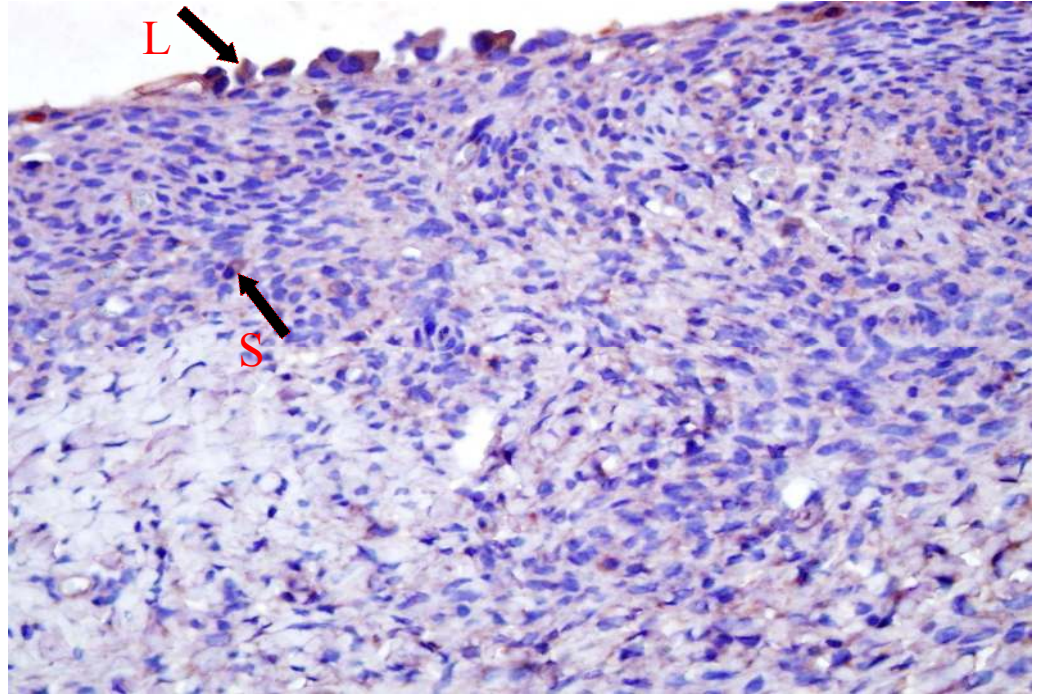
Şekil 9-a: Grup III ektopik (peritoneal endometriozis) endometriumda özellikle glandüler hücrelerde güçlü pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir peritoneal hücrelerde daha hafif pozitiflik izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x100).



Şekil 9-b: Grup III ektopik (peritoneal endometriozis) endometriumda glandüler güçlü pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir, peritoneal hücrelerde soluk şekilde ekspresyon izlenmektedir S: Stromal Hücreler, G: Glandüler Hücreler (x200).



Şekil 10-a: Grup II ektopik (overiyan endometrioma) endometriumda luminal ve stromal hücrelerde zayıf pozitif obestatin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, L: Luminal Hücreler (x40).



Şekil 10-b: Grup II ektopik (overiyan endometrioma) endometriumda luminal hücrelerde güçlü ve stromal hücrelerde zayıf pozitif ghrelin ekspresyonu izlenmektedir. S: Stromal Hücreler, L: Luminal Hücreler (x100).

Tablo 14: İmmunohistokimyasal olarak grupların ortalama ghrelin ekspresyonu

Örnekler	n	Yaş	Grup I	Grup II	Grup III
Endometrium	15	20-37	++	++	++
Overyan endometriyoma	15	23-38		++	
Peritoneal endometriozis	15	23-40			++

(n: olgu sayısı)

Tüm gruplarda menstrüel sıklımdan bağımsız (proliferatif ve sekretuar faz ayrımı yapılmaksızın) olarak immunohistokimyasal ghrelin ekspresyonu ++ orta şiddette saptandı. Grup içi ve gruplar arası karşılaştırıldığında farklılık bulunmadı.(tablo-14)

Tablo 15. İmmunohistokimyasal olarak grupların ortalama obestatin ekspresyonu

Örnekler	n	Yaş	Grup I	Grup II	Grup III
Endometrium	15	20-37	++	++	++
Overyan					
endometriyoma	15	23-38		++	
Peritoneal					
endometriozis	15	23-40			++

(n: olgu sayısı)

Tüm gruplarda menstrüel sıklüsten bağımsız (proliferatif ve sekretuar faz ayrımı yapılmaksızın) olarak imminohistokimyasal obestatin ekspresyonu ++ orta şiddette saptandı. Grup içi ve gruplar arası istatistiksel farklılık bulunmadı (Tablo 15).

Noyes kriterlerine göre endometrial tarihleme yapılarak grupların ötopik endometriumu proliferatif ve sekretuar faz olarak ayrıldığında proliferatif fazdan sekretuar faza doğru glandüler hücrelerde ghrelin ve obestatin immunreaktivitesinin arttığı stromal hücrelerde ise ekspresyonun daha az yoğunlukta, siklik varyasyonla beraber olmadığı gözlenmiştir (Tablo 16).

Tablo 16. İmmunohistokimyasal olarak grupların ötopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz ghrelin ve obestatinin glandüler hücrelerde ekspresyon şiddeti.

Boy.Şid.	GRUPI(n15) Ötop. E.		GRUPII(15) Ötop. E.		GRUPIII(15) Ötop. E.	
	Prolif.E	Sekr.E	Prolif.E	Sekr.E	Prolif.E	Sekr.E
+	5(+)		6(+)		6(+)	
++	1(++)	3(++)	1(++)	2(++)	3(++)	1(++)
+++		6(+++)		6(+++)		5(+++)

(n: olgu sayısı)

Noyes kriterlerine göre endometrial tarihleme yapılarak grupların ektopik endometrium doku biopsi örnekleri alındığında immünreaktivite şiddetinin ötopik endometrium proliferatif ve sekretuar faza göre ghrelin ve obestatinin ekspresyonunun değişiklik göstermediği gözlenmiştir. (Tablo 17)

Tablo 17. İmmunohistokimyasal olarak grupların ektopik endometrium proliferatif ve sekretuar faz ghrelin ve obestatinin glandüler hücrelerde ekspresyon şiddeti

Boy. Şid.	GRUPII(n:15) Ektop.E.		GRUPIII(n:15) Ektop.E.	
	Prolif.E	Sekr.E	Prolif.E	Sekr.E
+	6(+)		6(+)	
++	1(++)	2(++)	3(++)	1(++)
+++		6(+++)		5(+++)

(n: olgu sayısı)

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda gruplar kendi içlerinden proliferatif ve sekretuar faz alt gruplarına ayrıldığında gruplar arasında serum total ghrelin, açıl ghrelin, desaçıl ghrelin ve obestatin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık tespit edilmedi. Her üç grubun sekretuar fazı proliferatif faza göre ghrelin ve obestatinin ELİSA ve immunohistokimyasal yöntem ile anlamlı düzeyde yüksek ekspresyon olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada literatürdeki çalışmalardan farklı olarak overiyan endometrioma ve peritoneal endometirozisli hastaların serum, ötopik ve ektopik endometrium doku örneklerinden total ghrelin, açıl ghrelin, desaçıl ghrelin, obestatin düzeyleri ayrı ayrı belirlenmiş olup kontrol grubu serum örnekleri ve ötopik endometrium doku örnekleri ile karşılaştırmıştır. Ayrıca eş zamanlı ektopik ve ötopik endometrium doku örneklerinden immunohistokimyasal olarak ghrelin ve obestatin ekspresyonu çalışılmıştır. Bu çalışmada ELİSA yöntemi ve İmmunohistokimyasal yöntem ile ilk olarak ektopik endometrium doku örneklerinden ghrelin ekspresyonu belirlenmiştir. Yine aynı yöntemler ile hem ötopik hem de ektopik endometriumda obestatin ekspresyonu belirlenerek grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması yapılmıştır. İmmunohistokimyasal yöntem ile ghrelin ve obestatinin menstrüal siklus proliferatif fazında sekretuar faza göre ötopik endometrium dokusunda daha az şiddette eksprese edildiği gruplar kendi aralarında sekretuar ve proliferatif faz olarak alt gruplara ayrıldığında belirgin farklılık tespit edildiği gözlemlendi. Grup içi karşılaştırmada proliferatif faz grupları ve sekretuar faz grupları arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. Çalışma bu yönleri ile literatürde ilk olma özelliğine sahiptir.

Endometriozis, fonksiyonel endometrial bezlerin ve stromanın uterusdaki normal anatomik lokalizasyonundan farklı bir lokalizasyonda olması olarak tanımlanır. Pelvik ağrı ve infertilite gibi iki önemli klinik probleme neden olan kronik bir jinekolojik hastalıktır. Sampson tarafından etyolojiye yönelik ilk tarifi yapılabildiği 77 yıl geçmesine rağmen, insidansı böylesi yüksek bu hastalığın etyoloji ve fizyopatolojisi hala tam açıklanamamıştır. Son zamanlarda ghrelin geni tarafından kodlanan üç hormon keşfedilmiştir (obestatin, desaçıl Ghrelin ve biyoaktif peptid olarak da bilinen açıl ghrelin). Ghrelin, GHS-R ve ghrelin protein mRNA

endometriumda bulunduğunun gösterilmesi (155) bu peptidlerin ektopik endometriumda eksprese edilip edilmediği ötopik endometrium ile farklılık olup olmadığı, ghrelin ekspresyonu olmasına rağmen obestatinin eksprese edilip edilmediği ve bu peptidlerin endometriozis fizyopatolojisinde rollerinin olabileceği fikrine yol açmıştır.

Literatürde, bu çalışmanın tasarımına birebir uyan, sonuçları karşılaştırılabilir benzer bir çalışma bulunmadı. Bundan dolayı tartışma, çalışmanın mihenk taşı olan ötopik endometriumda ghrelin ekspresyonunu araştıran klinik çalışmalar ışığında yapıldı.

Literatürde ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde ghrelin, GHS-R ve ghrelin protein mRNA ekspresyonunu araştıran çok az çalışma mevcuttur. N.Tawadros ve arkadaşlarının siklik ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde semikantitatif RT-PCR ve immunohistokimya yöntemi ile çalışmışlardır. Ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde GHS-R ve ghrelin mRNA semikantitatif RT-PCR yoluyla saptamışlardır. Menstrüal, midproliferatif ve midsekretuar fazlara yönelik üç denek incelemişlerdir. dansitometrik analizler sonucunda ghreline ve GHS-R ye yönelik bandların ana yoğunluğu menstrüal siklusun sekretuar fazında en yüksek artışı tespit etmişlerdir. Menstrüal siklusun üç fazı ($P < 0.05$) arasındaki farklılıklar önem teşkil etmiştir (155). İmmunohistokimyasal olarak ötopik endometrium doku biopsi örneklerinin tümünde Ghrelin ekspresyonunu tespit etmişlerdir. Boyama menstrual fazda ağırlıklı olarak glandüler epitel hücrelerinde tespit etmişler stromada da tespit edilmesine rağmen soluk boya gözlemişlerdir. midproliferatif faz örneklerinde, glandüler epitelde aşırı yoğunlukta boya ekspresyonu tespit etmişler. Luminal epitelin olduğu yerlerde, boyama glandüler epitel hücrelerden daha az yoğunlukta tespit etmişler. En yoğun immünreaktivite midsekretuar fazın bulunduğu bezlerde gözlemişlerdir. Her üç fazda stromada bulunan boyama daha az yoğunlukta siklik varyasyonla beraber olmadığını gözlemişlerdir. Kan damarları ve akyuvarlarda genel olarak boyama bulunmamıştır (155). İmmunohistokimyasal olarak ötopik endometrium doku biopsi örneklerinin tümünde GHS-R de tespit edilmiştir. luminal epitelin bulunduğu kan damarları ya da alyuvarlarda hiç boyama tespit edilmemiştir. Hem glandüler epitel hem de stromal hücrelerde siklik boyunca pozitif boyama bulunmuştur. Ama sekretuar fazı esnasında glandüler epitelde aşırı boyama

yoğunluğu ve bu olgu menstrüel ve orta proliferatif fazlar esnasındaki bezlere nazaran daha güçlü görülmüştür. Stromal boyama sıklık boyunca değişim göstermemiştir (155). Yapılan literatür taramasında F. Gaytan ve arkadaşlarının normal ve patolojik doku örneklerinde immunohistokimyasal olarak fonksiyonel ghrelin reseptör olan GHS-R1a ekspresyonunu farklı sonuçlar gözlemlemişlerdir. Normal dokulardan; overiyan yüzey epitelinde orta düzeyde, fallop tüpü epitelinde yüksek düzeyde GHS-R1a ekspresyonu tespit etmiş olmalarına rağmen endometrium ve endoserviks epitelinin foliküler ve lüteal fazlarında ise GHS-R1a hiç ekspresyon tespit etmemişlerdir (156). Patolojik dokulardan; inklizyon kisti ve seröz kistadenomda silyal epitelinde yüksek düzeyde, düşük gradeli seröz kistadenoma silyal epitelde hafif düzeyde GHS-R1a ekspresyonu gözlemlemişlerdir. Buna karşın müsinöz kistadenom ve müsinöz kistadenomada, brenner tümöründe, yüksek gradeli seröz kistadenomada, endometriumada, clear cellada GHS-R1a ekspresyonunu gözlemlemişlerdir (156). Tanaka ve arkadaşları; embriyonel implantasyon ve ghrelin arasındaki ilişkiyi açıklamak için bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmalarında proliferatif endometrium, sekretuar endometrium, birinci trimester plasental ve desidual doku, ektopik gebelikte ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde immunohistokimyasal ve RT-PCR yöntemi ile ghrelin ekspresyonu araştırmışlardır. Menstrüel siklusun proliferatif ve sekretuar fazındaki endometriumda Ghrelin mRNA seviyeleri ve erken gebelik desiduası kantitatif gerçek zamanlı RT-PCR kullanılarak belirlemişlerdir. Ghrelin ekspresyonu proliferatif fazdan sekretuar faza doğru artışı ve desidualize endometriumda daha yüksek düzeyde artış tespit etmişlerdir. Diğer yandan, ektopik gebelik olan hastalardan alınan endometriumda, ghrelin mRNA, sekretuar endometrium ile karşılaştırıldığında arada herhangi bir fark göstermemişlerdir (154). İmmunohistokimyasal analizde ise ghrelin proliferatif endometriumda tespit edilmemiştir. sekretuar endometriumda luminal ve glandüler epitel hücrelerde ekspresyon gözlenmiş stromal hücrelerde gözlenmemiştir. Erken gebelik desiduada, desidual hücrelerde güçlü tutulum tespit etmişlerdir, zayıf tutulum luminal ve glandüler epitelde tespit etmişlerdir. İlk trimester plasentada koryonik villus uçlarında bulunan ekstrasitotrofoblast (EVT) ta güçlü ekspresyon tespit etmişlerdir. sitotrofoblastta zayıf tutulum tespit edilmiştir. Aksine, endometriyuma yönelik negatif kontrollerde, desiduada, ve EVT de hiçbir sinyal tespit etmemişlerdir.

ektopik gebelik endometriyumunda, immunohistokimya sekretuvar endometriumda olanla benzerlik göstermiştir (154).

Bu çalışmada ELİSA yöntemi ile serum, ötopik endometrium doku biopsi örnekleri ve ektopik endometrium doku biopsi örneklerinden menstrüal siklusun proliferatif ve sekretuvar fazlarına göre ghrelin ve obestatin ekspresyonu araştırılmıştır. Gruplar arası serum ekspresyonda bir farklılık bulunmamıştır. Ancak grupların sekretuvar fazında proliferatif faza göre ELİSA yöntemi ile ekspresyonun anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. İmmunohistokimyasal yöntem ile tüm grupların doku örneklerinde ghrelin ve obestatin ekspresyonu bakılmıştır. Proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru özellikle glandüler hücrelerde hem ghrelin hem de obestatin ekspresyon şiddeti artmış olarak gözlenmiştir. Stromal hücrelerde siklik varyasyon tespit edilmemiştir. Çalışma bu yönü ile ghrelin açısından N. Tawadros ve arkadaşlarının (155) bulguları ile benzerlik göstermektedir. F. Gaytan ve arkadaşları (156) ile Tanaka ve arkadaşlarının (154) yaptıkları çalışmalarda proliferatif fazda ghrelin ekspresyonu tespit etmemişlerdir. Bu çalışma bu yönüyle ghrelin ile birlikte obestatinin de ekspresyonun olduğunu menstrüal siklusun proliferatif fazından sekretuvar fazına doğru ekspresyon şiddetinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını göstermiştir. Literatür taramasında birçok patolojik dokuda ghrelin ekspresyonu tespit edilmiş olmasına rağmen ektopik endometrium doku biopsi örneklerinde ghrelin ekspresyonu ilk bu çalışmada tespit edilmiştir. Proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru ekspresyon şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Ötopik endometrium doku biopsi örneklerinden çalışmamız N. Tawadros ve arkadaşlarının (155) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Diğer araştırmacılardan farklı sonuçlar elde etmemizin nedenleri; çalışmamızın tasarımının farklı olması, olgu sayımızın çok tutulması ve demografik özelliklerinin farklı olması olarak sıralanabilir. Bu çalışmada ghrelin ile birlikte aynı serum ve doku örneklerinde ELİSA ve immunohistokimyasal yöntem ile obestatin ekspresyonu araştırılmıştır. Obestatin ekspresyonu literatürde hem ötopik endometrium hem de ektopik endometrium doku biopsi örneklerinde yapılan ilk çalışma olmuştur. ELİSA yöntemi ile obestatin ekspresyonu tıpkı ghrelin gibi proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru ekspresyon şiddeti artışı tespit edilmiş olup grupların menstrüal siklus fazlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık tespit edilmiştir. İmmunohistokimyasal yöntem ile obestatin tıpkı ghrelin gibi

proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru özellikle glandüler hücrelerde şiddetli ekspresyon gözlenmiş olup (Şekil 1-8 a,b) stromal hücrelerde hafif düzeyde ekspresyon tespit edilmiş olup siklik varyasyon gözlenmemiştir. Obestatin ektopik endometrium doku biopsi örneklerinde de ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde ghrelin gibi menstrüal siklusun proliferatif fazından sekretuvar fazına doğru ekspresyon şiddetinin artışı gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde şu sonuçlara varıldı:

Ovariyan endometriyoma ile peritoneal endometriozisli hastaların serum örneklerinin; açile ghrelin, desaçil ghrelin, total ghrelin ve obestatin düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında menstrüal siklusun fazlarına göre farklılık olmadığı tespit edilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak ghrelin ve obestatinin aynı şekilde ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru özellikle glandüler hücrelerde ekspresyon şiddetinin arttığı tespit edilmiştir. Ghrelinin ilk bu çalışmada ektopik endometrium doku biopsi örneklerinde ELİSA ve immunohistokimyasal yöntem ile ekspresyonu saptanmıştır. Yine obestatin ilk bu çalışmada hem ektopik hem de ötopik endometriumda aynı yöntemlerle ekspresyonu saptanmış olup menstrüal siklusun fazlarında gruplar arası ve grup içi karşılaştırmada farklılık tespit edilmemiştir.

Bu çalışma gösterdi ki hem ötopik endometrium hem de ektopik endometrium doku düzeyinde ghrelin ve obestatinin aynı hücrelerde menstrüal siklus fazına göre aynı şiddette ekspresyonun değiştiğini, hastalıklı grupta ekspresyonun olmasına rağmen serum düzeyindeki ghrelin ve obestatinin kontrol grubu ile farklılık olmamasının nedeni; esas üretim yerinin mide glandüler hücreleri olmasındandır. Ghrelin ve obestatinin hem ötopik endometriumda hem ektopik endometriumda proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru ekspresyon şiddetinin artması ve bu fazların grup içi ve gruplar arası karşılaştırmadabir farkın olmaması endometriozislin etyolojisinde Sampson tarafından öne sürülen retrograd menstrüasyon teorisini güçlendirmektedir (1). Ghrelin ve obestatinin ötopik endometrium doku biopsi örneklerinde özellikle glandüler hücrelerde siklik varyasyon göstermesi moleküler düzeyde progesteron ile sinerjik etki ile desudializasyonda önemli rol aldığı söylenebilir. Endometrium reseptivitesine yönelik yapılan farklı moleküler çalışmalarda CRF (kortikotropin

salgılatıcı faktör) (157), IL-11 (158) ve aktivin A (159) menstrüal siklus fazlarına göre proliferatif fazdan sekretuvar faza doğru ekspresyonda artış gözlemişlerdir. Blastosist implantasyonunun menstrüal siklus midsekretuvar fazında olması ghrelin ve obestatinin endometrial reseptivitede diğer çalışmalarda bakılan moleküller gibi rolünün olabileceği fikrine yol açabilir.

Bu yönüyle değerlendirildiğinde IVF uygulaması yapılan olgularda gebelik oranlarının düşük olması endometrium reseptivitesindeki açıklanamamış fizyopatolojik değişikliklere bağlanmıştır. Moleküler düzeyde daha detaylı ve daha geniş parametrelili çalışmalar endometrial reseptivitenin açıklanmasında yol gösterebilir.

5. KAYNAKLAR

1. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity, *Am J Obstet Gynecol* 1927; 14: 422-69.
2. Liu DTY, Hitchcock A. Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 859.
3. Ishimaru T, Masuzaki H. Peritoneal endometriosis: endometrial tissue implantation as its primary etiologic mechanism. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 210.
4. Kruitvagen RFP, Poels LG, Willemsen WNP et al. Endometrial epithelial cells in peritoneal fluid during the early follicular phase. *Fertil Steril* 1991; 55: 297.
5. Scott RB, TeLinde RW, Wharton LR Jr. Further studies on experimental endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 66: 1082.
6. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol* 1987; 69: 412.
7. Gramer DW, Wilson E, Stillman RJ, Berger MJ et al. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *JAMA* 1986; 355: 1904.
8. Halme J, Becker S, Hammond MG, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1993; 64: 151-4.
9. Blumenkrantz MJ, Gallagher N, Bashore RA, Tenckhoff H. Retrograde menstruation in women undergoing chronic peritoneal dialysis. *Obstet Gynecol* 1981; 57: 667-70.
10. Ueki M. Histologic study of endometriosis and examination of lymphatic drainage in and from the uterus. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 201-9.
11. Foster DC, Stern JL, Buscema J, Rock JA, Woodruff JD. Pleural and parenchymal pulmonary endometriosis. *Obstet Gynecol* 1981; 58: 552.
12. Rock JA, Markham SM. Extra pelvic endometriosis. in: Wilson EA, ed. *Endometriosis*. New York: AR Liss, 1987; 185-206.

13. Metzger DA, Lessey BA, Soper JT, McCarty KS Jr, Haney AF. Hormone-resistant endometriosis following total abdominal hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. correlation with histology and steroid receptor content. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 946.
14. Schrodt GR, Alcorn MÖ, Ibanez J. Endometriosis of the male urinary system: a case report. *J Urol* 1980; 124: 722.
15. Suginami H. A reappraisal of the coelomic metaplasia theory by reviewing endometriosis occurring in unusual sites and instances. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 214.
16. Schiffrin BS, Erez S, Moore JG. Teen-age endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 16: 973.
17. El-Mahgoub S, Yaseen S. A positive proof for the theory of coelomic metaplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137: 137.
18. Merrill JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 94: 780-9.
19. Simpson JL, Elias S, Malinak LR, Buttram VC. Heritable aspects of endometriosis. 1. Genetics studies. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 137: 327-31.
20. Moen MH, Magnus P. The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993; 72: 560-4.
21. Grimes DA, LeBolt SA, Grimes KR, Wingo PA. Systemic lupus erythematosus and reproductive function: a case control study. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153: 179-86.
22. Obata K, Moriand SJ, Watson RH, Hitchcock A, Chenevix-Trench G, Thomas EJ and Campbell IG. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid, but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. 1998; *Cancer Res* 58: 2095-97.
23. Gurates B, Bulun SE. Endometriosis: the ultimate hormonal disease, *Semin Reprod Med* 2003; 21: 125.

24. Noble LS, Simpson ER, Johns A, Bulun SE, Aromatase expression in endometriosis, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 174.
25. Kitawaki J, Noguchi T, Amatsu T, Maeda K, Tsukamoto K, Yamamoto T, Fushiki S, Osawa Y, Honjo H, Expression of aromatase cytochrome P450 protein and Messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium, *Biol Reprod* 1997;57: 514.
26. D'Hooghe TM, Hill JA. Immunobiology of endometriosis. in: Bronston R, Anderson DJ, eds. *Immunology of reproduction*. Cambridge, MA: Blackwell Scientific 1996; 322-56.
27. Aplin AE, Howe A, Alahari SK and Juliano RL Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. 1998; *Pharmacol Rev* 50: 197-263.
28. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M et al.: The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 1995; 58: 290-95.
29. Oosterlynck D, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer cell activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 1991; 56: 45-51.
30. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN, Immunobiology of endometriosis, *Fertil Steril* 2001; 75: 1.
31. Tanaka E, Sento E, Kavvague S, Hiroi M. Decreased natural killer activity in women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1992; 34: 27-30.
32. Hirata J, Kikuchi Y, Imazumi E, Tode T, Nagata I. Endometriotic tissues produce immunosuppressive factors. *Gynecol Obstet Invest* 1993; 37: 43-7.
33. Halme J, Becker S, Haskill S. Altered maturation and function of peritoneal macrophages: possible role in pathogenesis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 783-9.
34. Halme J. Release of tumor necrosis factor-alpha by human peritoneal macrophages in vivo and in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1718-25.

35. Zhang R, Wild RA, Ojago JM. Effect of tumor necrosis factor-alpha on adhesion of human endometrial stromal cells to peritoneal mesothelial cells: an in vitro system. *Fertil Steril* 1993; 59: 1196-201.
36. Hooghe MT, Debrock S, Hill AJ, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: Is the relationship Resolved? *Seminars in REprod. Med.* 2003; 21(2): 243-53.
37. Eskenazi B and Warner ML Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North* 1997; Am 24, 235-38.
38. Sanfillippo JS. Endometriosis in adolescents, in Wilson EA editor. *Endometriosis*. Alan R. Liss Inc. New York. 1987; 161-72.
39. Koninckx PR, Meulaman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltratin endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991; 55: 759-65.
40. Cornillie FJ, Oosterlynck D, Lauweryns JM, Konincks PR. Deeply infiltrating pelvic endometriosis: histology and clinical significance. *Fertil Steril* 1990; 53: 978-83.
41. American Fertility Society: Revised American Fertility Society Classification of Endometriosis. *Fertil Steril* 1985; 43: 351-2.
42. Moen MH. Endometriosis in women with interval sterilization. *Açta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 451-4.
43. Wheeler JM, Johnston BM, Malinak LR. The relationship of endometriosis to spontaneous abortion. *Fertil Steril* 1983; 39: 656-60.
44. Pittaway DE, Vernon C, Fayez JA. Spontaneous abortions in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988; 50: 711-5.
45. Memarzadeh S, Muse jr KN, Fox MD: *Endometriosis, Current Obstetric and Gynecologic Diagnosis and Treatment, International Edition, USA, 2003, 767-75.*
46. Simon C, Martin JC, Pellicer A.: Paracrin regulators of implantation. *Ballieres Pract Res Clin Obstet Gynecol*, 2000, 14: 815-26.

47. Shaw RW: Endometriosis, Blackwell Science Ltd. London, 1995.
48. Harada T, Kubota T and Aso T: Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2002; 78: 733-39.
48. T. Harada, T. Kubota and T. Aso. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility* 2002;78: 733-739.
49. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998; 70: 1101-8.
50. Bedaiwy MA, Falcone T. Laboratory testing for endometriosis. *Clin Chim Acta* 2004; 340: 41-56.
51. Marcoux S, Mahoux R, Berube S: Laparoscopic Surgery in Infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian collaborative groupe on endometriosis. *N Engl J Med*. 1997, 24: 217-22.
52. Johnson RM : Endometriosis: the case for only aggressive treatment, *J Reprod Med*, 1998, 43: 309-15.
53. Mencaglia L, Wattiez A: Manual of gynecological laparoscopic surgery, ed. endo-press, Tuttlingen, 2001, 53-7.
54. Clements PB. Pathology of endometriosis. *Pathol Annu* 1990; 245-95.
55. Miller J, Shaw R, Casper R et al.: Historical Prospective Cohort Study of the Recurrence of Pain after Discontinuation of Treatment with Danazol or GnRH-a. *Fertil Steril*, 1998, 70: 293-96.
56. Pagidas K, Falcone T, Hemraings R, et al.: Comparison of reoperation for moderate (stage III) and severe (stage IV) endometriosis related infertility with IVF+ET, *Fertil Steril*, 1996, 65: 791-95.
57. Brosens LA, Puttemans PJ. Double-optic laparoscopy. Salpingoscopy, ovarian cystoscopy, and endoovarian surgery with the argon laser. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1989; 3: 595-608.

58. Hayata T, Matsu T, Kawano Y, Matsui N, Miyikawa I. Scanning electron microscopy of endometriotic lesions in the pelvic peritoneum and the histogenesis of endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 1992; 39: 311-9.
59. Kontoravdis A, Hassan E, Hassiakos D et al. Laparoscopic evaluation and management of chronic pelvic pain during adolescence. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1999; 26: 76-7.
60. Walter AJ, Hentz JG, Magtibay PM et al. Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 1407-11; discussion 11-3.
61. Laufer MR, Goitein L, Bush M et al. Prevalence of endometriosis in adolescent girls with chronic pelvic pain not responding to conventional therapy. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1997; 10: 199-202.
62. The American Society for Reproductive Medicine, Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis, *Fertil Steril* 1997; 67: 819.
63. Thomas EJ, Cooke ID. Impact of gestrinone on the course of asymptomatic endometriosis. *BMJ* 1987; 294: 272-4.
64. Mahmood TA, Templeton A. The impact of treatment on the natural history of endometriosis. *Hum Reprod* 1990; 5: 965-70.
65. McArthur JW, Ulfelder H. The effect of pregnancy upon endometriosis. *Obstet Gynecol Surv* 1965; 20: 709-33.
66. Arumugam K, Mamood TA, Kong YF. The association of anovulation and endometriosis in the infertile female. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1989; 29 (3 pt 2): 350-1.
67. Drake TS, Metz SA, Grunert GM, O'Brian WF. Peritoneal fluid volume in endometriosis. *Fertil Steril* 1980; 34: 280-1.
68. Halme J, Becker S, Wing R. Accentuated cyclic activation of peritoneal macrophages in patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 85-90.

69. Drake TS, O'Brian WF, Ramwell PW, Metz SA. Peritoneal fluid thromboxane B2 and 6-ketoprostaglandin F1 alpha in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 401-4.
70. Lessey BA. Endometrial integrins and the establishment of uterine receptivity. *Hum Reprod* 1998; 13: 3578-80.
71. Sutton CJ, Pooley AS, Ewen SP, Haines P. Follow-up report on a randomized controlled trial of laser laparoscopy in the treatment of pelvic pain associated with minimal to moderate endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 68: 1070-4.
72. Lu PY, Ory SJ. Endometriosis: current management. *Mayo Clin Proc* 1995; 70: 453-63.
73. Vercellini P, De Giorgi O, Oldani S et al. Depot medroxyprogesterone acetate versus an oral contraceptive combined with very-low-dose danazol for long-term treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 396-401.
74. Vercellini P, De Giorgi O, Mosconi P et al. Cyproterone acetate versus a continuous monophasic oral contraceptive in the treatment of recurrent pelvic pain after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 52-61.
75. Lessey BA. Medical management of endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 2000; 73: 1089-96.
76. Crosignani PG, De Cecco L, Gastaldi A et al. Leuprolide in a 3-monthly versus a monthly depot formulation for the treatment of symptomatic endometriosis: a pilot study. *Hum Reprod* 1996; 11: 2732-5.
77. Regidor PA, Regidor M, Schmidt M et al. Prospective randomized study comparing the GnRH-agonist leuporelin acetate and the gestagen lynestrenol in the treatment of severe endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15: 202-9.
78. Dawood MY. Hormonal therapies for endometriosis: implications for bone metabolism. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994; 159: 22-34.
79. Sutton J ES, Whitelaw N, Haines P. Prospective, randomized, double blind, controlled trial of laser laparoscopy in the treatment of pelvic pain associated with minimal, mild and moderate endometriosis. *Fertil Steril* 1994; 64: 696-700.

80. Hornstein MD, Hemmings R, Yuzpe AA, Heinrichs WL. Use of nafarelin versus placebo after reductive laparoscopic surgery for endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 68: 860-4.
81. Mc Kee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997; 46: 426-34.
82. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-87.
83. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillon WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (12): 5992.
84. Zhang J.V, Ren P.G, Avsian-Kretchmer O, Luo C.W, Rauch R and Klein C. et al. Apeptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake, *Science* 2005; 310, pp. 996–99.
85. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14- ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 995–2000.
86. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64–70.
87. Jeffery PL, Duncan RP, Yeh AH, Jaskolski RA, Hammond DS, Herington AC, et al. Expression of the ghrelin axis in the mouse: an exon 4-deleted mouse proghrelin variant encodes a novel C terminal peptide. *Endocrinology*. 2005; 146: 432–40.
88. Yavuz A, Polikistik over sendromlu kadınlarda ghrelin ve obestatinin serum ve tükürük düzeylerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, 2008.
89. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin; The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Reviews in Endocrine Disorders*. 2002; 3: 325-38.

90. Sheng-Qiu Tang, Qing-Yan Jiang, Yong-Liang Zhang, Xiao-Tong Zhu, Gang Shu, Ping Gao, Ding-Yuan Feng, et al. Obestatin: Its physicochemical characteristics and physiological functions *Peptides* 2008; 29: 639-45.
91. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth- hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-60.
92. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4753-58.
93. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 279: 909-13.
94. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 280: 904-7.
95. Wierup N, Svensson H, Mulder H, Sundler F. The ghrelin cell: A novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept.* 2002; 107: 63-9.
96. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obesity Relat Metab Disord.* 2001; 25: 56-62.
97. Muccioli G, Pons N, Ghè C, Catapano F, Granata R, Ghigo E. Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Eur J Pharmacol.* 2004; 498: 27-35.
98. Chanoine J.P, A.C. Wong and V. Barrios, Obestatin acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas, *Horm Res* 2006; 66 (2), pp. 81–8
99. S.L. Dun, G.C.B.E. Brailoiu, J. Yang, J.K. Chang and N.J. Dun. Distribution and biological action of obestatin in the rat, *J Endocrinol* 2006; 191, pp. 481–89.

100. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Nakai Y, et al. Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 6–9.
101. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, et al. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 2004; 50: 1077–80.
102. De Vriese C, Hacquebard M, Gregoire F, Carpentier Y, Delporte C. Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins. *Endocrinology.* 2007; 148: 2355–62.
103. Bang AS, Soule SG, Yandle TG, Richards AM, Pemberton CJ. Characterisation of proghrelin peptides in mammalian tissue and plasma. *J Endocrinol.* 2007; 192: 313–23.
104. Harada T, Nakahara T, Yasuhara D, Kojima S, Sagiya K, Amitani H, et al. Obestatin, acyl ghrelin, and des-acyl ghrelin responses to an oral glucose tolerance test in the restricting type of anorexia nervosa. *Biol Psychiatry.* 2008; 8; 63: 245–7.
105. Guo ZF, Zheng X, Qin YW, Hu JQ, Chen SP, Zhang Z. Circulating preprandial ghrelin to obestatin ratio is increased in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1875–80.
106. Nishi Y, Hiejima H, Hosoda H, Kaiya H, Mori K, Fukue Y, et al. Ingested medium-chain fatty acids are directly utilized for the acyl modification of ghrelin. *Endocrinology.* 2005; 146: 2255–64.
107. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, et al. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 2748–52.
108. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 2988–91.
109. Iglesias MJ, Salgado A, Pineiro R, Rodino BK, Otero MF, Grigorian L, et al. Lack of effect of the ghrelin gene-derived peptide obestatin on cardiomyocyte viability and metabolism. *J Endocrinol Invest.* 2007; 30: 470–6.

110. Burdyga G, Varro A, Dimaline R, Thompson DG, Dockray GJ. Ghrelin receptors in rat and human nodose ganglia: putative role in regulating CB-1 and MCH receptor abundance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006; 290: 1289–97.
111. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12: 276–88.
112. Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N, Minamitake Y, Tanaka S, et al. Structure–activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001, 287: 42–6.
113. Filigheddu N, Gnocchi VF, Coscia M, Cappelli M, Porporato PE, Taulli R, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin promote differentiation and fusion of C2C12 skeletal muscle cells. *Mol Biol Cell*. 2007; 18: 986–94.
114. Poykko S, Ukkola O, Kauma H, Savolainen MJ, Kesaniemi YA. Ghrelin Arg51Gln mutation is a risk factor for type 2 diabetes and hypertension in a random sample of middle-aged subjects. *Diabetologia*. 2003; 46: 455-58.
115. Kato M, Sakuma Y. The effect of GHRP-6 on the intracellular Na⁺ concentration of rat pituitary cells in primary culture. *J Neuroendocrinol*. 1999, 11: 795-800.
116. Moechars D, I. Depoortere, B. Moreaux, B. de Smet, I. Goris and L. Hoskens et al. Altered gastrointestinal and metabolic function in the GPR39-obestatin receptor-knockout mouse, *Gastroenterology* 2006; 131. pp. 1131–41.
117. Chartrel N, R. Alvear-Perez, J. Leprince, X. Iturrioz, A. Reaux-Le Goazigo and V. Audinot et al. Comment on “Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake”, *Science* 2007; 315. pp. 766–69.
118. Lauwers E, B. Landuyt, L. Arckens, L. Schoofs and W. Luyten. Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39, *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351. pp. 21–5.
119. Szentirmai E, Krueger J.M. Obestatin alters sleep in rats, *Neurosci Lett* 2006; 404: 222–6.

120. Malagón MM, Luque RM, Ruiz-Guerrero E, Rodríguez Pacheco F, García-Navarro S, Casanueva FF, et al. Intracellular signalling mechanisms mediating ghrelin-stimulated growth hormone release in somatotropes. *Endocrinology*. 2003; 144: 5372–80.
121. Popovic V, Miljic D, Micic D, Damjanovic S, Arvat E, Ghigo E, et al. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 3450–3.
122. Ariyasu H, Takaya K, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Arai Y, et al. Transgenic mice overexpressing des-acyl ghrelin show small phenotype. *Endocrinology*. 2003; 146: 355–64.
123. Samson WK, White MM, Price C, Ferguson AV. Obestatin acts in brain to inhibit thirst. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R637–43.
124. Druce M, Bloom SR. Central regulators of food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003; 6: 361–7.
125. Ruter J, Kobelt P, Tebbe JJ, Avsar Y, Veh R, Wang L, et al. Intraperitoneal injection of ghrelin induces Fos expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats. *Brain Res* 2003; 991: 26–33.
126. Matsuda K, T. Miura, H. Kaiya, K. Maruyama, S. Shimakura and M. Uchiyama et al. Regulation of food intake by acyl and des-acyl ghrelins in the goldfish, *Peptides* 2006; 27: 2321–5.
127. Toshinai K, H. Yamaguchi, Y. Sun, R.G. Smith, A. Yamanaka and T. Sakurai et al. Des-acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor, *Endocrinology* 2006; 147: 2306–14.
128. Zizzari P, R. Longchamps, J. Epelbaum and M.T. Bluet-Pajot. Obestatin partially affects ghrelin stimulation of food intake and GH secretion in rodents, *Endocrinology* 2007; 148: 1648–53.
129. Gourcerol G, D.H. St-Pierre and Y. Tache. Lack of obestatin effects on food intake: should obestatin be renamed ghrelin-associated peptide (GAP)? *Regul Pept* 2007; 141: 1–7.

130. Seoane L.M, O. Al-Massadi, Y. Pazos, U. Pagotto and F.F. Casanueva, Central obestatin administration does not modify either spontaneous or ghrelin-induced food intake in rats, *J Endocrinol Invest* 2006; 29: RC13–RC15.
131. Lagaud G.J, A. Young, A. Acena, M.F. Morton, T.D. Barrett and N.P. Shankley. Obestatin reduces food intake and suppresses body weight gain in rodents, *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 357: 264–9.
132. Pénicaud L, C. Leloup, X. Fioramonti, A. Lorsignol and A. Benani. Brain glucose sensing: a subtle mechanism, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 458–62.
133. Broglio F, Gottero C, Benso A, Prodam F, Destefanis S, Gauna C., et al. Effects of ghrelin on the insulin and glycemic responses to glucose, arginine, or free fatty acids load in humans, *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4268–72.
134. Qader SS, Håkanson R, Rehfeld JF, Lundquist I, Salehi A. Proghrelin-derived peptides influence the secretion of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide and somatostatin: a study on isolated islets from mouse and rat pancreas. *Regul Pept.* (Epub ahead of print).
135. Heijboer A.C, Van den Hoek A.M, Parlevliet E.T, Havekes L.M, Romijn J.A, Pijl H. et al. Ghrelin differentially affects hepatic and peripheral insulin sensitivity in mice, *Diabetologia* 2006; 49: 732–8.
136. Gauna C, Delhanty P.J, Hofland L.J, Janssen J.A, Broglio F, Ross R.J., et al. Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes, *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1055–60.
137. Granata R, Settanni F, Gallo D, Trovato L, Biancone L, Cantaluppi V., et al. Obestatin promotes survival of pancreatic-cells and human islets and induces expression of genes involved in the regulation of cell mass and function. *Diabetes* 2008; 57: 967-79.
138. Barazzoni R, Bosutti A, Stebel M, Cattin M.R, Roder E and Visintin L., et al. Ghrelin regulates mitochondrial-lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution favoring triglyceride deposition in liver but not skeletal muscle, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 288: 228–35.

139. Thompson N.M, D.A. Gill, R. Davies, N. Loveridge, P.A. Houston and I.C. Robinson et al. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor, *Endocrinology* 2004; 145. pp. 234–42.
140. João-Bruno Soares, Adelino F. Leite-Moreira. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: Three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29. 1255-70.
141. Tena-Sempere M, Huhtaniemi I. Gonadotropins and gonadotropin receptors, *Reproductive Medicine, Molecular, Cellular and Genetic Fundamentals*, New York, NY: Parthenon Publishing 2003; pp. 225–44.
142. Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C & Tena-Sempere M. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88: 879–87.
143. Gaytan F, Morales C, Barreiro ML, Jeffery P, Chopin LK, Herington AC, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C & Tena-Sempere M Expression of growth hormone secretagogue receptor type 1a, the functional ghrelin receptor, in human ovarian surface epithelium, mullerian duct derivatives, and ovarian tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005; 90 : 1978-804.
144. Van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML & Ghigo E Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 426– 57.
145. Fernandez-Fernandez R, Tena-Sempere M, Navarro V.M, Barreiro M.L, Castellano J.M, Aguilar E., et al. Effects of ghrelin upon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin secretion in adult female rats: In vivo and in vitro studies, *Neuroendocrinology* 2005; 82: 245– 55.
146. Lanfranco F, Boneli L, Broglio F, Me E, Baldi M, di Bisceglie C, et al., Ghrelin inhibits LH pulsatility in humans, *Proceedings of the 88th Endocrine Society Meeting (ENDO2006) Boston (2006)*, pp. P3–P807.

147. Rak A, Gregoraszczuk EL. Local feedback loop of ghrelin-GH in the pig ovary: action on estradiol secretion, aromatase activity and cell apoptosis. *Growth Horm IGF Res* 2007 (Epub ahead of print).
148. Kawamura K, Sato N, Fukuda J, Kodama H, Kumagai J, Tanikawa H, et al., Ghrelin inhibits the development of mouse preimplantation embryos in vitro, *Endocrinology* 2003; 144: 2623–33.
149. Hehir MP, Glavey SV, Morrison JJ. Uterorelaxant effect of ghrelin on human myometrial contractility. *Am J Obstet Gynecol* 2008 (Epub ahead of print).
150. Schubring C, Blum WF, Kratzsch J, et al., Leptin, the ob gene product, in female health and disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88: 121–7.
151. Martini A.C, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Navarro V.M, Vigo E, Vazquez M.J., et al. Comparative analysis of the effects of ghrelin and un-acylated ghrelin upon luteinizing hormone secretion in male rats, *Endocrinology* 2006; 147: 2374–82.
152. Mészárosóvá M, Sirotkin AV, Grossmann R, Darlak K, Valenzuela F. The effect of obestatin on porcine ovarian granulosa cells. *Anim Reprod Sci* 2007 (Epub ahead of print).
153. Zhang Z, Zou D.J, Chen Y, Wang M, Wu J, Guo Z.F. Obestatin inhibits proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, *Acad J Second Mil Med Univ* 2007; 28 (9): 929–32.
154. Tanaka et al. Ghrelin and Decidualization of Stromal Cells *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003; 88 (5): 2335–40.
155. *Molecular Human Reproduction* 2007; Vol.13, No.7 pp. 483–9.
156. Gaytan et al. GHS-R Expression in Human Ovary and Tumors *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2005; 90 (3): 1798–804.
157. Makrigiannakis A, Zoumakis E, Kalantaridou S et al. Participation of maternal and fetal CRH in early phases of human implantation: the role of antalarmin. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004; 4: 75–8.

158. Dimitriadis E, Salamonsen LA, Robb L. Expression of interleukin-11 during the human menstrual cycle: coincidence with stromal cell decidualization and relationship to leukaemia inhibitory factor and prolactin. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 907–14.
159. Jones RL, Salamonsen LA, Critchley HO et al. Inhibin and activin subunits are differentially expressed in endometrial cells and leukocytes during the menstrual cycle, in early pregnancy and in women using progestin-only contraception. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 1107–17.

ÖZGEÇMİŞ

Adıyaman'ın Kahta ilçesinde 23.07.1978 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adıyaman/Kahta'da tamamladım. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başladım. 2004 yılında mezun oldum. Aynı yıl Adıyaman/Kahta Damlacık Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında ihtisasa başladım. Evli ve iki çocuk babasıyım.