

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
BAŞKAN: DR. NİYAZİ AŞKAR

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN
DENEYSEL ENDOMETRİOZİS MODELİNDE
EDARAVONE'UN OLASI TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN
HİSTOLOJİK VE SİTOKİNERJİK PARAMETRELER İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. AYDIN ORHANER

DANIŞMAN
PROF. DR. İSMAİL METE İTİL

İZMİR 2015

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi birikimlerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Niyazi AŞKAR olmak üzere bölümümüzdeki tüm saygıdeğer hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlık sürecinde bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. İsmail Mete İTİL ve Sayın Prof. Dr. Mehmet Kemal ÖZTEKİN'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sürecinde her türlü konuda tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen başta Doç. Dr. Özgür YENİEL olmak üzere, Doç. Dr. Mete ERGENOĞLU ve Uz. Dr. Ali AKDEMİR'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanması süreci dahil olmak üzere bana en zor anlarımda desteklerini esirgemeyen Burçak Tanattı ORHANER'e ve aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Dr. Aydın ORHANER

İÇİNDEKİLER

TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
KISALTMALAR	V
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.TANIM	2
2.2.ETYOLOJİ.....	3
2.3.EPİDEMİYOLOJİ	7
2.4.PATOLOJİ.....	8
2.5.SINIFLAMA	10
2.6.SEMPTOMLAR.....	13
2.7.TANI.....	14
2.8.TEDAVİ	16
2.9.EDARAVON.....	20
3.AMAÇ	21
4.MATERYAL VE METHOD	22
4.1.BİYOKİMYASAL İNCELEME.....	23
4.2.HİSTOLOJİK İNCELEME.....	23
4.3.İSTATİSTİK METHODU	24
5.BULGULAR	25
5.1.MAKROSKOBİK BULGULAR	25
5.2.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	26
5.3.SİTOKİNERJİK BULGULAR	28
6.TARTIŞMA	29
7.SONUÇ.....	32
8.ÖZET	33
8.KAYNAKLAR.....	35

TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ

TABLO LİSTESİ

TABLO 1: Makroskobik olarak endometriozis implantlarının hacim karşılaştırılması.....	26
TABLO 2: Endometriozis implantlarının epitel skorlarının karşılaştırılması.....	27
TABLO 3: Plazma ve periton yıkama sıvılarındaki sitokin düzeylerinin karşılaştırılması.....	28

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 1: Endometriozisin sık görülen yerleşim yerleri.....	2
ŞEKİL 2: Endometrioziste etyolojik faktörler	4
ŞEKİL 3: Laparoskopik olarak endometriozise bağlı overlerde bilateral endometriomalar ve kissing ovaries görünümü.....	8
ŞEKİL 4: Çikolata kisti.....	9
ŞEKİL 5: Mikroskobik olarak 1. Endometriozis odağı, 2. Ovaryan endometrioma 3. Sekretuar endometriozis	10
ŞEKİL 6: 1996 da ASRM tarafından revize edilen endometriozis evrelemesi	11
ŞEKİL 7: 1996 revize ASRM kriterlerine göre endometriozis skollama sistemi.....	12
ŞEKİL 8: Batın yan duvarında omental yapışıklık oluşturmuş endometriozis odağının görünümü.....	25
ŞEKİL 9: a-b: Salin grubu, (e) endometriozis odağı. c-d: Edaravon grubu.....	27

KISALTMALAR

ASRM	:	American Society of Reproductive Medicine
BCL-2	:	B Hücreli Lenfoma-2
CA-125	:	Cancer Antigen-125
FDA	:	Food and Drug Administration
GnRH	:	Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
ICAM	:	Intercellular Adhesion Molecule
IL-6	:	İnterlökin
IUI	:	İntrauterin İnseminasyon
MMP	:	Matriks Metalloproteinaz
MRI	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NK	:	Natural Killer
NSAİİ	:	Non Steroid Anti İnflamatuvar İlaç
PTEN	:	Phosphatase and Tensin Homolog
SPSS	:	Statistical Package for the Social Science
TGF	:	Transforming Growth Factor
TNF	:	Tumor Necrosis Factor
TVS	:	Transvajinal Sonografi
VEGF	:	Vascular Endotelial Growth Factor

1.GİRİŞ

Endometriozis endometrial dokunun endometrial kavitenin dışında büyümesi ile karakterize olan kronik bir hastalıktır.. En sık semptomlar dismenore, disparoni, sıklık olmayan pelvik ağrı ve subfertilitedir (1).

Endometiozis premenopozal kadınlarda en sık görelen benign jinekolojik sorunlardan olup reproduktif çağıdaki kadınların %10-15 arasının pelvik endometriozis bulunduğu öngörülmektedir. Hastalığın prevelansı infertilite problemi olan kadınlarda %30'a, kronik pelvik ağrı problemi olan kadınlarda ise %45'e varan oranlara çıkabilmektedir (2). Endometriozis için çeşitli medikal ve cerrahi tedavi seçenekleri mevcuttur.

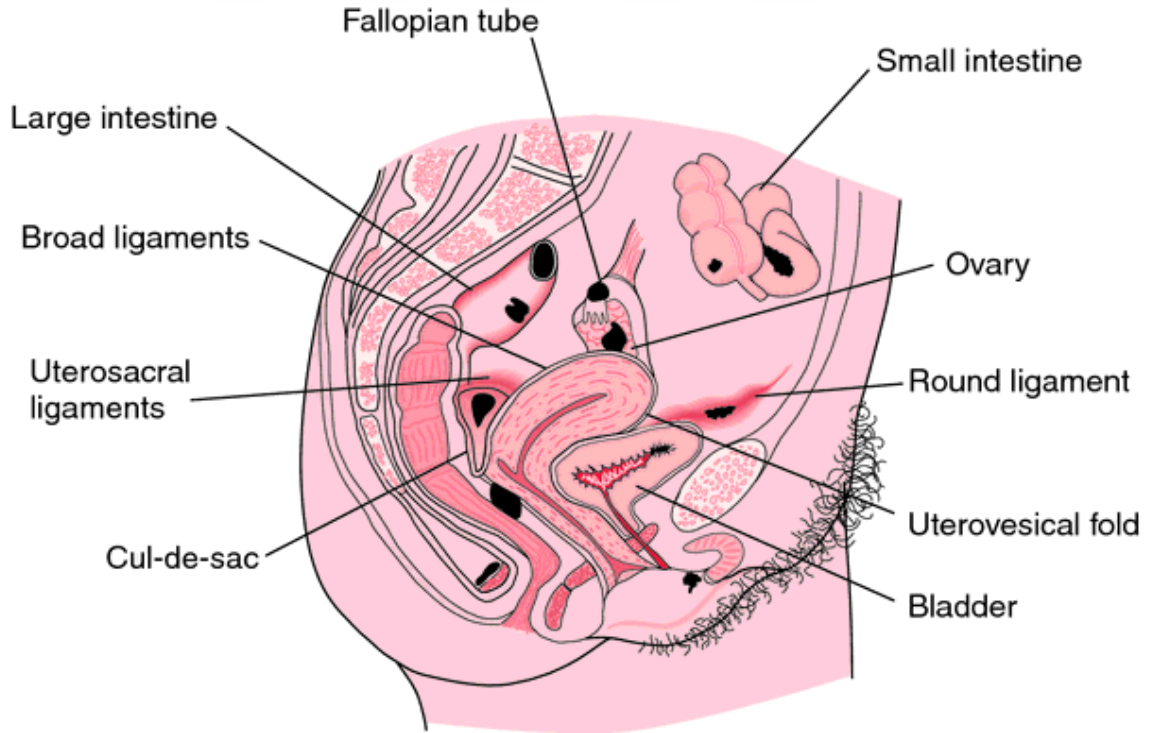
Edaravon (3-metil-1-fenil-prazolin-5-one) bir serbest radikal süpürücüsü ve beyin koruyucudur. Hem nonenzimatik lipid peroksidasyonunu hem de lipoksijenaz yollarını etkiler ve kuvvetli antioksidan etkileri bulunmaktadır (3). Edaravonun etkileri sadece antioksidan aktivitesine bağlı değildir. Ek olarak çeşitli sinyal yolları üzerine de etkisi olabileceği düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda edaravonun geç nöronal hücre ölümünü baskıladığı, mikrogliya bağımlı hücre ölümünü engellediği, uzun dönem inflamasyonu baskıladığı yönünde bulgulara ulaşılmıştır (4).

Araştırmamızda daha önce endometriozis tedavisinde kullanımı denenmemiş bir molekül olan edaravonun endometriozis üzerine olası etkileri incelenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tanım

Endometriozis endometrial dokunun endometrial kavitenin dışında büyümesi ile karakterize kronik bir hastalıktır. En sık olarak pelvik kavitede overler, uterosakral ligamentler ve Douglas boşluğunu tutar. Hastalarda gözlenen başlıca semptomlar dismenore, disparoni, siklik olmayan pelvik ağrı ve subfertilitedir (1). Şekil 1 de endometriozisin sık görüldüğü yerler gösterilmiştir.



ŞEKİL 1: Endometriozisin sık görülen yerleşim yerleri

2.2. Etiyoloji

Endometriozis etiyolojisini aydınlatmak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Şekil 2 de endometriozisin etiyolojik faktörleri özetlenmiştir.

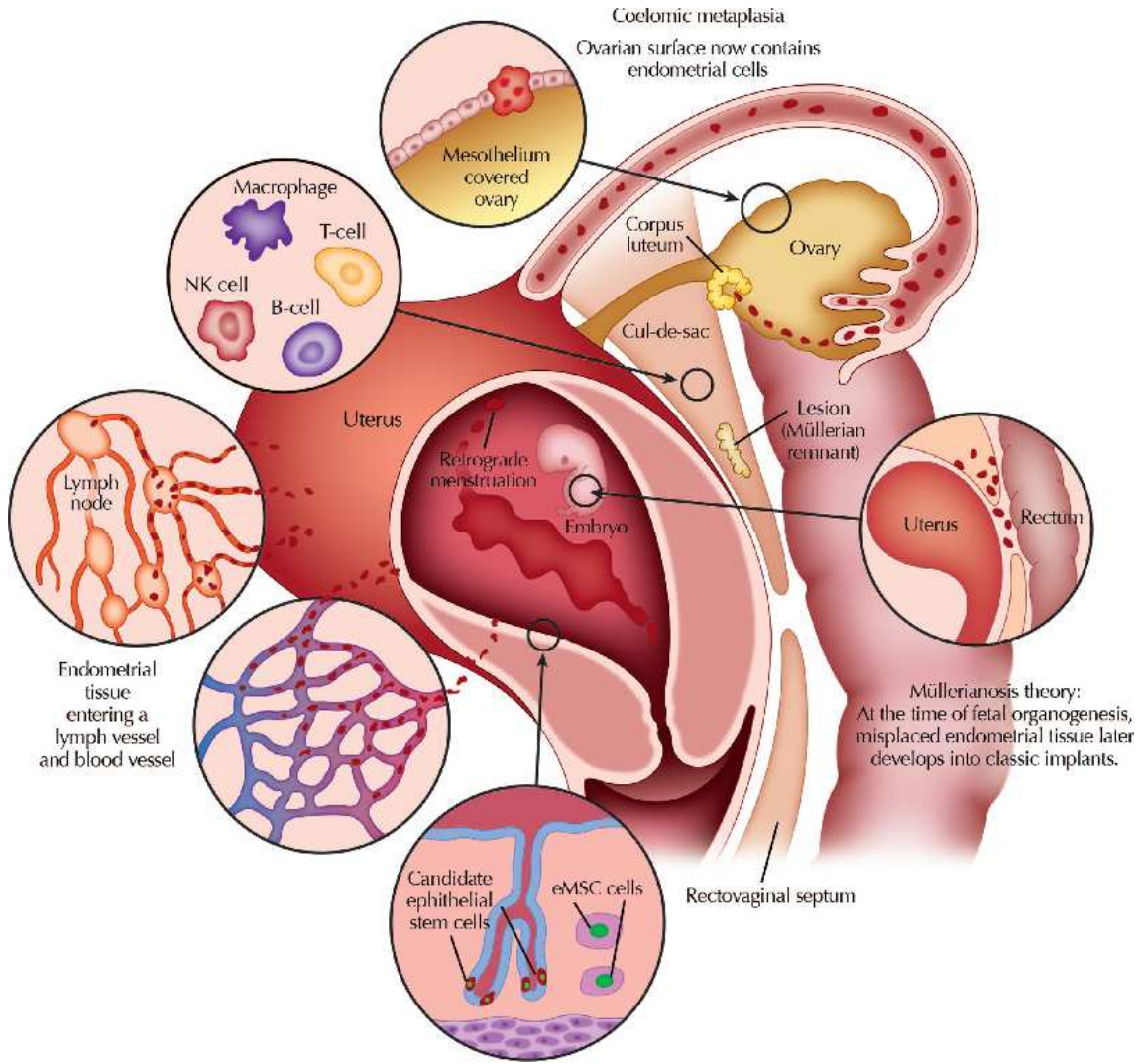
2.2.1. Retrograd Menstrüasyon Teorisi

En kabul gören teorilerden olan retrograd menstrüasyon 1920 lerde Sampson tarafından öne sürülmüştür. Bu teoriye göre menstruel dönemde dökülen endometrial dokunun bir kısmı sağlam fallop tüpler aracılığı ile retrograd olarak peritoneal kaviteye taşınmaktadır (5). Burada peritoneal mezotelyal hücrelere tutunan endometrial hücreler önce kendilerine bir kan akımı oluşturur. Daha sonra proliferasyon olarak klinikte gözlediğimiz endometrial implantları meydana getirir.

Bu teoriyi destekleyen birçok araştırma vardır. Endometriozis tanılı kadınlarda retrograd olarak geriye kaçan kan volümü ve bu kandaki endometrial doku fragmanları miktar olarak endometriozis tanısı bulunmayan kadınlara göre daha yüksektir (6). Ayrıca servikal ligasyon uygulanmış babunlarda endometrial doku parçalarının pelvise ulaştığı gösterilmiştir (7). Fakat retrograd menstrüasyon insidansını endometriozisi olan ve olmayan kadınlar arasında benzer saptayan araştırmalarda vardır. Bu durum patogenezin multifaktöryel olabileceğini düşündürmektedir.

2.2.2. Çölemik Metaplazi Teorisi

1960'larda Ferguson çölemik metaplazisinde endometriozis gelişimine katkıda bulunabileceğini öne sürmüştür. Bu öneri kökenini peritonda endometrial hücreler yönüne farklılaşabilecek undiferansiye hücreler bulunduğu varsayımından alıyordu (6). Bu teori kuvvetli klinik veya deneysel verilerle desteklenmemiştir (8).



ŞEKİL 2: Endometrioziste etyolojik faktörler

2.2.3. İndüksiyon Teorisi

İndüksiyon teorisi prensipte çölemik metaplazi teorisinin bir uzantısıdır. Endojen bir biyokimyasal faktörün andiferansiye peritoneal hücreleri endometriyal doku yönünde gelişimini indükleyebileceği düşünülmektedir. Tavşanlarda gösterilebilmesine rağmen kadınlarda ve primatlarda bu teoriyi destekleyen bulgular saptanamamıştır (8).

2.2.4.Genetik Faktörler

Endometriozisin poligenik / multifaktöryel olarak kalıtıldığı epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Hastalık 1. derece akrabalarda %5 -%7 arasında kalıtsal yatkınlık göstermektedir (9). Kişinin kızkardeşinin endometriozis tanısı alması riski 5.2 kat arttırmaktadır (10).

Genom düzeyinde çalışmalarda endometriozis hastalarında mutasyonları barındırabilecek birkaç adet potansiyel lokus tanımlanmıştır (11). Biyolojik olarak yatkınlığı aydınlatmaya çalışan bağlantı çalışmaları yapılmıştır. Bunların en geniş 1100 ailede iki veya daha fazla olan endometriozisten etkilenmiş kardeş çiftlerini incelemiş olup 10q26 bölgesi duyarlılık açısından anlamlı bulunmuştur (12). Endometriozis tanılı kadınların gerek ötopik endometriumları, gerekse de ektopik endometriotik odakları sağlıklı kadınların endometriumlarında olmayan bir grup değişiklik barındırırlar. Etkilenmiş kadınların ektopik ve ötopik endometriumlarında antiapoptotik gen BCL-2 up-regulasyonu gösterilmiştir (13). Apoptozisteki azalmaya ek olarak, endometriozise yatkınlığı olan kadınlarda endometrial proliferasyonda ve ektopik endometrial dokularda seçici sağ kalımda artış gözlenmiştir (14). Heterozigosite kaybı, PTEN (Phosphatase and tensin homolog) tümör supresör geninde somatik mutasyonlar overdeki soliter endometrial kistler ile sırasıyla %56 ve %21 ilişkili olduğu gösterilmiştir (15). Ayrıca yeni kanıtlar endometriumun steroid hormonlara olan cevabının epigenetik düzenlemelerle kontrol edildiği ve endometriozisli kadınlarda bu mekanizmaların bozulduğunu göstermektedir (16-17). Endometriumun normal progesteron cevabını oluşturan promotor genlerin anormal metilasyonu sonucunda progesteron direnci geliştiği hayvan modellerinde gösterilmiştir (18).

2.2.5 İmmünolojik Faktörler

Normalde reflü olan endometrial doku peritondan immün sistem aracılığı ile temizlenir, bu temizlik mekanizmasının bozulması endometrial hücrelerin implante olup büyümesine yatkınlık sağlamaktadır. Tek tek hücrelerin aksine geniş doku parçalarının implantasyon kapasitesi daha yüksektir, muhtemelen bu durumun sebebi parçanın iç kısmındaki hücre kümesinin immün sistemden korunmasıdır (19). Ayrıca endometriozis hastalarında ötopik endometrium, normal kadınlara göre natürel killer (NK) hücrelerinin lizisine daha dirençlidir (20). NK hücre fonksiyonundaki bozulma hücrelerin immün sistemden kaçışına ve endometriozis gelişimine yatkınlık hazırlayabilir.

In vitro çalışmalar endometrial fragmanların peritona sadece mezotelyal tabaka hasarı sonucu bazal membran ve ekstraselüler matriksin açığa çıktığı durumlarda yapışabildiğini göstermiştir (21). Menstrüal sıvının mezotel üzerine zararlı etkileri bulunmakta olup endometrial hücrelerin implantasyonunu kolaylaştıracak lokal hasara sebep olabilir (22). Fakat mezotel hasarına sebep olan esas mediatörler aydınlatılamamıştır. Endometriozisi olan hastalarda luteal faz esnasında matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) upregülasyonu, menstrüasyon döneminde de transforming growth factor beta (TGF-beta), intercelulular adhesion molecule-1 (ICAM-1), interlökin-6 (IL-6) upregülasyonu gerçekleşmektedir (23). Bu sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin değişken ekspresyonu; endometrial hücre implantasyonunu kolaylaştıran veya bu hücrelerin immün sistem tarafından temizlenmesini zorlaştıran bir mikroçevre oluşumunu kolaylaştırabilir. Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvılarında artmış sitokinler arasında TGF-alfa'nın yeri farklı olup peritonun in vitro modelinde endometrial hücre invazyonunu indüklediği gözlenmiştir (24).

2.2.6.Çevresel Faktörler

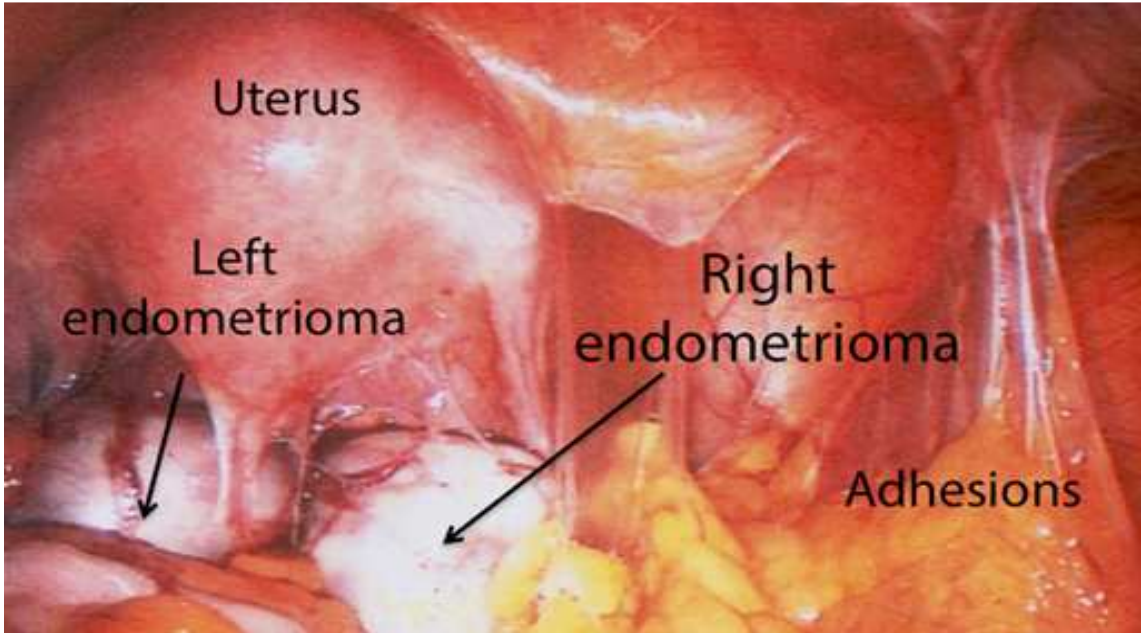
Endometriozis için mevcut epidemiyolojik veri kısıtlı olsa da, bazı diyet ve yaşam tarzı faktörlerinin yatkınlık yaratabilme ihtimali bulunmaktadır. Çalışmalarda yüksek meyve ve sebze tüketimi ve düşük et tüketiminin endometriozis gelişiminden koruduğu bulunmuştur. Çocuk yapmayan ve vücut kitle indeksi düşük olan kadınlar daha yüksek endometriozis gelişim riski taşımaktadır. Doksın ve diğer poliklorinebifenil gibi sentetik bileşikler endokrin sistemi etkileyerek endometriozis gelişimine sebep olabilmektedir. Dioksin kağıt sanayinde beyazlatmada kullanılan klorin beyazlatma işleminin yan ürünü olarak ortaya çıkmaktadır ve aynı zamanda tampon üretiminde kullanılmaktadır. Dioksin ile ilişkili bilgiler genellikle hayvan çalışmalarına dayalı olup, insan verilerinde dioksinin endometriozise yol açma etkisi tartışmalıdır (2).

2.3.Epidemiyoloji

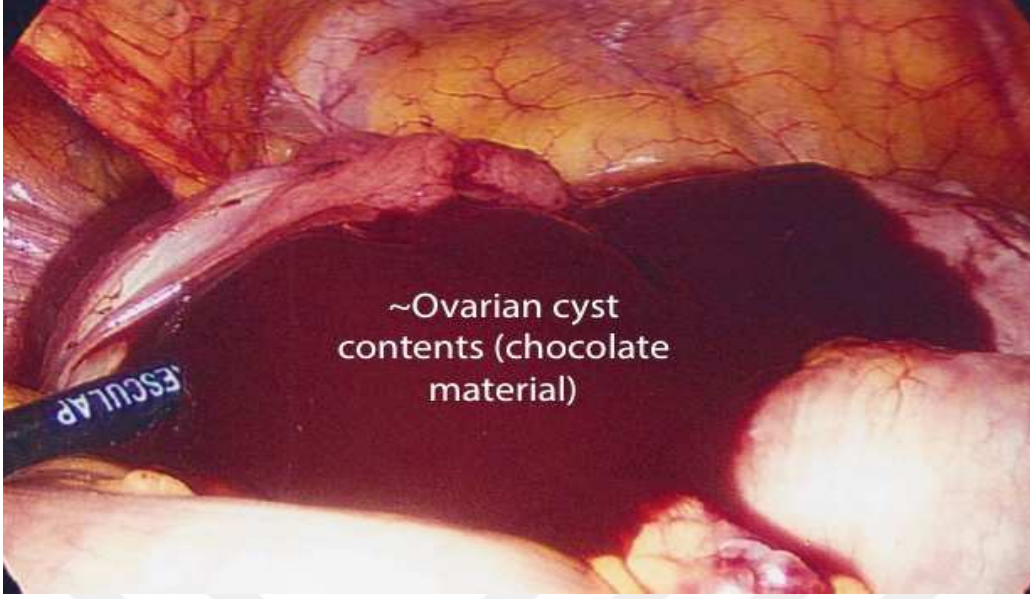
Endometiozis premenopozal kadınlarda en sık görelen benign jinekolojik problemlerden olup reproduktif çağıdaki kadınların %10-15 arasının pelvik endometriozis problemi bulunduğu öngörülmektedir. Çok sık görülen bir jinekolojik durum olmasının yanında endometriozisin sosyal, mesleksel ve fizyolojik fonksiyonlar üzerine ciddi kısıtlayıcı etkileri bulunmaktadır. Hastalığın prevelansı infertilite problemi olan kadınlarda %30, kronik pelvik ağrı problemi olan kadınlarda ise %45'e varan oranlarda görülebilmektedir (2).

2.4 Patoloji

Endometriosis odakları hem ekstrinsik hem de intrinsik hormonal uyarıya periyodik kanama ile cevap verirler. Bu cevap tutulan mukozal veya serozal yüzeylerin altında kırmızı-maviden sarı-kahverengi görünümde değişebilen nodüllerin oluşumuna sebep olur. Hastalık çok yaygın olduğunda, organize olan hemoraji tüpler, overler ve diğer dokular arasında yaygın fibröz adezyonlara neden olur ve Douglas boşluğunu oblitere edebilir. Overler 3-5cm arasında önceki kanamalara bağlı olarak kahverengi sıvı ile dolu kistik kitleler ile distorsiyone olabilir, bu kistler klinik olarak sıklıkla çikolata kisti veya endometrioma olarak isimlendirilirler. Endometriozisin agresif formları doku infiltrasyonu, fibrozis ve bunu takip eden adezyonlara sebep olabilir (25). Şekil 3’de endometriozise bağlı yapışıklıklar ve şekil 4 ‘de bir endometrioma görülmektedir.

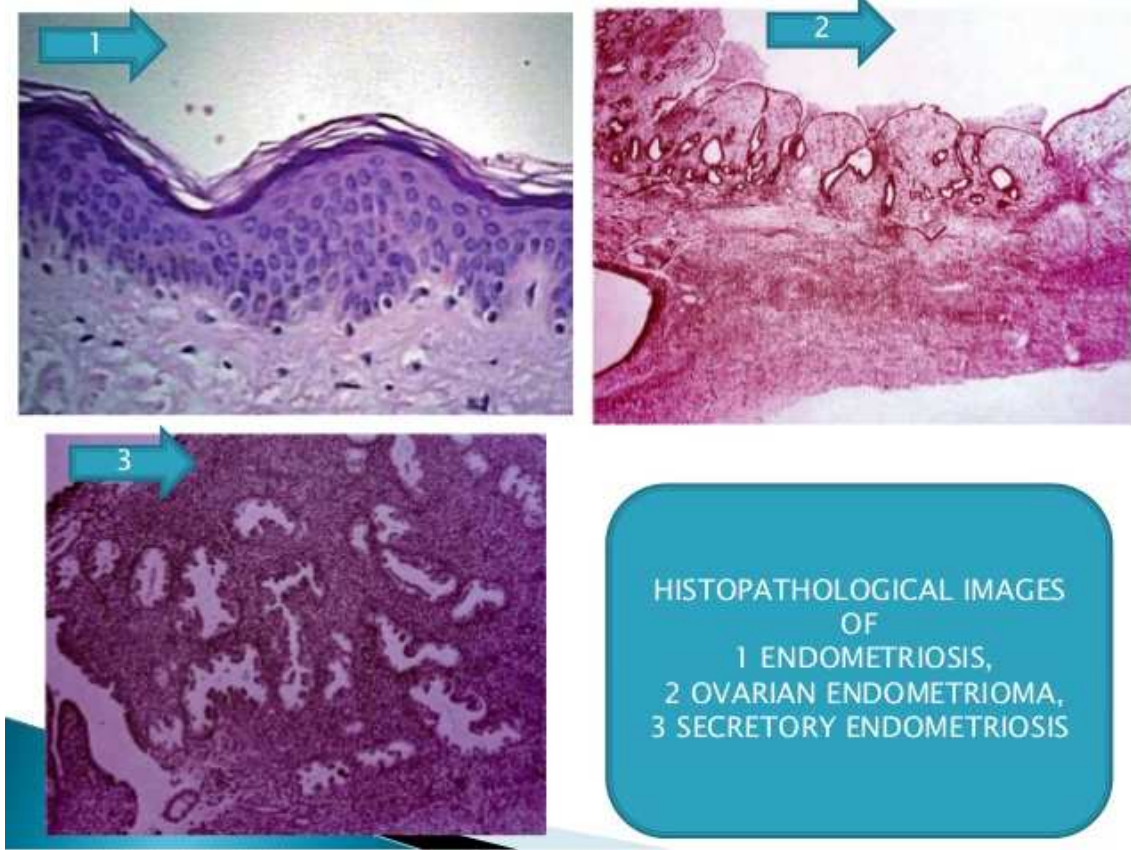


ŞEKİL 3: Laparoskopik olarak endometriozise bağlı overlerde bilateral endometriomalar ve kissing ovaries görünümü;sağ pelvik duvarda endometriozise bağlı adezyon formasyonu



ŞEKİL 4: Çikolata kisti

Endometriozisin histolojik tanısı genellikle kolaylıkla konabilmektedir fakat uzun süreli vakalarda endometrial doku, gelişen fibrozise bağlı gözden kaçabilir. Histolojik olarak endometriozis tanısı hem gland hem de stroma varlığında konabilir, hemosiderin her zaman eşlik etmeyebilir. Nadir vakalarda sadece stroma görülebilir fakat eğer sadece glandlar mevcutsa endosalpingiosis gibi diğer klinik durumlardan ayrılması gerekmektedir (25). Şekil 5’de endometriozis odaklarının mikroskopik görüntüleri görünmektedir.



ŞEKİL 5: Mikroskopik olarak 1. Endometriozis odağı, 2. Ovaryan endometrioma 3. Sekretuar endometriozis

2.5.Sınıflama

1996 yılında American Society of Reproductive Medicine (ASRM) klinik sonuçlarla cerrahi bulguları ilişkilendirme amaçlı endometriozis sınıflamasını yeniden düzenlemiştir. Yeniden düzenlenen sınıflama sisteminde hastalık 4 gruba ayrılmıştır. Evre 1 minimal tutulum, evre 2 hafif tutulum, evre 3 orta derece tutulum, evre 4 ise ağır endometriozis olarak sınıflandırılmıştır (26). Şekil 6 ve şekil 7’de bu sınıflama sistemine ait dokümanların örnekleri görülmektedir.

REVISED AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE CLASSIFICATION OF
ENDOMETRIOSIS 1985

Patient's Name _____ Date: _____

Stage I (Minimal) 1-5 Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
Stage II (Mild) 6-15 Recommended Treatment _____
Stage III (Moderate) 16-40 _____
Stage IV (Severe) >40 _____
Total _____ Prognosis _____

Peritoneum	ENDOMETRIOSIS	< 1 cm	1 – 3 cm	> 3 cm
	Superficial	1	2	4
	Deep	2	4	6
Ovary	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION	Partial		Complete
		4		40
Ovary	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
Tube	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16

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

Additional Endometriosis: _____

Associated Pathology: _____

To Be Used with Normal
Tubes and Ovaries

L

R



To Be Used with Abnormal
Tubes and/or Ovaries

L

R



ŞEKİL 6: 1996 da ASRM tarafından revize edilen endometriozis evrelemesi

Figure 2

STAGE I (MINIMAL) 			
PERITONEUM			
Superficial Endo	1-3cm	2	
Right OVARY			
Superficial Endo	<1cm	1	
Filmy Adhesions	1/3	1	
TOTAL POINTS	4		
STAGE II (MILD) 			
PERITONEUM			
Deep Endo	>3cm	6	
Right OVARY			
Superficial Endo	<1cm	1	
Filmy Adhesions	<1/3	1	
Left OVARY			
Superficial Endo	<1cm	1	
TOTAL POINTS	9		
STAGE III (MODERATE) 			
PERITONEUM			
Deep Endo	>3cm	6	
CULDESAC			
Partial Obliteration		4	
Left OVARY			
Deep Endo -	1-3cm	16	
1-3cm		16	
TOTAL POINTS	26		
STAGE III (MODERATE) 			
PERITONEUM			
Superficial Endo	>3cm	4	
Right TUBE			
Filmy Adhesions	<1/3	1	
Right OVARY			
Filmy Adhesions	<1/3	1	
Left TUBE			
Dense Adhesions	<1/3	16*	
Left OVARY			
Deep Endo	1-3cm	4	
Dense Adhesions -	<1/3	4	
TOTAL POINTS	30		
STAGE IV (SEVERE) 			
PERITONEUM			
Deep Endo	>3cm	6	
CULDESAC			
Complete Obliteration		40	
Right OVARY			
Deep Endo	1-3cm	16	
Dense Adhesions	<1/3	4	
Left TUBE			
Dense Adhesions	>2/3	16	
Left OVARY			
Deep Endo	1-3cm	16	
Dense Adhesions	>2/3	16	
TOTAL POINTS	114		
STAGE IV (SEVERE) 			
PERITONEUM			
Superficial Endo	>3cm	4	
Left OVARY			
Deep Endo -	<1cm	32**	
Dense Adhesions -	<1/3	8**	
Left TUBE			
Dense Adhsions -	<1/3	8**	
TOTAL POINTS	52		
*Point assignment changed to 16			
** Point assignment doubled			

ŞEKİL 7: 1996 revize ASRM kriterlerine göre endometriozis skorum sistemi

2.6.Semptomlar

Endometriozise bağlı en temel iki semptom ağrı ve infertilitedir.

2.6.1.Ağrı

Endometriozise bağlı ağrı birkaç şekilde kendini gösterebilir. Dismenore tarzı ağrı genellikle menstürasyondan 24-48 saat öncesinde başlar ve non-steroid anti-inflamatuar tedaviye daha az yanıt verir. Disparoni şeklinde görülen ağrı ise genellikle rektovajinal septum ve uterosakral ligamente yerleşmiş hastalık ile ilişkilidir. Derin koitus sırasında hissedilir.

Daha seyrek olarak endometriozise bağlı dizüri, sıklık pollaküri ve sıkışma hissi endometriozisten etkilenen hastalarda bildirilmiştir. Ağrılı defakasyon pelvik ağrının diğer belirteçlerinden daha az sıklıkta görülse de tipik olarak endometriotik implantların rektosigmoid tutulumunu gösterir (27).

2.6.2.İnfertilite

Ağır endometriozisin infertiliteye yol açma mekanizması açıktır. Adhezyonlara bağlı olarak pelvik anatomi bozulur. Bunun sonucu ovulasyon, sperm ve embriyo transportu olumsuz etkilenir. Düzensiz myometrial kontraksiyonlar ortaya çıkar. Sonuç olarak fekundite azalır (28). İnfertilitesi olan kadınlarda genellikle ileri evre hastalık bulunmaktadır (29).

Hafif hastalığın fertilitiyi nasıl bozduğuna dair önerilen mekanizmalar genellikle spelatiftir. İnflamatuar sitokinler, büyüme ve anjiojenik faktörler, anormal gen

ekspresyonları hafif endometriozis ile ilişkili infertilite etiyolojindeki ileri sürülen etkenlerdir (30).

2.7.Tanı

2.7.1.Fizik Muayene

Endometriozis genellikle pelvise sınırlı bir hastalık olduğu için genellikle inspeksiyon bulguları normaldir. Nadiren epizyotomi hattı veya Pfannensteil kesi hattında gelişebilir. Spekulum muayenesinde genellikle bulgu izlenmez. Nadiren serviks veya arka fornikte mavi veya kırmızı barut izi lezyonlar görülebilir. Bimanuel muayenede uterosakral ligamentte nodülerite ve hassasiyet, aktif hastalık ve ligamenter skarlaşmanın belirtisidir. Retrovert, fikse, hassas uterus veya sert, fikse, posterior cul-de-sac saptanabilir (27).

2.7.2 Laboratuar Testleri

Endometriozis tanısı için bir kan testi bulunmamaktadır. Çölemik epitel türevlerinde bulunan ve en sıklıkla musinöz olmayan epitelyal ovaryan karsinomalarda gözlenen bir marker olan Cancer Antigen 125 (CA 125) düzeyleri orta ve ciddi endometriozisi bulunan kadınlarda belirgin olarak yüksek, minimal ve hafif endometriozisi bulunanlarda ise normal olarak bulunmuştur. CA 125 spesifitesi çoğu çalışmada %80 in üzerinde olduğu bildirilmiştir. Bu yüksek spesifite endometriozis riskinde olduğu bilinen infertil veya ağrısı olan seçilmiş kadınlarda bulunmuştur. CA 125'in düşük sensitivite değeri (%20-%50 arası) bu testin endometriozis tanısında kullanımını kısıtlamaktadır. Laparoskopi ile karşılaştırıldığında CA 125 ölçümünün

tanısal araç olarak yeri yoktur. Seri CA 125 ölçümleri tedavi sonrası endometriozisin yeniden ortaya çıkışını tahmin etmede kullanılabilir (8).

2.7.3. Tanısal Görüntüleme

2.7.3.1. Sonografi

Endometriozis tanısında hem transabdominal (TAS) hem de transvajinal sonografi (TVS) yaygın olarak kullanılmaktadır. TVS endometriozis ile ilgili yakınmaların değerlendirilmesinde ve endometriomaların saptanmasında doğru ve güvenilir bir tanı yöntemidir. Fakat yüzeysel endometriozis ve endometrial yapışıklıkların gözlenmesinde yetersizdir. Küçük endometriotik plaklar ve nodüller nadir olarak görülebilir, fakat bu bulgular tutarsızdır. Rektovajinal endometriozisi daha doğru lokalize etmek için vajinal salin instilasyon tekniği, sonovajinografi, transrektal sonografi kullanılabilir. Endometriomaların çapı 20mm den fazla ise yeterli duyarlılıkta tanı TVS ile konabilir. TVS ile endometrioma tanısında duyarlılık ve özgüllüğü %64'den %90'a ve %22-100'e kadar değişebilir. . Renkli doppler TVS nin tanıya katkısı sınırlıdır. Kistin içindeki değil çevresindeki akım gösterir (27).

2.7.3.2. Manyetik Rezonans Görüntüleme

Manyetik rezonans görüntüleme (MRI), endometriozis tanısında non-invaziv bir yöntem olarak artan sıklıkta kullanılmaktadır. Küçük nodüller T1-ağırlıklı sekanslarda hiperintens lezyonlar olarak tanımlanır ve plak lezyonlar da aynı görünümündedir, fakat T2 ağırlıklı sekanslarda değişik sinyaller verirler. Endometrioma T1 ağırlıklı sekansta hiperintens kitle olarak görünür ve T2 ağırlıklı sekanslarda hipointense görünme eğilimindedir (27).

2.7.4.Tanısal Laparoskopi

Hastalık vajende ya da başka bir yerde olsa da laparoskopik ile pelvisin görsell inspeksiyonu tanının konulmasında standart tekniktir. Tanısal laparoskopi sırasında pelvik ve abdominal kavite endometriozis açısından sistematik olarak araştırılmalıdır. Laparoskopide peritonun serozal yüzeylerinden karakterisitik bulgular (barut yanığı) saptanabilir. Ovaryan endometrioma (3cm<) ve derin infiltratif hastalıkta nadir malignensiye ekarte etmek için histolojik yöntemler kullanılmalıdır (8).

2.8.Tedavi

Endometriozis tedavisi, kadının spesifik yakınmalarına, yakınmanın şiddetine, endometriotik lezyonların yerleşimine, tedavinin amacına ve fertilitenin korunma isteğine bağlıdır. Tedavi hastanın yakınmasına göre farklılık göstereceği için, en uygun tedaviye karar verilirken hastanın infertilite mi yoksa ağrı için mi tedavi aradığının netleştirilmesi gerekir (27).

2.8.1.Fertilite İçin Medikal Tedavi

Evre 1 veya 2 endometriozisde ovaryan supresyon için uygulanan medikal tedavi fekundite oranlarını arttırmamaktadır (31). Operatif laparoskopi sonrası gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) desteğinin, 5 yıllık izlem ile karşılaştırıldığında gebelik oranlarını arttırmadığı gibi bu tedavinin konsepsiyon geciktirdiği saptanmıştır (32). Yapılan bir Cochrane Derlemesinde evre II-IV endometriozis hastası kadınlarda IVF öncesi GnRH agonistleri ile sağlanan 3-6 aylık ovaryan supresyonun gebelik oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (33). Bazı çalışmalarda kломifen sitrat ve gonadorapin gibi ovulasyon indüksiyonu ajanlarının ile uygulanan

intrauterin inseminasyon (IUI) uygulamasının gebelik oranlarını arttırdığını ileri sürmektedir (34). Fakat bu methodların anatominin bozulduğu ağır hastalığın aksine sadece hafif peritoneal hastalıkta kullanılması önerilmektedir.

Yardımcı üreme teknikleri endometriozis hastası kadınlarda gebelik oranlarını belirgin arttırabilirken, sonuçlar in vitro fertilizasyon (IVF) uygulanan tubal faktörlü grup ile karşılaştırıldığında suboptimal olarak saptanmıştır. Bir meta analizde IVF başarı oranlarının; evre III veya IV endometrioziste kontrol grubuna kıyasla azaldığı saptanmıştır (35).

2.8.2.Fertilite İçin Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavi ile saptanabilen lezyonlar eradike edilebilir fakat infertiliteye sebep olabilecek kronik inflamasyon ve biyomoleküler değişimlere etki edemez. Evre I ve II hastalıkta laparoskopik endometriozis cerrahisi sonrasında fertilitede hafif bir artış saptanmıştır (36). Evre III ve IV hastalıkta cerrahi tedavinin fertilitite üzerine etkilerini değerlendirilen non randomize bir çalışmada fertilitite oranlarında artış izlenmemekle beraber ağrı azalma saptanmıştır (37). Bir çalışmada derin infiltratif endometriozis cerrahisi sonrasında IVF başarısının yükseldiği bulunmuştur (38).

2.8.3.Ağrı İçin Medikal Tedavi

Medikal tedaviler ağrı kontrolünde etkilidir. Fakat tedavi kesilince semptomlar tekrarlama eğilimindedir. Bu nedenle medikal tedavide en önemli prensip özellikle ilk sırada kullanılacak ilaçların uzun dönem kullanıma uygun olmasıdır. Medikal baskılayıcı tedavinin fertilitite üzerine etkisi bulunmamaktadır (39).

2.8.3.1.Non Steroid Anti İnflamatuar İlaçlar

Non-steroid anti inflammatuar ilaçlar (NSAİİ) endometriozsin laparoskopi ile gösterilmesinden önce primer dismenore ve pelvik ağrısı olan kadınlarda ve hafif ağrı yakınması olan kadınlarda seçilecek ilk tedavidir. Bu grup ilaç endometriozise bağlı ağrının patofizyolojisinde yer alan prostoglandin sentezini inhibe etmektedir. Bu yüzden bu ilaç grubu endometriozise bağlı ağrının giderilmesinde faydalı olabilir (27). NSAİİ ile ağrı kontrolünde başarısız olunursa, baskılayıcı medikal tedavi kullanılabilir (39).

2.8.3.2.Oral Kontraseptifler

Oral kontraseptifler iyi tolere edilen, maliyet etkin ilaçlar olup klinik olarak danazol ve gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) agonistleri kadar etkin bulunmuşlardır (40). Dismenore rekürrensi devamlı kullanımda siklik kullanıma göre daha düşüktür. Fakat disparoni ve pelvik ağrı arasında fark yoktur (41).

2.8.3.3.Progestinler

Endometrioziste ağrı tedavisinde kullanılan oral progestinler oldukça başarılıdır. Medroksiprogesteron asetat gibi C21 steroidler oral olarak sadece yüksek dozlarda etkili olup belirgin yan etkileri ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) üzerine negatif etkileri bulunmaktadır (42). Noretindron asetat Food and Drug Administration (FDA) onaylı 19-nortestosteron türevi olup rektovajinal endometrioziste bile etkili bulunmuştur (43). Subkütan depo medroksiprogesteron asetat FDA tarafından onaylı olup endometriozis ilişkili ağrı tedavisinde kullanılmaktadır (42). Kırılma kanaması bu tedavide uyumu bozup tedaviyi bırakmada en sık nedendir.

2.8.3.4.Danazol

Danazol androjenik etkileri bulunan oral kullanılan bir ilaç olup endometrioziste ağrı semptomlarının kontrolünde kullanılmaktadır. Fakat yan etki profilinde olan kilo artışı, akne ve hirsutizm kullanımını ciddi ölçüde kısıtlamaktadır. İlaç genellikle amenore sağlayacak dozlarda verilir (44).

2.8.3.5.Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Analogları

Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) agonistleri birçok çalışmada etkin olarak bulunmuş olup FDA tarafından onaylanmıştır (45). İlacın kullanımında temel kısıtlayıcı faktörler yan etkileri ve maliyetidir. İlaç hipogonadal ve hipoöstrojenik durum oluşturur. Yan etkileri arasında vazomotor semptomlar, uykusuzluk, ürogenital atrofi, kemik mineral yoğunluğunda azalma bulunur (46). Bu yan etkileri azaltmak için add-back steroid tedavisi önerilmiştir (47). Add-back tedavi kullanımı aynı zamanda GnRH agonist tedavisine olan uyumu arttırmaktadır (48). FDA tarafından onaylanan tek add-back tedavi ajanı noretindron asetattır.

2.8.3.6.Selektif Progesteron Reseptör Modölatörleri

Mifepriston anti-progestojenik etkileri olan bir selektif progesteron reseptör modölatörüdür. Edometriozisli kadınlarda 6 aylık kullanımının pelvik ağrı ve endometriozisi azalttığı bulunmuştur (27).

2.8.3.7.Aromataz İnhibitörleri

Letrozol ve anastrozol aromataz inhibitörlerinden olup bazı vaka serierinde kullanılmışlardır. Premenapozal kadınlarda benign ovaryan kist üretimini baskılayacak

gonadotropin tedavisi ile beraber kullanılmalıdır. Letrozol ile noretindron asetatın kullanımında etki tek başına noretindron asetat kullanımına göre daha fazla olmakla beraber yan etkilerde artış izlenmiştir (49).

2.8.4.Ağrı İçin Cerrahi Tedavi

Ağrı için cerrahi tedavi modaliteleri arasında lezyonların çıkartılması ve adezyolizis uygulanması; endometrioma ekstirpasyonu; presakral nörektomi bulunmaktadır. Tüm bu cerrahi teknikler laparotomi ve laparoskopik olarak uygulanabilmektedir (27).

2.9.Edaravon

Edaravon (3-metil-1-fenil-prazolin-5-one) bir serbest radikal süpürücüsü ve beyin koruyucudur. Hem non enzimatik lipid peroksidasyonunu hem de lipoksijenaz yollarını etkiler ve kuvvetli antioksidan etkileri bulunmaktadır (3). Edaravonun etkileri sadece antioksidan aktivitesine bağlı değildir. Çeşitli sinyal yolları üzerine etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda edaravonun geç nöronal hücre ölümünü baskıladığı, mikrogliya bağımlı hücre ölümünü engellediği, uzun dönem inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Lipid oksidasyon hasarına sebep olan lipoksijenazı edaravon inhibe etmektedir. Aynı zamanda matrix-metalloproteinaz-9 (MMP-9) inhibisyonu yaparak vasküler hasar ve intraserebral kanama üzerine koruyucu etkileri bulunduğu gösterilmiştir (4).

Endometriozis hala patogenezi üzerine birçok teori bulunan ve daha tam aydınlatılamamış tıbbi bir durumdur. Endometriozis üzerine araştırmalar ve yeni tedavi modaliteleri üzerine çalışmalar devam etmektedir.

3.AMAÇ

Bu araştırmada edaravonun endometriosis üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla, deneysel endometriosis modeli oluşturulan sıçanlar üzerinde edaravon tedavisi uygulanmıştır. Ardından histoloji ve sitokinerjik inceleme ile edaravon tedavisinin endometriosis üzerine etkileri araştırılmıştır.



4.MATERYAL VE METHOD

Çalışma için 12 adet dişi, 8 haftalık, 180-260gr arasında Sprague Dawley tipi erişkin sıçan kullanıldı. Hayvanlar çelik kafeslerde çiftler halinde, 12 saatlik gündüz/gece siklusları olan, sıcaklık kontrollü (22 ± 2 °C) ortamda tutulup ad libitum olarak beslendi. Deneyel prosedürler Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı. Tüm sıçanlara ketamin hidroklorür 50mg/kg dozunda (Alfamine®, Ege Vet, Alfasan International B.V. Holland), ve xylazine hidroklorür 7mg/kg dozunda (Alfazyne®, Ege Vet, Alfasan International B.V. Holland) kullanılarak intraperitoneal anestezi uygulandı. Sıçanlara traşlama sonrası 5cm vertikal abdominal insizyon uygulandı. Sol uterin horn, hem uterotubal bileşkeden, hem de servikal uçtan bağlanıp kesildi. Kesilen horn segmenti steril salin solüsyonuna alınıp, antimesenterik ekseninde kesi yapılarak endometrium açığa çıkarıldı. 5X5X1mm endometrium kesitleri hazırlandı. Eksplantlar sol anterolateral peritoneal yüzeye , 7-0 propilen dikiş ile suture edildi. Sütürasyon esnasında peritoneal yüzey ile endometrial yüzeylerin karşılıklı gelmesine dikkat edildi. Abdominal tabakalar anatomiye uygun olarak 4-0 polyglactin 910 ile kapatıldı.

Dört hafta sonra 12 sıçana endometriotik eksplantların gözlenmesi için cerrahi eksplorasyon uygulandı. İncelenen tüm sıçanlarda peritoneal endometriotik odaklar saptandı, bu odaklar $A \times B \times C \times 0.52 \text{ mm}^3$ formülü kullanılarak ölçüldü ve kaydedildi. Sıçanlar iki gruba randomize olarak bölündü. Birinci grup salin grubu (plasebo), ikinci grup edaravon grubu oldu. Tedavi öncesi her iki grupta da endometriotik odak boyutları benzerdi. Her gruba 3 haftalık iyileşme dönemi sonrası

tedavi uygulandı. Salin grubuna 1ml/kg/gün izotonik solüsyon verilirken edaravon grubuna 20mg/kg dozunda edaravon 28 gün boyunca verildi.

Medikasyon periyodunun sonunda üçüncü kez intraperitoneal ketamin (40mg/kg) / xylazine (4mg/kg) anestezisi altında laparotomi uygulandı. İmplant boyutları ölçüldü ve 1ml izotonik solüsyonu ile peritoneal lavaj aspirasyonu uygulandı. Kan örnekleri 1ml'lik enjektör kullanılarak intrakardiyak olarak alındı ve heparinli tüplere konuldu. Sakrifikasyon sonrasında implantlar çıkartılıp histopatolojik inceleme için 10% formalin solüsyonu ile fikse edildi.

4.1.Biyokimyasal İnceleme

Kan ve periton sıvıları oda sıcaklığında 10 dakika boyunca 3000rpm'de santrifüj edilip sitokin ölçümüne kadar -20 °C'de saklandı. Sitokin düzeyleri, ticari olarak ulaşılabilen VEGF ve TNF-alfa için enzim bağı immunosorbent assay (ELISA) kitleri kullanılarak çalışıldı. Ölçümler kit üreticisinin talimatlarına uygun olarak yapıldı.

4.2.Histolojik İnceleme

Histolojik ve immunohistokimyasal çalışmalar için tüm hayvanlara intraperitoneal ketamin (40mg/kg) / xylazine (4mg/kg) ile anestezi uygulanmış, ketamin anestezisi altında sakrifikasyon sonrasında implantlar çıkartılıp histopatolojik inceleme için 10% formalin solüsyonu ile fikse edildi. Formalin solüsyonu ile fikse edilen endometriotik odaklar parafin bloklara yatırılmış, 5 µm kalınlığında kesitlerle ayrılıp hemotoksilen-eosin ile boyanıp ışık mikroskobunda incelenmiştir. Endometrial eksplantlardaki epitelyal hücre persistansı semikantitatif olarak şu şekilde değerlendirildi:

1. Az korunmuş epitel doku ve 0, hiç epitel doku saptanmaması.
2. Orta derece korunmuş epitel doku ve lökosit infiltrasyonu;
3. İyi korunmuş epitel tabakası;

Bu ölçüm ve değerlendirmeler çalışmaya kör bir operatör tarafından uygulanmıştır.

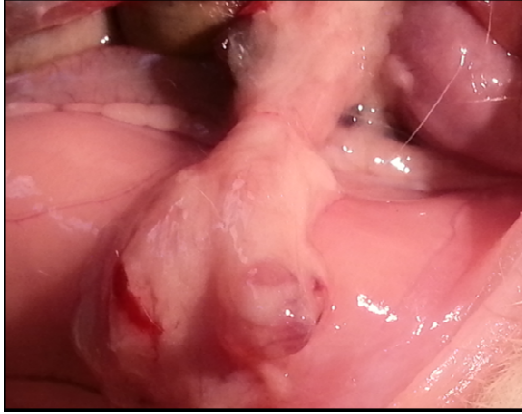
4.3. İstatistik Methodu

Data analizleri Windows için Statistical Package for the Social Science (SPSS) versiyon 15.0 kullanılarak yapılmıştır. Lezyon hacim değerlerinin dağılım normalizasyonu Shapiro Wilk Testi kullanılarak hesaplanmıştır. Normal dağılım dışındaki metrik değişkenler Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Uygun olduğunda Student's T test'i kullanılmış olup daha fazla kıyaslama gerektiğinde Bonferroni Testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ olduğunda farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

5.BULGULAR

5.1.Makroskopik Bulgular

Tedavi öncesi edavaron ve salin (plasebo) grubundaki deneklerde implant hacimleri benzerdi ($28.3 \pm 4.4 \text{ mm}^3$ ve $32.1 \pm 8.06 \text{ mm}^3$). Tedavi sonrası implant hacmi salin (plasebo) grubunda artarak $61.5 \pm 13.6 \text{ mm}^3$ bulunurken, edaravon grubunda azalarak $16.8 \pm 4.7 \text{ mm}^3$ bulundu. Salin (placebo) grubunda ortalama implant hacminde tedavi öncesine göre anlamlı artış saptanırken, edaravon grubunda anlamlı azalış izlendi.



ŞEKİL 8: Batın yan duvarında omental yapışıklık oluşturmuş endometriozis odağının görünümü

TABLO 1: Makroskopik olarak endometriozis implantlarının hacim karşılaştırılması

	Salin grubu (plasebo) (n=6)	Edaravon 20 mg/kg (n=6)
Ortalama implant volümü (mm ³)		
Tedavi Öncesi	32.1 ± 8.06	28.3 ± 4.4 *
Tedavi Sonrası	61.5 ± 13.6	16.8 ± 4.7 ** #

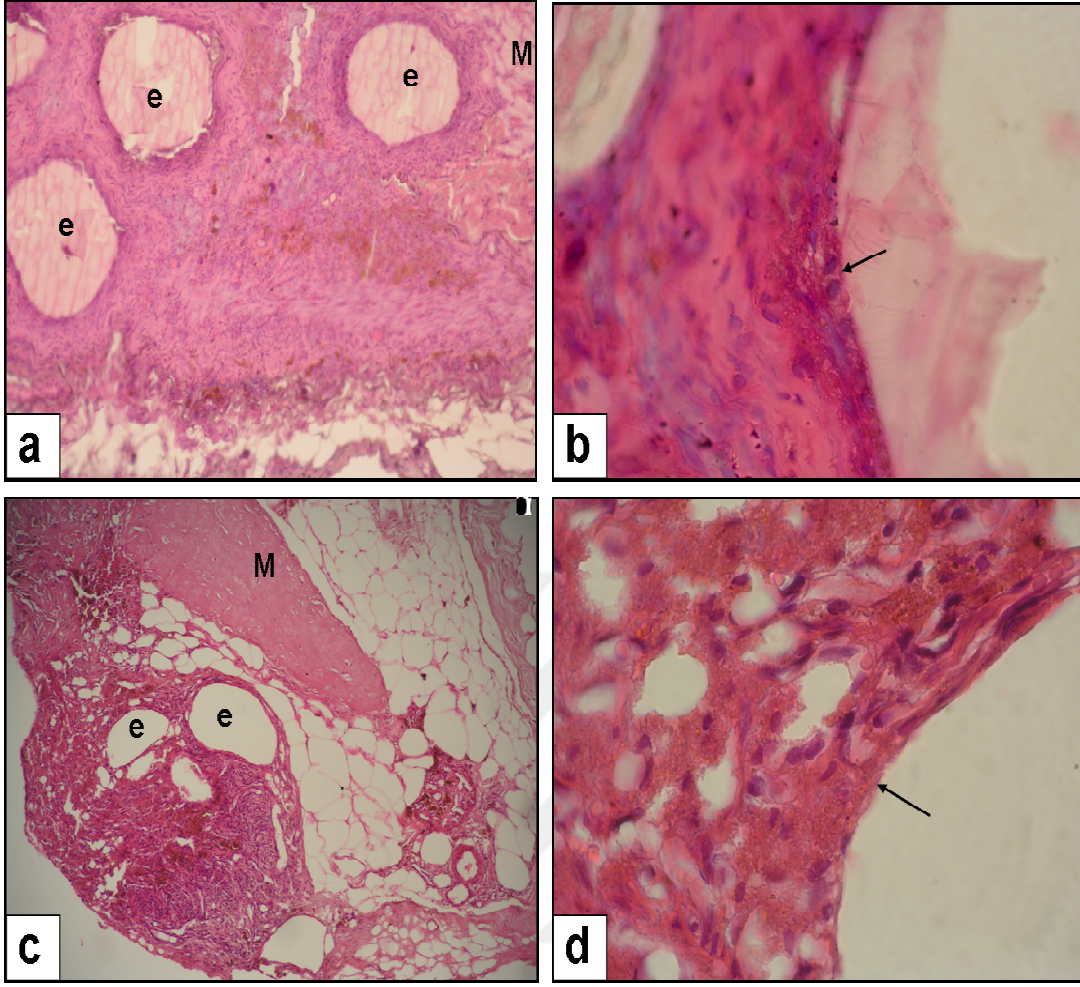
* p>0.05 tedavi öncesi salin ve edaravon grubu arasında anlamlı fark yok.

** p<0.01 tedavi sonrası, edaravon tedavisi alan grupta salin grubuna göre implant çapında anlamlı azalma mevcut.

p<0.05 edaravon tedavisi alan grupta tedavi sonrası dönemde tedavi öncesine döneme göre implant çapında anlamlı azalma mevcut .

5.2.Histopatolojik Bulgular

Salin grubunda ortalama epitel skoru 2.5 ± 0.22 dir. Kesitlerde epitel orta derecede korunmuş olup, lökosit infiltrasyonu eşlik etmektedir. Edaravon grubunda ise ortalama epitel skoru 1.5 ± 0.2 olarak saptanmıştır. Kesitlerde epitel dokunun kısmi olarak korunduğu görülmüştür.



ŞEKİL 9: a-b: Salin grubu (20 ve 100 büyütme), (e) endometriozis odağı, (M) düz kas, ok işareti endometriozis odağı epiteli. c-d: Edaravon grubu (20 ve 100 büyütme)

TABLO 2: Endometriozis implantlarının epitel skorlarının karşılaştırılması

	Salin grubu (plasebo) (n=6)	Edaravon 20 mg/kg (n=6)
--	--------------------------------	----------------------------

Histopatolojik Değerlendirme

Epitel Skoru	2.5 ± 0.22	1.5 ± 0.2*
--------------	------------	------------

* p<0.01, Edaravon alan grupta salin grubuna göre epitel skoru anlamlı azalmış.

5.3.Sitokinerjik Bulgular

TABLO 3: Plazma ve periton yıkama sıvılarındaki sitokin düzeylerinin karşılaştırılması

	Salin (plasebo) (n=6)	Edaravon 20 mg/kg (n=6)
VEGF düzeyi (pg/ml)		
Plazma	147.8 ± 27.9	18.1 ± 7.9 *
Periton Yıkama Sıvısı	69.3 ± 17.01	29.2 ± 5.2 *
TNF-α düzeyi (pg/ml)		
Plazma	47.9 ± 6.8	41.91 ± 6.5
Periton Yıkama Sıvısı	26.5 ± 4.8	14.3 ± 1.7 *

* p<0.05, Edaravon alan grupta salin grubuna göre VEGF, hem plazma hem de periton yıkama sıvısında anlamlı olarak azalmış

* p<0.05, Edaravon alan grupta salin grubuna göre TNF, periton yıkama sıvısında anlamlı olarak azalmış

Salin grubunda VEGF düzeyleri plazmada 147.8 ± 27.9 pg/ml , periton yıkama sıvısında 69.3 ± 17.01 pg/ml olarak ölçüldü. Edaravon grubunda ise VEGF düzeyleri plazmada 18.1 ± 7.9 pg/ml , periton yıkama sıvısında 29.2 ± 5.2 pg/ml olarak ölçüldü. Sonuç olarak edaravon grubunda salin grubuna göre hem plazma hem de periton yıkama sıvısında VEGF düzeylerinde anlamlı azalma izlendi.

Salin grubunda TNF-alfa düzeylerine bakıldığında plazmada 47.9 ± 6.8 pg/ml , periton yıkama sıvısında 26.5 ± 4.8 pg/ml olarak ölçüldü. Edaravon grubunda ise TNF-alfa düzeyleri plazmada 41.91 ± 6.5 pg/ml , periton yıkama sıvısında ise 14.3 ± 1.7 pg/ml olarak ölçüldü. Edaravon grubunda TNF-alfa düzeyleri açısından plazma düzeylerinde anlamlı değişim saptanmazken, edaravon grubunda periton yıkama sıvılarında anlamlı azalma saptanmıştır.

6.TARTIŞMA

Endometriozis endometrial dokunun uterin kavitenin dışında büyümesi ile karakterize olan kronik bir hastalıktır. Etyolojik olarak birçok teori öne sürülsede, şu ana kadar Sampson'ın önerdiği retrograd menstürasyon teorisi 1920'lerde önerilmesine rağmen hala günceliğini korumaktadır. En sık olarak overler, uterosakral ligamentler ve Douglas boşluğunu kapsayacak şekilde pelvik kavitede tutulum izlenir. En sık olarak infertilite ve pelvik ağrı ile prezente olur.

Yapılan araştırmalarda genel toplumun %15'inin etkilendiği gözlenir. Seçilmiş gruplarda bu oran çok daha yüksektir. İnfertil kadınlarda %30, kronik pelvik ağrısı olan kadınlarda ise %45 oranında endometriozis görülebilmektedir. Tedavide medikal ve cerrahi yaklaşımlar kullanılır. Medikal tedavilerin özünde hipoöstrojenik ortam sağlamak yatmaktadır. Hastalığın etyopatogenezinde hala aydınlatılamamış noktalar bulunduğu için yeni tedavi yöntemlerinin araştırılması devam etmektedir.

Çalışmamızda sıçanlarda endometriozis modeli oluşturulduktan sonra bunlara edaravonun etkileri incelendi. Edaravon özellikle Japonya'da inme tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Antioksidan etkilerinin yanı sıra lipoksijenaz inhibisyonu da yapar.

Şu ana kadar edaravonun endometriozis üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma bulunamamış olup çalışmamız olası bir ilişkinin incelenmesi açısından bir ilktir. İncelenen parametreler arasında implant volümü, epitel skorları, plazma ve periton yıkama sıvılarında TNF-alfa ve VEGF düzeyleri incelenmiştir.

Sıçanlarda edaravon uygulandıktan sonra implant hacimlerinde; edaravon grubunda salin grubuna kıyasla belirgin azalma saptanmıştır. Aynı zamanda edaravon grubunda epitel skorlarında da anlamlı azalma görülmüştür. Bu bulgular endometriotik odakların atrofiye gittiğini ve vaskülaritesinin azaldığını göstermektedir. Sitokinerjik incelemede edaravon grubunda hem serumda hem de periton yıkama sıvısında VEGF'in azaldığı fakat TNF-alfa'nın sadece periton yıkama sıvısında anlamlı azaldığı görülmektedir.

TNF-alfa endometriosis gibi birçok endometriosis gibi inflamatuvar süreçte anahtar sitokin olmuştur. Primer fonksiyonu diğer sitokinleride içeren bir sitokin kaskadı başlatmaktır (50). TNF-alfa düzeyleri ve endometriosis ağırlığı arasındaki ilişki bulunmaktadır (51). Çalışmamızda edaravon grubunda sadece periton yıkama sıvısında azalmış olup serum düzeylerinde kontrol grubu ile anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumda net bir yargıya varmak güç olsada en azından peritondaki endometriosis odaklarındaki lokal inflamasyonun azaldığı varsayılabilir.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) en potent anjiojenik sitokinlerden olup endometriozisinde dahil olduğu bir grup hastalıkta artmaktadır. VEGF endometrioziste anjiojenezde önemli rol oynamaktadır (52). Çalışmamızda VEGF düzeyleri edaravone grubunda plazmada ve periton yıkama sıvısında anlamlı olarak daha düşük düzeyde saptanmıştır. Kiyoshi ve ark. edaravonun hipoksik iskemik koşullarda beyin ödemi baskılayıcı etkisinin astrositlerde VEGF ekspresyonunun inhibisyonuna bağlı olduğu ileri sürmektedir (53). Edaravon aynı etkiyi çalışmamızda endometriotik odaklar üzerinde gösterip VEGF sentezini baskılamış olabilir. Bu şekilde hem makroskopik endometriotik odakların hacminde azalma, hem epitel skorlarında

düşüş; hem de serumda ve periton yıkama sıvında gözlenene VEGF seviyelerindeki azalma bu etkiye bağlı olabilir.

Endometriozis etyopatogenezinde ve tedavisinde hala karanlıkta kalan birçok nokta bulunmaktadır. Çalışmamızdaki veriler edaravonun endometriosis tedavisinde potansiyel vadeden bir molekül olduğunu düşündürmektedir. Fakat karar verebilmek için daha ileri çalışmalara gerek vardır. Bizim çalışmamızda sadece sıçanlar üzerinde bir başlangıç yapılsa da bu bulguları teyit edecek ve gerekirse insan çalışmalarına ilerleyecek daha ileri çalışmalar gereklidir.

7.SONUÇ

Çeşitli teoriler bulunmasına rağmen endometriozis etyopatolojisi günümüzde hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastalıktan etkilenen kadınlar ağrı ve infertilite problemleri ile mücadele etmektedirler. Tedavi seçenekleri çok çeşitli olmasına rağmen hala istenilen etkinlikte değildir.

‘Sıçanlarda oluşturulan deneysel endometriozis modelinde edaravone’un tedavi edici etkilerinin histolojik ve sitokinerjik parametreler ile değerlendirilmesi’ isimli çalışmamızda antioksidan bir molekül olan edaravonun endometriotik odakların regresyonu üzerine kontrol grubuna kıyasla daha etkin olduğu saptandı. Aynı zamanda VEGF ve TNF düzeylerinde edaravone grubunda anlamlı azalma izlendi. Edaravonun bu etkisinin mekanizması tam olarak açık olmamakla beraber gelecekte endometriozis tedavisinde ilaç olarak kullanılma potansiyeli taşımaktadır. Bu konuda daha fazla çalışma yapılması, moleküler düzeyde edaravonun potansiyel etki mekanizmalarının üzerinde durulması gerekmektedir.

8.ÖZET

Amaç: Araştırmada sıçanlar üzerinde deneysel endometriozis modeli oluşturulup edaravon tedavisi uygulanmıştır. Histoloji ve sitokinlerjik inceleme ile edaravon tedavisinin endometriozis üzerine etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metod: Sıçanlarda cerrahi olarak endometriozis modeli oluşturulup 28 gün birinci gruba 1ml/kg/gün izotonik solüsyon, 2. gruba 20mg/kg edaravon uygulandı. Medikasyon sonunda batın eksplore edildi, implant boyutları ölçüldü, histolojik inceleme için çıkartıldı. Kan örnekleri alındı, periton lavajı yapıldı. Serum ve lavaj sıvısında TNF-alfa ve VEGF düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Ortalama implant hacimlerinde kontrol grubunda tedavi öncesi hacim 32.1 ± 8.06 mm³, tedavi sonrasında 61.5 ± 13.6 mm³ olarak ölçüldü. Edaravon grubunda ortalama implant hacmi tedavi öncesi 28.3 ± 4.4 , tedavi sonrası ortalama hacim 16.8 ± 4.7 olarak ölçüldü. Salin grubunda ortalama epitel skoru 2.5 ± 0.22 olup kesitlerde epitel orta derecede korunmuş olup lökosit infiltrasyonu eşlik etmekteydi. Edaravon grubunda ise ortalama epitel skoru 1.5 ± 0.2 olarak saptandı kesitlerde epitel dokunun kısmi olarak korunduğu görüldü. Salin grubunda VEGF düzeyleri plazmada 147.8 ± 27.9 pg/ml, periton yıkama sıvısında 69.3 ± 17.01 pg/ml ölçüldü. Edaravon grubunda VEGF düzeyleri plazmada 18.1 ± 7.9 pg/ml, periton yıkama sıvısında 29.2 ± 5.2 pg/ml ölçüldü. Salin grubunda TNF-alfa düzeyleri plazmada 47.9 ± 6.8 pg/ml , periton yıkama sıvısında 26.5 ± 4.8 pg/ml ölçüldü. Edaravon grubunda TNF-alfa düzeyleri plazmada 41.91 ± 6.5 pg/ml , periton yıkama sıvısında ise 14.3 ± 1.7 pg/ml ölçüldü.

Sonuç: Edaravon grubunda hem implant boyutlarında azalma hem de sitokin seviyelerinde düşüş izlendi. Edaravon; mevcut bu bilgiler ışığında endometriozis tedavisinde kullanıma potansiyeli olan bir molekül olarak değeriendirildi.

Anahtar Kelimeler: Endometriozis, rat, edaravone



9.KAYNAKLAR

1. Cynthia Farquhar. Endometriosis, BMJ 2007;334:249-53
2. Mehedintu C, Plotogea MN, Ionescu S, Antonovici. Endometriosis still a challenge. J Med Life. 2014 Sep 15;7(3):349-357. Epub 2014 Sep 25.
3. Dao-quan Tang, Yin-jie Li, Zheng Li, Ting-ting Bian, Kai Chen, Xiao-xiao Zheng Yan-yan Yu ,Shui-shi Jiang. Study on the interaction of plasma protein binding rate between edaravone and taurine in human plasma based on HPLC analysis coupled with ultra filtration technique. Biomed. Chromatogr 2014 DOI 10.1002/bmc.3401
4. Paul A. Lapchak, A critical assessment of edaravone acute ischemic stroke efficacy trials: is edaravone an effective neuroprotective therapy? Expert Opin Pharmacother. Jul 2010; 11(10): 1753–1763
5. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. Lancet. 2004; 364(9447):1789–1799. Epub 2004/11/16. [PubMed: 15541453]
6. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and Infertility: A review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. Obstet Gynecol Clin North Am. 2012 December ; 39(4): 535–549. doi:10.1016/j.ogc.2012.10.002.
7. D'Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. Fertility and sterility. 1997; 68(4):613–625. Epub 1997/10/28. [PubMed: 9341599]
8. Berek J. S. ,Berek& Novak Jinekoloji, Nobel Tıp Kitabevleri 14.Baskı 2007, 29:1137-1183

9. Bischoff F, Simpson L. J. Genetics of endometriosis: heritability and candidate genes. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* Vol. 18, No. 2, pp. 219–232, 2004
10. H. Stefansson, R.T. Geirsson, V. Steinthorsdottir, H. Jonsson, A. Manolescu, A. Kong, G. Ingadottir, J. Gulcher K. Stefansson. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis *Hum. Reprod.* (2002) 17 (3): 555-559.
11. Julie A. W. Stilley, Julie A. Birt Kathy, L. Sharpe-Timms. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell Tissue Res* (2012) 349:849–862
12. Treloar SA, Wicks J, Nyholt DR, Montgomery GW, Bahlo M, Smith V, et al. Genomewide linkage study in 1,176 affected sister pair families identifies a significant susceptibility locus for endometriosis on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet.* 2005; 77:365–76.
13. Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod.* 1998; 13:3496–502. [PubMed: 9886539]
14. Wingfield M, Macpherson A, Healy DL, Rogers PA. Cell proliferation is increased in the endometrium of women with endometriosis. *Fertil Steril.* 1995; 64:340–6.
15. Sato N, Tsunoda H, Nishida M, Morishita Y, Takimoto Y, Kubo T, et al. Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res.* 2000; 60:7052–6

16. Zhang X, Ho SM. Epigenetics meets endocrinology. *J Mol Endocrinol.* 46:R11–32.
17. Houshdaran S, Zelenko Z, Tamaresis JS, Irwin JC, Giudice LC. Abnormal epigenetic signature in eutopic endometrium of subjects with severe endometriosis. *Reprod Sci.* 2011; 18:191A.
18. Guo SW. Epigenetics of endometriosis. *Mol Hum Reprod.* 2009; 15:587–607.
19. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Maas JW, Dunselman GA, de Goeij AF, et al. Tissue integrity is essential for ectopic implantation of human endometrium in the chicken chorioallantoic membrane. *Hum Reprod.* 2003; 18:30–4. [PubMed: 12525437]
20. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril.* 1991; 56:45–51.
21. Gerhard I, Becker T, Eggert-Kruse W, Klinga K, Runnebaum B. Thyroid and ovarian function in infertile women. *Hum Reprod.* 1991; 6:338–45
22. Poppe K, Glinoe D, Van Steirteghem A, Tournaye H, Devroey P, Schiettecatte J, et al. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women. *Thyroid.* 2002; 12:997–1001.
23. Lucidi RS, Witz CA, Chrisco M, Binkley PA, Shain SA, Schenken RS. A novel in vitro model of the early endometriotic lesion demonstrates that attachment of

endometrial cells to mesothelial cells is dependent on the source of endometrial cells. *Fertil Steril*. 2005; 84:16–21. [PubMed: 16009148]

24. Liu YG, Tekmal RR, Binkley PA, Nair HB, Schenken RS, Kirma NB. Induction of endometrial epithelial cell invasion and c-fms expression by transforming growth factor beta. *Mol Hum Reprod*. 2009; 15:665–73. [PubMed: 19505996]
25. Vinay Kumar et al. *Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease* 2010 by Saunders 8/e:1005-1065
26. Revised American Society of Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996 *Fertil. Steril*. 1997;67:817-21
27. Schorge J. ,Williams Jinekoloji, Nobel Tıp Kitabevleri 2010, 10:225-243
28. Holoch KJ, Lessey BA. Endometriosis and infertility. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2010; 53(2):429–438. Epub 2010/05/04. [PubMed: 20436320]
29. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Seminars in reproductive medicine*. 2003; 21(2):243–254. Epub 2003/08/15. [PubMed: 12917793]
30. Olive DL, Pritts EA. Treatment of endometriosis. *The New England journal of medicine*. 2001; 345(4):266–275. Epub 2001/07/28. [PubMed: 11474666]
31. Hughes E, Brown J, Collins JJ, Farquhar C, Fedorkow DM, Vandekerckhove P. Ovulation suppression for endometriosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, Issue 3. Art. No: CD000155. DOI: 10.1002/14651858.CD000155.pub2.

32. Loverro G, Carriero C, Rossi AC, Putignano G, Nicolardi V, Selvaggi L. A randomized study comparing triptorelin or expectant management following conservative laparoscopic surgery for symptomatic stage III-IV endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008;136:194–8.
33. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 1. Art. No.: CD004635. DOI:10.1002/14651858.CD004635.pub2.
34. Vercellini P, Fedele L, Aimi G, De Giorgi O, Consonni D, Crosignani PG, et al. Reproductive performance, pain recurrence and disease relapse after conservative surgical treatment for endometriosis: the predictive value of the current classification system. *Hum Reprod* 2006;21:2679–85.
35. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002;77:1148–55
36. Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, Farquhar C, Koninckx PR, Olive D. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 1. Art. No.: CD001398. DOI: 10.1002/14651858.CD001398.pub2
37. Vercellini P, Pietropaolo G, De Giorgi O, Daguati R, Pasin R, Crosignani PG, et al. Reproductive performance in infertile women with rectovaginal endometriosis: is surgery worthwhile? *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1303–10.

38. . Bianchi P, Pereira R, Zannata A, Alegretti JR, Motta E, Serafini P. Extensive excision of deep infiltrative endometriosis before in vitro fertilization significantly improves pregnancy rates. *Minim Invasive Gynecol* 2009;16:174–80.
39. Tommaso Falcone, MD, FRCSC, and Dan I. Lebovic, MD. Clinical Management of Endometriosis. *Obstet Gynecol* 2011;118:691–705
40. Vercellini P, Crosignani P, Somigliana E, Vigano` P, Frattaruolo MP, Fedele L. “Waiting for Godot”: a commonsense approach to the medical treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2011;26:3–13.
41. Seracchioli R, Mabrouk M, Frasca` C, Manuzzi L, MontanariG, Keramyda A, et al. Long-term cyclic and continuous oral contraceptive therapy and endometrioma recurrence: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2010;93:52–6.
42. Vercellini P, Fedele L, Aimi G, De Giorgi O, Consonni D,Crosignani PG, et al. Reproductive performance, pain recurrenceand disease relapse after conservative surgical treatmentfor endometriosis: the predictive value of the currentclassification system. *Hum Reprod* 2006;21:2679–85.
43. Ferrero S, Camerini G, Seracchioli R, Ragni N, Venturini PL,Biscaldi E, et al. Norethisterone acetate in the treatment of colorectal endometriosis: a pilot study. *Hum Reprod* 2010;25:94 –100.
44. Vercellini P, Somigliana E, Vigano` P, Abbiati A, Barbara G,Crosignani PG. Endometriosis: current therapies and new pharmacological developments. *Drugs* 2009;69:649–75.

45. Brown J, Pan A, Hart RJ. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. The Cochrane Database of Systematic Reviews 2010, Issue 12. Art. No.: CD008475. DOI: 10.1002/14651858.CD008475.pub2
46. . Sowers MR, Zheng H, Jannausch ML, McConnell D, Nan B, Harlow S, et al. Amount of bone loss in relation to time around the final menstrual period and follicle-stimulating hormone staging of the transmenopause. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:2155–62.
47. . Surrey ES, Hornstein MD. Prolonged GnRH agonist and add-back therapy for symptomatic endometriosis: long-term follow-up. Obstet Gynecol 2002;99:709–19.
48. Fuldeore MJ, Marx SE, Chwalisz K, Smeeding JE, Brook RA. Add-back therapy use and its impact on LA persistence in patients with endometriosis. Curr Med Res Opin 2010;26: 729–36
49. Ferrero S, Camerini G, Seracchioli R, Ragni N, Venturini PL, Remorgida V. Letrozole combined with norethisterone acetate compared with norethisterone acetate alone in the treatment of pain symptoms caused by endometriosis. Hum Reprod 2009;24:3033–41
50. Islimye M, Kilic S, Zulfikaroglu E, Topcu O, Zergeroglu S, Batioglu S. Regression of endometrial autografts in a rat model of endometriosis treated with etanercept. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011;159(1):184-189
51. Richter ON, Dorn C, Rosing B, Flaskamp C, Ulrich U. Tumor necrosis factor alpha secretion by peritoneal macrophages in patients with endometriosis. Arch Gynecol Obstet . 2005;271(2): 143-147

52. . Fengying Huang, Jing Cao, QiuHong Liu, Ying Zou, Hongyun Li, Tuanfang Yin. MAPK/ERK signal pathway involved expression of COX-2 and VEGF by IL-1 β induced in human endometriosis stromal cells in vitro. Int J Clin Exp Pathol 2013;6(10):2129-2136
53. Kiyoshi Kikuchi, Salunya Tancharoen, Nobuyuki Takeshige , Munetake Yoshitomi, Motohiro Morioka, Yoshinaka Murai, Eiichiro Tanaka. MAPK/ERK signal pathway involved expression of COX-2 and VEGF by IL-1 β induced in human endometriosis stromal cells in vitro. Int J Clin Exp Pathol 2013;6(10):2129-2136