



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

**PROLİFERATİF, SEKRETUAR VE HİPERPLAZİK ENDOMETRİAL
DOKUDA LEPTİN EKSPRESYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ali ÖZLER

MANİSA - 2008



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

**PROLİFERATİF, SEKRETUAR VE HİPERPLAZİK ENDOMETRİAL
DOKUDA LEPTİN EKSPRESYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ali ÖZLER

Danışman

Doç.Dr.N.Kemal KUŞÇU

MANİSA - 2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇ KAPAK.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR.....	IV
RESİM VE TABLO LİSTESİ	V
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.. SİKLUS BOYUNCA ENDOMETRİUMDA İZLENEN	
FİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER.....	3
2.1.1. Menstrüel endometrium	3
2.1.2.-Proliferatif faz.....	4
2.1.3. Sekretuar faz.....	5
2.1.4. Endometrial kırılma fazı	6
2.2. ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ	6
2.2.1 Endometrial Hiperplazi histolojik sınıflaması.....	7
2.2.2 Klinik yaklaşım ve tedavi yöntemleri.....	9
2.3. LEPTİN	10
2.3.1. Ob/ob Farelerin Tarihçesi ve Özellikleri	10
2.3.2. Leptin geni ve Reseptörlerinin Keşfi	11
2.3.3 İnsanlarda leptin geni.....	11
2.3.4 Fizyolojik Feedback Mekanizması.....	12

2.3.5 Leptinin Sekresyonu ve Kanda Dolaşımı.....	13
2.3.6 Leptin Sekresyonunu Regüle Eden Faktörler	13
2.3.7 Leptin Klirensi.....	15
2.3.8 Leptin ve Endometrium	15
2.3.9 Leptinin diğer sistemlerle ilişkisi	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
4. BULGULAR.....	20
5 TARTIŞMA.....	24
6. SONUÇLAR.....	29
7. RESİMLER.....	31
8. KAYNAKLAR.....	34

TEZ ONAY SAYFASI

KISALTMALAR

Aa	Amino asit
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
BKI	Beden kütle indeksi
DM	Diabetes mellitus
EGF	Epitelyal büyüme faktörü
EH	Endometrial hiperplazi
ET	Endotelin
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
HT	Hipertansiyon
IGF-1-2	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1-2
JAK	Janus kinaz
MAPK	Mitogen activated protein kinaz
MSH	Melanosit stimüle edici hormon
NPY	Nöropeptid Y
OB-RL	Leptin uzun reseptörü
OB-R _s	Leptin kısa reseptörü
PFE	Proliferasyon fazı endometrium
PI-3	Fosfotidil İnoзит-3
POMC	Proopiomelanokortin
SFE	Sekresyon fazı endometrium
STAT	Signal transducers and activators of transcription factors
TBS	Tris tampon solüsyonunda
TNF α	Tümör nekrozis factor alfa
TGF α	Transforming büyüme faktörü alfa
TGF β	Transforming büyüme faktörü beta
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

RESİM, GRAFİK VE TABLO LİSTESİ

Tablo 1	Büyüme faktörlerinin adet döngüsü sürecinde etkili olduğu dönemler	7.Sf
Tablo 2	Preperatların immünohistokimyasal boyanma dereceleri	22.Sf
Tablo 3	Çalışmaya alınan olguların tanılarına göre yaş ortalamaları	23.Sf
Tablo 4	PFE da leptin ekspresyonu değerlendirmesi	24.Sf
Grafik 1	Erken, orta ve geç PFE’da leptin ekspresyonu karşılaştırması	24.Sf
Tablo 5	SFE’da leptin ekspresyonu değerlendirmesi	24.Sf
Grafik 2	Erken, orta ve geç SFE’da leptin ekspresyonu karşılaştırması	25.Sf
Grafik 3	Menstrüel siklus sürecinde leptin ekspresyonu değişimi	25.Sf
Grafik 4	Basit ve kompleks EH’li olgularda leptin ekspresyonu oranları	26.Sf
Resim 1-a/b	Erken proliferatif fazda sellüler stroma ve tubuler bezler / Erken proliferatif fazda bez epitelyumu ve stromal hücrelerde leptin pozitifliği	34.Sf
Resim2-a/b	Geç proliferatif fazda ödemli stroma ve kıvrımlı bezler / Geç proliferatif fazda stroma ve bezlerde leptin pozitifliği	34.Sf
Resim3-a/b	Erken sekretuar fazda tek katlı silindirik epitelle döşeli bezler / Erken sekretuar fazda bez epitelinde zayıf leptin pozitifliği	35.Sf
Resim4-a/b	Geç sekretuar fazda ödemli stromada spiral arterioller ve sekretuar bezler / Geç sekretuar fazda bezler ve stromada güçlüleptin pozitifliği	35.Sf
Resim 5-a/b	Basit atipisiz endometrial hiperplazi / Basit atipisiz endometrial hiperplazide bez epitelinde ve stromada leptin pozitifliği	36.Sf
Resim 6-a/b	Kompleks atipili endometrial hiperplazi / Kompleks atipili endometrial hiperplazide bez ve stromada leptin pozitifliği	36.Sf
Resim 7	Adet döngüsü	37.Sf

TEŞEKKÜR

Çalışmamı yönlendiren ve destekleyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Kemal KUŞÇU 'a, çalışmanın labaratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr.Peyker TEMİZ 'e ve eğitimimde emeği geçen Kadın Hastalıkları ve Doğum AD Öğretim Üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma, bu süreçte hiçbir fedakarlıktan kaçınmaksızın yanımda olan değerli eşim Zeynep ÖZLER 'e içtenlikle teşekkür ederim.

PROLİFERATİF, SEKRETUAR VE HİPERPLAZİK ENDOMETRİAL DOKUDA LEPTİN EKSPRESYONU

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı proliferasyon fazı ve sekresyon fazı endometrium dokularında leptin ekspresyonu varlığını araştırmak ve ek olarak hiperplastik endometrium dokularında normale göre leptin ekspresyonu açısından fark olup olmadığını ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemizde 2002-2007 yılları arasında tanı almış 17 adet proliferasyon fazında endometrium, 23 adet sekresyon fazında endometrium ve 18 adet endometrial hiperplazi dokusu ele alındı. Bu örnekler leptin ekspresyonu açısından immünohistokimyasal boyama yöntemi ile değerlendirildi. Boyanmanın yoğunluğu ve dağılımı göz önüne alınarak endometrial bezler ve yüzey epiteli için 0: negatif, 1: minimal boyanma, 2: hafif boyanma, 3: güçlü boyanma, stroma için 0: negatif, 1: hafif boyanma, 2: güçlü boyanma olarak kabul edildi.

Bulgular: Leptin ekspresyonu açısından en az boyanma erken PFE dokularında gözlemlendi. Boyanma derecesi orta PFE örneklerinde erken PFE tanılı örneklerle oranla daha yüksek, geç PFE dokularında ise en yüksek olarak gözlemlendi. Boyanma derecesi erken SFE dokularında belirgin olarak düşüktü. En yüksek boyanma derecesi ise geç SFE tanılı örneklerde izlendi. Adet döngüsü sürecinde endometrial leptin ekspresyonunun erken proliferasyon fazından itibaren arttığı, geç proliferasyon fazında en yüksek dereceye çıktığı ve ovulasyon ile belirgin olarak azaldığı bulundu. PFE, SFE ve EH tanılı örnekler arasında leptin ekspresyonu açısından istatistiksel anlamda bir fark tespit edilmedi ($P<0.05$).

Sonuç: Leptin ekspresyonu, en yüksek geç proliferasyon fazında olmak üzere adet döngüsü boyunca tüm endometriumda gözlenmesine karşın hiperplastik endometrium örneklerinde anlamlı bir artış tespit edilmedi. Bu bulguların ışığında leptinin hiperplastik süreçte katkısının olmadığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Leptin, Endometrial hiperplazi, Adet döngüsü

EXPRESSION OF LEPTIN IN PROLIFERATIVE, SECRETORY AND HYPERPLASTIC ENDOMETRIAL TISSUE

ABSTRACT

Aim : The aim of this study was to investigate the expression of leptin in the proliferative and secretory endometrium and in addition to reveal if there is a significant difference between hyperplastic endometrial tissue and normal endometrium tissue from the point of view of leptin expression.

Materials and Methods: In our clinic, 17 diagnosed proliferation phase endometriums, 23 secretory phase endometriums and 18 endometrial hyperplastic endometrium tissues were taken up. These specimens were evaluated from the point of leptin expression by immunohistochemical painting methods. A classification is used considering the density and distribution of the paint as;

For endometrial glands and surface epithelium 0:negative, 1:minimal painted, 2:lightly painted, 3: dense painted

For stroma: 0:negative, 1:lightly painted, 2:dense painted

Results : The lowest painting from the point of view of leptin expression was seen on early proliferative phase endometrium(PPE). Middle PPE samples were painted slightly more dense and late PPE samples were painted in highest density. Painting was evidently low in early secretory phase endometrium (SPE). The highest painting rates were observed on late SPE diagnosed samples. During menstrual cycle; endometrial leptin expression was increased from beginning early PPE, was highest in late PPE and clearly decreased with ovulation. No statistically significant difference was determined between PPE, SPE and Hyperplastic Endometrium. ($P<0.05$).

Conclusion : In spite of leptin expression was observed during whole menstrual cycle (highest in late proliferation phase) in the all endometrial tissues; there was no significant increase in hyperplastic endometrium cases. Therefore, we think that, leptin doesn't have addition in hyperplastic progression.

Key words : Leptin, Endometrial Hyperplasia, menstrual cycle

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adet döngüsü, üreme dönemine girişin ilk yıllarında ve perimenopozal dönemde düzensiz ve aşırı kanamalı hal alabilir. Bu süreçte, kronik anovulasyon ve karşılanmamış östrojen suçlanmaktadır. Bu dönemde klinik yakınmaları şiddetli olan kadınlar incelendiğinde, bu kişilerde PKOS, obezite, diyabet, hiperinsülinemi, ve hipertansiyonun daha sık olduğu görülür. Bu kadınların vücuttaki yağ dağılımı santral obeziteye dönüşme eğilimindedir. Bütün dünyada hızla sıklığı artmakta olan obezite; yaygın görülen DM, HT, kardiovasküler sistem hastalıkları ve kanserin neden olduğu artmış morbidite ve mortalite ile yakından ilişkilidir.

Leptin; metabolizma ve vücut ağırlığı düzenlenmesinde anahtar role sahip, 1994'teki keşfinden bu yana pek çok sistem üzerindeki etkileri yoğun olarak çalışılmakta olan bir hormondur. Leptin, potasyum tutucu natriüretik faktör olarak fonksiyon görmekte, uzun dönemde ise norepinefrin döngüsünü ve sempatik sinir aktivitesini arttırmakta ve hipertansiyona neden olmaktadır. Leptin, insülin direncine ve artmış besin alımına neden olarak yağ kütlelerinde daha da artışa ve insülin duyarlılığında azalmaya neden olur.

Endometrium dışarıdan leptini alan ve bağlayan bir dokudur. Endotelyal hücrelerin leptin ile uyarılması anjiogenezi başlatır. Endometrial dokuda anjiogenez, leptin reseptör ve ligandı tarafından kontrol edilen farklılaşma süreçlerindendir. Leptin reseptörünün endometrial farklılaşmayı sağlayan moleküler yolları başlattığı iddia edilmiştir. Yapılan çalışmalarda OB-RL mRNA gen ekspresyonunun proliferasyon süresince giderek artış gösterdiği, erken sekretuar fazda en yüksek olduğu, adet döngü sürecinin sonuna doğru ekspresyonunun giderek azaldığı tespit edilmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında leptinin endometrium proliferasyonunda etkili olabileceği, reseptörünün ise bazı proliferatif faktörler tarafından düzenlendiği düşünülmektedir.

Obezite, karşılanmamış östrojen etkisi, erken puberte ve geç menopoz endometrium hiperplazisi için risk faktörleri arasında yer alır. Bu faktörlerin ortak bileşeni östrojen ve onunla birlikte endometrium farklılaşmasında rol oynayan bazı faktörlerdir. Obez kadınların kanında normal BKİ olan kadınlara göre daha yüksek seviyede bulunan leptinin endometrium hiperplazisi için bir risk faktörü olduğu bugüne kadar yapılan çalışmalarda gösterilmemiştir. Biz bu çalışmamızda proliferatif, sekretuar faz endometriumları ve hiperplastik endometrial dokularda immünohistokimyasal yöntemle leptin varlığını ve farklı boyanma dereceleri ile leptin düzeyi farklılıklarını araştıracadıız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SİKLUS BOYUNCA ENDOMETRİUMDA İZLENEN

FİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Adet döngüsü boyunca endometriumun glanduler, vaskuler ve stromal yapılarında değişiklikler izlenir. Görülen değişiklikler 4 grupta toplanılabilir.

1-Menstuel Endometrium

2-Proliferatif faz

3-Sekretuar faz

4-Endometrial kırılma fazı

Endometrium morfolojik olarak değerlendirildiğinde üst 2/3 tabaka fonksiyonel tabaka, alt 1/3 tabaka ise bazal tabaka olarak isimlendirilir. Fonksiyonel tabaka endometriumu blastokist implantasyonu için hazırlar. Aynı zamanda bu tabaka, proliferasyon, sekresyon ve dejenerasyonun izlendiği yerdir. Endometriumun bazal tabakası fonksiyonel tabakanın adet ile kaybını takiben endometrium yenilenmesini sağlar .

2.1.1. Menstrüel endometrium

Bu fazda endometrium nispeten ince ancak dens bir dokudur. Az miktarda artık stratum spongiosum ve fonksiyon görmeyen bazal tabaka fragmanlarından oluşur. Bezlerin yapısal bütünlüğü bozulur damarlarda ve stroma da fragmentasyon, nekroz, lökosit infiltrasyonu ve eritrositlerde intertisyel diapedez izlenir.

Endometriumdaki bu dökülmenin ardından hızlı bir şekilde tamir başlar. Döngünün 4.gününde kavitenin $\frac{3}{4}$ ü yeni endometrium ile kaplanmıştır. 5-6 . günde kavite reepitelize olur ve stromal değişiklikler başlar.

Endometrium reepitelize olmasında etkili ve son dönemde bir çok araştırmanın da konusunu oluşturan büyüme faktörlerinin önemli bir yeri vardır. Bu çalışmamızın fikrinin doğmasına sebep olmuşlardır.

Bu faktörler ve adet döngüsü sürecinde etkili olduğu dönemler tablo 1’de gösterilmiştir.

	Proliferasyon Fazı	Mid Siklus (ovulasyon)	Sekresyon Fazı
IGF1	+	-	+
IGF2	-	+	+
EGF	+	-	+
TGFa	-	+	-
TGFβ	-	-	+
TNFa	+	+	+

Tablo 1 : Büyüme faktörleri ve adet döngüsü sürecinde etkili olduğu dönemler.

Ultrasonografide, endometriumun iç tabakaları, adet sırasında en belirgin hale gelen santral yerleşimli lineer bir ekojenite şeklinde görülürler. Bu ekojenite ara yüzeyi muhtemelen myometrium kompakt ve nispeten hipovasküler iç tabakasına tekabül eden hipoekojen bir bant çevreler (1).

2.1.2.-Proliferatif faz

Proliferatif faz overyan follikülün büyümesi ve salgıladığı östrojen miktarını arttırması ile ilişkilidir. Östrojen etkisi ile endometrium gelişmesi ve tamiri başarılı. Östrojene bez yapılarının verdiği cevap dikkate değerdir.

Başlangıçta (Resim 1-a) glandlar dar ve tubuler olup basık kolumnar epitel ile çevrilidir, daha sonra mitoz belirginleşir ve psodostratifikasyon izlenir. Sonuçta glandlar genişler. Siklusun 8-10. gününde dolaşımdaki östrojen seviyesinin pik yapmasıyla birlikte endometriumdaki reseptör yoğunluğunda en üst seviyeye ulaşmıştır (Resim 2-a).

Artmış mitotik aktivite, nükleer DNA ve sitoplazmik RNA miktarı ile belirlenen bu proliferasyon blastokist implantasyonun olmasının beklendiği lokalizasyonda endometrium fonksiyonel tabakasının üst 2/3 bölümünde daha yoğun olarak izlenir. Proliferasyon süresinde endometrium iki duvar kalınlığı yaklaşık 0,5 mm den 3,5-5 mm yüksekliğine ulaşır. Endometrium, bu fazda hipoekojen olarak görülür. Fonksiyonel tabaka proliferasyon gösteren temel tabakadır. Endometrial gelişiminin östrojen dominant fazının en önemli özelliği mikrovilluslu ve silialı hücrelerin sayısında artmadır.

Siliogenezis döngünün 7-8. günlerinde başlar. Östrojen etkisiyle izlenen bu endometrium cevabı hiperöstrojenizme bağlı hiperplastik endometriumlar da olması gerekenden daha ileridir.

2.1.3. Sekretuar faz

Ovulasyon sonrasında endometrium östrojen ve progesteron karşısında kombine bir cevap geliştirir. Östrojene maruz kalmaya devam etmesiyle birlikte endometriumun preovulatar iki duvarda 5-6 mm olarak ölçülen kalınlığı 7-12 mm ye yükselir (2). Endometriumun en sıklıkla proliferatif fazda görülen hipoekojen yapısı, bu dönemde genişleyen glandlar ve stromanın özel düzeneği ile alakalıdır(Resim 3-a).

Sekretuar fazda mevcut olan stromal ödem büyük bir olasılıkla glanduler ve stromal elemanlar arasındaki ara yüzeylerin sayısını arttırarak endometriumun döngünün bu dönemdeki ekojenik yapısına katkıda bulunur. Siklusun periovulatar ve sekresyon dönemlerinde küçük bir miktar lümen içi sıvı izlenebilir (3). Ek olarak endometriumun iç tabakası ödemli olabilir ve bu durum çok tabakalı bir görünüme veya halo şekline yol açabilir (4).

Epitel proliferasyonu ovulasyon sonrasındaki 3. günde sona erer (5). Bu sınırlanma veya inhibisyonun progesteron tarafından yapıldığına inanılmaktadır. Östradiolu östron sulfata dönüştüren sülfotransferaz ve 17 beta hidroksisteroid dehidrogenazın progesteron ile uyarılması ve progesteron ile ilişkili östrojen reseptör ekspresyonunun sebep olduğu DNA sentezinde ve mitoz sayısında azalma bu inhibisyon ile ilişkilidir. Östrojen kendisinin attırdığı büyümeye aracılık eden çok sayıda onkogeni uyarır. Progesteron bu etkiyi onkogen mRNA 'nın östrojen aracılıklı transkripsiyonunu baskılayarak antagonize eder (6).

Sekresyon fazının ilerlemesi ile glandlar düzensiz kenarlı bir hal alır ve spiral arterioller kırılmaya başlar. Intraglanduler sekretuar olaylar vakuole ilerler ve ovulasyon sonrası 7. günde iyi bilinen intraluminal lokalizasyonda izlenirler. Bunların sonucunda

gland lümeni kıvrıntılı genişlemiş hücre yüzeyi düzensizleşmiştir. Stroma gittikçe ödemli bir hal alır, spiral arterioller belirginleşmiş ve halka şeklini almışlardır.

Siklusun 17-18. günlerinde ovulasyonun ilk işareti olarak glanduler epitel içerisinde intrastoplazmik glikojen vakuelleri izlenir. En üst sekretuar aktivite siklusun ortasındaki godadotropin atağından 7 gün sonra blastokist implantasyonu sürecinde izlenir.

Siklusun 21-27. günlerinde endometriumda kayda değer değişiklikler izlenir. Bu periyodun başlangıcında ince bir stromanın ayrıldığı genişlemiş ve kıvrıntılı hale gelmiş kıvrıntılı glandlar dikkati çeker. Siklusun 21-22. günlerinde predominant morfolojik özellik endometrial stromal, ödemdir. Bu değişiklik endometriumda östrojen ve progesteronun eşlik ettiği prostoglandin artışı izler. Lokal prostoglandin artışının sonucu kapiller geçirgenlik artar. Mitoz ilk olarak 22.günde izlenir. 22-23. günde kan damarları ile çevrili sitonükleer genişleme artmış sitonükleer aktivite ve bazal membranın oluşması ile predesidual hücreler tanınabilir (Resim 4-a).

2.1.4. Endometrial kırılma fazı

Adetten 3 gün önce fonksiyonel tabakanın predesidual transformasyon ile şekillenen kompakt tabakası ortaya çıkar. Ortamdan östrojen ve progesteronun çekilmesi ile vazomotor semptomlar, apoptozis, doku kaybı ve sonuçta adet ortaya çıkar.

Vazokonstriksiyon ile spiral arterlere ulaşan kan akımının azalması ile venöz dönüş engellenir ve bunu vazokonstriksiyon takip eder. Adetten 24 saat önce iskemi ve staz belirginleşir ve kapiller duvara doğru lökosit göçü olur.

Arterial vazomotor değişiklikler suresince intertisyel alana eritrosit göçü gözlenir. Bazal endometrium adet boyunca dökülmeden kalır ve endometrium tekrardan buradan yenilenir. Endometrium menstrüel sıvıdaki litik enzimlerden glanduler ve stromal hücrelerin ürettiği müsinöz tabaka sayesinde korunur.

2.2. ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ

Endometrial hiperplazi, endometrial stroma ve bezlerin, fizyolojik durumun abartılı şekli ile karsinoma in situ arasında değişiklik gösteren biyolojik ve morfolojik

farklılaşma spektrumunu yansıtır. Endometrial hiperplazi anormal proliferasyonun heterojen bir grubunu oluşturur. Anormal proliferasyon normal proliferatif faza kıyasla glandüler yapıda değişikliklerle belirlenir. Bu anormal yapısal parametreye nükleer atipi de eklenebilir. Bu durum değişik etkilere bağlı olabilirken, östrojen etkisi en önemli sebeptir. Östrojen etkisine endometrium cevabı kompleks olup yapısal, nükleer ve sitoplazmik değişikliklerin kombinasyonu şeklinde yansır.

Endometrial hiperplazi, normal proliferatif endometriuma kıyasla artmış bez ve stroma oranı, düzensiz şekil ve boyutlardaki bez proliferasyonu olarak tanımlanır. Bu olay yaygındır fakat bütün endometriumu tutması gerekmez.

Bu lezyonların bir kısmı kendiliğinden veya medikal tedavi ile normale döner, bir kısım hastada hiperplazi persiste eder, az bir kısım hastada ise endometrial adenokarsinoma ilerler.

Endometrial hiperplazi tanısı ancak patolojik inceleme ile konur. Bu olay endometrial kaviteyi yaygın olarak tutabilir veya bir yada daha fazla odakta lokalize olarak bulunabilir. Her yaşta görülebilir bazen anovulatuvar persiste östrojene maruz kalıp düzenli progesteron üretimi olmayan onlu yaşlardaki hastalarda da izlenebilir. En yaygın sebep anovulatuvar sikluslarla karşılaşma, yoğun dışarıdan östrojen uygulanması veya endojen kaynaklı dengelenmemiş östrojenle karşılaşmadır. 1900 yılında Cullen endometrium hiperplastik lezyonlarının endometrium karsinomu için öncül olduğunu bildiren bir makale yayımladı (7).

2.2.1 Endometrial Hiperplazi histolojik sınıflaması

International Society of Gynecological Pathologists ve World Health Organization (WHO) 'nın onayladığı endometrial hiperplaziye yönelik en son sınıflama şeması, lezyonların doğal gidişini yansıtan uzun süreli çalışmaların yanı sıra hücresel ve yapısal özelliklere dayandırılmıştır (8). Buna göre sınıflama;

- ❑ **Basit hiperplazi (Atipisiz kistik hiperplazi)**
- ❑ **Kompleks hiperplazi (Atipisiz adenomatöz hiperplazi)**
- ❑ **Basit atipili hiperplazi**
- ❑ **Kompleks atipili hiperplazi**

1. Basit endometrial hiperplazi (Atipisiz kistik hiperplazi):

En sık rastlanan hiperplazi tipidir (Resim 5-a). Genişlemiş yuvarlak yada hafif düzensiz şekillerdeki kistik bezler glandüler kalabalıklaşma olmaksızın artmış bez stroma oranı ile karakterizedir. Burada glandlarda sırt sırta dizilme ve atipizm yoktur (8,9).

2. Kompleks endometrial hiperplazi (Atipisiz adenomatöz hiperplazi):

Hücrel atipi olmaksızın glandüler yapı sayıca artmış ve yapısal komplekslik (tomurcuklanma ve katlanma) gösterir. Glandlar sırt sırta binmiştir. Döşeyici epitelyum hiperplastiktir ve lümeni çevreleyen epitelyumda sıklıkla strafikasyona rastlanır. Stroma rölatif olarak daralmıştır (9).

3. Basit atipili hiperplazi:

Glandüler değişiklikler basit endometrial hiperplazideki gibidir, ancak hücrel atipi eşlik eder. Hücrel atipik özellik; **sitomegali, polarite kaybı, hiperkromazi, nükleolus belirginliği ve nüve stoplazma oranı değişiklikleridir** (8,9).

4. Kompleks atipili hiperplazi:

Glandüler değişiklikler kompleks endometrial hiperplazideki gibidir, ancak hücrel atipi mevcuttur (Resim 6-a).

Mutter tarafından yayımlanan yeni bir araştırmada nükleer atipinin malign potansiyel ayrımında temel belirleyici olduğu söylenmiştir (10). Kurman ve ark. tedavi edilmemiş endometrial hiperplazisi olan ve ortalama 13.4 yıl takip edilen 170 hastanın endometrial kürtaj sonuçları üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmanın bulgularına göre kansere ilerleme riski basit hiperplazili hastalarda % 1, kompleks hiperplazili hastalarda % 3, atipik basit hiperplazili hastalarda % 8, atipik kompleks hiperplazili hastalarda % 29 olarak tespit edilmiştir. Hiperplazilerin çoğunun değişmeden kaldığı (% 74) yada düzeldiği (% 18) gözlenmiştir (11). Endometrial doku örneklemede atipik hiperplazi saptanan hastalarda histerektomi yapılırsa yaklaşık % 25 oranında genellikle iyi difere nsiye olmuş endometrium kanserinin eşlik ettiği saptanmıştır (9).

Tüm bu çalışmalar endometrial hiperplazilerin prognozunu saptamada en önemli kriterin ; atipinin varlığı veya yokluğu olduğunu göstermektedir. Atipik hiperplazilerin gerçek premalign potansiyelini saptamak güçtür. Bazı araştırmacılar prekanseröz lezyonların kansere ilerleme oranlarını tahmin etmenin imkansız olduğunu bildirmekle beraber bazıları ise %10 gibi tahmini bir oran bildirmişlerdir. Basit hiperplazilerin

kansere dönüşme oranları 24 yıllık bir izleme sonunda % 0.4 olarak bildirilmiştir (12).

Hiperplazinin kansere dönüşme potansiyelini yaş, altta yatan over hastalığı, endokrinopati, obezite ve ekzojen hormona maruz kalma etkilemektedir. Genel bir kanı endometrial prekanseröz lezyonlarda malignite potansiyelinin postmenopozal hastalarda, premenopozal olanlara göre belirgin olarak daha fazla olduğu doğrultusundadır (13).

2.2.2 KLİNİK YAKLAŞIM VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Klinikte endometrial hiperplazi tipik olarak anormal kanamaya yol acar. Hiperplazi, karşılanmamış östrojen ile uyarılması sonucudur. Endometrial hiperplazi menarş sonrası ilk yıllarda ve perimenopozal dönemde anovuluar sikluslardaki karşılanmamış östrojene bağlı olarak sık izlenir. Endometrial hiperplazinin temel semptomu genellikle düzensiz bazen yoğun uterin kanamadır. Endometrial kavite içinde kan ve kan pıhtılarının birikmesine bağlı kramp şeklinde karın ağrısı olabilir.

Endometrial hiperplazi aynı zamanda granüloza hücreli tümör, overyan tekoma, polikistik over sendromu, adrenokortikal hiperplazi ve ekzojen östrojen kullanım ile ilişkili olabilir. Bu grupta tipik hikaye siklik adetlerin kesilmesi, adetlerde atlama olması, adetlerin gecikmesi olabilir.

Bu şikayetlerle başvuran hastada vajinal ultrasonografi yapıldığında endometrial kalınlık ile endometrial hastalık arasında ilişki olduğu saptanabilir.

20. yüzyılın başından beri dilatasyon ve küretaj endometrial örnekleme için en çok kullanılan yöntem olmuştur (14). Endometrial patolojilerin tanısında dilatasyon ve küretaj ile alınan endometrial doku örneklerinin histopatolojik incelemesi halen en önemli tanı yöntemlerinden biridir. Dilatasyon ve küretajın histeroskopi ile karşılaştırıldığı çalışmada 6 hastaya hem histeroskopi hem de dilatasyon ve küretaj yapmıştır. Sonuçta 44 (%83) olguda histeroskopi ile daha fazla bilgi sağlanmış dilatasyon küretaj 9 (%17) olguda daha doğru sonuç vermiştir (15). Endometrium pipelle ve benzeri bir çok küret ile dilatasyon ve küretaj yakın doğrulukta değerlendirilebilir. Pap testi endometrium kanseri tanısında diagnostik değer taşımaz. Endometrium kanserli hastaların ancak yarısında pozitif Pap testi bulunabilmiştir (16). Pap testi ile normal endometrial hücrelerin gösterildiği %5-10 hastada ise endometrial hiperplazi veya kanser bulunduğu gösterilmiştir (17).

Anormal uterin kanamaların tedavisi hastaların yaşları, hiperplastik gidişin

histolojik özellikleri ve fertilite beklentileri gibi durumlar göz önüne alınarak planlanır. Kan kaybı prostoglandin sentetaz inhibitörleri ile %25, fibrinoliz inhibitörleri ile %50, kombine doğum kontrol hapları ile %40, danazol ile %80 ve GnRH analogları ile %75 oranında azaltılabilir. Tedavide progestagen olarak norethisterone, dydrogesterone, medroksiprogesteron, lynestranol, levonorgestrel kullanılabilir (18). Özellikle çocuk isteğinin olmadığı durumlarda ve hiperplazinin prekanseröz gidiş riskinin yüksek olduğu kompleks ve atipili vakalarda histerektomi ön planda tutulmalıdır.

2.3.LEPTİN

2.3.1 Ob/ob Farelerin Tarihçesi ve Özellikleri

İnsan obezitesi ve tedavisinde ilk kullanılan modeller olan ob/ob fareler 1950 'de Jackson laboratuvarında keşfedilmiştir (19). Bu mutasyonun, erken yaşlarda ciddi obezite, hiperfaji, diyabet ve enerji tüketiminde azalmaya neden olduğu bulundu. Kennedy ve arkadaşları 1953 yılında, vücut yağ depolarının durumunu beyine bildirerek enerji alımını ayarlayan, yağ dokusunda yapılan ve dolaşıma verilen bir faktörün var olduğunu ileri sürdüler. Ob/ob fareler resesif kalıtmımlı genetik obeziteye sahiptirler. Bu genetik yapıdaki fareler, erişkinlikte sterildir ve %50 oranında yağ fazlasına sahiptirler. Db/db fareler daha sonra keşfedilmiştir. Bunlar da benzer olarak obezdirler ancak farkları aynı zamanda hiperglisemik olmalarıdır (20). Ob/ob farelerin yağ dokusundan kana salınan bir maddeyi yapamadıkları ancak beyinlerinin bu maddeye cevap verdiği ve bu maddenin dışarıdan verilmesiyle yemenin azaldığı, db/db farelerin yağ dokularında bu maddeyi yapabildikleri fakat beyinlerinin bu maddeye cevap vermediği keşfedilmiştir. Sonuç olarak ob/ob fareler obezdir çünkü leptin üretmezler, db fareler de obezdir, leptine yanıt veremezler ve db farelerde leptin seviyeleri oldukça yüksektir (21).

2.3.2. Leptin Geni ve Reseptörlerinin Keşfi

1994'te ob/ob farelere neden olan genetik defekt, Zhang ve grubu tarafından yayınlanmıştır (22). 1995 'te yapılan çalışmalar ile ob gen ürünü olan leptin, açıkça gösterilmiştir (23,24). Ob/ob fareler ob gen mutasyonu nedeniyle leptin üretememektedirler. Hiçbir mutasyon tipi insan obezitesinin hiçbir formunu tam olarak açıklığa kavuşturamamıştır. Sonuç olarak insan obezitesinden birkaç genin birden sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Leptin reseptörleri, Tartaglia ve ark. tarafından 1995 'te klonlanmıştır (25). Leptin reseptörleri pek çok dokuda bulunmaktadır. Uzun form özellikle hipotalamusta (arkuat, lateral, ventromedial, dorsomedial nukleuslar) bulunur (26). Bu reseptörler leptinin santral etkisinden sorumludur. Uzun form başka dokularda pek bulunmazken, kısa formlar yaygın olarak eksprese olmaktadır. Bazı reseptör formları da leptinin kanda taşınması ve kan beyin bariyerini geçmesinden sorumludur (25,26).

Leptin reseptörleri vücutta oldukça yaygındır. Bu reseptörler; hipotalamus, pankreas, over ve testis, cumulus ooforusun granüler tabaka hücreleri, uterus (27), böbrek, kalp, akciğer, karaciğer , adrenal bez, hematopoetik kök hücreler ve iskelet kaslarında bulunur.

Leptin reseptörü sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir. Kısa form (OB-R_S) ve uzun form (OB-R_L) olmak üzere iki büyük formu vardır. Sinyal reseptörü olan form uzun formdur (28). Uzun formların ait olduğu klas -I sitokin reseptör ailesi; bağlandıktan sonra reseptörü fosforile eden proteinler ve fosforilasyondan sonra aktive olan STAT (Signal transducers and activators of transcription factors) proteinleri yoluyla etkisini gösterir (28).

Leptin reseptörleri homodimerler oluşturur (29). Ligand reseptör bağlanması ve reseptör agregasyonunu takiben fosforilasyon olayları, Janus kinazların (JAK) aktivasyonu ile sonuçlanır. JAK; spesifik reseptör tirozin rezidülerini fosforlar bu da STAT ailesi için bağlanma bölgeleri sağlar. Bu transkripsiyon faktörlerinin JAK tarafından fosforillenmesi onların dimerizasyonunu, regülatör olaylar için nukleusa translokasyonlarını sağlar ve gen transkripsiyonu stimüle olur. JAK-STAT yoluyla oluşan leptin sinyalleri uzun leptin reseptör izoformu (OB-R_L) ile ilişkilidir (28).

Uzun reseptör formu STAT proteinleri yoluyla çalışır fakat STAT proteinleri için spesifik gen problemlerinde obezite olmaz bu da obezitede farklı yolların varlığını gösterir. Db geni leptin reseptörünü kodlar. Db mutasyonu uzun formu kısa forma dönüştürür. Fa/fa mutasyonu da sadece beyinde leptine cevap veren bir başka tip reseptör mutasyonudur (28).

Klas-I sitokin reseptör ailesi üyeleri tarafından gerçekleştirilen sinyal transdüksiyonu JAK-STAT sistemi ile sınırlı değildir. Bu reseptörlerden bazıları mitojen activated protein kinaz (MAPK) yada fosfotidil inozitol 3 (PI-3) kinaz yollarına bağlanırlar (30).

2.3.3. İnsanlarda Lep Geni

Leptin kelimesi Yunan dilinde zayıf anlamına gelen ‘leptos’ kelimesinden türemiştir. Leptin yağ dokusundan salgılanan 167 aa 'ten oluşan, kanda bir protein ailesine bağlı olarak dolaşan, MSS 'de yeme davranışı ve enerji balansını düzenleyen nöronlar üzerinde etkileri olan bir peptiddir. İştah merkezinin hipotalamik lokalizasyonu 1940'larda ventromedial nukleustaki iki taraflı lezyonların ratlarda deneysel obeziteye yol açtığı gösterilmesiyle saptanmıştır. 1950'lerde ratlarda yapılan çalışmalarda, yağ dokusunda hipotalamus ile ilişki halinde olan ve vücut ağırlığını düzenleyen bir hormonun varlığı gösterilmiştir. Fakat 1994 'e kadar farelerde obeziteden sorumlu gen olan ob geni tanımlanamamıştır. İnsanlarda bu gen Lep geni olarak bilinir ve 7q31.3 no lu kromozom bölgesinde lokalizedir (28).

Ventromedial nukleusların iştah merkezi ve açlık enformasyonu arasında entegrasyon sağlayan bir merkez olduğuna ve bu nukleusların harabiyetinin, hiperfajiye yol açan, tokluk sinyallerinin kaybolması ile sonuçlandığına inanılır. Bununla birlikte fazla yeme ve obezite ventromedial nukleusun harabiyetinden çok yakınındaki ventral nöradrenerjik bantların harabiyeti sonucu meydana gelir. Ani başlangıçlı hiperfaji; tümörler, travma, inflamatuvar prosesler ve anevrizmalar gibi hipotalamik bir lezyona bağlı olabilir (28).

2.3.4. Fizyolojik Feedback Mekanizması

NPY; 36 aa 'ten oluşan, kemirgenin beynine enjekte edildiğinde yemenin güçlü bir uyarıcı olarak fonksiyon gören bir polipeptiddir. NPY; besin alımını stimüle eder, ısı üretimini azaltır, insülin ve kortizol sekresyonunu artırır (8-28).

Açlık ve egzersiz leptin sekresyonunu azaltır ve arkuat nukleustan NPY gen ekspresyonunu artırır. Nöronal projeksiyonlardan paraventriküler nukleuslara NPY salgınır. NPY'ye cevap veren nöronlar arkuat nukleustan kaynaklanır ve paraventriküler ve dorsomedial nukleuslara projekte olur. Arkuat nukleus, medial bazal hipotalamusta kan beyin bariyeri olmadığı için kan beyin bariyerinin dışında yerleşiktir ve dolaşımdaki leptin bu bölgeye ulaşabilir. NPY nöronları; sempatik sinir aktivitesini baskılayarak yemeyi uyarır , ısı üretimini azaltır. Leptini olmayan ob/ob farelerde hipotalamusta NPY seviyeleri yüksektir, leptin tedavisi NPY' yi azaltır (28).

NPY 'nin leptin tarafından baskılanması iştahın azalması, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ve enerji sarfı ile sonuçlanır. Leptinin hipotalamustaki diğer hedefleri; iştahı düzenleyen nöropeptid melanosit stimüle edici hormon (MSH) ve Proopiomelanokortindir (POMC). Melanokortin gen reseptöründeki mutasyonlar ailesel insan obezitesinde tek gene bağlanan en yaygın nedendir. Melanokortin reseptöründeki defekt NPY salınımında artışa yol açarak obeziteye neden olur. POMC geninde bir mutasyon meydana geldiğinde MSH ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeyleri azalır, bu da obezite ve adrenal yetmezlik ile sonuçlanır (8-28).

İnsanda lep geni olarak bilinen ob geni akut olarak regüle edilmez. Beslenme, leptin seviyelerini yavaşça, insülin seviyeleri ile korele biçimde artırır. İnsülin, beyinde leptine benzer bir şekilde NPY üzerine etki ile negatif feed back etki sağlar. DM' da hiperfaji insülinin bu işlevinde bir eksikliği yansıtır. Bu da insülin ile sağlanan NPY baskılanmasının leptin sinyalizasyon sistemi yoluyla olduğunu gösterir (28).

Kemirgenlerde insülin, ob gen ekspresyonunu artırır fakat zıt olarak insanlarda böyle değildir. İnsanlarda yemeklerden sonra leptin artışı olmaz, insülinin akut verilmesi de leptin seviyelerinin artışını stimüle etmez. Aşırı yemeye benzer bir mekanizma ile kronik insülin uyarımı yapıldığında insanlarda ob gen ekspresyonunda bir artış meydana gelir. Sadece bir çalışmada ve sadece kadınlarda oluşturulan hiperinsülinemi sonrasında leptin seviyelerinde akut yükselme oluşmuştur. Bu sonuç; insülinin ob gen ekspresyonunda ve leptin sekresyonunda etkili olan regülatör mekanizmalarda bir rol üstlendiğini gösterir (28).

2.3.5. Leptinin Sekresyonu ve Kanda Dolaşımı

Plazma leptini; vücut yağı, cinsiyet ve insülinemi ile düzenlenen diurnal ve ultradien bir ritme sahiptir. Leptin pulsatil olarak salınır ve nokturnal yükselme gösterir (31,33). Leptin; 24 saatlik siklusu sırasında geceleri en yüksek sabahları ise en düşük seviyelerdedir (32,34). 24 saatlik siklusa ek olarak bu hormonun normal ovulatuvar kadınlardaki sekresyonu aylık siklus paternine de sahiptir. Leptin seviyeleri orta sekretuar fazda progesteron sekresyon artışı ile aynı anda pik yapar (34).

Yemek zamanı ve insülin ana role sahiptir . Gün içi değişimler gösteren başka hormonlar da NPY, kortikosteroidler, katekolaminler, plazma leptin seviyesini etkileyebilir, aynı zamanda diurnal ritmi düzenleyebilir . Leptin yine plazma leptin paternini düzenleme etkisi ihtimali bulunan bir yada daha fazla bağlayıcı proteine bağlıdır . Obezite; muhtemelen oluşan leptin rezistansına bağlı olarak bu ritmi düşürür. Bu

bulgular, leptinin enerji dengesi ve üreme fonksiyonu üzerine önemli fizyolojik ve patofizyolojik rolünün olduğunu gösterir. Ritmik patern de metabolik sinyallerin ulaşması ve reproduktif aksın düzenlenmesi için önemlidir (35,36,37).

2.3.6.Leptin Sekresyonunu Düzenleyen Faktörler

Leptin sekresyonunun düzenlenmesinde en önemli parametre, vücut ağırlığıdır. Obezlerde normal kilolu kişilere göre serum leptin düzeyleri daha yüksektir. Bunun obez kişilerde leptine karşı hipotalamik reseptörlerde gelişen bir duyarsızlığa bağlı olduğuna inanılmaktadır. Serum leptin seviyeleri ile yağ dokusunun toplam kütlesi arasında da pozitif bir ilişki mevcuttur (38). Ancak her bir beden kütle indeksi (BKİ) değeri için serum leptin seviyelerinde dalgalanmaların olması, yağ dokusu haricinde leptin sekresyonunu düzenleyen başka faktörlerin de olduğunu gösterir.

Kan leptin düzeyini etkileyen faktörlerden bir diğeri cinsiyettir. Normal kilolu kadınlarda serum leptin seviyesinin yine normal kilolu erkeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Kadınlarda leptin düzeyinin en önemli belirleyicisi BKİ gibi görünürken, erkeklerde en önemli belirleyici bel çevresidir. Konuyla ilgili çalışmalarda vücut kitle indeksine bağlı olmaksızın kadınlarda serum leptin seviyesinin erkeklere göre 2 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Seks steroidleri ve androjenlerin de leptin seviyelerini etkileyebileceği öne sürülmüşse de buradaki asıl mekanizma açık değildir (39).

Considine ve arkadaşlarının (39) yapmış oldukları çalışmada % 10 oranında kilo kaybının leptin seviyesinde % 53 azalmaya neden olduğu, kilo vermenin durduğu 4 haftalık dönemde ise leptinin yavaşça yükselerek ilk baştaki değerine yaklaşık olarak % 70 'ine ulaştığı bulunmuştur. Kilo kaybı leptin düzeyinde azalmaya, kilo alımı ise artışa yol açar. Açlık ve gıda alımı bir gün içerisinde leptin seviyesini hızla değiştirebilir. 24 saatlik açlık leptin seviyelerini %30 oranında azaltırken, aşırı besin alımı leptin seviyelerini 12 saatte %50 oranında artırır. Leptin seviyeleri, diyet yağdan zengin olduğunda daha fazla artar (40). Diyetle başlayan kişilerde kilo kaybedilmesiyle azalan leptin hormonuna bağlı olarak artan iştah zaman içerisinde diyeti bırakmaya neden olabilir. Bu esnada ekzojen leptin uygulaması yararlı olabilir (41).

Kısa dönem hiperinsülinemisinin leptin sekresyonuna etkisi yok iken uzun dönem hiperinsülinemi yada insülin direnci leptin seviyelerini artırır. İnsülin direnci ve hiperinsülinemisi olanlarda leptin seviyelerinin yüksekliği yüksek VKİ 'ne bağlıdır (48-40). Östrojenin de leptin salınımı üzerine etkileri vardır. Yağ dokusunda östrojen

reseptörlerinin bulunması bu düşünceyi destekler. Farelerde ooferektomi sonrası mRNA ob gen ekspresyonunun ve serum leptin seviyelerinin azalması, menopozal kadınlarda daha düşük leptin seviyelerinin bulunması bunu destekler (40). Diğer taraftan bunu desteklemeyen veriler de mevcuttur. Menopozda leptin seviyelerindeki düşüşün anlamlı düzeyde olmaması, postmenopozal hastalara Hormon replasman tedavisi verilmesinin leptin seviyelerini değiştirmemesi, üreme çağındaki kadınlara Oral kontraseptif verilmesinin serum leptin seviyeleri üzerine etkisinin olmaması bu duruma örnek gösterilebilir (42). Gonadotropinlerin ise leptin sekresyonu üzerine etkisi yoktur (40).

2.3.7. Leptin Klirensi

Sağlıklı kişilerdeki leptin düzeyini, primer olarak yağ dokusundaki yapımı belirlese de, dolaşımdan uzaklaştırılmasında böbrek klirensi ana belirleyicidir(43). Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda yapılan bir çalışmada' böbrek leptin klirensindeki bir bozukluğun leptin seviyesini yükselttiğini ve bu yüksekliğin böbrek bozukluğu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (44). Bu yüzden, kronik böbrek yetmezliği olan hastalardaki iştahsızlığın nedeni yüksek leptin seviyesi olabilir (43).

2.3.8. Leptin ve Endometrium

Leptinin hipotalamus-hipofiz-over eksenini üzerindeki etkileri iyi bilinmektedir. Değişik leptin konsantrasyonları over kaynaklı steroid üretimini etkileyerek endometrial transformasyon ve farklılaşmanın düzenlenmesinde rol oynayabilir (45).

İnsan endometriumu, yağ dokusundan üretilen ve salgılanan leptin için bir hedef organdır. Leptin sistemi (leptin ve reseptörü) sekretuar endometrium ve endometrial epitelyal hücre kültürlerinde gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak tespit edilen leptin reseptörünün uzun fonksiyonel izoformu insan endometriumundan devamlı eksprese olmaktadır. Endometrium, anjiogenez ve damar büyümesinde etkili olan leptini dışarıdan alan ve bağlayan bir dokudur. Endotelyal hücrelerin leptin ile stimüle olması anjiogenezi başlatır. Leptinin bu anjiogenetik etkisi VEGF ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü VEGF, insan endometriumundan proliferasyon fazında tıpkı leptin gibi yüksek oranda eksprese olmaktadır. Endometrial dokuda anjiogenez, leptin reseptör ve ligandı tarafından kontrol edilen farklılaşma süreçlerindendir. Leptin reseptörü endometriumdaki farklılaşmayı sağlayan moleküler yolları başlatıyor olabilir (45,46). Endometriozisli kadınlarda

peritoneal sıvı ve serumda leptin konsantrasyonları artmıştır. Leptin birtakım faktörlerle stimüle olmuş stromal hücrelerde hücre viabilitesini artırmakta ve desidualizasyon sürecini baskılamaktadır. Endometriozisli hastalarda artmış olan leptin, aktive olmuş endometrial stromal hücreler üzerinde anti apoptotik etkilere sahip olabilir (47).

2.3.9.Leptinin Diğer Sistemlerle İlişkisi

HT; kadınlarda hormon ilişkili kanserler için bir risk faktörüdür. HT 'nun kanser gelişimini apoptozisi ve hücre döngüsünün düzenlenmesini bozarak indüklediği düşünülmektedir. Pek çok çalışmada, obezite ve HT gibi insülin direnci durumlarında leptin artışının olduğu gösterilmiştir. Kısa dönemde leptin, potasyum tutucu natriüretik faktör olarak fonksiyon görmekte, uzun dönemde ise norepinefrin döngüsünü ve sempatik sinir aktivitesini arttırmaktadır. Kronik leptin infüzyonunun, kalp hızı ve kan basıncını sempatik sinir sisteminin aktivasyonunu stimüle ederek artırdığı gösterilmiştir.

Obezitede tip II DM riski 3-10 kat artış göstermektedir. Tip II DM'li hastaların çoğu fazla kiloludur ve zayıflama tip II DM metabolik anormalliklerini dramatik olarak geri çevirebilmektedir. Bu nedenle daha çok obezlerde gözlemlenen hiperleptinemi ile diabetiklerin karakteristik özelliği olan insüline azalmış duyarlılık arasında nedensel bir ilişki kurulması mümkündür. Yapılan bazı çalışmalarda leptin seviyeleri ile açlık insülin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Olgular:

Celal Bayar Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan 2002-2007 yılları arasında tanı almış 17 adet proliferasyon fazında endometrium (PFE), 23 adet sekresyon fazında endometrium (SFE) ve 18 adet endometrial hiperplazi (EH) olgusu ele alındı. PFE tanısı alan materyallerin 7'si probe küretaj (PK), 10 'u histerektomi örneği idi. SFE tanısı alan materyallerin 6'sı PK, 17 'si histerektomi örneği idi. EH tanılı materyallerin ise 4 'ü PK, 14 'ü histerektomi örneği idi. Olguların yaşı, adet düzeni gibi bilgileri klinik istem formlarından yada dosyalarından elde edilerek kaydedildi.

Hematoksilen-eozin boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek histopatolojik tanı doğrulandı, PFE ve SFE preparatlarında mikroskopik olarak adet döngüsü günü belirlendi.

İmmünohistokimyasal değerlendirmeye yetecek oranda endometrial doku içeren bloklar seçildi. Leptin boyamasında pozitif kontrol amacıyla plasenta dokusu kullanıldı.

İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

Seçilen tüm bloklara leptin immünohistokimyasal boyası uygulandı. İmmünohistokimyasal boyamaların her birinde, pozitif ve negatif kontrol kullanıldı.

%10'luk tamponlanmış formalinde tespit edilip, rutin yöntemlerle takip edilmiş ve parafine gömülmüş dokulardan 4 µ kalınlığında hazırlanan kesitler poly-L-Lizinle kaplı lamalar üzerine alındı. Lamlar 55°C de etüvde 16 saat kurutuldu. Ksilol ile deparafinizasyon ve alkol ile rehidratasyon işleminden sonra çeşme suyu ve distile su ile yıkayıp endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla 10 dakika %3'lük

hidrojen peroksidaz solüsyonunda bekletildi. Çeşme suyu ve distile suda yıkanan kesitler sitrat buffer solusyonu (pH=6.0) içinde Apo-D için 3 dakika basınçlı kaptaki kaynatıldı. Bu işlemten sonra kesitler oda ısısında soğutuldu. Çeşme suyu ve distile suda yıkandıktan sonra 4 farklı kap içindeki Tris tampon solüsyonunda (TBS) (pH=7.6) 3'er dakika bekletildi. Ardından leptin immünohistokimyasal belirleyicisi için non-spesifik zemin boyasını önlemek için oda ısısında 10 dakika protein blokajı (DAKO, X0909) yapıldı ve primer antikor uygulamasına geçildi.

Kesitlere insan leptin proteinine yönelik konsantre poliklonal tavşan antikoruna Ob(A-20) (sc-842, lot D0307 rabbit polyclonal IgG Santa Cruz Biotechnology) 1/75 oranında dilüe edilerek 20 dakika inkübasyon uygulandı.

Kesitler, TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkadıktan sonra sekonder antikor işlemi için sırasıyla biotin ve streptavidin-peroksidaz solüsyonlarında 15'er dakika inkübe edildi. İnkübasyonlar arasında yine TBS (pH=7.6) ile 4 kez yıkandı.

Daha sonra kesitler kromojen olarak diaminobenzidin (DAB, Lab Vision) solüsyonunda 10 dakika bekletilip distile suda 3 dakika yıkandı. Asitsiz ve alkolsüz Mayer hematoksileni ile zıt boyama yapıldıktan sonra çeşme suyu ve distile suda 3'er dakika yıkandı. Alkollerden geçirilen lamalar kurutulduktan sonra şeffaflandırma işlemi için ksilolden geçirildi ve Entellan® (Merck and Co., Berlin) ile kapatıldı.

Uygulama sırasındaki tüm inkübasyonlar oda sıcaklığında, nemli ve kapalı bir ortamda yapıldı.

İmmünohistokimyasal Sonuçların Değerlendirilmesi

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda bir kişi tarafından yapıldı. Leptin ile sitoplazmik boyanma elde edildi. Boyanmanın yoğunluğu ve dağılımı göz önüne alınarak endometriyal, epitel ve stroma yapılarının derecelendirmesi tablo 2 ye uygun olarak yapıldı.

Değerlendirme	Boyanma Derecesi			
Alanı	0	1	2	3
Endometrial bez	Negatif	Minimal	Hafif	Güçlü
Yüzey epiteli	Negatif	Minimal	Hafif	Güçlü
Stroma	Negatif	Hafif	Güçlü	

Tablo 2: Preperatların immünohistokimyasal boyanma dereceleri

İstatiksel Değerlendirme

Sonuçlar, Kruskal-Wallis ve Chi-kare istatistiksel yöntemleri ile değerlendirildi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Hastanemizde çeşitli nedenlerle 2002-2007 tarihleri arasında probe küretaj, abdominal histerektomi ve vajinal histerektomi operasyonları geçirmiş ve proliferasyon fazında endometrium(PFE), sekresyon fazında endometrium(SFE) ve endometrial hiperplazi(EH) tanıları almış toplam 58 adet olgu çalışma kapsamına alınmıştır. Olguların yaşları 30 ile 74 arasında değişmekte ancak tanılar için yaş ortalamaları arasında az sayıda (3 adet) kompleks EH olgusu haricinde belirgin farklılık yoktur (Tablo 1).

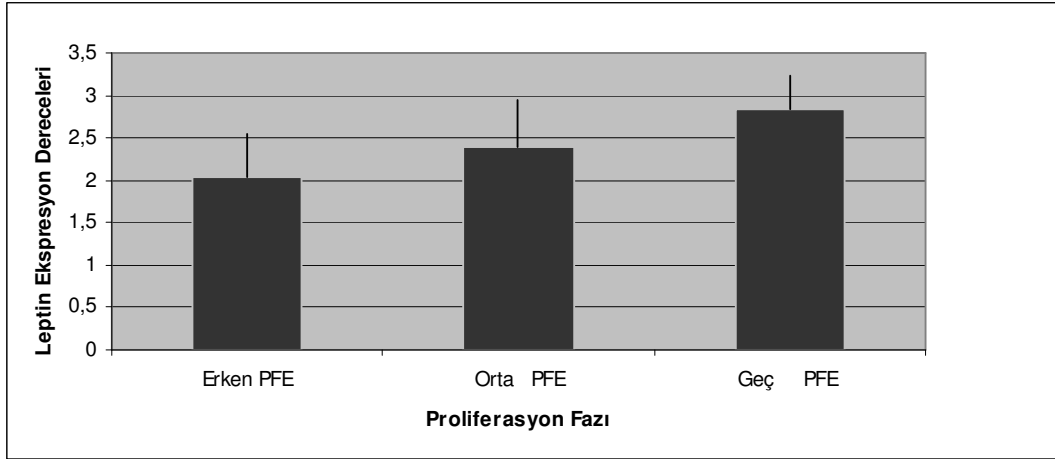
Tanılar	Örnek Sayısı	Ortalama Yaş $\pm$ SD
Erken PFE	6	42,33 $\pm$ 3,07
Orta PFE	5	37,00 $\pm$ 7,84
Geç PFE	6	44,83 $\pm$ 5,56
Erken SFE	7	41,57 $\pm$ 3,35
Orta PFE	3	45,00 $\pm$ 5,56
Geç PFE	13	43,30 $\pm$ 6,84
Basit EH	4	56,25 $\pm$ 17,36
Kompleks EH	14	48,64 $\pm$ 8,26
Toplam	58	44,87 $\pm$ 8,48

Tablo 3: Çalışmaya alınan olguların tanılarına göre yaş ortalamaları

Çalışmamızın ilk aşamasında fizyolojik bir süreç olan menstrüel siklus dönemlerinde endometrial leptin ekspresyonu değerlendirildi. Proliferasyon fazı ve sekresyon fazı endometriumu tanıları alan olgular erken, orta ve geç ara dönemlerine ayrılarak leptin ekspresyonları açısından ayrı ayrı değerlendirildi.

Proliferasyon fazı kendi içinde değerlendirilmesinde (Tablo2 - Grafik 1), erken PFE leptin ekspresyonu artmaya başlamakta ve en yüksek derecelere geç PFE da

ulaşılmaktadır (Resim 1-a,b ve Resim 2-a,b). Erken, orta ve geç PFE tanılı örneklerde leptin ekspresyonu için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0005$).



Tablo 4: PFE da leptin ekspresyonu değerlendirilmesi

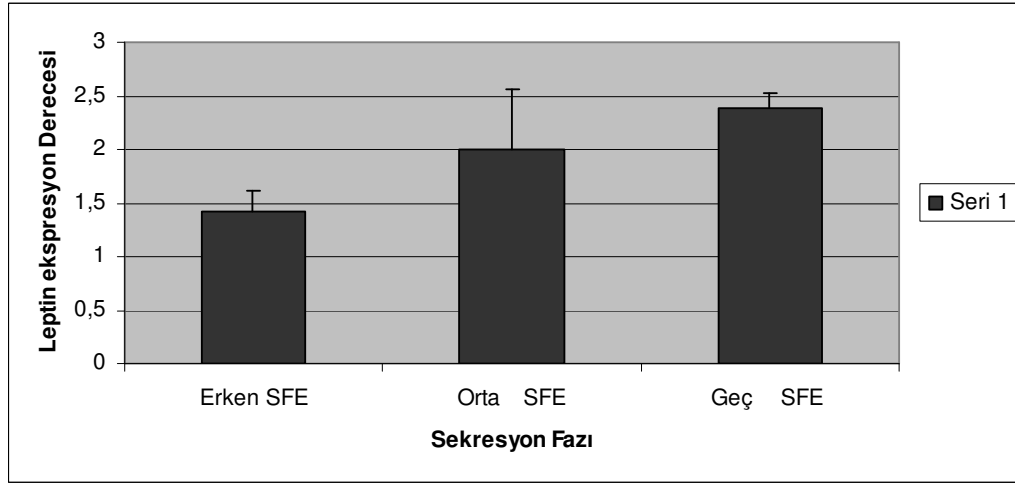
	Hasta Sayısı	Ortalama Boyanma Derecesi $\pm$ SD
Erken PFE	6	2,33 $\pm$ 0,51
Orta PFE	6	2,40 $\pm$ 0,54
Geç PFE	5	2,83 $\pm$ 0,4
Toplam	17	2,52$\pm$0,1

Grafik 1: Erken, orta ve geç PFE da leptin ekspresyonu karşılaştırması

Sekresyon fazında ise leptin ekspresyonu erken SFE önemli bir azalma gözlemlendi (Resim 3-a,b ve Resim 4-a,b). Erken SFE dan itibaren leptin ekspresyonu artmaya başlamakta ve geç SFE da sekresyon fazının en yüksek düzeyleri tespit edildi (tablo 3-grafik 2) ve farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

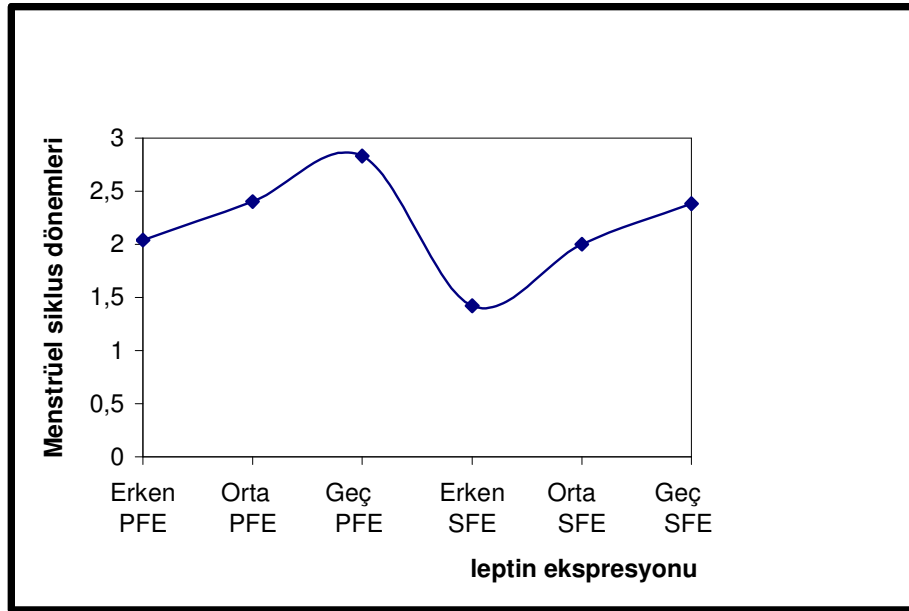
	Hasta Sayısı	Ortalama Boyanma Derecesi $\pm$ SD
Erken SFE	7	1,42 $\pm$ 0,53
Orta SFE	3	2,00 $\pm$ 1,00
Geç SFE	13	2,38 $\pm$ 0,51
Toplam	23	2,04$\pm$0,71

Tablo 5: SFE da leptin ekspresyonu değerlendirilmesi



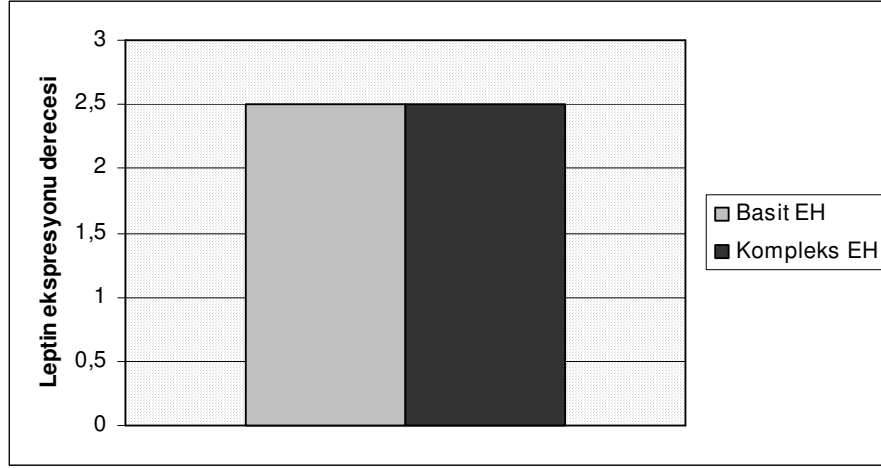
Grafik 2: Erken, orta ve geç SFE da leptin ekspresyonu karşılaştırması

Tüm menstrüel siklus sürecinde leptin ekspresyonu erken PFE da yükselmeye başlamakta, en fazla geç PFE da olmakta ve ovulasyon ile ekspresyon belirgin azalmış ve sekresyon fazının sonlarına doğru yine arttığı tespit edildi . Grafik 3 te de görüldüğü üzere estrogen düzeylerinin menstruasyon sürecinde değişimine paralel gibi izlenmektedir (Resim 7 'e bak).



Grafik 3: Menstrüel siklus sürecinde endomeriumda leptin ekspresyonu değişimi

Patolojik bir süreç olan Endometrial hiperplazi tanıli olgularda basit ve kompleks tipler olmak üzere 2 grupta leptin ekspresyonu açısından incelendi. Kompleks EH ile Basit EH li tanıli olgularda grafikte de görüldüğü üzere leptin ekspresyonu aynı derecede tespit edildi (Resim 5-a,b ve Resim 6-a,b). İncelemeye kompleks EH tanıli olguların az olması nedeniyle ve ekspresyon düzeyleri aynı derecede izlendiği için endometrial hiperplazi başlığı altında devam edildi.



Grafik 4: Basit ve kompleks EH li olgularda leptin ekspresyonu oranları

PFE, SFE ve EH tanıli olgular leptin ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda fark tespit edilmedi ($P < 0.05$). Leptin ekspresyonu fizyolojik süreçte proliferasyona katkısı olmakla birlikte, bu katkı patolojik bir süreç olan endometrial hiperplazide gözlenmedi (Tablo 6).

	Hasta Sayısı	Ortalama Boyanma Derecesi $\pm$ SD
PFE	17	2,52 $\pm$ 0,51
SFE	23	2,04 $\pm$ 0,70
EH	18	2,33 $\pm$ 0,59
Toplam	58	2,27 $\pm$ 0,64

Tablo 6: PFE, SFE, EH li olguların leptin ekspresyonu dereceleri

5.TARTIŞMA

Endometrium kanseri, tüm kanserler arasında dördüncü, genital sistemde ise en sık görülen kanserdir. Endometrium kanserinin öncül bir lezyonu olma potansiyeli taşıyan endometrial hiperplaziler ise klinik açıdan oldukça önem taşırlar. Endometrial atipi saptandığında bu önem daha da artmaktadır. Endometrial doku örneklemesinde atipik hiperplazi saptanan hastalarda histerektomi yapılırsa yaklaşık %25 oranında genellikle iyi derecede farklılaşmış endometrium kanserinin eşlik ettiği saptanmıştır (50).

Hiperplazinin kansere dönüşme potansiyelini yaş, altta yatan over hastalığı, endokrinopati, obezite ve ekzojen hormona maruz kalma etkilemektedir (51). Kurman ve ark. tedavi edilmemiş endometrial hiperplazisi olan ve ortalama 13.4 yıl takip edilen 170 hastanın endometrial kürtaj sonuçları üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmanın bulgularına göre kansere ilerleme riski basit hiperplazili hastalarda % 1, kompleks hiperplazili hastalarda % 3, atipik basit hiperplazili hastalarda % 8, atipik kompleks hiperplazili hastalarda % 29 olarak tespit edilmiştir (11).

Bu faktörlerden obezite, endometrium kanseri risk faktörleri arasında da kabul edilmektedir. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda vücut yağ dağılım şekli ve endometrium kanseri arasında ilişki kurulmuştur. Obez kadınlarda östradiol, serbest östradiol ve östron normal kilolu kadınlarla karşılaştırıldığında daha yüksektir. Fakat araştırmacılar tek başına östrojen yüksekliğinin bu hastalardaki artmış riski açıklamakta yeterli olmadığını belirtmişlerdir. Ek olarak diyabet (IGF1), hipertansiyon (endotelin 1) gibi faktörler araştırılmış ve endometrium kanseri ile ilişkili bulunmuşlardır (57,58)

Obezite patogenezi üzerine yapılan çalışmalarla keşfedilen leptinin biyolojik aktivitesinin kanser proliferasyonu, invazyonu ve metastazında önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (52). Leptinin gastrik (53), meme (54), over (55) ve prostat (3) kanseri hücrelerine olan etkisi bir çok çalışmada rapor edilmiştir. Yunanistan’ da endometrial kanserli hastalarda yapılan olgu kontrollü bir çalışmada leptin ile endometrial

kanser sıklığı arasında güçlü pozitif ilişki gösterilmiştir (56). Ayrıca endometrial kanserli hücrelerde leptinin uzun ve kısa izoform reseptörleri tespit edilmiştir, bu da leptinin endometrium kanseri gelişiminde rolü olabileceğini göstermektedir (59). Endometrium kanseri için risk faktörü olarak kabul edilen obezitenin serum leptin düzeylerinde artışa yol açması, yüksek seviyedeki leptinin hedef doku olan endometriumda uzun ve kısa izoform reseptörleri ile moleküler düzeyde daha fazla etkileşime ve neoplastik sürece katkısı olabilir. Ancak biz çalışmamızda, leptinin hiperplastik endometrium dokularında normale göre farklı derecede boyanmadığını bulduk. Kanserli dokularda leptin reseptörü varlığını neoplastik süreçte leptinin etkili olabileceğini düşündürmekle birlikte bu dokularda leptin ekspresyonunun immünohistokimyasal yöntemle ortaya konması ya da leptin mRNA'sının ve/veya kendisinin moleküler düzeyde gösterilmesi, leptinin bu süreçteki rolünü öğrenmemiz açısından daha sağlıklı fikir sahibi olmamızı sağlayacaktır.

Endometrial leptin ve reseptörlerinin ekspresyonu, daha önceki çalışmalarda araştırılmış ve reseptörünün (OB-R) mRNA'sı insan endometriumundan eksprese olurken, leptinin eksprese olmadığı bildirilmiştir (45,48). Araştırmacılar uterusun adipoz dokuda üretilen leptin için bir hedef organ olduğu ve endometriumda leptin ekspresyonunun olmadığını western blot analiz yöntemini kullanarak vurgulamışlardır. Ancak başka bir çalışmada leptin mRNA'sının RT-PCR, proteinin ise immünohistokimyasal yöntem ile insan endometriumunda eksprese olduğu ortaya konmuştur (46). Biz de immünohistokimyasal boyama yöntemi ile proliferatif ve sekretuar fazdaki değişik süreçlere ait endometrium örneklerinde değişik derecelerde leptin ekspresyonu varlığını gösterdik (Resim 1,2,3,4). Bu açıdan ilk örnek olan bu çalışmamız leptinin kaynağını ortaya koymamakla birlikte endometriumda eksprese olduğunu kanıtlamaktadır. Leptinin endometriumda üretilmesi ve salgılanması ya da yağ dokusundan salgılanarak endometriuma kan yoluyla ulaşp görev yapması tartışmalı olsa da, sonuçta bugün için endometriumda leptin varlığı kabul edilmektedir. Endometriumda leptin mRNA'sının gösterilmiş olması bu dokuda üretim olabileceğini düşündürse de leptinin endometriumun fonksiyonel farklılaşmasına olan olası katkısını ortaya koyacak başka çalışmalara gereksinim vardır. Hiperplastik endometriumda farklı derecede leptin boyanmasının olmaması leptinin bu patolojik sürece katkıda bulunmadığını ortaya koymaktadır. Ancak kanserli dokularda da leptin reseptör varlığı hiperplastik süreçte olmasa bile kanser oluşumu sürecinde leptinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Kanserli dokularda artmış leptin ve/veya reseptörünün ekspresyonu ortaya koyacak bir çalışma leptinin endometrium kanseri gelişim sürecine etkisini daha nesnel bir biçimde açığa çıkarabilir.

Erken, orta, geç PFE ve erken, orta, geç SFE örnekleri birlikte değerlendirildiğinde; leptin ekspresyonunun erken proliferasyon fazından geç proliferasyon fazına doğru arttığını, adet döngüsünün en yüksek leptin ekspresyonu derecelerinin geç proliferasyon fazında (Resim 2b) olduğunu ve ovulasyon sonrası erken sekresyon fazında (Resim 3b) ise ekspresyonda belirgin azalma olduğunu bulduk. Adet döngüsü sürecinde leptin ve reseptörlerinin ekspresyonunu araştırmak için yapılan bir çalışmada, erken proliferatif fazda OB-R_L mRNA ekspresyonu çok düşük bulunmuş ve proliferatif faz esnasında giderek arttığı tespit edilmiştir (48). Reseptör düzeyindeki bu değişim çalışmamızda gösterdiğimiz leptin ekspresyonu ile uyum içindedir. Reseptörü ile benzer dönüşüm gösteren leptin endometriumun proliferasyon sürecinde önemli bir rol oynayabilir.

Adet döngüsünde leptin ekspresyonunun serum östrojen değişim grafiğine (Resim 7' e bak) paralel olduğu gözlenmektedir (Grafik 3). Düzenli adet gören kişilerde yapılacak ve adet döngüsü içinde endometriumdaki leptin ekspresyonu ile serum östrojen düzeyini araştırarak bir çalışma östrojen ile endometrium leptini arasında bir bağlantı olabileceğini ortaya koyabilir. Serum leptin düzeylerinin, normal adet döngüsü boyunca nasıl değişiklikler gösterdiğini araştıran bir çalışmada, leptin konsantrasyonlarının serum östradiol düzeyleri ile anlamlı ilişki gösterdiği belirtilmiştir (60). Serum leptin düzeylerinin geç proliferasyon fazında arttığı ve periovulatuvar dönemde doruk seviyeye ulaştığını gösteren bu çalışmanın sonuçları bizim sonuçlarımızla birlikte değerlendirildiğinde, östrojenin endometriumda leptin ekspresyonu üzerinde etkilerinin bulunabileceği ve leptinin endometriumda östrojen ile birlikte fonksiyon görebileceği yorumu yapılabilir. Ancak in vitro çalışmalarda östradiolün OB-R_L mRNA ekspresyonu üzerine akut bir etkisinin olmadığı gösterilmesi, östrojenin endometrial leptin ve OB-R ekspresyonunu direkt artıran bir faktör olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte bizim çalışmada bulduğumuz östrojen artışına paralel leptin ekspresyon artışı dikkate alındığında, östrojenin reseptör düzeyinde artışa yol açmaması leptin aracılığı ile gösterilen etkinin sınırlandırılmasına yol açabilir.

Adet kanaması ile birlikte endometriumdaki dökülmenin ardından hızlı bir şekilde onarım başlar ve endometrium yeni bir implantasyon hedefine kendini hazırlar. Döngünün 4.gününde kavitenin ¾ ü yeni endometrium ile kaplanmıştır, 5-6 . günde kavite yeniden epitelize olur ve stromal değişiklikler başlar. Endometriumun epitelize olmasında etkili ve son dönemde bir çok araştırmanın da konusunu oluşturan büyüme faktörlerinin önemli bir yeri vardır (Tablo 1). Leptinin anjiogenez ve kan damarı

büyümesinde etkili olduğu ve leptinle uyarılan endotel hücrelerinde, belirgin anjiogeneze olduğu gösterilmiştir (48). Leptinin bu anjiogenetik etkisi yine bir lokal büyüme faktörü olan VEGF ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü VEGF, insan endometriumunda proliferasyon fazında tıpkı leptin gibi yüksek oranda eksprese olmaktadır. Endometrial artmış vasküler dolaşım ile dokunun epitelize olması hızlanır. Ayrıca leptin birtakım faktörlerle stimüle olmuş stromal hücrelerde hücre viabilitesini artırmakta ve desidualizasyon sürecini baskılamaktadır. Endometriozisli hastalarda artmış olan leptin, aktive olmuş endometrial stromal hücreler üzerinde anti apoptotik etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir (47). Çalışmamızda gösterdiğimiz gibi leptinin değişik derecelerde ekspresyonunu endometriumun yenilenmesinde rol oynayan anjiogeneze aşaması ile ilişkili olabilir. En yüksek seviyesine geç proliferasyon fazında ulaşan leptin, yine bu dönemde giderek artan ve geç proliferasyon fazında doruğa ulaşan damarlaşma aşamasına katkıda bulunabilir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada endometrial hiperplazi, endometrium kanseri (n:40) ve normal endometriumu sahip (n:46) toplam 86 postmenopozal kadında serum leptin düzeyleri arasındaki fark araştırılmış, endometrial hiperplazili ve endometrium kanserli olgularda ortalama serum leptin konsantrasyonları 16737.1 pg/ml, buna karşılık kontrol grubunda 9048.7 pg/ml bulunmuştur. Hastalar BKİ'lerine göre alt gruplara ayrıldıklarında, endometrial patolojili olgularda serum leptin düzeyleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir ($p<0.005$) (57). Yazarlar bu çalışmada yüksek serum leptin konsantrasyonunun endometriumda neoplastik gelişim sürecine etki edebileceğini iddia etmektedirler. Biz çalışmamızda hiperplastik hedef dokuda farklı boyanma derecesi tespit etmedik. Yazarlar yüksek leptin konsantrasyonunun nasıl bir etki ile endometriumda hiperplazi ve kanser gelişimine yol açtığı konusunda kanıta dayalı veri vermemişlerdir. Yüksek serum konsantrasyonuna sahip olguların endometrium düzeyinde yapılacak moleküler ya da immünohistokimyasal leptin araştırmasının, patolojik sürecin gelişimine daha nesnel katkıda bulunacağı açıktır. Endometrium kanseri örneklerinde leptin varlığının araştırılması ve normal dokuya göre farklı derecede boyanması leptinin bu süreçteki etkisini daha net ortaya koyabilir.

Leptinin çeşitli hücre döngülerinde apoptozisi düzenlediği gösterilmiştir. Apoptozis üzerine olası düzenleyici etkisi ya farklılaşma evresi ya da apoptotik hücre döngüsünde meydana gelmektedir. Endometriozisli hastalarda artmış olan leptinin, aktive olmuş endometrial stromal hücreler üzerinde antiapoptotik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir (47). Leptinin anjiogenetik ve antiapoptotik etkilerinin, endometrium

dokusunda fizyolojik bir proliferasyonun ötesinde endometrial hiperplazi oluşumuna katkısı olabileceği düşünülmektedir. Ancak biz çalışmamızda PFE, SFE ve endometrial hiperplaziyi birlikte değerlendirdiğimizde leptin ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulmadık (Resim 5-a,b ve Resim 6-a,b). Bu etkinin hücre proliferasyonunu artırdığı gösterilmiş olsa da, hücrelerin hiperplastik sürece geçişinde etkili olmayabilir.

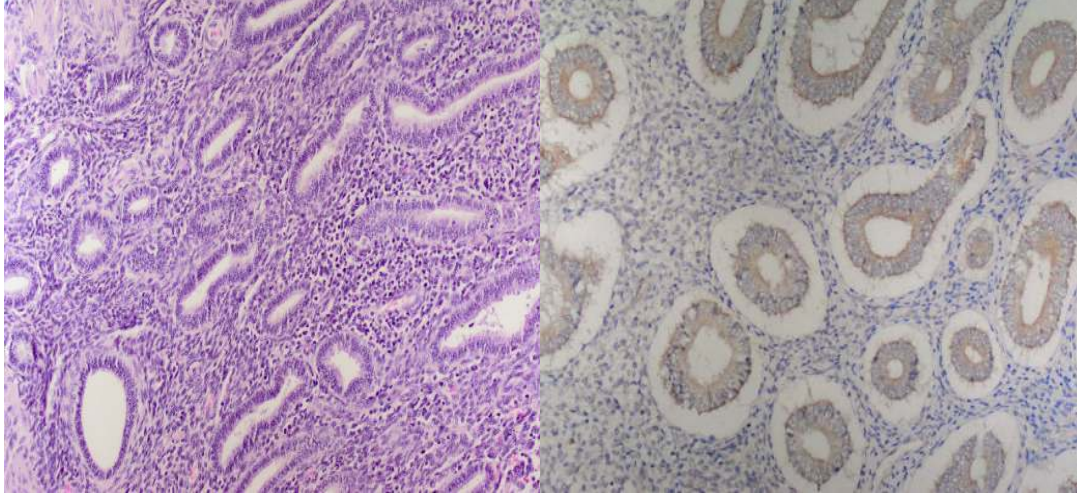
Biz çalışmamızda endometrial hiperplazi oluşmuş ve tanı alan olguları incelediğimiz için hiperplastik sürece geçiş dönemindeki leptin etkisi hakkında bilgiye sahip değiliz. Normal endometrium dokularına sahip oldukları biyopsi ile tespit edilen ve serum leptin düzeyleri yüksek olan obez olgular ile normal BKİ'ne sahip ve serum leptin düzeyleri normal olan olguların izlendiği uzun süreli ileriye dönük bir çalışma ile daha farklı bir sonuç alınabilir. Böyle bir çalışma leptinin endometriumdaki neoplastik süreç üzerine olan olası etkisini daha nesnel ölçütlerle ortaya koyacaktır.

5. SONUÇLAR

1. Çalışmamız leptinin kaynağını ortaya koymamakla birlikte endometriumda eksprese olduğunu kanıtlamaktadır.
2. Kanseri dokularda da leptin reseptör varlığı hiperplastik süreçte olmasa bile kanser oluşumu sürecinde leptinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Kanseri dokularda artmış leptin ve/veya reseptörünün ekspresyonu ortaya koyacak bir çalışma leptinin endometrium kanseri gelişim sürecine etkisini daha nesnel bir biçimde açığa çıkarabilir.
3. Erken, orta, geç PFE ve erken, orta, geç SFE örnekleri birlikte değerlendirildiğinde; leptin ekspresyonunun erken proliferasyon fazından geç proliferasyon fazına doğru arttığını, adet döngüsünün en yüksek leptin ekspresyonu derecelerinin geç proliferasyon fazında olduğunu ve ovulasyon sonrası erken sekresyon fazında ise ekspresyonda belirgin azalma olduğunu bulduk.
4. Adet döngüsünde leptin ekspresyonunun serum östrojen değişim grafiğine paralel olduğu gözlenmektedir. Düzenli adet gören kişilerde yapılacak ve adet döngüsü içinde endometriumdaki leptin ekspresyonu ile serum östrojen düzeyini araştırarak bir çalışma östrojen ile endometrium leptini arasında bir bağlantı olabileceğini ortaya koyabilir.
5. Çalışmamızda gösterdiğimiz gibi leptinin değişik derecelerde ekspresyonunu endometriumun yenilenmesinde rol oynayan anjiogenezis aşaması ile ilişkili olabilir. En yüksek seviyesine geç proliferasyon fazında ulaşan leptin, yine bu dönemde giderek artan ve geç proliferasyon fazında doruğa ulaşan damarlaşma aşamasına katkıda bulunabilir.
6. PFE, SFE ve endometrial hiperplaziyi birlikte değerlendirdiğimizde leptin ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulmadık. Bu etkinin hücre proliferasyonunu artırdığı gösterilmiş olsa da, hücrelerin hiperplastik süreçte geçişinde etkili olmayabilir.

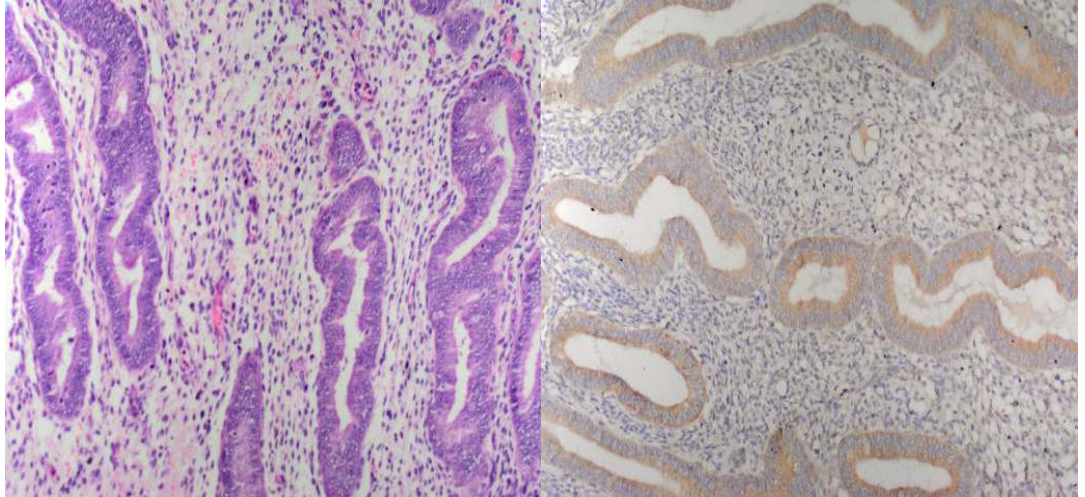
7. Çalışmamızda endometrial hiperplazi oluşmuş ve tanı alan olguları incelediğimiz için hiperplastik sürece geçiş dönemindeki leptin etkisi hakkında bilgiye sahip değiliz. Normal endometrium dokularına sahip oldukları biyopsi ile tespit edilen ve serum leptin düzeyleri yüksek olan obez olgular ile normal BKİ'ne sahip ve serum leptin düzeyleri normal olan olguların izlendiği uzun süreli ileriye dönük bir çalışma ile daha farklı bir sonuç alınabilir.

7.RESİMLER



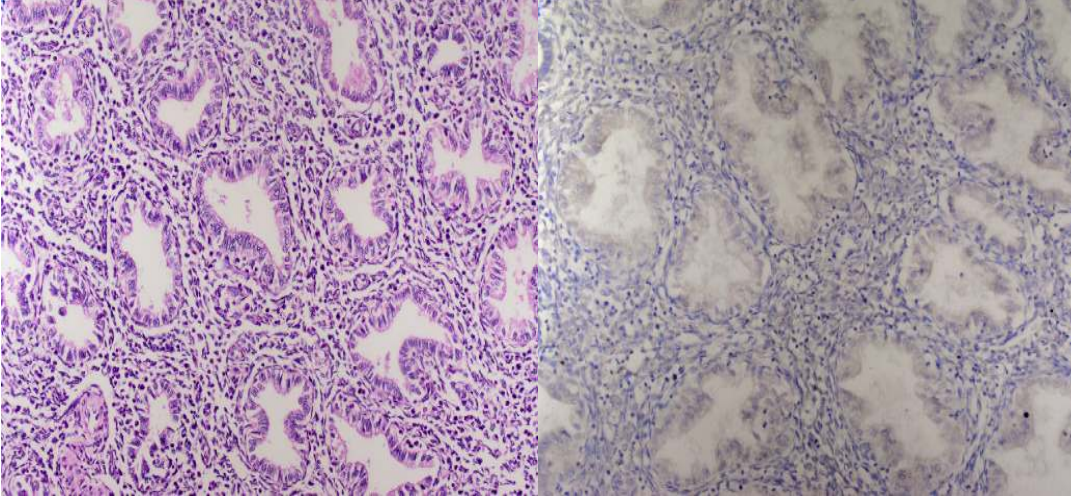
Resim 1-a.(sol) Erken proliferatif fazda sellüler stroma ve tubuler bezler (HE, x100)

1-b(sağ) Erken proliferatif fazda bez epiteli ve stromal hücrelerde leptin pozitifliği (x200)



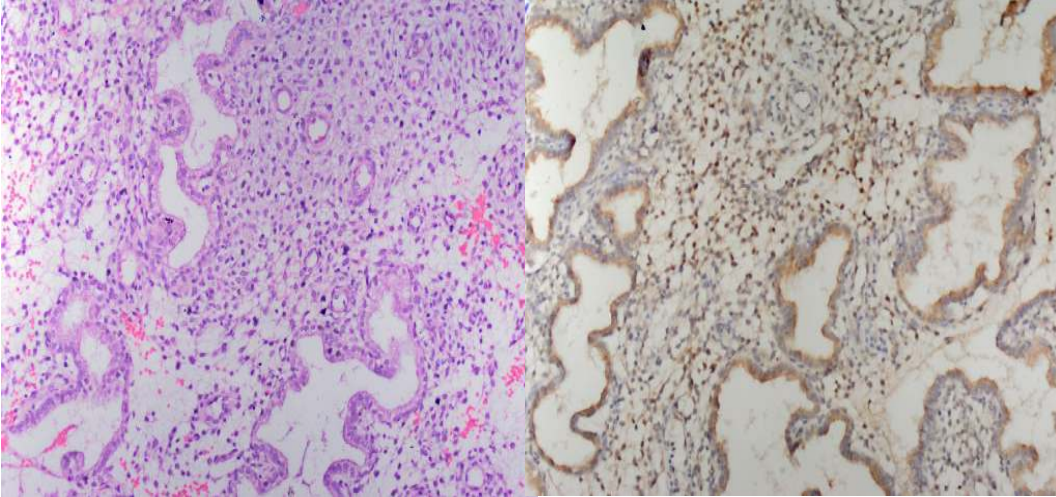
Resim 2-a(sol) Geç proliferatif fazda ödemli stroma ve kıvrımlı bezler (HE,x200)

2-b(sağ) Geç proliferatif fazda stroma ve bezlerde leptin pozitifliği (x200)

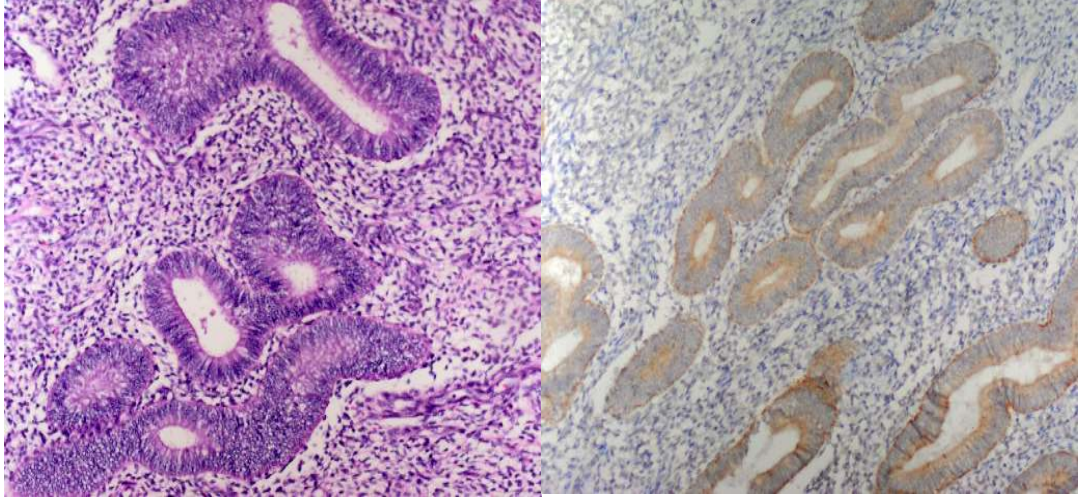


Resim 3-a(sol) Erken sekretuar fazda tek katlı silindirik epitelle döşeli bezler (HE,x200)

3-b(sağ) Erken sekretuar fazda bez epitelinde zayıf leptin pozitifliği (x200)

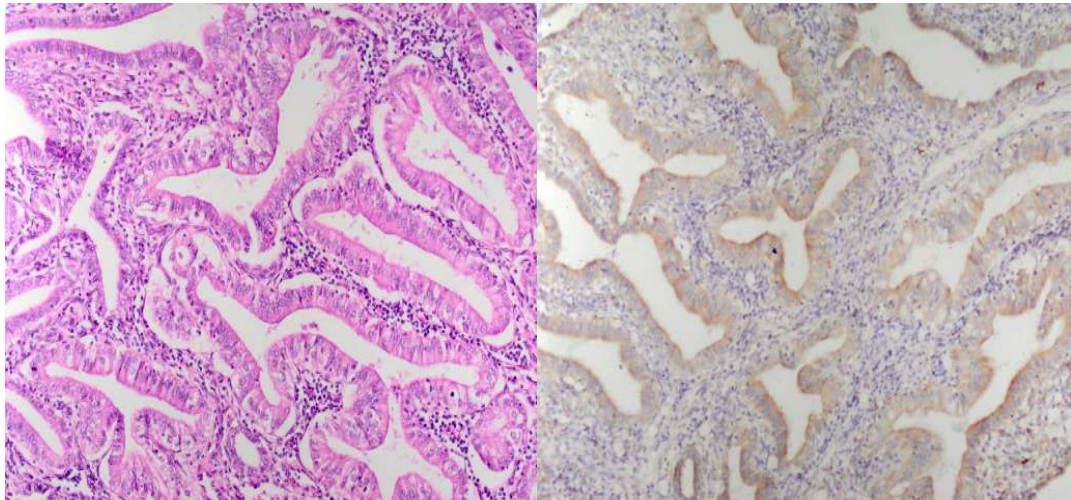


Resim 4-a(sol) Geç sekretuar fazda ödemli stromada spiral arterioller ve sekretuar bezler (HE,x200) 4-b(sağ) Geç sekretuar fazda bezler ve stromada güçlü leptin pozitifliği (x200)



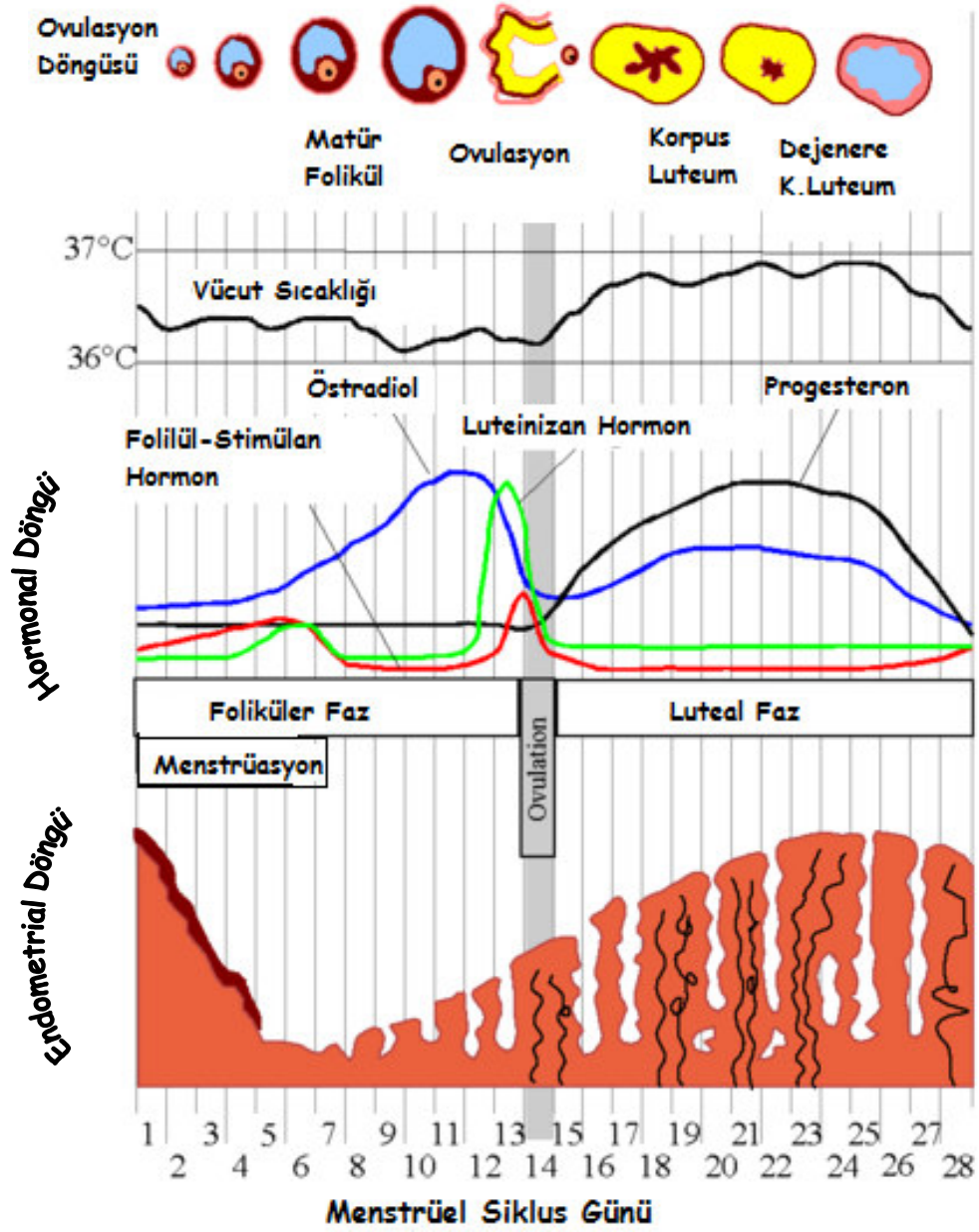
Resim 5-a(sol). Basit atipisiz endometrial hiperplazi (HE,x200)

5-b(sağ) Basit atipisiz endometrial hiperplazide bez epitelinde ve stromada leptin pozitifliği (x200)



Resim 6-a(sol) Kompleks atipili endometrial hiperplazi (HE, x200)

6-b(sağ) Kompleks atipili endometrial hiperplazide bez ve stromada leptin pozitifliği (x200)



Resim 7: Adet döngüsü (www.wikipedia.org/wiki/Menstrual_cycle)

8.KAYNAKLAR

1. Demure R ,Suziki T, Tajima S. Human Plasma free activin and inhibin levels during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1993; 76:1080-1082
2. Devroey P, Vol Steireghen A, Monnoerts B. Sucesfull in vitro fertization and embryo transfer after reatment with human FSH. Lancet 1992; 339: 1170-1171
3. Irainni F, Hodgen GD. Mechanism of ovulation. Endoc end Metabolism Clinics of North America 1992;21:19-38
4. Gokyar D , Kokcu A, Yanik F , Cetinkaya MB, Alper T, Malatyalioglu E. Basal and day 12 inhibin concentration in the prediction of ovarian response to gonadotropins in womwn with PCOS . Human Reproduction 2001; 10:2079-2083
5. Rosenfield RL , Barnes RB , Cora JF, et al. Dysregulation of cytochrome P 450 17 alpha as the cause of hiperplazi . Fertilitiy and sterility 1990 ;53:785-788
6. Hodgen GD. The dominant ovarian follicle. Fretl and Steril 1982;38:281-300
7. Carey AH , Chan KL, Short F, Jhine D, Williamson R, Frank S. Evidense for a single gene effect causing polycystic ovaries and male pattern baldness . J ClinEndoc 1993; 38: 653-659
8. Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. In: Özgünen T, ed. Korpus Uterinin Premalign-Malign Hastalıkları. Güneş Kitabevi , 2004 Bölüm 80 :890-2.
9. Berek JS. Novak Jinekoloji. In: Lurain JR, ed. Uterus kanseri.Nobel Tıp Kitabevleri,2004;Bölüm IV:1144-5.
10. Lenton EA , Landgren B, Sexton L. Normal variation in the length ot the luteal phase of the menstrual cycle . Br J Obstet Gynecol 1994; 91:685-687
11. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia: a long term study of untreated hyperplasia in 170 patients. Cancer 1985;56:403-12.

12. Gordon MD, Ireland K. Pathology of hyperplasia and carcinoma of the endometrium. *Semin Oncol* 1994;21:64-70.
13. Smith M, McCartney AJ. Occult, high risk endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1985;22:154-61.
14. Goldzier JW, Axelrod LR. Clinical and biochemical features of the polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1963;14:631-638
15. Franks S. Polycystic ovarian syndrome Review *European Journal Medicine* 1995;333:853-861
16. Gougen A dynamics of follicular growth in the human : as model from preliminary results. *Human Reprod* 1986;11: 84-85
17. Moller DE , Flier JS . Insulin resistance mechanism , syndromes and implications . *N Engl J Med* 1991;325:938-948
18. Milsom I, Anderson K, Andersch B, Rybo G. A comparison of flurbiprofen, tranexamic acid and a levonorgestrel releasing intrauterine contraceptive device in the treatment of idiopathic menorrhagia. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:879-63.
19. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered.* 1950 Dec; 41(12):317-8.
20. Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 1966 Sep 2;153(740):1127-8.
21. Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* 1973 Aug;9(4):294-8.
22. Zhang Y, Friedman JM, Proenca R et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 Dec 1;372(6505):425-32. Erratum in: *Nature* 1995 Mar 30;374(6521):479.
23. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995 Jul 28; 269(5223):543-6.
24. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995 Jul 28;269(5223):540-3
25. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor. *OB-R. Cell.* 1995 Dec 29; 83(7):1263-71.

26. Mercer JG, Hoggard N, Williams LM et al. Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. *FEBS Lett* 1996 Jun 3;387(2-3):113-6.
27. Cioffi JA, Van Blerkom J, Antczak M et al. The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod* 1997 Jun;3(6): 467-72.
28. Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* (7th ed). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2005.
29. Nakashima K, Narazaki M, Taga T. Leptin receptor (OB-R) oligomerizes with itself but not with its closely related cytokine signal transducer gp130. *FEBS Lett* Feb 10; 403(1):79-82.
30. Watowich SS, Wu H, Socolovsky M et al. Cytokine receptor signal transduction and the control of hematopoietic cell development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996;12:91-128.
31. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 1996 Mar 1; 97(5):1344-7.
32. Laughlin GA, Yen SS. Hypoleptinemia in women athletes: absence of a diurnal rhythm with amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 Jan; 82(1):318-21.
33. Sinha MK, Sturis J, Ohannesian J et al. Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1996 Nov 21; 228(3):733-8.
34. Sinha MK, Caro JF. Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm* 1998; 54:1-30.
35. Saad MF, Riad-Gabriel MG, Khan A et al. Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: effects of gender and adiposity. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 Feb; 83(2):453-9.
36. Schoeller DA, Cella LK, Sinha MK et al. Entrainment of the diurnal rhythm of plasma leptin to meal timing. *J Clin Invest* 1997 Oct 1;100(7):1882-7.
37. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP et al Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996 Sep 15; 98(6):1277-82.
38. Robaczyk M, Smiarowska M, Krzyzanowska-Swiniarska B. The ob gene product (leptin)-a new hormone of adipose tissue. *Przegl Lek* 1997; 54(5):348-52.

39. Kennedy A, Gettys TW, Watson P, et al. The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1293-1300.
40. Goumenou AG, Matalliotakis IM, Koumantakis GE et al. The role of leptin in fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003 Feb 10;106(2): 118-24.
41. Ergün A. Obezite, besin alımı ve vücut ağırlığının kontrolünde leptin. *T Klin Tıp Bilimleri* 1998;18:220- 225.
42. Castracane VD, Kraemer RR, Franken MA et al. Serum leptin concentration in women: effect of age, obesity, and estrogen administration. *Fertil Steril* 1998 Sep; 70(3):472-7.
43. Cumin F, Baum HP, Levens N. Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney. *Int J obesity* 1996; 20:1120-1126.
44. Merabet E, Dagogo-Jack S, Coyne DW, et al. Increased plasma leptin concentration in end-stage renal disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:847-850.
45. Alfer J , Muller-Schottle F, Classen-Linke I et al. The endometrium as a novel target for leptin differences in fertility and subfertility . *Mol Hum Reprod* 2000 jul; 6(7):595
46. Gonzalez RR, Caballero-Campo P, Jasper M et al. Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the Human Blastocyst. *J. Clin Endocrinol Metab* 2000 Dec;85(12):4883-8.
47. Tanaka t, Utsonimiye T, Bai tet al. Leptin inhibits desidualization and enchanges cell viability of normal human endometrial stromal cells. *Inf j Mol Med* 2003 jul; 12(1):95-8.
48. Kitavaki J, Koshiba H, Ishihara H et al. Expression of leptin receptor in human endometrium and fluctuation during the menstrual cycle. *J Clinic Endocrinol Metab* 2000 May 85(5):1946-50.
49. Koshiba H, Kitavaki J, Ishihara H et al. Progesterone inhibition of functional leptin receptor mRNA expression of in human endometrium. *J Clinic Endocrinol Metab* 2000 May 85(5):1946-50.
50. Berek JS. Novak Jinekoloji. In: Lurain JR, ed. Uterus kanseri. Nobel Tıp Kitabevleri, 2004; Bölüm IV : 1144-5.41.
51. Smith M, McCartney AJ. Occult, high risk endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1985;22:154-61.

52. Somasundar P, Frankenberry KA, Skinner H. Prostate cancer cell proliferation is influenced by leptin. *Journal of Surgical Research* 2004;118: 71-82.
53. Pai R, Lin C, Tran T, Tarnawski A.. Leptin activates STAT and ERK2 pathways and induces gastric cancer cell proliferation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005;331:984-992.
54. Rose DP, Komninou D, Stephenson GD. Obesity, adipocytokines, and insulin resistance in breast cancer. *Obesity Reviews* 2004;5:153-165.
55. Choi JH, Park SH, Leung PC, Choi KC. Expression of leptin receptors and potential effects of leptin on the cell growth and activation of mitogen-activated protein kinases in ovarian cancer cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90: 207-210.
56. Petridou E, Belehri M, Dessypris N, Koukoulomatis P. Leptin and body mass index in relation to endometrial cancer risk. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2002;46:147-151.
57. Cymbaluk A, Chudecka-Głaz A, Rzepka-Gorska I. Leptin levels in serum depending on Body Mass Index in patients with endometrial hyperplasia and cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Sep 26.
58. Bornstein J, Auslender R, Goldstein S et al. Increased endometrial thickness in women with hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 2000 Sep;183(3):583-7.
59. Yuan SS, Tsai KB, Chung YF, Chan TF, Yeh YT, Tsai LY & Su JH. Aberrant expression and possible involvement of the leptin receptor in endometrial cancer. *Gynecologic Oncology* 2004; 92: 769-775.
60. Franca Cella, Giulio Giordano and Renzo Cordera. Serum leptin concentrations during the menstrual cycle in normal-weight women: effects of an oral triphasic estrogen–progestin medication. *European Journal of Endocrinology* 2000; 142: 174–178