



1993
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE
DOKSİSİKLİNİN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Pınar AKKAYA

ANKARA
2008



1993

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE
DOKSİSİKLİNİN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Pınar AKKAYA

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Hulusi Bülent ZEYNELOĞLU

ANKARA

2008

Bu tez Başkent Üniversitesi araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: DA 07/19

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, uzmanlık eğitimimde önemli yeri olan ve tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, tez danışmanım Prof. Dr. Hulusi Bülent Zeyneloğlu'na, uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emekleri olan Prof. Dr. Ali Ayhan, Prof. Dr. Esra Kuşçu, Doç. Dr. Filiz Yanık, Doç. Dr. Mesut Öktem, Yrd. Doç. Dr. Derya Erođlu ve Uzm. Dr. Polat Dursun'a, eğitimdeki emeğinin yanısıra tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Göğşen Önalın'a, tezimin oluşturulmasında yardımlarından ötürü Patoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Müge Ünlükaplan'a ve Biyokimya laboratuvarından Uzm. Dr. Nilüfer Bayraktar'a, asistan arkadaşlarıma ve bana her zaman sonsuz destek olan çok değerli aileme TEŞEKKÜR ederim.

Dr. Pınar AKKAYA

ÖZET

Endometriozis, endometrial bez ve stromanın uterus dışında, yani ektopik olarak yerleşimidir. Endometriozis, östrojen bağımlı bir hastalıktır ve konvansiyonel tedavi yöntemlerinde, östrojenin azaltılması amaçlanır. Ancak standart tedavilerle oluşturulan hipoöstrojenik ortam, büyük kısmı üreme çağında olan bu hastalarda, yan etkileri nedeniyle uzun süre devam ettirilemez.

Endometriozis etyopatogenezini aydınlatarak, yeni medikal tedavi seçenekleri oluşturmaya yönelik moleküler düzeyde çok sayıda araştırma yapılmaktadır.

Endometriozisin başlangıç aşamasında etkili olduğu saptanmış olan matriks metalloproteinazların (MMP) inhibisyonu, hastalığın ilerlemesini durdurabilir. Endometriozisde matriks metalloproteinaz inhibitörlerinin etkileri ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Bakteriyostatik etkisi dışında, matriks metalloprotenazları nonspesifik olarak inhibe eden ve çalışmalarda; antianjiogenik, pro-apoptotik etkileri de bildirilmiş olan doksisiklin, enfeksiyon hastalıkları dışında birçok patolojik durumda da faydalı etkileri olabilecek bir ilaçtır.

Matriks metalloprotenazlar ve anjiogenez ile ilgili olan etkilerinin hangi yollarla olduğunun yeterince aydınlatılamamış olması ve insanlarda kullanımı olan bir ilaç olması nedenleriyle doksisiklin, üzerinde araştırma yapılmaya değer bir ilaçtır. Nitekim; doksisiklinin farklı patolojik olaylarda, dokulardaki moleküler düzeydeki etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır.

Bu deneysel çalışmada, rat modelinde endometriozis oluşturup; konvansiyonel medikal tedavi olan GnRH analogu ile doksisiklinin, peritoneal endometrial implantlar üzerindeki etkileri karşılaştırıldı.

Toplam 40 rat'ta, 1. laparotomide endometrial implantlar oluşturuldu. Üç haftalık bekleme süresi sonunda 2. laparotomilerinde; endometrial implant odaklarının başarılı biçimde oluştuğu görüldü, tedavi öncesi endometrial odakların boyutları milimetre olarak

kaydedildi ve peritoneal sıvı örnekleri alındı. Toplam 40 rat, randomize olarak 4 eşit gruba ayrıldı. 21 gün boyunca grup I'deki ratlara 5 mg/kg/gün doksisiklin, grup II'deki ratlara 40 mg/kg/gün doksisiklin, grup III'deki ratlara tek doz, 1 mg/kg löprolid asetat verildi. Grup IV'teki ratlara herhangi bir medikal tedavi verilmedi.

Medikal tedavi sonrasında ratlara 3. laparotomi işlemi yapıldı. Üçüncü laparotomi işlemi sırasında tekrar endometrial odakların boyutları kaydedildi ve peritoneal sıvı örnekleri alındı. Daha sonra, endometrial implantlar histolojik inceleme ve MMP-2 ve MMP-9 ile ilgili immünohistokimyasal değerlendirme yapmak için eksize edildi.

Tedavi öncesinde tespit edilen peritoneal endometrial implantların yüzey alanları ve peritoneal sıvı interlökin-6 seviyeleri, her bir grup için ayrı ayrı tedavi sonrası değerler ile karşılaştırıldı. Tedavi sonrasında endometriozis dokusunun hemotoksilen-eozin ile yapılan boyaması sonucu elde edilen histolojik skorlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Ayrıca doksisiklin ile tedavi edilen gruplar ile kontrol grubundaki ratlara immünohistokimyasal yöntemler ile MMP boyaması yapılarak kendi aralarında karşılaştırıldı.

GnRH analogu ile tedavi edilen grupta beklenildiği gibi endometrial implantların yüzey alanlarında, histolojik skorlamalarında ve peritoneal sıvı IL-6 seviyelerinde tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Yani GnRH analogu ile tedavi, endometrial implantta boyut ve histolojik olarak gerilemeye neden oldu.

Doksisiklin ile tedavi edilen gruplarda da, endometrial implantların boyutlarında bir azalma saptandı. Ayrıca doksisiklinin, tedavi sonrasında, endometriozis dokusunun hem epitel hem de stromasındaki MMP-2 ve MMP-9 miktarlarını azalttığı tespit edildi. Peritoneal sıvıda IL-6 seviyesinde azalma, sadece yüksek doz doksisiklin grubunda gösterilebildi. Endometriozis dokusunun hematoksilen-eozin ile yapılan histolojik skorlamasında, her iki doksisiklin grubunda da tedavi öncesi ve sonrası skorlar arasında fark gösterilemedi.

Bu çalışma ile doksisiklinin endometriozis dokusunda matriks metalloproteinaz-2 ve 9'u azalttığı ve endometrial implant yüzey alanında küçülme sağladığı gösterildi.

Bu nedenle; rat endometriozis modelinde; endometriotik odaklarda, doksisiklinin etkilerini inceleyen çalışmamızın, doksisiklin ve endometriozis ile ilgili gelecek çalışmalara öncülük edeceğini ve endometriozis tedavisinde yeni bir umut oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜRLER.....	iii
ÖZET	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Endometriozis.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Prevalans ve İnsidans	3
2.1.3. Etyopatogenez	3
2.1.4. Endometriozis Nedenleri	4
2.1.5. Risk Faktörleri	6
2.1.6. Yerleşim Bölgeleri.....	8
2.1.7. Semptom ve Bulgular	9
2.1.8. Tanı.....	10
2.1.9. Evreleme.....	14
2.1.10. Tedavi	14
2.1.11. Yeni Medikal Tedavi Rejimleri.....	19
2.1.11.1. Matriks metalloproteinazlar ve inhibitörleri.....	22

2.1.11.2. Doksisisiklin.....	27
2.3. Hipotez	30
2.4. Amaç.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	31
3.1. Araştırma Yeri ve Ortamı.....	31
3.2. Araştırma Tipi	31
3.3. Anestezi	31
3.4. Araştırma Grupları.....	31
3.5. Araştırma Parametreleri ve Yöntemi.....	32
3.5.1. Laparotomi Modeli.....	32
3.5.2. Histopatolojik Değerlendirme	34
3.5.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	35
3.6. İstatistiksel Analiz	37
4. SONUÇLAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	42
6. KAYNAKLAR.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil-1	Endometriozisin pelviste yerleşim bölgeleri	9
Şekil-2	Endometriozisin Medikal Tedavisi.....	16
Şekil-3	MMP'lerin şematik olarak kimyasal yapısı.....	23
Şekil-4	MMP'lerin aktivasyon mekanizmaları	26
Şekil-5	Doksisiklin'in kimyasal yapısı	28
Şekil-6	Ratlarda endometriozis modeli.....	33
Şekil-7	Histopatolojik skorlama.....	35
Şekil-8	İmmünohistokimyasal boyama preparatlarından bazı örnekler.....	37

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim-1	Peritoneal endometriozis odakları (Laparoskopik görünüm)	11
Resim-2	Tedavi öncesi endometrial implantlar	33
Resim-3	Tedavi sonrası endometrial implantlar	34

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo-1	Endometriozis evrelendirmesi (The American Fertility Society Revised Classification of Endometriosis: 1996. Fertil Steril 1997 May; 67(5):817-21)	14
Tablo-2	Add-back tedavi seçenekleri.....	17
Tablo-3	MMP sınıflandırması ve substratlar	24
Tablo-4	Histopatolojik skörlama.....	35
Tablo-5	Tüm gruplarda, tedavi öncesi ve sonrasındaki endometrial implantların ortalama yüzey alanlarına ait değerlerin karşılaştırılması.....	39
Tablo-6	Tüm gruplarda, tedavi sonrasındaki hemotoksilen-eozin ile yapılan histopatolojik skörlama.....	39
Tablo-7	Tüm gruplarda tedavi öncesi ve sonrası ortalama peritoneal sıvı IL-6 seviyeleri.....	40
Tablo-8	Doksisiklin ile tedavi edilen grupta ve kontrol grubundaki immünohistokimyasal boyama sonuçları	41

1. GİRİŞ

Endometriozis, normal olarak sadece uterusu bulunması gereken endometrial gland ve stromanın ektopik yerleşimidir. İnfertil hastalarda %25–35, üreme çağındaki kadınlarda %3–10, dismenoreli kadınlarda %40–60 oranında görülmektedir. Tanı anındaki yaş ortalaması 25–30 yıldır. Hastalığın ilk tanımlandığı 1860 yıllarından bu yana yapılan yoğun çalışmalara rağmen hastalığın etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır.

Endometriozis tedavisinin amacı, pelvik ağrı ve/veya endometriozis ile ilgili infertilitenin ortadan kaldırılmasıdır. Günümüzdeki tedavi modaliteleri; medikal tedavi, cerrahi tedavi ve medikal-cerrahi tedavinin birlikte uygulanmasıdır. Cerrahi tedavide endometriozis odaklarının koterizasyonu veya eksizyonu, adezyolizis, endometrioma eksizyonu ve koterizasyonu gibi yöntemler mevcuttur. Cerrahi tedavide ayrıca kronik pelvik ağrıya yönelik yöntemler olan LUNA, presakral nörektomi gibi operasyonlar da kullanılmaktadır. Günümüzde endometriozisin medikal tedavisinde; kombine oral kontraseptifler (KOK), progestinler, danazol ve en sık olarak da Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogları kullanılmaktadır. Endometriozis için kullanılan klasik medikal tedavilerde hipoöstrojenik bir durum elde edilmeye çalışılır. Ancak endometriozis hastalarının çoğunun üreme çağındaki kadınlar olması nedeniyle hipoöstrojenik durum uzun süre devam ettirilemez. Ayrıca hipoöstrojenik durum ortadan kalktığında hastalığın 2 yıl içerisinde tekrarlama oranı %50'dir.

Endometriozisin etyopatogenezi hakkında yapılan birçok moleküler düzeyde çalışma mevcuttur. Hastalığın etyopatogenezi hakkındaki bilgilerin artması ile, tedavide umut verici farklı ajanların kullanımı gündeme gelmiştir. Endometriozis tedavisinde yeni geliştirilen ve üzerinde çalışmalar devam eden ajanlar; GnRH antagonistleri, östrojen reseptör beta agonistleri, selektif progesteron veya östrojen modülatörleri, antiprogestajenler, immünmodülatörler, aromataz inhibitörleri, siklooksijenaz-2 (COX-2) ve TNF-alfa inhibitörleri, anjiogenez inhibitörleri, statinler ve matriks metalloproteinaz (MMP) inhibitörleridir.

İnsan ve hayvan endometriotik odaklarında; MMP-2, MMP-3, MMP-7 ve MMP-9 ekspresyonunun arttığı ve doku MMP inhibitörleri olan TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. MMP-2, MMP-3, MMP-7 ve MMP-9'un endometrial dokunun peritona implante olmasında yani endometriozisin başlangıç aşamasında etkili olduğu bildirilmektedir. MMP'ların bu etkisi, ekstrasellüler matriksin yıkımı ve anjiogenezin başlaması ile ilgili olabilir. Bu nedenle MMP inhibitörleri ile endometriozisin oluşumu ve ilerlemesi durdurulabilir. Şaşırtıcı olarak, MMP inhibitörleri ile ilgili çalışmaların sayısı azdır.

Doksisiklin, uzun etkili tetrasiklin grubu bir antibiyotiktir. Bakteri ribozomlarının 30S alt ünitesine bağlanıp, aminoasit t-RNA'nın bağlanmasını bloke ederek protein sentezini inhibe eder. Bakteriyostatik etkilidir. Doksisiklinin antimikrobial etkisinin dışındaki etkileri hakkında yapılmış çok sayıda çalışma vardır. Doksisiklinin MMP-2 ve MMP-9'u inhibe edici özelliği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, doksisiklinin düz kas hücre migrasyonunu inhibe ederek antianjiogenik etki gösterdiği, vasküler endotelial büyüme faktörü'nün (VEGF) bazı tiplerini inhibe ettiği, TIMP-1'i artırdığı, bazı kanser türlerinde gösterilen pro-apoptotik etkisi gibi farklı özellikleri de bildirilmiştir. Endometriotik odakların oluşumunda anjiogenezin de önemli bir faktör olduğu ve bu alanlarda vaskülaritenin arttığı bilinmektedir. Endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında, anjiogenik faktörlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve bunlardan en önemlisinin de VEGF olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Endometriozisde, anjiogenezisi uyaran ve anjiogenezis fizyopatolojisinde en önemli faktör olarak karşımıza çıkan VEGF'e yönelik antianjiogenezis tedavileri de son zamanlarda endometriozisin medikal tedavisinde kullanılması düşünülen ajanlar arasında sayılmaktadır.

Endometriozisin oluşum aşamasında, endometrial dokunun, peritona implantasyonu ve anjiogenezin başlaması ile ilgili moleküler çalışmaların ışığında; MMP inhibitörü olan ve aynı zamanda antianjiogenik ve pro-apoptotik etkileri de bildirilmiş olan doksisiklinin medikal tedavi için bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endometriozis

2.1.1. Tanım

Endometriozis normal olarak uterusda bulunması gereken endometrial bez ve stromanın uterus dışında; overlerde, tubalarda ve pelvis peritonu gibi birçok bölgedeki mevcudiyetidir (1,2).

2.1.2. Prevalans ve İnsidans

İlk defa 1860 yılında Rokitansky tarafından tarif edilmiştir (3). Endometriozis reproduktif dönemdeki her 7 kadından birini etkiler. İnfertil çiftlerin yaklaşık %30'unda infertilite nedeni olarak karşımıza çıkar (4,5).

2.1.3. Etyopatogenez

Hastalığın etyopatogenezi ile ilgili ilk kuram Sampson tarafından ileri sürülmüştür (3). Hastalığın etyopatogenezini tek bir nedene bağlamak olanaksızdır. Hastalığın oluşumunu açıklamaya yönelik bazı teori ve risk faktörleri tanımlanmıştır.

İmplantasyon kuramı: Bu kuram, 1920'de Sampson tarafından tanımlanmıştır. Menstrüasyon kanamaları sırasında, endometrial hücrelerin tubalardan regürjitasyonu ile peritoneal kaviteye implantasyonu sonucunda endometriotik odakların oluştuğu düşünülmektedir. Uterus anomalileri, serviks darlığı, vagen atrezisi ve himen imperforatus gibi adet kanının akışına engel olan durumlarda endometriozisin daha fazla görülmesi bu teoriyi desteklemektedir. Ayrıca menstrüel siklusu daha kısa olan ve menstrüel kanaması fazla miktarda olan kadınlarda da endometriozis daha sık görülür (6). Ancak, implantasyon teorisi sadece pelvise ait endometriozisi açıklayabilir. Ayrıca, kadınların %70-80'inde

retrograd menstrüasyon görülmesine rağmen, endometriozis insidansının %7 olması, bir diğer önemli unsurdur (7).

Çöloomik Metaplazi kuramı: Endometriozisin bulunduğu yerden kaynaklanması konusundaki öne sürülen, müller ve wolf kanalı artıklarından endometriozis geliştiği konusundaki teori, günümüzde kabul görmemektedir. 1919'da Meyer tarafından öne sürülen bu teoriye göre periton boşluğunu döşeyen hücreler, hormonal veya yangı gibi uyarılara maruz kaldığında endometrium hücrelerine dönüşmektedir (8).

İndüksiyon kuramı: 1955'te Levander ve Norman tarafından ileri sürülmüştür. Bozulmuş endometrium tarafından üretilen endojen kimyasal uyarıların, bağ dokusundaki kök hücrelerini endometrium hücrelerine dönüştürdüğü temeline dayanır (9).

Halban Teorisi: Endometrial hücrelerin lenfoid yolla yayılımı esasına dayanır.

2.1.4. Endometriozis Nedenleri

Hormonal faktörler: Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Endometriotik odakların invazyonu ve gelişmesinden sadece over ve adrenal kaynaklı östrojen sorumlu değildir. Bulun ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda endometriotik dokunun kendisinden de yüksek miktarda östrojen üretildiği gösterilmiştir (10,11,12). Östrojen üretiminde iki önemli basamak, StAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein) ve aromataz'dır. StAR, kolesterolün sitosolden mitokondriye alınmasını kolaylaştırır (13). Aromataz ise steroid sentezinin son basamağını katalize eder. Aromataz, normal endometriumda yoktur. Ancak endometriozisli hastaların hem ötopik, hem de ektopik endometriumlarında aromataz üretimi için gereken transkripsiyon faktörleri (örneğin, SF-1) bulunur (14). Endometriozisli hastaların hem ötopik hem de ektopik endometriumlarında aromataz üretildiği gösterilmiştir. Östrojen üretimi ile inflamasyon arasındaki bağlantı ile ilgili son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır. Endometriotik odaklarda bulunan SF-1, özellikle aromataz ve StAR olmak üzere steroidogenezden sorumlu genleri, PGE2 ve cAMP bağımlı olarak harekete geçirir (15).

Genetik Faktörler: Epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın karmaşık ve çok gen bağımlı bir geçiş gösterdiğini desteklemektedir (16). Endometriozisli hastaların birinci derece

akrabalarında hastalık, 6-9 kat daha sık görülmektedir (17,18). Günümüzde endometriozis gelişimi ile ilgili aday genler bildirilmiştir. Bu genlere ait polimorfizm ve null mutasyonların endometriozise yol açabileceği üzerinde durulmuştur. Bunlar arasında, galaktoz-1-fosfat üridil transferaz (GALT) geni, Faz I detoksifikasyon genleri (Ah reseptör, CYP1A1, N-asetil transferaz 1), Faz II detoksifikasyon genleri (glutasyon-S-transferaz, N-asetil transferaz 2), steroid ilişkili genler [östrojen reseptör, aromataz (CYP29)], hücre içi adezyon genleri (ICAM-I), anjiogenik faktörler, sitokinler ve kemokinlerle ilgili genler bulunmaktadır (19,20,21).

Endometriozis, kanser ile benzer özellikler göstermektedir. Endometriozisde, tümör baskılayıcı genlerde ve DNA hatalı birleşme (mismatch) onarım genlerinde heterozigot yapı kaybı olabilir. Endometriozisin gelişiminde Hmlh1, p16 (INK 41) ve PTEN genlerinin etkili olduğu konusunda çalışmalar vardır. Sonuçta endometriozisin genetik nedenleri konusunda ayrıntılı bilgiler bulunmasına rağmen, hastalığın etyopatogenezi ile ilişkisi henüz tam olarak ortaya konamamıştır (22).

Bağışıklık sistemi: Endometriozisde, hastalığın hem nedeni hem de sonucu olarak karşımıza çıkan çeşitli immün ve inflamatuvar değişiklikler gösterilmiştir. Endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında Naturel Killer (NK) hücrelerin ve makrofajların aktivitelerinde azalma, lökosit, inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, anjiogenetik faktörler ve matriks metalloproteinazların aktivitelerinde ise artma tespit edilmiştir. Ayrıca; endometriotik odakdaki aromataz aktivitesine bağlı PGE, lokal inflamatuvar olayın büyümesinde pozitif feed-back etki yapar. Hormonal, genetik ve dioksin gibi çevresel nedenler endometriozisli hastalardaki bağışıklık sistemi ile ilgili değişikliklerden sorumlu olabilir (23,24).

Kanser biyolojisi: Malign olmamasına rağmen endometriozis, hücre büyümesi ve invazyonuna dayalı bir hastalıktır.

Endometrioid ve berrak hücreli over kanseri olan hastalarda, yüksek oranda endometriozise rastlanır (25). Yine kesin bir bilgi olmamakla birlikte, endometriozis tanısı alan hastalarda non-hodgkin lenfoma ve meme kanseri riskinin de arttığı bildirilmiştir (26).

Çeşitli kanser tiplerinde görülen genetik değişikliklere endometriozisli hastalarda da rastlanır. Endometriotik proliferasyon ve implantasyon; kısmen onkogenlerin mutasyonu, kısmen de tümör baskılayıcı genlerin delesyonu sonucunda gelişebilir.

Endometriozis gelişiminde malign tümörlerde olduğu gibi anjiogenezisin önemi büyüktür. Endometrium, anjiogenezisi uyaran faktörler açısından zengindir. Endometriumda bulunan; fibroblast growth faktör (FGF)-1 ve 2, VEGF, interlökin-8 (IL-8), monosit kemotaktik faktör (MCP)-1, epitelyal büyüme faktörü (EGF) gibi birçok sitokin, endometriozisde hücre çoğalması ve anjiogenezde rol oynar. Ayrıca endometrial hücrelerin implantasyonunda rol aldığı düşünülen bir başka grup protein de matriks metalloproteinazlardır. Matriks metalloproteinazlar, tümör supressör genler ve onkogenler tarafından düzenlenmektedir. MMP baskılanmasının, ektopik endometrial dokunun gelişimini önlediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (27,28).

Endometriyumun döngüsel değişikliklerinde apoptozisin de rolü vardır. Kanser biyolojisinde olduğu gibi, apoptozise duyarlılığın azalması etyopatogeneze etkili olabilir.

Sonuçta, endometriozis ve kanser gelişimi ve metastazları benzer özelliklere sahiptir. Bu nedenle; tümör biyolojisi konusundaki çalışmalar, endometriozis etyopatogeneze de ışık tutacaktır.

Çevresel faktörler: Polivinil klorid'in yanması sonucunda ortaya çıkan 2,3,7,8-Tetraklorodibenzo-p-dioksin, endometriozis ile yakından ilişkilidir. Dioksinin, rhesus maymunlarında endometriozise yol açtığı gösterilmiştir. Dioksinin hedef genleri, sitokrom p450, plazminojen aktivatör inhibitör-2 ve interlökin 1-beta gibi inflamasyon ve farklılaşma ile ilgili genlerdir (29,30). Glutasyon S-transferaz ailesine ait enzimler, dioksinin detoksifikasyonunda rol almaktadır (31).

2.1.5. Risk Faktörleri

1. Yaş
2. Sosyoekonomik durum
3. Irk

4. Menstrüasyon özellikleri
5. Gebelik hikayesi
6. Oral kontraseptif kullanımı
7. Aile hikayesi
8. Sigara
9. Beslenme alışkanlığı
10. Vücut ağırlığı
11. İmmün sistem hastalıkları
12. Muhtelif

1. **Yaş:** Endometriozis, reproduktif dönemin hastalığıdır. Premenarş ve postmenapozal dönemde çok nadir görülür.
2. **Sosyoekonomik durum:** Literatürde endometriozisin sosyoekonomik durumu yüksek insanlarda daha sık görüldüğüne dair veriler olmakla beraber bu durum tartışmalı bir konudur (32).
3. **İrk:** Beyazlarda ve Asyalılarda daha sık görüldüğünü belirten yayınlar mevcuttur (33).
4. **Menstrüasyon özellikleri:** Erken menarş (<11 yaş) ve kısa siklus uzunluğu (<27 gün) endometriozis ile yakından ilişkilidir (34). Menstrüel kanama hacmi ile de endometriozis arasında yakın ilişki vardır. Menstrüel kanaması 6 günden fazla olan, kanama miktarı fazla olan ve menstrüasyon sırasında kramp tarzında ağrıları olan hastalarda, endometriozis için riskin artmış olduğu belirtilmiştir (35).
5. **Gebelik hikayesi:** Klinik ve epidemiyolojik veriler gebelik sayısı ile endometriozis arasında ters bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Nulligravidlerde, multiparlara göre anlamlı olarak daha fazla endometriozis görülür (36).
6. **Kontraseptif yöntemler:** Çalışmaların çoğu endometriozisde kombine oral kontraseptif kullanımı sırasında semptomların azaldığını ancak tedavi sonrasında şikayetlerin arttığını ifade etmektedir (37). Kombine oral kontraseptif kullanımının

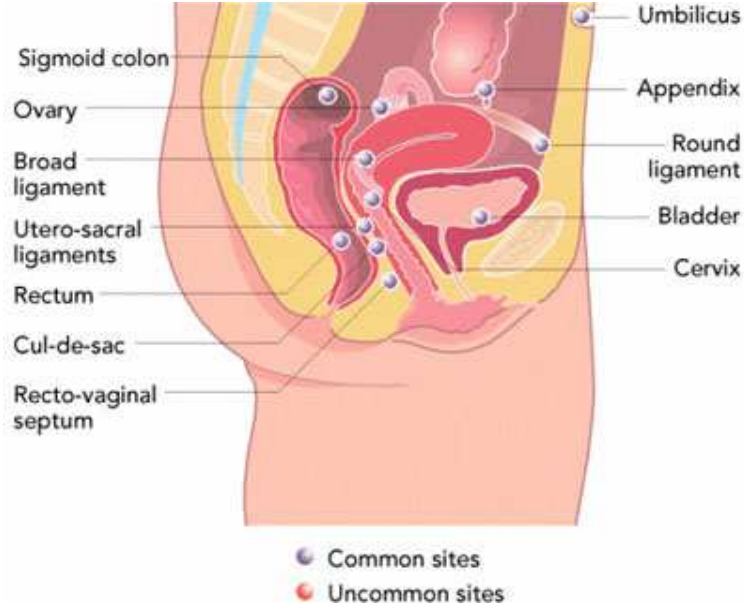
sağladığı fayda, sadece palyatif bir fayda mı, yoksa endometriozis riskini de azaltıyor mu sorusunun cevabı açık değildir (38).

7. **Aile hikayesi:** Endometriozis, 1. derece akrabalarda endometriozis olması durumunda, daha sık görülmektedir. Moen tarafından yapılan bir araştırmada, birinci derece akrabalar için relatif risk 7.2 olarak hesaplanmıştır (39).
8. **Sigara:** Sigara tüketiminin hormonal ortamı etkilediği bilinmektedir. Sigara tüketiminin endometriozis riskini düşürdüğünü bildiren çalışmalar olmakla birlikte (6), sigara içimi ve endometriozis arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (40,41).
9. **Beslenme alışkanlığı:** Yapılan çalışmalarda, yeşil sebze ve meyvelerden zengin beslenme ile endometriozis riskinde önemli bir azalma saptanırken, kırmızı et ürünlerinin fazla tüketilmesi ile endometriozis riskinde artma tespit edilmiştir. Kahve ve alkol alımı ile endometriozis riski arasında herhangi bir bağlantı saptanamamıştır (42).
10. **Vücut ağırlığı:** Endometriozis ve vücut kitle indeksi (kg/m^2) arasında zayıf bir ters orantı saptanmıştır. Endometriozis olasılığı; boyla pozitif, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi ile negatif korelasyon göstermektedir (43,44). Bunlarla birlikte yüksek bel/kalça oranı ölçümleri varlığı ile endometriozis olasılığı azalırken, doğum tartısı azalması ile endometriozis olasılığı artmaktadır (45).
11. **İmmün sistem hastalıkları:** Hipotiroidizm, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, Sjögren sendromu, multiple skleroz, fibromyalji, kronik yorgunluk sendromu, allerji ve astım bronşiale endometriozisli hastalarda daha sık tespit edilmiştir (46).
12. **Egzersiz:** Düzenli ve haftada en az 4 saat yapılan egzersiz ile endometrioma riskinde anlamlı azalma saptanmıştır (47).

2.1.6. Yerleşim Bölgeleri

Endometriotik odaklar; overler, uterin cul-de-sac, uterosakral ligamentler, uterusun posterior yüzü ve broad ligament, pelvik periton başta olmak üzere, barsaklar, mesane,

üreterler, özellikle posterior vaginal fornikste derin infiltrasyon şeklinde yerleşim gösterebilirler. Nadiren pelvis dışı yerleşim (beyin, böbrek, akciğerler, plevra, laparotomi skarları) görülür (48).



Şekil-1 Endometriozisin pelviste yerleşim bölgeleri

2.1.7. Semptom ve Bulgular

Endometriozis, reproduktif çağıdaki kadınların %7-10'unda asemptomatik seyrederek. Endometriozise bağlı semptomlar, dismenore, disparoni, kronik non-menstrüel ağrı ve fertilité potansiyelinde azalmadır (49). Ayrıca pelvis dışındaki endometriotik odağın, bulunduğu bölgeye özgü semptomlar da ortaya çıkabilir. Endometriozis hastalarının %3-37'sinde intestinal sistem tutulumu mevcuttur ve özellikle sigmoid kolon ve rektum tutulur (50). Kolon ve rektumdaki endometriozisde sıklık kanama, tenesmus, konstipasyon, intestinal obstruksiyon görülebilir (51). Endometriozis hastalarının %1-2'sinde, üriner sistem tutulumu mevcuttur ve en çok mesane tutulur. Üriner sistem tutulumunda hematüri görülür (52). Pulmoner sistemde endometriozis bulunması ise hemoptizi ve pnömotoraksa neden olabilir (53).

2.1.8. Tanı

Endometriozis tanısı histopatolojik olarak konur. Ancak öykü, klinik prezentasyon, fizik muayene, görüntüleme yöntemleri ve Ca 125 tanıya yardımcı faktörlerdir.

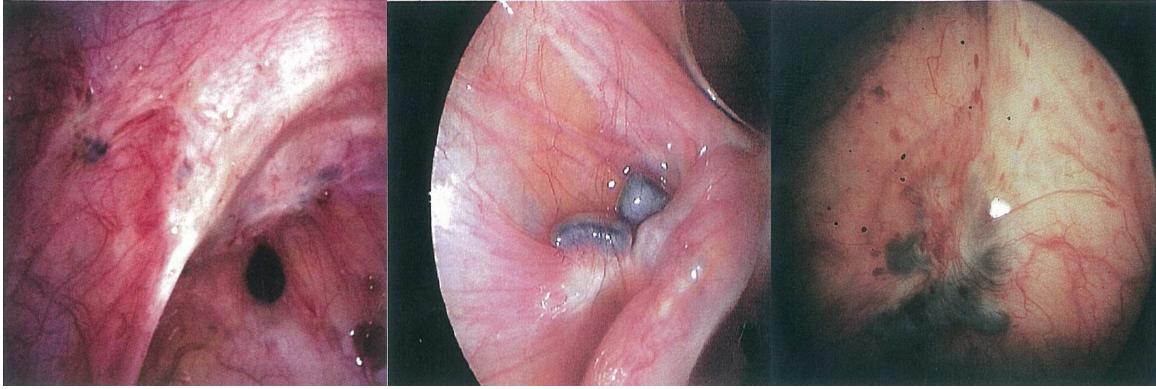
En sık klinik prezentasyon; dismenore, disparoni, kronik pelvik ağrı, infertilite ve pelvik kitledir (54).

Yapılan bir prospektif ve kohort çalışmada, 1079 subfertil kadın hasta değerlendirilmiştir. 358'inde minimal, 130'unda orta-şiddetli endometriozis saptanmıştır. Endometriozisin cerrahi tanısını en iyi öngören semptomların; infertilite, düzenli adet görme, dismenore ve kronik pelvik ağrı olduğu belirtilmiştir (55). Benzer bir başka çalışmada ise, derin yerleşimli endometriozisli hastaların öyküleri ile ilgili en önemli özelliklerin menstrüel kanama sırasında ağrılı defekasyon, şiddetli disparoni ve geçirilmiş endometriozis cerrahisi olmasıdır. Ancak semptomların şiddeti ile endometriozis evresi arasında ilişki saptanamamıştır (56).

Fizik ve pelvik muayene bulguları çok çeşitlilik gösterir. Pelvis dışı tutulum yoksa fizik muayene bulguları genellikle normaldir. Bazı hastalarda, derin palpasyonda, tam olarak lokalize edilemeyen abdominal hassasiyet olabilir. Minimal endometriozis varlığında pelvik muayene normal olabilir. Pelvik muayenede uterus retrovert bulunabilir ve mobilitesini yitirmiş olabilir, douglasta nodülarite saptanabilir (57). Uterosakral bağların tutulduğu durumlarda serviks laterale doğru yer değiştirebilir (58). Spekulum muayenesinde, özellikle derin endometriozis varlığında posterior fornikte mavimsi kırmızımsı ve frajil endometriozis implantlarına rastlanabilir. Endometrioma varlığında ise pelvik muayenede adneksiyel dolgunluk ve kitle saptanabilir. Pelvik muayene ile endometriozisin öngörülme şansı hastalığın şiddeti ve derecesine göre değişmekle beraber sınırlıdır (59).

Endometriozisin tanısındaki altın standart yöntem, endometriozis lezyonlarının doğrudan gözlenmesidir. Bu laparoskopi ya da laparotomi ile yapılabilir. Lezyonların histopatolojik olarak konfirme edilmesinin de gerekli olduğu bildirilmiştir. Ektopik endometrium epitel ve stromasının hemosiderin yüklü makrofajlarla birlikte gözlenmesi, endometriozis tanısı için patognomoniktir. Ancak bu tipik bulgulara, endometriozis olduğu düşünülen lezyonların ancak %70'inde rastlanır (60).

Laparoskopik girişimlerde, peritondaki endometriozis odakları, görünüm olarak oldukça çeşitlilik gösterir (Resim-1). Klasik lezyon, mavi-siyah ya da kül yanığı şeklindedir. Erken dönemdeki aktif lezyonlar; papiller çıkıntılı veya veziküler görünümde ve şeffaf ya da açık kırmızı görünümde olabilir. İleri dönemdeki aktif lezyonlarda inflamasyon ve hemoraji izlenir. Hemoglobin yıkım ürünleri, periyodik kanama ve fibröz değişikliklere bağlı olarak bu lezyonlar; siyah, kahverengi, mor, kırmızı ve yeşil renkler içerebilirler. İnaktif ve iyileşmekte olan lezyonlar ise beyaz ve kalsifiye görünümlüdür. Yapılan çalışmalarda, endometriozisin tipik özelliklerine karışık renkli veya beyaz lezyonlarda, tek renkli diğer lezyonlara göre daha fazla rastlanmıştır (61).



Resim-1 Peritoneal endometriozis odakları (Laparoskopik görünüm)

Endometriozisin histopatolojik olarak ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken lezyonlar; hemanjiom, mezotelyal inklüzyon kistleri, inflamatuvar lezyonlar, over ve endometrium kanseri, parazitik lezyonlar (şistosomiazis), splenosiz, endosalpinjiozis, kronik ektopik gebelik ve erken abdominal gebeliktir (62).

Klinik ve patolojik olarak endometriozisin üç farklı antite olduğu öne sürülür. Periton endometriozisi (yüzeysel endometriozis), ovaryan endometriozis (endometrioma) ve derin adenomyotik nodüler endometriozis (rektovaginal endometriozis) (63). Rektovaginal septumda gelişen derin endometriozis lezyonları histolojik olarak düz kas hiperplazisi gösterirler. Bu nedenle bu lezyonlara adenomyotik derin endometriozis de denir (64). Derin endometriozis nodülleri, periton yüzeyinden en az 5 mm derinlikte bulunduğundan

laparoskopi sırasında görülmeyebilir. Bu nedenle altın standart olarak kabul edilen cerrahi tanının da sınırlamaları vardır. Ayrıca endometriozis lezyonlarının farklı şekil, renk ve görünümde olmaları da tanıda cerrahın tecrübesini ön plana çıkarmakta ve tanıda kişisel farklılıklar yaratmaktadır. Lezyonların tipik histopatolojik özellikleri göstermesi %50-70'tir (65). Yani tanı her zaman histopatolojik olarak konfirme edilemez. Ancak histopatolojinin negatif olması da tanıyı ekarte ettirmez (66).

Endometriozis tanısı ve serum tarama testi geliştirilmesi amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Ancak yeterli sensitivite ve spesifite elde edilmiş bir indikatör henüz bulunamamıştır. Endometriozis tanısında çalışılmış ancak tanısal değeri açısından fikir birliğine varılamamış indikatörler şu şekildedir: SICAM-1 (soluble forms of the intercellular-adhesion molecule-1) (67), TATI (tümörle asosiye tripsin inhibitör) (68), sitokinler (IL-6, monokemotaktik protein-1, interferon gama, tümör nekrozis faktör, VEGF, GM-CSF, IL-2, IL-8, IL-15) (69), oksidatif stres indikatörleri ve bunların otoantikorları (70), haptoglobulin beta zincir izoformları, ötopik endometriumda aromataz P450 aktivitesi, lezyonlardaki hormon reseptörleri, genetik indikatörler ve Ca-72, Ca 15-3, Ca 19-9 gibi özellikle onkolojide kullanıma girmiş serum testleri (71,72,73,74).

Ca 125, çöломik ve müllerien dokulardan kaynaklanan ve endoserviks, endometrium, fallop tüpleri, periton, plevra, perikard üzerinde bulunan bir hücre yüzey antijenidir. Yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Serum Ca 125 değerleri, özellikle epitelyal over kanserleri başta olmak üzere birçok benign ve malign hastalıkta artar (75).

Yapılan çalışmalarda Ca 125 yüksekliği, daha çok ileri evre endometriozisde gösterilmiştir. Kullanılan ölçüm metodu ve kan örneklemesinin yapıldığı menstrüel siklusun fazı, Ca 125 değerini etkileyebilir. Genellikle hem sağlıklı, hem de endometriozisli kişilerde serum Ca 125 değerleri menstrüasyon döneminde en düşük, orta foliküler faz ve periovulatar dönemde ise en yüksektir (76). Menstrüel siklus dönemine göre olan Ca 125 değeri değişkenliğinin derin endometriozis ve endometrioması olan hastalar için geçerli olmadığını, bu hastalarda menstrüel siklusun her döneminde Ca 125'in yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (77). Bir meta analize göre, Ca 125 ölçümünün, hastalığın tanısındaki faydasının sınırlı olduğu kabul edilmektedir (78). Endometriozis tanısındaki hassasiyeti sınırlı olduğu halde, şiddetli derin endometriozis ve endometrioma varlığında öngörüm değeri olabilir. Ayrıca birçok araştırmacı, Ca 125 değerindeki düşüşün, medikal veya cerrahi tedaviye yanıtın göstergesi olduğunu kabul etmektedir (79).

Görüntüleme yöntemlerinden ultrasonografi, özellikle endometriomaların tanısında faydalıdır. Overde, içinde yaygın, düşük dansitede ekolar bulunan ve duvarı ekojenik kistik oluşum, endometrioma için tipiktir (80). Ultrasonografinin, endometrioma tanısındaki sensitivitesi %80, spesifitesi %95'in üzerinde bildirilmiştir. Ultrasonografinin tanısal değeri sadece 2 cm'nin üzerindeki endometriomalar için geçerlidir. Ultrasonografide, öpüşen overler görünümünün endometriozis varlığı ve şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (81). Rektovaginal ultrasonografi, derin endometriozisin, rektovaginal septum ve uterosakral bağları tuttuğu durumlarda yararlı olabilir. Ancak derin endometriozisde, magnetik rezonansın (MRI) daha üstün olduğu bildirilmiştir. Endometriozis tanısında, magnetik rezonansın sensitivitesi %92, spesifitesi %98'dir. MRI ile saptanabilen en küçük endometrioma çapı 1 cm civarındadır. MRI'nin yüzeysel endometriozis implantlarını saptamadaki değeri ise düşüktür (82).

Primer olarak pelvik ağrı ile başvuran ve endometriozis risk faktörleri bulunan hastalarda, cerrahi tanı yerine, şayet endometrioma ve derin endometriozis nodülleri saptanmadıysa ve hastanın istemi de öncelikli olarak medikal tedavi yönünde ise ampirik medikal tedavi ile endometriozis tanısına gidilebilir. Tedaviye öncelikle nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve oral kontraseptifler ile başlanır. Semptomlar kontrol altına alınabilirse tedaviye devam edilir. Semptomların kontrolü sağlanamaz ise üç ay GnRH analogları verilir. GnRH analoglarına rağmen üç ay sonra semptomlar yine kontrol altına alınamazsa cerrahi tedaviye geçilir. Bu yaklaşım kabul görmekle beraber kanıta dayalı yaklaşım açısından yetersizdir (83).

Sonuç olarak, endometriozis tanısında çeşitli güçlüklerle karşılaşmaktadır. Tanıda altın standart olarak kabul edilen cerrahi ve histopatolojik tekniklerin kendi içinde sorunları mevcuttur. Cerrahi olarak lezyonların saptanması, operasyonda bulunan ekibe göre değişkenlik gösterebilir. Histopatolojinin negatif olması, endometriozis tanısını ekarte ettirmez. Bu ve benzeri nedenler ile noninvaziv tanı yöntemleri ile ilgili birçok çalışma yapılmaya devam etmektedir. Bu yöntemler, şiddetli ve ileri evre endometriozisin tanısında bir miktar faydalı olsa da hafif ve orta dereceli endometriozis tanısındaki zorluklar devam etmektedir. Serum markerlarından Ca 125 düzeyi, ancak ileri evre endometriozis bulunan olgularda endometriozisi düşündürebilir. Tanıda en hassas görüntüleme yöntemi MRI'dir. Transvaginal ultrasonografi, ucuz ve kolay olduğu için endometrioma tanısında tercih edilir. Günümüzde endometriozis tanısıyla ilgili çalışmalar, genetik ve biyokimyasal indikatörlerin araştırılması üzerine yoğunlaşmıştır (84).

2.1.9. Evreleme

Hastalığın tanısında ve prognozunda lezyonun lokalizasyon alanları ve boyutları önemlidir. Evrelere göre infertilite ve pelvik ağrı prognozunun öngörülebilmesi ideal bir klasifikasyon sistemi için çok önemlidir. Günümüzde Amerikan Üreme Tıbbı Derneği'nin 1996'da revize edilmiş klasifikasyon sistemi kullanılmaktadır (85,86).

Endometriozis Evrelendirmesi

Evreleme: Evre I (çok hafif):1-5; Evre II (hafif): 6-15; Evre III(orta): 16-40; Evre IV (şiddetli): >40

Tablo 1:Endometriozis evrelendirmesi (The American Fertility Society Revised Classification of Endometriosis: 1996. Fertil Steril 1997 May;67(5):817-21)

PERİTON	ENDOMETRİOZİS		< 1 cm	1-3 cm	> 3 cm	
	Yüzeyel		1	2	4	
Derin		2	4	6		
OVER	Sağ	Yüzeyel	1	2	4	
		Derin	4	16	20	
	Sol	Yüzeyel	1	2	4	
		Derin	4	16	20	
POSTERİOR CULDESAC OBLİTERASYONU		Parsiyel		Komplet		
		4		40		
OVER	ADEZYON		< 1/3'ü kaplı	1/3-2/3'ü kaplı	> 2/3'ü kaplı	
	Sağ	İnce	1	2	4	
		Dens	4	8	16	
	Sol	İnce	1	2	4	
		Dens	4	8	16	
	TUBA	Sağ	İnce	1	2	4
			Dens	4	8	16
		Sol	İnce	1	2	4
Dens			4	8	16	

2.1.10. Tedavi

Endometriozis tedavisinin amacı, pelvik ağrı ve/veya endometriozis ile ilgili infertilitenin ortadan kaldırılmasıdır. Tedavide multidisipliner bir yaklaşım ile uzun dönem takip gerekmektedir. Hastalık en sık ağrı ve infertilite ile prezente olur. Her iki durum da

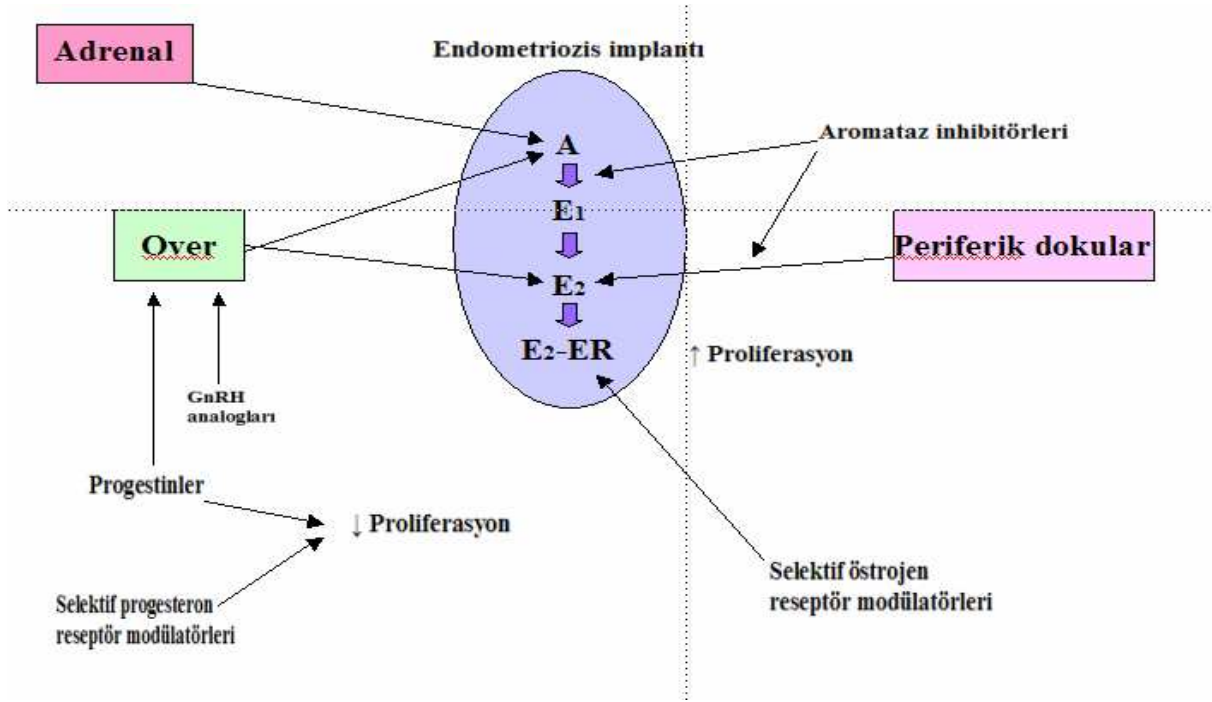
kadınların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler. Yaşam kalitesindeki azalma; kronik ağrı ve infertilitenin yanısıra, bu hastaların çeşitli cerrahi prosedürlere sıkça maruz kalması, uzun süre medikal tedavi almak zorunda kalmaları ve hastalığın başlangıç yaşının da bir sonucu olabilir (87). Hastalığın patogenezinin tam olarak aydınlatılamamış olması ve tedavi seçeneklerinin çeşitliliği nedeniyle, minör lezyonlar aşırı tanısız ve tedavi yaklaşımları ile, ağır endometriozis ise geç tanı ve yetersiz tedavi yaklaşımları ile sonuçlanabilmektedir (88).

Laparoskopi, endometriozis tanısında altın standart olmakla birlikte, aynı zamanda tedavi şansı sunabilmesi açısından da avantajlıdır. Endometriozis olgularında cerrahi metodlar; endometriotik odakların eksizyon veya ablasyonu, adezyolizis, cul-de-sac liberasyonu, laparoskopik uterin sinir ablasyonu (LUNA) ve presakral nörektomi gibi adjuvan işlemlerdir. Derin endometrial lezyonlar, eksizyonu; yüzeysel implantlar ise koagülasyon veya vaporezasyonu gerektirir. Seçilmiş olgularda, histerektomi ve bilateral salpingooferektomi yapılabilir. Endometrioma ve derin infiltratif endometriozisde cerrahi şarttır. Konservatif cerrahiden sonra 6 ay boyunca adjuvan medikal tedavi kullanılmasının, evre III-IV olgularda pelvik ağrı skorlarının uzun süre düşük kalmasında faydalı olacağı konusunda genel bir uzlaşma vardır.

Endometriozise yönelik ağrı semptomlarının giderilmesi için medikal ve cerrahi tedavi arasında eşit etkinlik gösterilmiştir. Ancak gebelik istemi varsa cerrahi tedavi tercih edilir. Endometriozis tanısı, insidental olarak konulmuş asemptomatik hastalarda, tedavisiz izleme yaklaşımı kabul edilmektedir (89).

Endometriozisin östrojen bağımlı bir hastalık olmasından yola çıkılarak kullanıma giren kombine oral kontraseptifler, GnRH agonistleri, progestinler ve danazol klasik medikal tedavi rejimleri arasına girmiştir.

Ancak son yıllarda; endometriozis patogenezi ile ilgili moleküler düzeydeki çalışmaların artması ile doğrudan moleküler hedefe yönelik yeni tedavi yaklaşımları da gündeme gelmiştir. Üzerinde çalışmalar devam eden ajanlar: GnRH antagonistleri, östrojen reseptör beta agonistleri, selektif progesteron veya östrojen modülatörleri, antiprogestajenler, immünmodülatörler, aromataz inhibitörleri, COX-2 ve TNF alfa inhibitörleri, anjiyogenez inhibitörleri, statinler ve matriks metalloproteinaz (MMP) inhibitörleri şeklinde gruplandırılabilir (90).



Şekil-2 Endometriozisin Medikal Tedavisi

Kombine oral kontraseptifler: Endometriozisin ağrı septomları için yaygın ve ilk seçenek olarak kullanılmasına rağmen etkinliği ile ilgili kanıtlar sınırlıdır. FSH ve LH'yı inhibe ederek ovulasyon inhibisyonu yapmalarının yanısıra, ektopik endometrium dokusu üzerinde desidüalizasyon yapar ve apoptozisi artırır. Sürekli veya siklik olarak kullanılabilirler.

Oral kontraseptif ajanlar ile GnRH analoglarını ağrı tedavisindeki etkinlikleri açısından karşılaştıran çalışmalar incelendiğinde aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (91). Öte yandan endometriozisin tekrarlayan bir hastalık olduğu düşünüldüğünde; tedavinin, osteoporozaya yol açması nedeniyle 6 aydan daha fazla verilemeyecek GnRH analogları ile yapılması uygun olmayabilir. Ancak kombine oral kontraseptif kullanımının dezavantajı da, 35 yaşın üzerinde ve sigara içen kadınlarda myokard infarktüsü, venöz tromboembolizm ve inme riskini arttırmasıdır (92).

GnRH agonistleri: Ön hipofizdeki gonadotropin reseptörlerine bağlanarak önce stimülasyon sonra down regülasyon yaparlar. Böylece; önce gonadotropinler azalır, sonra da gonadotropinlerin indüklediği östrojen ve progesteronun azalması ile hipoöstrojenik bir ortam (medikal ooferektomi) oluşur. Kısa dönemde karşılaşılabilecek yan etkiler; sıcak

basmaları, uykusuzluk, libido azalması, vaginal kuruluk, emosyonel labilite ve baş ağrısıdır. Uzun dönemde ise kemik mineral dansitesinde azalma beklenir (lomber vertebra kemik mineral dansitesinde, 6 aylık tedavi sonrası %3.2 ve 12 aylık tedavi sonrası %6.3 azalma).

Kemik mineral dansitesindeki azalma, ilacın kullanımını 6 ay ile sınırlar. Fakat add-back tedaviler ile ilaç 6 aydan daha uzun süre de kullanılabilir. Siklusun başında verilen GnRH analogları, önce östrojen sekresyonu, sonra da östrojen supresyonu oluşturmaktadır. Bu istenmeyen etkinin görülmemesi için GnRH analogları midluteal fazda verilebilir ya da öncesinde progesterin veya oral kontraseptif ilaçlar ile supresyon yapılabilir (93). GnRH analogları ile plasebonun karşılaştırıldığı randomize prospektif kontrollü bir çalışmada, pelvik ağrıda anlamlı ölçüde düzelme bildirilmiştir (94). Doz, verilme şekli, preparat tipi (nafarelin, buserelin, histrelin, goserelin, triptorelin ve löprolid) ve add-back tedaviler ile ilgili karşılaştırmalı birçok çalışma mevcuttur.

Tablo-2 Add-back tedavi seçenekleri

Konjuge östrojen (0.625 mg) + Medroksiprogesteron asetat (2.5 mg)	
Konjuge östrojen (0.625 mg) + Noretindron asetat (5 mg)	
Noretindron asetat (5 mg)	
Medroksiprogesteron asetat (20 mg)	
Noretindron asetat (5 mg) + Etidronat	

Progesterinler: Hipotalamo-hipofizer aksı ve ovulasyonu inhibe ederler, serum östrojen seviyesini azaltırlar. Hem endometriozis odağında, hem de intrauterin endometriumda yalancı desidüalizasyon ve atrofi yapıp menstrüel kanama miktarını azaltarak dismenore ve pelvik ağrıyı engellerler. Ayrıca matriks metalloproteinazları ve anjiogenezi engelleyerek regürjite olmuş endometrium dokusunun implantasyonu ve büyümesini önleyebilirler. İntraperitoneal inflamatuvar aktiviteyi de azaltırlar (95). Medroksiprogesteron asetat (MPA), megestrol asetat, gestrinon, didrogesteron, noretisteron asetat (NETA), linestrenol ve

siproteron asetat seçenekler arasında sayılabilir. Yan etkileri kombine oral kontraseptiflere göre daha fazla rahatsız edici olabilir. Yan etkiler; düzensiz kanama ve lekelenmeler, depresyon, sıvı retansiyonu, kilo artışı, meme hassasiyeti, baş ağrısı, yorgunluk, libido kaybı şeklindedir. Uzun dönem uygulamalar, kemik metabolizmasında olumsuz etkiler yaratabilir (96).

Levonorgestrelli intrauterin sistem: Son zamanlarda levonorgestrelli intrauterin sistemin, endometriozisde menstrüel semptomlar ve ağrıyı azalttığı ile ilgili çalışmalar mevcuttur (97). Levonorgestrelli intrauterin sistemin, 5 yıl boyunca etkili olmasından dolayı özellikle gebelik istemi olmayan hastalarda uzun dönem bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (98). Levonorgestrelli intrauterin sistemin 1 yıl kullanımı ile menstrüel kan kaybının %70-90 azaldığı, az sayıda olguda intermenstrüel kanama ve %20-30 olguda amenore tanımlandığı, bunun dismenore açısından bir avantaj olduğu, ayrıca olumlu sistemik etkilerinin de olduğu bildirilmiştir (99).

Danazol: Danazol, antiandrojenik bir ajandır. 17-alfa testosteron isoksazol derivativesidir. Hipotalamo-hipofizer aksı inhibe ederek amenoreye neden olur, serum androjen konsantrasyonlarını artırır, serum östrojen seviyelerini düşürür. ‘Yalancı menapoz’ benzeri bir durum oluşturur. Birçok çalışma ile danazolün endometriozis ile ilişkili ağrı semptomunu iyileştirdiği gösterilmiştir. Ancak danazolün kullanımını sınırlayan yan etkileri vardır; kilo alımı, ödem, myalji, akne, sebore, meme atrofisi, depresyon ve hirsutizm. Ayrıca danazol, hepatik disfonksiyon ve lipid profiline de olumsuz etki (HDL kolesterolde azalma ve LDL kolesterolde artma) yapabilir. Danazol günlük 400-600 mg dozda ve 6 ay süreyle kullanılır. Danazol yüklü intrauterin araç ve vaginal danazol ile yapılan çalışmalarda, danazolün bu şekilde lokal kullanımının sistemik yan etki olmaksızın, endometriozis ile ilgili ağrı semptomlarını azalttığı bildirilmiştir (100,101).

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID): NSAID’lar, endometriotik implantları tedavi edici değil, semptom gidericidirler. Siklooksijenazın her 3 izoformunu da non-selektif olarak inhibe ederek prostoglandin yapımını, dolayısıyla ağrıyı azaltırlar. Randomize kontrollü çalışmalar, primer dismenore tedavisindeki etkinliğini göstermişlerdir. Kronik pelvik ağrının ampirik medikal tedavisinde ilk seçenektir (102). Selekoksib, indometazin, naproksen, sulindak, rofekoksib ve ibuprofen ile yapılan bir çalışma; bu ajanların sadece ağrıyı kontrol etmediklerini, aynı zamanda endometriotik odakların büyümesini de inhibe ettiklerini bildirmiştir. Fakat bu etkileriyle ilgili insan çalışması yoktur (103).

2.1.11. Yeni Medikal Tedavi Rejimleri

Antiprogestajenler: Östrojenin endometrium üzerindeki etkisini, preovulatar LH pikini ve ovulasyonu inhibe ederler. Oligomenore ve amenoreye neden olurlar. Endometrial implantlarda küçülmeye ve ağrıya azalmaya yol açarlar (104).

Mifepriston (RU-486), progesteron reseptör-A antagonistidir. Medikal abortus, endometriozis, uterin myoma, steroid bağımlı tümörlerde (meme, over, prostat ca) ve ayrıca glukokortikoid II reseptör antagonisti etkisinden dolayı da nöropsikiyatrik hastalıklarda (majör depresyon, anksiyete bozuklukları, Alzheimer hastalığı) kullanılabilir (105).

Ratlarda endometriozis modeli oluşturularak yapılan bir çalışmada, ZK136799 ve pür progesteron reseptör antagonisti olan onapriston (ZK 98299) ile, endometriotik odaklarda, %40-60 regresyon sağlandığı gösterilmiştir (106).

Selektif Progesteron Reseptör Modülatörleri: Asoprisnil (J867) selektif steroid reseptör modülatörüdür. Yüksek derecede doku ve reseptör selektivitesi vardır. Progesteron reseptörlerine yüksek afinite ile, glukokortikoid reseptörlerine orta dereceli afinite ile, androjen reseptörlerine de düşük afinite ile bağlanır. Östrojen ve mineralokortikoid reseptörlerine bağlanmaz. Progesteron reseptörleri üzerinde; doza, dokuya ve ortamdaki progesteron varlığına bağlı olarak agonistik veya antagonistik etkileri vardır. Östrojenin yararlı sistemik etkilerini değiştirmeden endometrial proliferasyonun supresyonuna ve endometrial damarları direkt etkileyerek, amenoreye neden olurlar. Ötopik ve ektopik endometriumdan salınan sitokinleri (özellikle PG-F2 alfa ve COX-2) azaltarak, dismenorede de faydalı olurlar (107).

Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri (SERM): Ortamdaki östrojen konsantrasyonuna bağlı olarak, östrojen reseptörleri üzerinde agonistik veya antagonistik etkileri olabilen ajanlardır (108).

Genistein, nonsteroidal fitoestrojendir. Bitkisel östrojenler, isoflavonlar ve lignanlar olarak ikiye ayrılır. Genistein, en potent isoflavondur ve östrojen reseptör beta agonistidir. Yani, doğal bir selektif östrojen reseptör modülatörüdür. Östrojenin yoğun bulunduğu ortamlarda antagonist olarak görev yapar. Aynı zamanda genistein, selüler glukoz hemostazı ve kan

lipid regülasyonunda görev alan peroxisome proliferatör activated reseptörlerinden PPAR-alfa'yı da aktive eder. Kardioprotektiftir ve lipid profili üzerine olumlu etkileri vardır(109).

Raloksifen, non-steroidal bir SERM'dir. Postmenapozal osteoporoz tedavisinde kullanılmaktadır. Östrojen reseptör alfaya olan afinitesi östrojen reseptör betadan daha fazladır.

Rat endometriozis modelinde, genistein ve raloksifen verilerek yapılan deneysel bir çalışmada, her iki ilaçla da endometrial odaklarda küçülme tespit edilmiştir (110).

Östrojen Reseptör Beta Agonistleri: Östrojen reseptör beta agonisti olan ERB-041'in, deneysel endometriozis modelinde, endometriozis odaklarını komplet remisyona uğrattığı bildirilmiştir (111).

GnRH Antagonistleri: GnRH agonistlerine avantajları; daha kısa sürede etki elde edilmesi, 'flare' etkisinin olmaması ve hasta adaptasyonunun daha iyi olmasıdır (112).

Aromataz İnhibitörleri: Aromataz, androjenlerden östrojen sentezinde hız kısıtlayıcı enzimdir. Ektopik endometrium dokusunun, ötopik endometriuma göre daha fazla aromataz aktivitesi içerdiği bilinmektedir. Artmış aromataz aktivitesi nedeniyle endometriozis odağında, östron ve östradiol artar. Bu nedenle aromataz inhibitörleri ile lokal olarak östrojenin azaltılması tedavide faydalı olabilir.

Letrozol ve anastrozol, triazol derivativesidirler. Reverzibl ve kompetitif olarak aromatazı inhibe ederler. Eksemestan ise irreverzibl inhibitördür. Diğer aromataz inhibitörleri: fadrazol ve YM511'dir.

Aromataz inhibitörleri ile tedavi negatif feed back ile FSH'nın artmasına ve ovulasyon indüksiyonuna yol açabilir. Bu etkiden reproduktif tıpta faydalanılabilir. Ancak aromataz inhibitörlerinin, teratojenik etkileri tam açıklığa kavuşmamıştır. Organogenez döneminde maruz kalındığında, intrauterin mortaliteyi ve fetal malformasyonları arttırdığı bildirilmiştir (113).

Vaginal yolla anastrozol verilen 10 rektovaginal endometriozisli hastada, dismenorede, fiziksel ve sosyal fonksiyonlarda düzelme saptanmış, ancak bu çalışmada hastalarda, kronik pelvik ağrı ve dispareniye düzelme olmamıştır (114).

COX-2 inhibitörleri: COX-1 ve COX-2, araşidonik asitten prostaglandin sentezini başlatır. COX-1 tüm dokularda her zaman bulunurken; COX-2, biyolojik stümlasyonlara ve bazı onkogenlerin aktivasyonuna (v-Ha-ras, HER-2/neu, wnt) yanıt olarak yapılır. Birçok kanserde anormal COX-2 ekspresyonu gösterilmiştir. COX-2; endometriozisli hastaların ötopik endometriumlarında, endometriotik lezyonlarında ve adenomyoziste de tanımlanmıştır. COX-2 inhibitörleri ile prostaglandinler ve dolaylı olarak da aromataz inhibisyonu olur. COX-2 inhibitörleri; selekoksib, rofekoksib, valdekoksib'tir ve tümör modellerinde anjiogenez inhibitörleri olarak tanımlanmışlardır. Rofekoksib ile yapılan bir çalışmada, endometriozis odaklarını geriletği bildirilmiştir ancak kardiyovasküler sistem morbidite ve mortalite nedeniyle bu ilaç kaldırılmıştır (115,116).

TNF-alfa inhibitörleri: TNF alfa; hücre büyümesi, farklılaşması ve endometrial fizyolojide önemli role sahiptir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında IL-6, IL-8 ve TNF alfa artmış olarak bulunmuştur. TNF alfa, makrofajlardan salınır ve potent antiinflamatuvar, anjiogenik ve sitotoksik özellikleri vardır. TNF alfa, IL-8'i regüle ederek anjiogenezi stimüle eder. TNF alfa, hücre kültüründe endometrial hücre proliferasyonunu artırır ve stromal hücreler ile mezotel hücrelerinin adezyonunu sağlar. TNF alfa ayrıca, matriks metalloproteinaz ekspresyonunu artırır. TNF alfa etkisini bloke etmek için kullanılan ajanlar; TNF alfa monoklonal antikoları, infliksimab, TNF alfa reseptör immünglobulin füzyon protein ve etanerkept'tir. Etanerkept ve infliksimab, romatoid artrit için US Food and Drug Administration (FDA) onayı olan ilaçlardır. Etanerkept'in yan etkileri başağrısı, enjeksiyon yerinde reaksiyon, allerjik reaksiyonlar ve tüberküloz reaktivasyonudur. TNF alfa inhibisyonunun, endometriozisde faydalı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ancak TNF alfa inhibitörü kullanıldığı bildirilen bir olgu sunumunda, endometrial implantlarda gerileme sağlamadıkları, ancak TNF alfa'nın sperm üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı, TNF alfa inhibitörlerinin invitro fertilizasyon öncesi kullanılabileceği bildirilmiştir (117). Babonlarda yapılan bir çalışmada ise etanerkept'in endometriozis implantlarını geriletği bildirilmiştir (118).

İmmünmodülatörler: Leflunomid, makrofaj aktivitesini engelleyerek TNF-alfa'yı azaltıcı etkisi de olan bir immünmodülatördür. Ratlarda endometriozis modelinde, endometriozis odaklarını geriletği gösterilmiştir (119).

Anjiogenezis inhibitörleri: Endometriozis implantasyon teorisine göre endometriumun peritoneal implantasyonu için anjiogenezis gereklidir. Bu nedenle anjiogenezisi inhibe

eden çok sayıda faktör üzerinde çalışılmıştır (120). Endometriozis patogenezi ile ilgili ve peritoneal sıvıda arttığı gösterilmiş sitokinlerin birçoğunun anjiogenik faktörler ile ilgisi gösterilmiştir. IL-1 beta; VEGF ve IL-6 ekspresyonu, endometrial stromal hücrelerden proanjiogenik olan IL-8 gen ekspresyonunu artırır. IL-6, IL-8 ve TNF alfa, nötrofil ve makrofajlardan VEGF ekspresyonunu stimüle eder. Monosit ve makrofajlar, endometriozis patogenezinde önemli rol oynarlar ve sitokin RANTES tarafından kontrol edilirler. RANTES, endometrial stromal hücrelerden IL-1 beta, interferon gama ve TNF alfa stimülasyonu altında salınır. PPAR gama ligandları; RANTES transkripsiyonu ve translasyonunu azaltır. Ayrıca PPAR gama ligandlarının, endometrial hücreler üzerine direkt etkisi de vardır. Örneğin apoptozise neden olur ve VEGF reseptör down regülasyonunu regüle eder. Endogen anjiogenez inhibitörleri; endostatin, anjiostatin ve anjineks'tir. TNP-470 ve kaplostatin de sentetik anjiogenez inhibitörleridir.

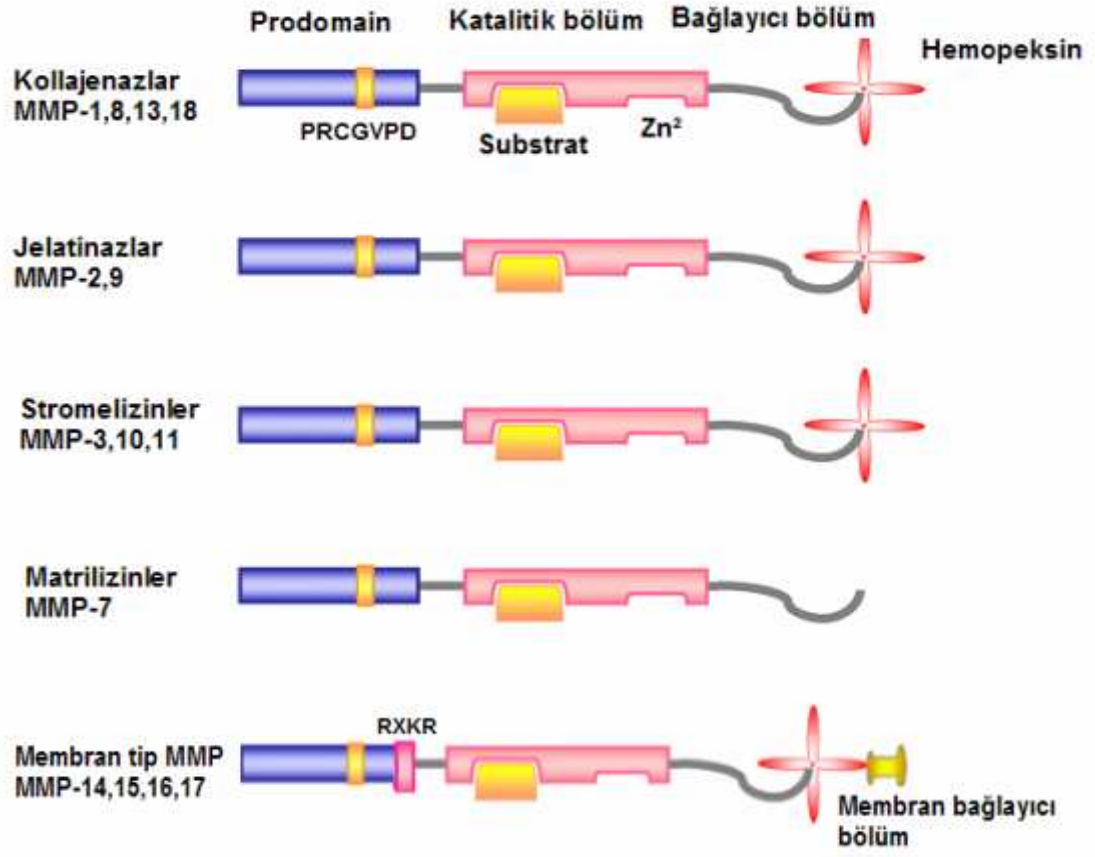
VEGF; makrofaj, nötrofil ve endometriozis lezyonları tarafından eksprese edilir. Ekspresyonu; IL-1, IL-6, östrojen, progesteron, hipoksi ve PGE2 tarafından kontrol edilir. Östrojen ve prostoglandin yapımları ile ilgili olan aromataz ve COX-2 enzimleri de dolaylı olarak VEGF ile ilişkilidirler. VEGF, COX-2'yi pozitif feedback yoluyla stimüle eder. Endometriozisde peritoneal sıvıda ve endometriotik lezyonlarda VEGF anlamlı olarak artmış bulunmuştur. VEGF inhibisyonu için kullanılan ajanlar anti VEGF antikoru, soluble truncated reseptör (sFlt-1), SU5416, SU6668, rapamisin, rosiglitazon (PPAR gama agonisti) ve spesifik COX-2 inhibitörleridir (121).

Üzerinde çalışma yapılan ajanlar: İnterferon alfa 2-b, pentoksifilin, tiazolidinler (PPAR agonistleri), gosipol, HCG, metotreksat, retinoidler, sulindak, melatonin, xiaochaihu decoction (XCHD), quyu jiedu recipe (QJR), tanaporget (122-133).

2.1.11.1. Matriks metalloproteinazlar ve inhibitörleri

Matriks metalloproteinazlar (MMP), çinko bağımlı peptidaz ailesindedir. Zimojenler (pro-MMPs) olarak eksprese edilirler. Daha sonra ya hücreden ekstraselüler aralığa salınır ya da hücre membranında yerleşirler. Endopeptidazlar, ekstraselüler matrikste anahtar regülatör görevi yaparlar. MMP'ler tüm ekstraselüler matriks (ECM) tiplerini yıkabilir ve ECM tiplerine göre sınıflandırılabilirler.

SUBGRUP



Şekil-3 MMP'lerin şematik olarak kimyasal yapısı

Tablo-3 MMP sınıflandırması ve substratlar

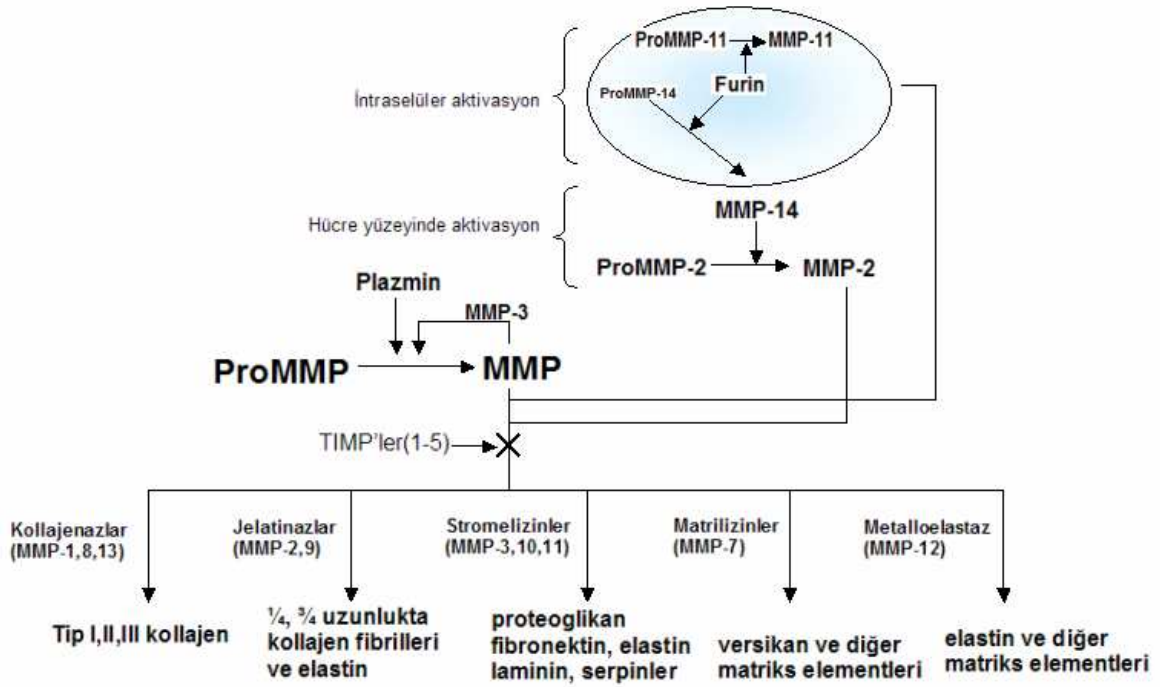
MMP sınıflaması	MMP tipleri	Yaygın isimlendirme	Potansiyel substratlar
Matrilizinler	MMP-7	Matrilizin	Jelatin, fibronektin, laminin, kollajen-IV, vitronektin, tenaskin-C, elastin, agrekan
	MMP-26		Jelatin, kollajen-IV, fibronektin, fibrinojen
Kollajenazlar	MMP-1	İnterstisyel kollajenaz	Kollajen I, II, III, VII ve X, jelatin, entaktin, agrekan
	MMP-8	Nötrofil kollajenaz	Kollajen I, II, III, agrekan
	MMP-13	Kollajenaz-3	Kollajen I, II, III, jelatin, fibronektin, laminin, tenaskin
Stromelizinler	MMP-3	Stromelizin-1	Jelatin, fibronektin, laminin, kollajen III, IV, IX ve X, tenaskin-C, vitronektin
	MMP-10	Stromelizin-2	Kollajen IV, fibronektin, agrekan
	MMP-11	Stromelizin-3	Fibronektin, jelatin, laminin, kollajen IV, agrekan
Jelatinazlar	MMP-2	Jelatinaz A	Jelatin, kollajen I, IV, V, VII ve X, fibronektin, laminin, agrekan, tenaskin-C, vitronektin
	MMP-9	Jelatinaz B	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, agrekan, elastin, entaktin, vitronektin
Membran-tip MMP'ler	MMP-14	MT1-MMP	Kollajen I, II ve III, fibronektin, laminin, vitronektin, proteoglikan, proMMP-2, proMMP-13
	MMP-15	MT2-MMP	proMMP-2, laminin, fibronektin
	MMP-16	MT3-MMP	proMMP-2
	MMP-17	MT4-MMP	Jelatin
	MMP-24	MT5-MMP	proMMP-2
	MMP-25	MT6-MMP	Jelatin, kollajen IV, fibrin, fibronektin
Diğerleri	MMP-12	Metalloelastaz	Elastin
	MMP-20	Enamelisin	Agrekan
	MMP-19	-	Jelatin, tenaskin, fibronektin, kollajen IV, laminin, entaktin, agrekan
	MMP-27	-	?
	MMP-28	Epilizin	?
	MMP-23	-	?

Doku inhibitörleri olan ‘tissue inhibitors of metalloproteinase’ (TIMP)’ler ile matriks metalloproteinazlar arasındaki denge; anjiogenezis ve gebelik sırasındaki uterin ve sistemik vazodilatasyon ile ilişkilidir. Bu dengenin bozulması, birçok vasküler hastalıkta (abdominal aort anevrizması, variköz venler, hipertansiyon, preeklampsi), tümör progresyonu, fibrozis, kronik inflamasyon ve doku hasarında anahtar rol oynar (134). Matriks metalloproteinazlar, kronik kardiyovasküler hastalıklar (kalp yetmezliği, ateroskleroz, anevrizmalar) ve akut kardiak olaylar (iskemi-reperfüzyon hasarı gibi) ile de ilişkilidir. Ayrıca platelet agregasyonu, inflamatuvar cevabın modülasyonu ve vasküler tonusun kontrolü ile ilişkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur (135).

MMP’lerin önemli regülatuar rolünden dolayı aktiviteleri sıkı bir şekilde kontrol edilmelidir. MMP aktivitesi; alfa-2 makroglobulin, trombospondin-1 ve 2, reversion-inducing cysteine-rich protein, RECK olarak bilinen bir hücre yüzey proteini, IL-4, indometazin, kortikosteroidler, PPAR gama agonisti ve şimdiye kadar 5 tipi tarif edilen TIMP’ler tarafından kontrol edilir. TIMP’ler, düz kas hücreleri ve makrofajlar tarafından salınır. Aktiviteleri; PDGF ve TGF beta tarafından artırılır, farklı interlökinler tarafından da artırılır veya azaltılır.

MMP ekspresyonu ise bir grup sitokinler (IL-1, IL-6, TNF-alfa), büyüme faktörleri, aktive onkogenler ve fiziksel hücrel etkileşimler, ‘ekstraselüler matriks metalloproteinaz indükleyicisi’ (EMMPRIN)’ler tarafından artırılır.

MMP aktivitesi, 3 düzeyde kontrol edilir: gen transkripsiyonu, posttranlasyonel zimojen enzim aktivasyonu ve salgılanan MMP doku inhibitörleri ile etkileşim. MMP transkripsiyonu, normal doku veya tümör hücreleri tarafından salınan büyüme faktörleri tarafından regüle ediliyor olabilir. MMP aktivasyonu kontrolü, hücre dışına salınmadan önce serin proteazlar yoluyla olabildiği gibi, hücre dışında “cysteine switch” mekanizması yoluyla da olabilir.



Şekil-4 MMP'lerin aktivasyon mekanizmaları

MMP'lerin başlıca fonksiyonu, birçok fizyolojik olayda ve embriyolojik maturasyonda, ECM yıkımıdır. Ayrıca non-ECM substratlar üzerindeki etkisi ile birçok biyolojik olayda regülatuar rol oynarlar. Örneğin; insulin-like growth factor binding protein (IGF-BP)'nin yıkımı, IGF salınımını sağlar; Dekorin proteolizisi, TGF beta'yı regüle eder; hyaluran reseptörü CD44 ve E-cadherin yıkımı, hücrelerin invaziv davranışına izin verir; α v ve β 4-integrin zincirlerinin ve ICAM-1'in yıkımı, TNF alfa ve hücre yüzeyinden Fas ligand (FasL) salınımına neden olur. Bunlar da apoptozise neden olurlar. MMP'ler, nötrofil kemotraktanı IL-8 ve monosit kemotraktanı IL-3 (MCP-3) yıkımına neden olarak nötrofil infiltrasyonunu da artırıp azaltabilirler. MMP'ler ayrıca; IL-1 beta, interferon beta, VEGF, epidermal growth faktör, transforming growth faktör beta ve tümör nekrozis faktör'ün aktivasyonu ve inhibisyonu ve kemokin reseptörlerinin ekspresyonunun regülasyonu ile inflamasyonu kontrol ederler. Tümör gelişiminin başından itibaren; invazyon, anjiogenez, büyüme ve metastaz gibi bütün aşamalarında etkilidir. MMPlerin, bazı büyüme faktörleri prekürsörlerinin hücre membranından salınımı, proliferasyon sinyallerinin integrinler aracılığı ile kontrolü, antiapoptotik etki ve yeni damar oluşumu, (bu etkisi basitçe ECM yıkımıyla ilgili olduğu gibi, MMP'lerin pro-anjiogenik faktörlerin yapımına neden olması ile de ilişkilidir) yanında ilginç olarak antianjiogenik etkileri de vardır. Plazminojen ve

bazal membran kollageni, tip 18 kollagenin yıkımına ve anjiogenezi inhibe eden endostatin ve anjiostatinlerin yapımına neden olurlar.

MMP'lerin çoğu, dinlenme halindeki dokulardan ya çok düşük miktarlarda yapılır ya da hiç yapılmaz. MMP'ler normal dokular ile kıyaslandığında bir çok tümörden daha fazla eksprese edilir ve spesifik kanserlerde hastalığın progresyonu ve tedavisinin takibinde faydalı olabilir. Ayrıca MMP'ler ile ilgili yapılan araştırmalar, spesifik kanserlere karşı geliştirilen tedavi stratejilerinde de yol gösterici olabilir.

Bazı MMP seviyeleri, kötü prognoz için güçlü korelasyon gösterirken iyi klinik sonuçlar ve tedaviye yanıtın göstergesi oldukları durumlar da vardır. Örneğin; MMP-2 ile Hodgkin lenfoma ve MMP-2 ile kemik iliği blast hücreleri arasındaki ilişki gibi (136).

Anjiogenez; vasküler bazal membran yıkımı, ekstraselüler matriks yıkımı ve endotel hücre migrasyonunu gerektiren bir olaydır. ECM yıkımı, endotelden anjiogenik faktörlerin salınımına neden olur. Endotel hücrelerinden salınan anjiogenik growth faktörler (fibroblast growth faktör, TGF-alfa, TGF-beta, TNF-alfa ve VEGF) parakrin ve otokrin etkiler ile anjiogenezise yol açarlar. Anjiogenez, doku revaskülarizasyonunda, endometriozis ve kanser patogenezinde rol alır. MMP'lerden, MMP-12, MMP-7 ve MMP-9'un endojen anjiogenez inhibitörleri üzerinden antianjiogenik etkileri olduğu da bildirilmiştir (137).

MMPlerin etki spektrumunun bu kadar geniş olması ve birçok patofizyolojik olayda rol alması nedeni ile MMP inhibitörleri ile yapılmış çok sayıda çalışma vardır. MMP inhibisyonu yapan bazı bileşikler; Squalamine:(AE-941,U-995), genistein, nobiletin, mirisetin, curcumin, xanthorhizzol, catechins, theaflavin, resveratrol, BB-94 (Batimastat), doksisiklin, Ro-28-2653 ve GM6001'dir.

2.1.11.2. Doksisiklin

Doksisiklin, potent ve uzun etkili bir tetrasiklin grubu antimikrobiale ajandır. Bakteri ribozomlarının, 30S alt ünitesine bağlanıp, aminoasid t-RNA'nın bağlanmasını bloke ederek protein sentezini inhibe eder. Bakteriyostatik etkilidir. Son yıllarda antimikrobiale

Doksisiklinin ayrıca, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar da vardır (139). Ancak bu etkilerinin matriks metalloproteinaz inhibisyonu yapması ile ilgili olup olmadığı açık değildir. Matriks metalloproteinazlar, hücre-matriks ve hücre-hücre adezyonunu; integrinler, diskoidin domain reseptörü ve kaderin adezyon molekülleri aracılığı ile modüle eder. Bu nedenle MMP'lerin doksisiklin tarafından inhibisyonu, birçok vasküler hastalığın patogenezinde önemli olan hücre adezyonu, proliferasyonu ve migrasyonunu önleyebilir (140).

Doksisiklinin, antianjiogenik etkisinin, MMP'leri inhibe edici etkisine bağlı olup olmadığı açık değildir. Ratlarda yapılan bir çalışmada lokal olarak verilen doksisiklinin korneal neovaskülarizasyonu azalttığı saptanmıştır (141).

Doksisiklinin ayrıca, moleküler strese yanıt olarak aktive olan inflamatuvar sitokinlerin transkriptlerini (IL-1 alfa, IL-1 beta, TNF alfa RNA transkriptleri) ve mitogen-activated protein kinase (MAPK) sinyal yolağını suprese ettiği de gösterilmiştir (142).

Neonatal serebral hipoksi-iskemi modeli oluşturulmuş bir deneysel hayvan çalışmasında, doksisiklinin hipoperfüzyon ve iskemi sonrasında beyinde artan aminoasit nörotransmitterleri azalttığı belirtilmiştir. Nöroinflamasyon ve patolojik apoptozis ile ilgili nörotransmitterlerin doksisiklinin etkisiyle azalması, beyin dokusunda, iskemiye bağlı değişiklikleri önleyebilir (143).

Doksisiklinin, pro-apoptotik etkisi ile ilgili çalışmalar da mevcuttur. İnsan kolon kanser hücreleri ile yapılan bir çalışmanın verilerine göre doksisiklin, mitokondri bağımlı apoptozisi indükler (144). Doksisiklinin apoptozisi artırma mekanizması açık değildir. İnsan pankreatik hücre kültürü ile yapılan bir çalışmada, doksisiklinin kaspaz (cysteinyll aspartate specific proteinaz) bağımlı apoptozisi uyardığı, ayrıca p38MAPK yolak üyelerinin fosforilasyonunu ve Bax protein seviyesini artırdığı belirtilmiştir (145). Ayrıca MMP'lerin kanser gelişimi ve metastazının patogenezindeki rolüne dayanılarak, MMP inhibitörleri ile ilgili, gelecekteki kanser tedavisine ışık tutabilecek çalışmalar da vardır(146).

Doksisiklinin kemik yıkımını durdurucu etkisi de vardır. Bu etki, doksisiklin tarafından osteoklast formasyonunun inhibisyonu ve osteoklast apoptozisinin indüklenmesine bağlıdır(147).

Tetrasiklin tedavisi ile başarılı sonuçlar alınan bazı deri hastalıkları ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Subkutanöz nodüler sarkoidoz (148), püririgo pigmentoza (149), retiküler papillomatozis (150), pyoderma gangrenozum, büllöz dermatozlar, kaposi sarkomu (151) gibi. Ayrıca; romatoid artrit, skleroderma ve Sjögren sendromu gibi otoimmün hastalıklar (152) ve kronik nörodejeneratif hastalıklar (Huntington hastalığı (153), amyotrofik lateral skleroz (154) gibi), abdominal aort anevrizması (155), akut myokard infarktüsünde (156) kullanımı ile ilgili çalışmalar da mevcuttur.

Doksisiklinin yan etkileri; gastrointestinal sistem yan etkileri, black tiroid, fototoksik erüpsiyon (157), deri, diş ve tırnak diskolorasyonları (158), nadiren Steven-johnson sendromu (159), kutanöz pigmentasyon (160), baş dönmesi, uyuşukluk, nadiren intrakranial basınç artışı ve amnezidir (161).

2.3. Hipotez

Birçok patofizyolojik olayda geniş etki profili olan MMP'lerin; endometriozisde, endometrial dokunun peritona implante olması aşamasında ve anjiogenezde etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, nonspesifik bir MMP inhibitörü olan, aynı zamanda antianjiogenik ve pro-apoptotik etkileri de bildirilmiş olan doksisiklin, endometriozisin erken aşamalarında etkili olabilir ve endometriozisin oluşumunu engelleyebilir. İnsanlarda da kullanımı mevcut olan doksisiklin, endometriozisde medikal tedavi için bir seçenek olabilir.

2.4. Amaç

Endometriozisin oluşum aşamasında, endometrial dokunun, peritona implantasyonu ve anjiogenezin başlaması ile ilgili moleküler çalışmalardan yola çıkılarak planlanan bu deneysel çalışmanın amacı; rat modelinde endometriozis oluşturup, konvansiyonel medikal tedavi olan GnRH analogu ile doksisiklinin, peritoneal endometriyal implantlar üzerindeki etkilerini saptamak ve karşılaştırmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Araştırma Yeri ve Ortamı

Bu çalışma, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 40 adet wistar-albino dişi rat kullanılarak Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi araştırma merkezinde yapıldı. Hayvanlar çalışmaya başlamadan 1 hafta önce araştırma merkezine getirilerek, 22 °C sabit sıcaklıkta, 12 saat gündüz 12 saat gece ortamında tutularak ve standart rat yemi verilerek deneye hazırlandı. Deneyde kullanılacak hayvanlar, 12 saat önce aç bırakılarak sadece su içmelerine izin verildi.

3.2. Araştırma Tipi

Deneysel müdahale; deneysel çalışma protokolü Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Kurulu tarafından, etik ve bilimsel yönden onaylandıktan sonra, National Institute of Health 'Guide for the care and Use of Laboratory Animals' kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Deneyde kullanılan ratlar, Başkent Üniversitesi Araştırma Merkezine bağlı hayvan üreme çiftliğinden temin edildi.

3.3. Anestezi

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

3.4. Araştırma Grupları

Deneysel çalışma, daha önce Başkent Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yapılan bir tez çalışmasında tarif edilen hayvan modeline uygun olarak (110)

planlandı. Ratlarda laparotomi ile endometrial implantlar oluşturuldu. 3 haftalık bekleme süresi sonrasında kontrol laparotomilerinde endometrial implant odaklarının başarılı biçimde olduğu tespit edildi ve deneysel çalışma, randomize seçilen 4 grup üzerinde yapıldı.

Grup I: Doksisisiklin, 5 mg/kg/gün (peroral, 21 gün)

Grup II: Doksisisiklin, 40 mg/kg/gün (peroral, 21 gün)

Grup III: GnRH analogu grubu (Löprolid asetat, 1mg/kg, subcutan, tek doz)

Grup IV: Kontrol grubu

3.5. Araştırma Parametreleri ve Yöntemi

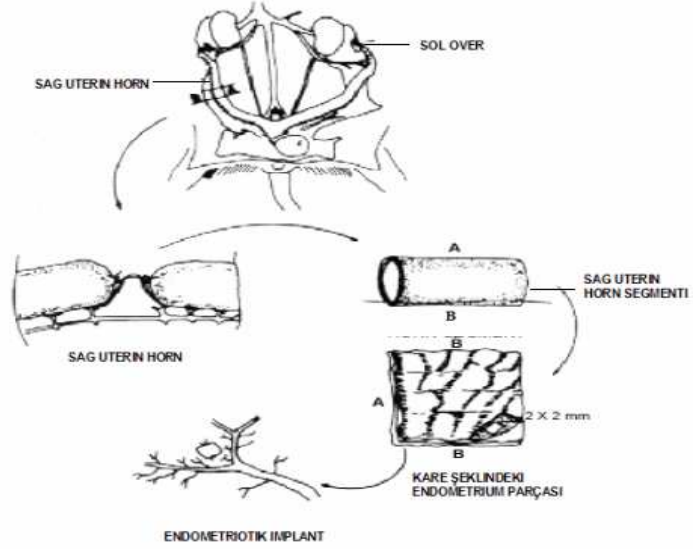
3.5.1. Laparotomi Modeli

Araştırma için işlemler 3 aşamada yapıldı:

1. aşama: Araştırmaya 40 adet rat ile başlandı. Ratların tamamına ilk işlem sırasında %10 povidone iodin solüsyonu kullanılarak cilt antisepsisi sağlandı. Bütün ratlarda, 50 mg/kg ketamin HCL ve 5-7 mg/kg xylazin HCL aseptik şartlarda intraperitoneal verilerek anestezi sağlandı.

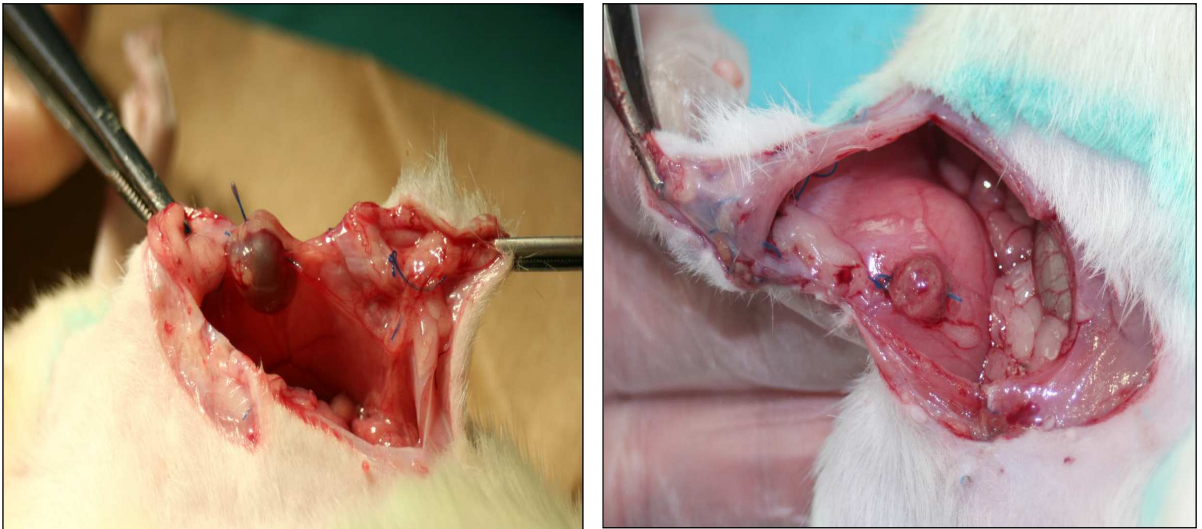
Laparotomi ile 5 cm alt orta hat insizyonu yapıldıktan sonra uterin horn, uterotubal junction ve servikal bölge arasında tutulup kesilerek (Şekil-6) uzaklaştırıldı. Alınan dokudan endometrium diseke edilerek salin solüsyona yerleştirildi.

Takiben batı ön duvarı peritonuna vaskülarizasyonun yoğun gözlendiği alanlara endometrial doku (ortalama 30 mm²), 5/0 prolén sütür ile tutturuldu. Batın ön duvarı ve cilt sırasıyla vicryl 3/0, prolén 4/0 kullanılarak kapatıldı. Tüm operasyonlar standart şekilde tek bir araştırmacı tarafından uygulandı.



Şekil-6 Ratlarda endometriozis modeli

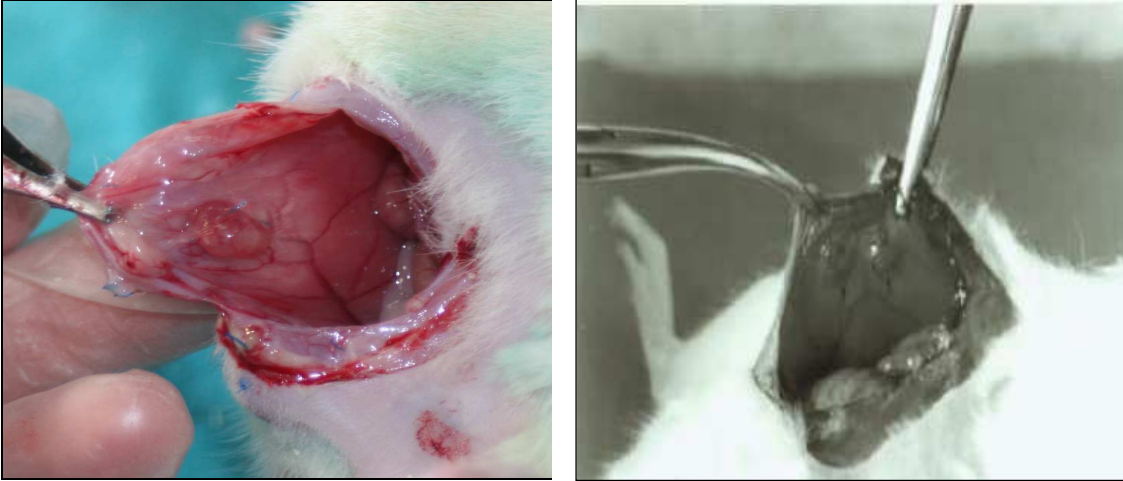
2. aşama: Tüm ratlar, 3 hafta boyunca sadece günlük besinlerini alacak şekilde ek bir ilaç verilmeden takip edildi. 3 haftalık takip süresi sonrası bütün ratlara endometrial implantların durumlarını gözlemek ve implantlarının alanlarının ölçümlerini yapmak üzere 2. laparotomi işlemi aynı yöntemler ile uygulandı. İşlem sırasında endometrial implantların başarı ile oluştuğu gözlemlendi (Resim 2). Odakların çapları metrik cetvel ile ölçülerek alanları mm^2 cinsinden tek tek not edildi. Peritoneal kaviteye 2 cc serum fizyolojik (SF) verildikten sonra geri çekilerek, tedavi öncesi peritoneal sıvı örnekleri elde edildi.



Resim-2 Tedavi öncesi endometrial implantlar

3. aşama: Ölçüm işlemleri sonrası ratların batinları, aynı şekilde kapatılarak 3 günlük dinlenme süresi verildi. Bu işlemler sırasında ve sonrasında ratlarda eksitus olmadı. Dinlenme süresinin ardından toplam 40 rat, randomize olarak 4 eşit gruba ayrıldı (Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV) ve ayrı kafeslere alındı. 21 gün boyunca grup IV, sadece günlük su ve yemleri ile beslenirken; grup I'e ek olarak, 5 mg/kg doksisisiklin ve grup II'ye ek olarak, 40 mg/kg doksisisiklin, içme suyunda verildi. grup III'e ise 1 mg/kg subcutan, tek doz olacak şekilde löprolid asetat verildi. 3 haftalık takip sırasında, grup II'den 2 rat bilinmeyen bir nedenle eksitus oldu.

3 hafta sonunda, 3. laparotomi işlemi yapıldı. İşlem sırasında, endometriotik odakların çapları tek tek ölçülerek not edildi ve tekrar peritoneal kaviteye 2 cc SF verildikten sonra geri çekilerek tedavi sonrası olan peritoneal sıvı örnekleri elde edildi. Takiben endometrial implantlar eksize edildi (Resim-3).



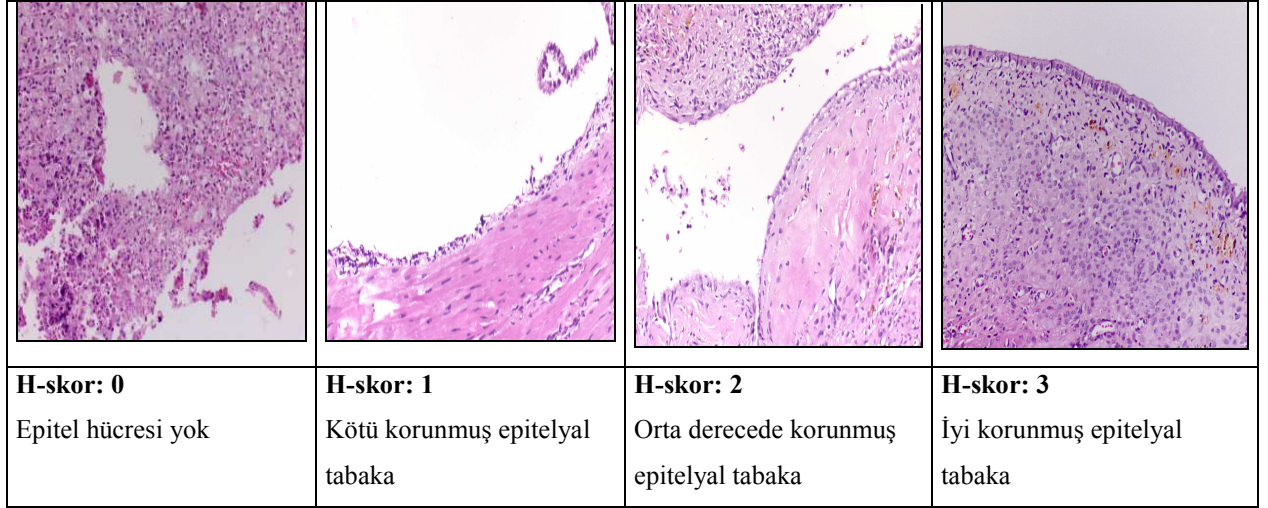
Resim-3 Tedavi sonrası endometrial implantlar

3.5.2. Histopatolojik Değerlendirme

Eksize edilen endometrial implantlar, histopatolojik inceleme yapılmak üzere %10 formalin solüsyonu ile tespit edildi. Formalin ile tespit edilmiş endometriotik odaklardan yaklaşık 5 mikrometre kalınlıkta olan kesitler alındı (her örnekten 4 kesit). Örnekler, hematoxilen-eozin ile boyanarak ışık mikroskopisi altında incelendi. İncelemede endometriozis dokusunun, endometrial tabakasının devamlılığı gözönünde bulundurularak histopatolojik skorlama yapıldı.

Tablo-4 Histopatolojik skorlama

Skor 3	İyi korunmuş epitelyal tabaka
Skor 2	Orta derecede korunmuş epitelyal tabaka (lökosit infiltrasyonlu epitel)
Skor 1	Kötü korunmuş epitelyal tabaka (seyrek epitel hücresi)
Skor 0	Epitel hücresi yok



Şekil-7 Histopatolojik skorlama

Bu skorlama sistemi ve değerlendirme önceki endometriozis çalışmaları temel alınarak yapıldı (110).

3.5.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Grup I, II ve IV'e; histopatolojik değerlendirmeye ek olarak, MMP-2 (catalog no:MAB3309) ve MMP-9 (catalog no:MAB3308) monoklonal antikoları kullanılarak (Chemicon, Mouse anti-MMP2 ve MMP9 monoklonal antikoları) immünohistokimyasal boyama işlemi uygulandı.

İmmünohistokimyasal boyama için, parafin bloklardan kesilen 3 mikron kalınlıktaki kesitler deparafinize edildikten sonra citrat buffer'da 20 dakika kaynatılıp, 20 dakika oda ısısında soğutuldu. 15 dakika H₂O₂'de bekletilip, 1000 mikrolitre dilüe edilen fosfat tamponlu sitrat (PBS) ile yıkandı. Kesitlere zemindeki dokunun boyanmaması için, 5 dakika ultra V bloğu yapıldı. 2,5 saat boyunca, 5 mikrolitre dilüe edilen antikolar

damlatılarak bekletildi. 15'er dakika biotinlenmiş sığır anti-polyvalentte ve streptavidin peroksidazda tutulan kesitler arada PBS ile yıkandı. AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) kromojen damlatılan kesitler, distile su ile yıkanıp 10 saniye hematoksilende tutulduktan sonra çeşme suyunda tekrar yıkanarak, vision mount kapama jeliyle lameller lam üzerine kapatıldı.

Endometriozis dokusunun epitel ve stromasındaki MMP-2 ve MMP-9 boyanma yoğunluğu, semikantitatif olarak histolojik skor (HSCORE) ile değerlendirildi.

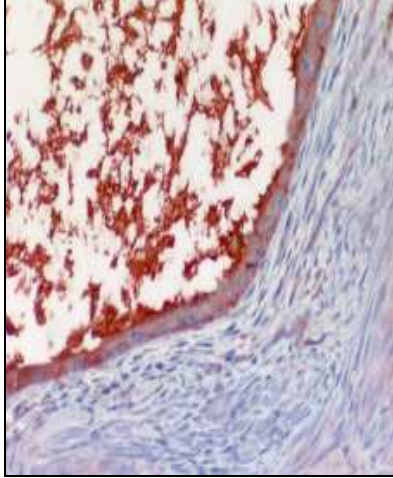
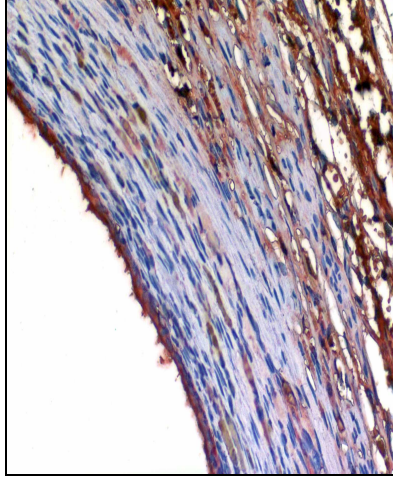
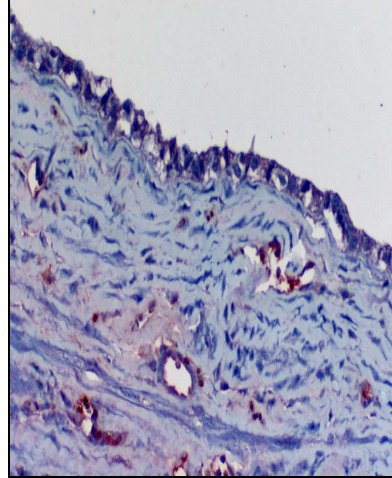
HSCORE= $\sum P_i (i+1)$:

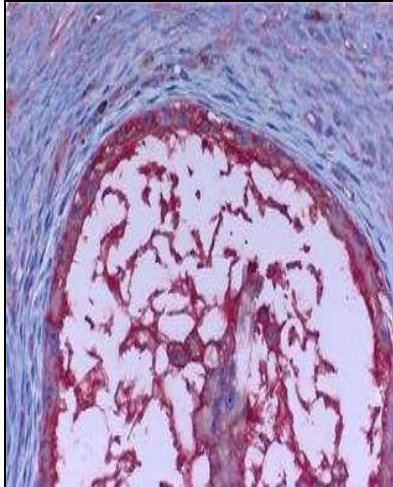
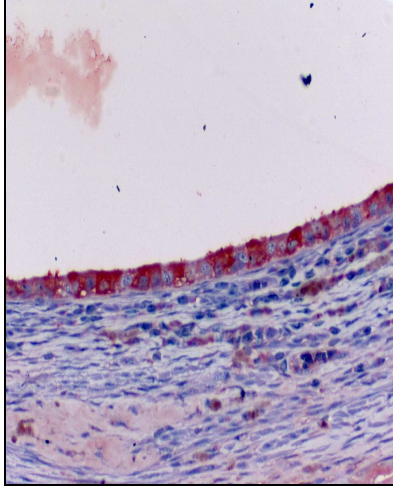
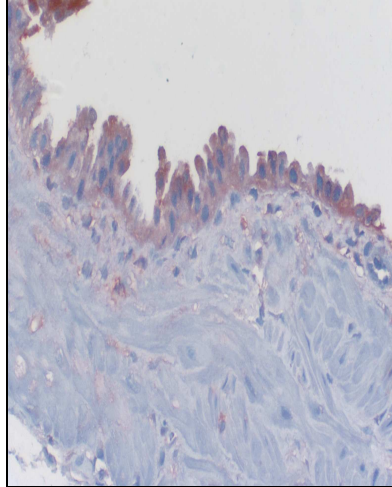
P_i : Her yoğunluk için boyanan yüzey epiteli, gland epiteli, stromal hücre yüzdesi

İ : Boyanma yoğunluğu (0: Boyanma yok 1: Hafif, 2:Orta, 3: Şiddetli)

HSCORE : 100-400 arasında değişmektedir. HSCORE:100 boyanma yok, HSCORE:400 ise kuvvetli boyanmadır.

Bütün preparatlar, ışık mikroskobu (Olympus BX-51, Japonya) ile değerlendirildi. Işık mikroskobu ile $\times 40$ büyütmede 5 farklı alan tarandı. Her alanda yüzey epiteli, gland epiteli ve stromal hücreler değerlendirildi. Her bir alanda elde edilen HSCORE değerlerinin ortalaması alındı (Şekil-8).

		
MMP9 epitel skoru 380 olan bir rat (kontrol grubu)	MMP9 epitel skoru 290 olan bir rat (düşük doz doksisisiklin grubu)	MMP9 epitel skoru 100 olan bir rat (yüksek doz doksisisiklin grubu)

		
MMP2 epitel skoru 390 olan bir rat (kontrol grubu)	MMP2 epitel skoru 240 olan bir rat (düşük doz doksisisiklin grubu)	MMP2 epitel skoru 120 olan bir rat (yüksek doz doksisisiklin grubu)

Şekil-8 İmmünohistokimyasal boyama preparatlarından bazı örnekler

3.6. İstatistiksel Analiz

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS for windows 13.0 programı ile yapıldı. Gruplar arası farklılıklar için 'Kruskal-Wallis' testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

Grup II'ye (yüksek doz doksisisiklin grubu) ait eksitus olan 2 rat dışında diğer ratlarda çalışma tamamlanabildi. Tedavi öncesinde tespit edilen peritoneal endometrial implantların yüzey alanları ve peritoneal sıvı interlökin-6 seviyeleri; tedavi sonrası değerler ile karşılaştırıldı. Tedavi sonrasında, endometriozis dokusunun hemotoksilen-eozin ile yapılan boyaması sonucu elde edilen skorlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Ayrıca, doksisisiklin ile tedavi edilen gruplar ve kontrol grubuna immünohistokimyasal yöntemle MMP boyaması yapılarak kendi aralarında karşılaştırıldı.

Yüzey alanı: Düşük doz doksisisiklin (grup I), yüksek doz doksisisiklin (grup II) ve GnRH analogu ile tedavi edilen (grup III) her 3 grupta da, kontrol grubuyla (grup IV) karşılaştırıldığında, endometrial implantların yüzey alanları anlamlı olarak küçülmüştü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında grup I için $p= 0.001$, grup II için $p= 0.006$, grup III için $p= 0.03$ olarak tespit edildi. Ayrıca her tedavi grubunda, peritoneal endometrial implantların ortalama yüzey alanlarında, tedavi öncesi ve sonrasında da anlamlı fark bulundu. Peritoneal endometrial implantların ortalama yüzey alanı, ilaçla tedaviden sonra; grup I'de 31.2 ± 19.4 'ten 9.5 ± 4.2 'ye ($p=0.006$); grup II'de 52.2 ± 46.9 'dan 13.6 ± 8.7 'ye ($p=0.045$); grup III'te 20.2 ± 12.1 'den 10.2 ± 5.9 'a ($p=0.008$) düşmüştü. Kontrol grubunda tedavi öncesi ve sonrasında beklendiği gibi istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.925$).

Tablo-5 Tüm gruplarda, tedavi öncesi ve sonrasındaki endometrial implantların ortalama yüzey alanlarına ait değerlerin karşılaştırılması

	Grup I (Doksisiklin 5 mg/kg/gün)	Grup II (Doksisiklin 40 mg/kg/gün)	Grup III (GnRH ago. 1 mg/kg, tek doz)	Grup IV (kontrol grubu)	P değeri
Endometrial implantların yüzey alanı * (tedavi öncesi)	31.2± 19.4	52.2±46.9	20.2±12.1	34±13.8	P>0.05
Endometrial implantların yüzey alanı * (tedavi sonrası)	9.5±4.2 (ab)	13.6±8.7(ab)	10.2±5.9(ab)	33.3±20.4	P<0.05
a İstatistiksel olarak kontrol grubuyla arasında fark var (P<0.05) b Aynı grubun tedavi öncesi değerleri ile arasında fark var (P<0.05) * mm ²					

Histopatolojik skorlama: GnRH agonisti verilen grupta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, histopatolojik skorlamada istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p=0.035). Fakat düşük ve yüksek doz doksisiklin verilen grupların histopatolojik skorlamasında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında herhangi bir fark gösterilemedi.

Tablo-6 Tüm gruplarda, tedavi sonrasındaki hemotoksilen-eozin ile yapılan histopatolojik skorlama

	Grup I (Doksisiklin 5 mg/kg/gün)	Grup II (Doksisiklin 40 mg/kg/gün)	Grup III (GnRH ago. 1 mg/kg ,tek doz)	Grup IV (kontrol grubu)
Histopatolojik (H) skor	2.8±0.35 (a)	2.6±0.74 (b)	0.9±0.6 (c)	2±1.3
a kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak fark yok (p=0.08) b kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak fark yok (p=0.23) c kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var (p=0.035)				

İnterlökin-6: Peritoneal sıvıdaki IL-6 seviyeleri değerlendirildiğinde; grup II (yüksek doz doksisiklin grubu) ve grup III'te (GnRH analogu grubu), tedavi öncesi ve sonrasındaki değerlerde, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Grup II'de peritoneal sıvı IL-6 seviyesi, tedavi öncesi değer olan 59.5±24.6'dan, tedavi sonrası değer olan 41±7.7'ye (p=0.036), grup III'te ise tedavi öncesi değer olan 48.3±19'dan, tedavi sonrası değer olan 25.2±13'e (p=0.05) düşmüştü. Grup II (yüksek doz doksisiklin grubu) ve grup III'ün

(GnRH analogu grubu) tedavi sonrası peritoneal sıvı IL-6 seviyelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da anlamlı fark tespit edildi (grup II için $p=0.0029$, grup III için $p=0.001$). Düşük doz doksisisiklin verilen grupta (Grup I), tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında herhangi bir fark tespit edilemedi. Kontrol grubunda tedavi öncesi ve sonrasında beklendiği gibi istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo-7 Tüm gruplarda tedavi öncesi ve sonrası ortalama peritoneal sıvı IL-6 seviyeleri

	Grup I (Doksisisiklin 5 mg/kg/gün)	Grup II (Doksisisiklin 40 mg/kg/gün)	Grup III (GnRH ago. 1 mg/kg, tek doz)	Grup IV (kontrol grubu)	P değeri
Peritoneal sıvı IL-6 seviyesi* (tedavi öncesi)	45.3±7.1	59.5±24.6	48.3±19	63.3±26.1	P>0.05
Peritoneal sıvı IL-6 seviyesi* (tedavi sonrası)	65.2±30.9	41±7.7(ab)	25.2±13(ab)	61.1±25.6	P<0.05
a İstatistiksel olarak kontrol grubuyla arasında fark var (P<0.05) b Aynı grubun tedavi öncesi değerleri ile arasında fark var (P<0.05) * pg/ml					

İmmünohistokimyasal boyama: Literatürdeki doksisisiklinin dokuda matriks metalloproteinazları azaltıcı etkisiyle ilgili çalışmalardan yola çıkarak düşük doz doksisisiklin ve yüksek doz doksisisiklin verilen gruplar ile kontrol grubunda immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak endometriozis dokusunun epitel ve stromasında matriks metalloproteinazlar değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyamanın sonucunda elde edilen MMP histolojik skorları gruplar arasında karşılaştırıldı. Değerlendirilen 4 doku tipinde de (Endometriotik dokunun epitelinde MMP-2 ve MMP-9 ile endometriotik dokunun stromasında MMP-2 ve MMP-9); yüksek doz doksisisiklin verilen grup (grup II), kontrol grubu (grup IV) ile karşılaştırıldığında MMP-H skorlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü görüldü. Grup II ve grup IV karşılaştırıldığında MMP-2 (epitel) için $p= 0.048$, MMP-2 (stroma) için $p= 0.002$, MMP-9 (epitel) için $p= 0.007$, MMP-9 (stroma) için $p=0.002$ olarak tespit edildi.

Tablo-8 Doksisisiklin ile tedavi edilen grupta ve kontrol grubundaki immünohistokimyasal boyama sonuçları

	MMP-2 Epitel	MMP-2 Stroma	MMP-9 Epitel	MMP-9 Stroma
Grup I (Doksisisiklin 5 mg/kg/gün)	147.5±44.9	105±3.7	182.5±49.2	106.2±3.5
Grup II (Doksisisiklin 40 mg/kg/gün)	106.4±6.9(a)	101.1±2.2(b)	124.1±28(c)	102.2±2.6(d)
Grup IV (kontrol grubu)	163.1±96.5	130.5±47.1	220.6±66	125.5±34.8

a MMP-2/epitelde, yüksek doz doksisisiklin ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark var (p=0.048)
b MMP-2/stromada, yüksek doz doksisisiklin ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark var (p=0.002)
c MMP-9/epitelde, yüksek doz doksisisiklin ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark var (p=0.007)
d MMP-9/stromada, yüksek doz doksisisiklin ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark var (p=0.002)

5. TARTIŞMA

Bu deneysel çalışmada, rat modelinde endometriozis oluşturulup; konvansiyonel medikal tedavi olan GnRH analogu ile doksisisiklinin peritoneal endometriyal implantlar üzerindeki etkilerinin saptaması ve karşılaştırılması amaçlandı.

GnRH analogu ile tedavi edilen grupta beklenildiği gibi endometrial implantların yüzey alanlarında, histolojik skorlamalarında ve peritoneal sıvı IL-6 seviyelerinde tedavi öncesi ve sonrası değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Yani GnRH analogu ile tedavi, endometrial implantta boyut ve histolojik olarak gerilemeye neden oldu. Peritoneal sıvıda IL-6'nın, GnRH analogu ile tedavi edilmesinden sonraki anlamlı düşüşü de, endometrial implantlardaki gerilemeden kaynaklanabilir.

Doksisisiklin ile tedavi edilen gruplarda da, endometrial implantların boyutlarında bir azalma saptandı. Ayrıca doksisisiklinin, tedavi sonrasında, endometriozis dokusunun hem epitel hem de stromasındaki MMP-2 ve MMP-9 miktarlarını azalttığı tespit edildi. Peritoneal sıvıda IL-6 seviyesinde azalma, sadece yüksek doz doksisisiklin grubunda gösterilebildi. Endometriozis dokusunun hematoksilen-eozin ile yapılan histolojik skorlamasında, her iki doksisisiklin grubunda da tedavi öncesi ve sonrası skorlar arasında fark gösterilemedi.

Doksisisiklinin endometriozis dokusunda, MMP-2 ve MMP-9 üzerindeki inhibe edici etkisi bu çalışma ile gösterilmiştir. Doksisisiklinin özellikle MMP-2 ve MMP-9'u inhibe ettiği belirtilmekle beraber, literatürdeki genel kanı doksisisiklinin nonspesifik bir MMP inhibitörü olduğudur.

MMP'lerin, bazı büyüme faktörleri prekürsörlerinin hücre membranından salınımı, proliferasyon sinyallerinin integrinler aracılığı ile kontrolü, antiapoptotik etki ve yeni

damar oluşumu (ECM yıkımı ve proanjiogenik faktörlerin salınımına neden olarak) gibi etkilerinden dolayı endometriozis ile ilişkisi bilinmektedir. AW. Nap ve arkadaşlarının çalışmasında (27), endometriotik odaklarda, MMP-13 ve MMP-23 daha fazla olmak üzere tüm MMP tiplerinin ve TIMP'lerin ifade edildiği tespit edilmiştir ve endometriozis oluşumunda tüm MMP subtiplerinin etkili olduğu öne sürülmüştür.

Sitokinlerin de endometriozis ile ilişkisi mevcuttur. Ancak hastalığın bir nedeni olarak mı, yoksa hastalığın yayılmasının bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı açık değildir. IL-6'nın da arasında bulunduğu bazı sitokinlerin, MMP oluşumunu ve VEGF ekspresyonunu arttırdığı belirtilmektedir. Endometriozisde, peritoneal sıvıda birçok sitokin ve MMP'nin arttığı çalışmalarda gösterilmiştir (136,137)

Doksisiklinin bakteriyostatik ve MMP inhibe edici etkisinin dışında; antianjiogenik, antiinflamatuvar, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonunu inhibe edici etkisi, proapoptotik ve kemik yıkımını durdurucu etkisiyle de ilgili bilgiler mevcuttur (140,141,142, 147). Doksisiklinin birçok deri hastalığının ve otoimmün hastalıkların tedavisinde başarı ile denenmesi, bu ilacın antiinflamatuvar etkileri olduğunun indirekt bir göstergesidir (148-152). Ayrıca, doksisiklinin kanserle ilgili araştırmalarda kullanılması da, MMP'ler ve anjiogenez ile olan ilişkisine dayanmaktadır (146). Bütün bunlarla birlikte, doksisiklinin bakteriyostatik etkisi dışındaki etkilerinin hangi moleküler mekanizmalar aracılığı ile olduğu belli değildir.

Endometriozis oluşumunda, tüm MMP subtiplerinin etkili olması, doksisiklinin nonspesifik bir MMP inhibitörü olması, doksisiklinin ayrıca endometriotik odaklarda MMP'lerin doku inhibitörlerini arttırması, antianjiogenik, antiinflamatuvar, proapoptotik, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonunu inhibe edici etkilerinin hepsi beraber; bu çalışmada doksisiklinin endometrial implantlar üzerindeki etkilerini açıklayabilir.

Bu çalışmanın bulgularına göre doksisiklinin, oluşmuş olan endometriozisi tedavi ettiği şeklinde net bir sonuca varılamaz. Ancak; bu bulgular ile doksisiklinin endometriozisin oluşumunu önleyebileceği veya mevcut hastalığın ilerlemesini durdurabileceği

öngörülebilir. Bu sonuçlara göre, endometriozisde doksisisiklin kullanımı mümkün olabilir. Endometriozisli hastaları, hastalığın oluşum aşamasında yakalamak imkansızdır. Bu nedenle endometriozisin oluşumunu ve ilerlemesini önlemede etkili olduğu düşünülen doksisisiklin; hastalık, ablatif yöntemler ile tedavi edildikten sonra, hastalığın aktivasyonunun önlenmesinde kullanılabilir.

Doksisisiklinin klinik kullanımı olan bir ilaç olmasından dolayı; bu deney, endometriozis ve doksisisiklin ile ilgili yapılacak olan insan çalışmalarının önünü açabilir. Bu şekilde, endometriozisde, doksisisiklinin etkisi ve etyopatogeneizde matriks metalloproteinazların yeri ile ilgili daha fazla bilgi sahibi olunabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Houston DE, Noller K, Melton LJ and Selwin BJ. The epidemiology of endometriosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 1988;31:787-800.
2. Cramer DW and Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;955:11-22; discussion 34-6, 396-406.
3. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1927; 14:422-25.
4. Eskenazi B and Warner ML. Epidemiology of endometriosis. 1997; 24:235-58.
5. Sensky TE and Liu DT. Endometriosis: associations with menorrhagia, infertility and oral contraceptives. *Int J Gynaecol Obstet* 1980; 17: 573-6.
6. Cramer DW, Wilson E, Stillman RJ, Berger MJ, Belisle S, Schiff I, Albrecht B, Gibson M, Sradel BV, Schoenbaum SC. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *JAMA*. 1986 Apr 11; 255 (14): 1904-8.
7. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG and Talbert LM. Retrograd menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 151-4.
8. Lauchian SC. The secondary Mullerian system. *Obstet Gynecol Surv* 1972;27:133-46.
9. Levander G and Normann P. The pathogenesis of endometriosis; an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1955; 34:366-98.
10. Zeitoun K, Takayama K, Michael MD and Bulun SE. Stimulation of aromatase P450 promoter (II) activity in endometriosis and its inhibition in endometrium are regulated by competitive binding of SF-1 and COUP-TF to the same cis-acting element. *Molecular Endocrinology* 1999; 13: 239-53.
11. Yang S, Fang Z, Takashi S, Hironobu S, Jianfeng Z, Gurates B, Tamura M, Ferrer K and Bulun SE. Regulation of aromatase P450 expression in endometriotic and endometrial stromal cells by CCAAT/enhancer binding proteins (C/EBPs): decreased C/EBPbeta in endometriosis is associated with overexpression of aromatase. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 May;87(5):2336-45.
12. Gurates B, Sebastian S, Yand S, Zhou J, Suzuki T, Sasano H and Bulun SE. WT1 and DAX-1 inhibit aromatase P450 expression in human endometrial and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Sep;87(9):4369-77.

13. Stocco DM, Wang X, Jo Y and Manna PR. Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Mol Endocrinol.* 2005 Nov 19(11): 2647-59.
14. Attar E and Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Human Reprod Update* 2006 Jan-Feb;12(1):49-56. Epub 2005 Aug 25.
15. Noble LS, Takayama K, Putman JM, Johns DA, Hinshelwood MM, Agarwal VR, Zhao Y, Carr BR. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997 Feb;82(2):600-6.
16. Simpson JL and Bischoff FZ, Heritability and Molecular genetic studies of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955:239-51.
17. Kennedy S, Mardon H and Barlow D. Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:32-4.
18. Kennedy S, Hadfield R, Mardon H and Barlow D. Age of onset of pain symptoms in non-twin sisters concordant for endometriosis. *Hum Reprod* 1996; 11: 403-5.
19. Baranov VS, Ivaschenko T, Bakay B, Aseev M, Belotserkovskaya R, Baranova H, Malet P, Perriot J, Mouraire P, Baskakov VN, Savitskiy GA, Gorbushin S, Deyneka SI, Michnin E, Barchuck A, Vacharlovsky V, Pavlov G, Shilko VI, Guembitzkaya T, Kovaleva L. Proportion of the GSTM1 0/0 genotype in some Slavic populations and its correlation with cystic fibrosis and some multifactorial diseases. *Hum Genet* 1996; 97: 516-20.
20. Baranova H, Borthorishvilli R, Canis M, Albuissou E, Perriot S, Glowaczower E, Bruhat MA, Baranov V and Malet P. Glutathion S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population. *Mol Hum Reprod* 1997;3: 775-80.
21. Kennedy S. Genetics of endometriosis: a review of the positional cloning approaches. *Semin Reprod Med.* 2003 May;21(2):111-8. Review.
22. Geumenou AG, Arvanitis DA, Matalliotakis IM, Koumantakis EE, and Spandidos DA. Microsatellite DNA assays reveal an allelic imbalance in p16 (Ink 4), GALT, p53, and APOA2 loci in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75: 160-5.
23. Dmowski WP, Gebel HM and Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994; 159:7-14.
24. Gaetje R, Kotzian S, Herrmann G, Baumann R and Starzinski-Powitz A. Invasiveness of endometriotic cells in vitro. *Lancet* 1995;346:1463-4.
25. Vercellini O, Parazzini F, Bolis G, Carinelli S, Dindelli M, Vendola N, Luchini L, Crosignani PG. Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Jul;169(1):181-2.

26. Brinton LA, Gridley G, Persson I, Baro J, Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1997Mar;176(3):572-9.
27. Nap AW, Dunselman GA, de Goeij AF, Evers JL, Groothuis PG. Inhibitig MMP activity prevents the development of endometriosis in the chisken chorioallantoic membrane model. *Hum Reprod.* 2004 Oct;19(10):2180-7. Epub 2004 Jul 8.
28. Bruner KL, Matrisian LM, Rodgers WH, Gorstein F, Osteen KG,. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. *J Clin Invest.* 1997 Jun 15;99(12):2851-7.
29. Whitlock, JP,Jr.,Genetic and molecular aspects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1990;30:251-77.
30. Sutter, TR, Guzman, K, Dold, KM and Greenlee, WF. Targets for dioxin: genes for plasminogen activator inhibitor-2 and interleukin-1 beta *Science.*1991Oct18;254(5030):415-8.
31. Hadfield, RM, Manek,S,Weeks,DE, Mardon, HJ, Barlow, DH and Kennedy, SH, Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1. *Mol Hum Reprod* 2001;7;1073-8.
32. Signorello LB, Harlow BL, Cramer DW, Spiegelman D, Hill JA *Ann Epidemiol.*Epidemiologic determinants of endometriosis: a hospital-based case-control study.1997 May;7(4):267-741.
33. Mangtani P, Booth ME *Epidemiology of endometriosis.*J Epidemiol Community Health. 1993 Apr;47(2):84-8.
34. Cramer DW. *Epidemiology of endometriosis.* In: Wilson EA editor. Endometriosis. Newyork: Liss; 1987.
35. Darrow SL, Vena JE, Batt RE, Zielezny MA, Michalek AM, Selman S. Menstrual cycle characteristic and risk of endometriosis, *Epidemiology* 1993;4: 135-42.
36. Modugno F, Ness RB, Allen GO, Schildkraut JM, Davis FG, Goodman MT Oral contraceptive use, reproductive history, and risk of epithelial ovarian cancer in women with and without endometriosis.*Am J Obstet Gynecol.* 2004 Sep;191(3):733-40.
37. Schroder AK, Diedrich K, Ludwig M *Medical management of endometriosis: a systematic review.* IDrugs. 2004 May;7(5):451-63.
38. Parazzini F, Di Cintio E, Chatenoud L, Moroni S, Mezzanotte C, Crosignani PG. Oral contraceptive use and risk of endometriosis. Italian Endometriosis Study Group. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999 Jul;106(7):695-9.
39. Moen MH, Magnus P. The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1993 Oct;72(7):560-4.

40. Heilier JF, Donnez J, Defrere S, Van Kerckhove V, Donnez O, Lison D. Serum dioxin-like compounds and aromatase (CYP19) expression in endometriotic tissues. *Toxicol Lett.* 2006 Dec 15;167(3):238-44. Epub 2006 Oct 24.
41. Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women. *Hum Reprod.* 2001 Oct;16(10):2050-5.
42. Parazzini F, Chiaffarino F, Surace M, Chatenoud L, Cipriani S, Chiantera V, Benzi G, Fedele L. Selected food intake and risk of endometriosis. *Hum Reprod.* 2004 Aug;19(8):1755-9. Epub 2004 Jul 14.
43. Ferrero S, Anserini P, Remorgida V, Ragni N. Body mass index in endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Jul 1;121(1):94-8.
44. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol.* 2004 Oct 15;160(8):784-96.
45. Missmer SA, Cramer DW. The epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003 Mar;30(1):1-19.
46. Sinaii N, Cleary SD, Ballweg ML, Nieman LK, Stratton P. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Hum Reprod.* 2002 Oct;17(10):2715-24.
47. Dhillon PK, Holt VL. Recreational physical activity and endometrioma risk. *Am J Epidemiol.* 2003 Jul 15;158(2):156-64.
48. Sinha AK, Agarwal A, Lakhey M, Mishra A, Sah SP. Incidence of pelvic and extrapelvic endometriosis in Eastern region of Nepal. *Indian J Pathol Microbiol.* 2003 Jan;46(1):20-3.
49. Ozawa Y, Murakami T, Terada Y, Yaegashi N, Okamura K, Kuriyama S, Tsuji I. Tohoku Management of the pain associated with endometriosis: an update of the painful problems. *J Exp Med.* 2006 Nov;210(3):175-88.
50. Sygut AR, Trzcinski RP, Galbfach PJ, Dziki AJ. Intestinal tract endometriosis. *Wiad Lek.* 2006;59(7-8):570-2.
51. Bouhmidi A, Sánchez Torres A, Martínez Jiménez T, Sáez Macia R, Sánchez de la Villa G, Montes Clavero C. Rectosigmoid endometriosis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006 Oct;98(10):797-8.
52. Zugor V, Schott GE. Endometriosis involving the ureter. The Erlangen experience exemplified by two case reports. *Aktuelle Urol.* 2007 Jan;38(1):55-8.
53. Parker CM, Nolan R, Loughheed MD. Catamenial hemoptysis and pneumothoraces in a patient with cystic fibrosis. *Can Respir J.* 2007 Jul-Aug;14(5):295-7.

54. Spaczynski RZ, Duleba AJ . Diagnosis of endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2003 May;21(2):193-208.
55. Calhaz-Jorge C, Mol BW, Nunes J, Costa AP Clinical predictive factors for endometriosis in a Portuguese infertile population. *Hum Reprod.* 2004 Sep;19(9):2126-31. Epub 2004 Jun 30.
56. Chapron C, Barakat H, Fritel X, Dubuisson JB, Bréart G, Fauconnier A *Hum Reprod.* Presurgical diagnosis of posterior deep infiltrating endometriosis based on a standardized questionnaire. 2005 Feb;20(2):507-13. Epub 2004 Nov 26.
57. Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, Cornillie FJ. Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma CA-125 concentration. *Fertil Steril.* 1996 Feb;65(2):280-7.
58. Propst AM, Storti K, Barbieri RL. Lateral cervical displacement is associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 1998 Sep;70(3):568-70.
59. Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V, Vieira M, Fauconnier A, Barakat H, Dousset B Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 2002 May;9(2):115-9.
60. Scarselli G, Rizzello F, Cammilli F, Ginocchini L, Coccia ME. Diagnosis and treatment of endometriosis. A review. *Minerva Ginecol.* 2005 Feb;57(1):55-78.
61. Stegmann BJ, Sinaii N, Liu S, Segars J, Merino M, Nieman LK, Stratton P . Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women. *Fertil Steril.* 2007 Jul 25.
62. Brosens I, Puttemans P, Campo R, Gordts S, Kinkel K. Diagnosis of endometriosis: pelvic endoscopy and imaging techniques. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004 Apr;18(2):285-303.
63. Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril.* 1997 Oct;68(4):585-96.
64. Donnez J, Nisolle M, Gillerot S, Smets M, Bassil S, Casanas-Roux F. Rectovaginal septum adenomyotic nodules: a series of 500 cases. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997 Sep;104(9):1014-8.
65. Walter AJ, Hentz JG, Magtibay PM, Cornella JL, Magrina JF. Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Jun;184(7):1407-11.
66. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E; ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005 Oct;20(10):2698-704. Epub 2005 Jun 24.

67. Somigliana E, Viganò P, Candiani M, Felicetta I, Di Blasio AM, Vignali M. Use of serum-soluble intercellular adhesion molecule-1 as a new marker of endometriosis. *Fertil Steril*. 2002 May;77(5):1028-31.
68. Medl M, Ogris E, Peters-Engl C, Mierau M, Buxbaum P, Leodolter S. Serum levels of the tumour-associated trypsin inhibitor in patients with endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997 Jan;104(1):78-81.
69. Othman EE, Hornung D, Salem HT, Khalifa EA, El-Metwally TH, Al-Hendy A. Eur J Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007 Jun 18.
70. Jackson LW, Schisterman EF, Dey-Rao R, Browne R, Armstrong D. Oxidative stress and endometriosis. *Hum Reprod*. 2005 Jul;20(7): 2014-20. Epub 2005 Apr 7.
71. Zeng F, Xue M. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. Diagnostic value of the detection of aromatase cytochrome P450 and CA125 for endometriosis 2005 Dec;30(6):682-5.
72. Abrão MS, Podgaec S, Pinotti JA, de Oliveira RM. Tumor markers in endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet*. 1999 Jul;66(1):19-22.
73. Smuc T, Pucelj MR, Sinkovec J, Husen B, Thole H, Lanisnik Rizner T. *Gynecol* Expression analysis of the genes involved in estradiol and progesterone action in human ovarian endometriosis. *Endocrinol*. 2007 Feb;23(2):105-11.
74. De Carvalho CV, Nogueira-De-Souza NC, Costa AM, Baracat EC, Girão MJ, D'Amora P, Schor E, da Silva ID Genetic polymorphisms of cytochrome P450c17alpha (CYP17) and progesterone receptor genes (PROGINS) in the assessment of endometriosis risk. *Gynecol Endocrinol*. 2007 Jan;23(1):29-33.
75. Bedaiwy MA, Falcone T. Laboratory testing for endometriosis. *Clin Chim Acta*. 2004 Feb;340(1-2):41-56.
76. Bon GG, Kenemans P, Dekker JJ, Hompes PG, Verstraeten RA, van Kamp GJ, Schoemaker J. Fluctuations in CA 125 and CA 15-3 serum concentrations during spontaneous ovulatory cycles. *Hum Reprod*. 1999 Feb;14(2):566-70.
77. Koninckx PR, Riittinen L, Seppala M, Cornillie FJ. CA-125 and placental protein 14 concentrations in plasma and peritoneal fluid of women with deeply infiltrating pelvic endometriosis. *Fertil Steril*. 1992 Mar;57(3):523-30.
78. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PM. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1998 Dec;70(6):1101-8.
79. Cheng YM, Wang ST, Chou CY. Serum CA-125 in preoperative patients at high risk for endometriosis. *Obstet Gynecol*. 2002 Mar;99(3):375-80.
80. Patel MD, Feldstein VA, Chen DC, Lipson SD, Filly RA. Endometriomas: diagnostic performance of US. *Radiology*. 1999 Mar;210(3):739-45.

81. Ghezzi F, Raio L, Cromi A, Duwe DG, Beretta P, Buttarelli M, Mueller MD. "Kissing ovaries": a sonographic sign of moderate to severe endometriosis. *Fertil Steril*. 2005 Jan;83(1):143-7.
82. Kinkel K, Frei KA, Balleyguier C, Chapron C. Diagnosis of endometriosis with imaging: a review. *Eur Radiol*. 2006 Feb;16(2):285-98. Epub 2005 Sep 10.
83. Gambone JC, Mittman BS, Munro MG, Scialli AR, Winkel CA; Chronic Pelvic Pain/Endometriosis Working Group. Consensus statement for the management of chronic pelvic pain and endometriosis: proceedings of an expert-panel consensus process. *Fertil Steril*. 2002 Nov;78(5):961-72.
84. Klinik Aktüel Tıp, cilt 11, sayı 12 sf:27-28 Kasım 2006.
85. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*. 1997 May;67(5):817-21.
86. Hoeger KM, Guzick DS. Classification of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997 Jun;24(2):347-59.
87. Marques A, Bahamondes L, Aldrighi JM, Petta CA Quality of life in Brazilian women with endometriosis assessed through a medical outcome questionnaire. *J Reprod Med*. 2004 Feb;49(2):115-20.
88. Oehmke F, Deisting C, Tinneberg HR. Conservative therapy of endometriosis *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*. 2007;47(3):118-23.
89. Roman H. Guidelines for the management of painful endometriosis *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2007 Apr;36(2):141-50. Epub 2007 Feb 2.
90. Chlouber RO, Olive DL, Pritts EA. Investigational drugs for endometriosis. *Expert Opin Investig Drugs*. 2006 Apr;15(4):399-407.
91. Davis L, Kennedy S, Moore J, Prentice A. Modern combined oral contraceptives for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Jul 18;(3):CD001019.
92. Edelman AB, Gallo MF, Jensen JT, Nichols MD, Schulz KF, Grimes DA Continuous or extended cycle vs. cyclic use of combined oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Jul 20;(3):CD004695.
93. Olive DL Optimizing gonadotropin-releasing hormone agonist therapy in women with endometriosis. *Treat Endocrinol*. 2004;3(2):83-9.
94. Dlugi AM, Miller JD, Knittle J. Lupron depot (leuprolide acetate for depot suspension) in the treatment of endometriosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Lupron Study Group .Fertil Steril*. 1990 Sep;54(3):419-27.
95. Roman H. Guidelines for the management of painful endometriosis *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2007 Apr;36(2):141-50. Epub 2007 Feb 2.

96. Scholes D, LaCroix AZ, Ichikawa LE, Barlow WE, Ott SM. Injectable hormone contraception and bone density: results from a prospective study. *Epidemiology*. 2002 Sep;13(5):581-7.
97. F.B. Lockhat, J.O. Emembolu and J.C. Konje The evaluation of the effectiveness of an intrauterine-administered progestogen (levonorgestrel) in the symptomatic treatment of endometriosis and in the staging of the disease *Human Reproduction*, Vol. 19, No. 1, 179-184, January 2004.
98. Carlos A. Petta, Rui A. Ferriani, Mauricio S. Abrao, Daniela Hassan, Julio C. Rosa e Silva, Sergio Podgaec and Luis Bahamondes Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis *Human Reproduction* 2005 20(7):1993-1998; doi:10.1093/humrep/deh869.
99. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E The role of the levonorgestrel-releasing intrauterine device in the management of symptomatic endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2005 Aug;17(4):359-65.
100. Cobellis L, Razzi S, Fava A, Severi FM, Igarashi M, Petraglia F. A danazol-loaded intrauterine device decreases dysmenorrhea, pelvic pain, and dyspareunia associated with endometriosis. *Fertil Steril*. 2004 Jul;82(1):239-40.
101. Razzi S, Luisi S, Calonaci F, Altomare A, Bocchi C, Petraglia F Efficacy of vaginal danazol treatment in women with recurrent deeply infiltrating endometriosis. *Fertil Steril*. 2007 Jun 1.
102. Allen C, Hopewell S, Prentice A. *Cochrane Database Syst Rev*. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. 2005 Oct 19;(4):CD004753.
103. Efstathiou JA, Sampson DA, Levine Z, Rohan RM, Zurakowski D, Folkman J, D'Amato RJ, Rupnick MA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs differentially suppress endometriosis in a murine model. *Fertil Steril*. 2005 Jan;83(1):171-81.
104. Grow DR, Williams RF, Hsiu JG, Hodgen GD. Antiprogestin and/or gonadotropin-releasing hormone agonist for endometriosis treatment and bone maintenance: a 1-year primate study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 May;81(5):1933-9.
105. OI shan tang, Pak chung ho Clinical applications of mifepristone *Gynecological Endocrinology*, December 2006; 22(12): 655–659.
106. Stoeckemann K, Hegele-Hartung C, Chwalisz K. Effects of the progesterone antagonists onapristone (ZK 98 299) and ZK 136 799 on surgically induced endometriosis in intact rats. *Hum Reprod*. 1995 Dec;10(12):3264-71.
107. DeManno D, Elger W, Garg R, Lee R, Schneider B, Hess-Stumpp H, Schubert G, Chwalisz K Asoprisnil (J867): a selective progesterone receptor modulator for gynecological therapy. *Steroids*. 2003 Nov;68(10-13):1019-32.
108. Dhingra K Selective estrogen receptor modulation: the search for an ideal hormonal therapy for breast cancer. *Cancer Invest*. 2001;19(6):649-59.

109. Atteritano M, Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Mazzaferro S, D'Anna R, Cannata ML, Gaudio A, Frisina A, Frisina N, Corrado F, Cancellieri F, Lubrano C, Bonaiuto M, Adamo EB, Squadrito F. Effects of the phytoestrogen genistein on some predictors of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):3068-75. Epub 2007 May 22.
110. Yavuz E, Oktem M, Esinler I, Toru SA, Zeyneloglu HB. Genistein causes regression of endometriotic implants in the rat model. *Fertil Steril.* 2007 Jun.
111. Harris HA, Bruner-Tran KL, Zhang X, Osteen KG, Lyttle CR. A selective estrogen receptor-beta agonist causes lesion regression in an experimentally induced model of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005 Apr;20(4):936-41. Epub 2004 Dec 23.
112. Schultze-Mosgau A, Griesinger G, Altgassen C, von Otte S, Hornung D, Diedrich K. New developments in the use of peptide gonadotropin-releasing hormone antagonists versus agonists. *Expert Opin Investig Drugs.* 2005 Sep;14(9):1085-97.
113. Ebert AD, Bartley J, David M Aromatase inhibitors and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in endometriosis: new questions--old answers? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Oct 1;122(2):144-50. Epub 2005 Sep 12.
114. Hefler LA, Grimm C, van Trotsenburg M, Nagele F. Role of the vaginally administered aromatase inhibitor anastrozole in women with rectovaginal endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril.* 2005 Oct;84(4):1033-6.
115. Ebert AD, Bartley J, David M Aromatase inhibitors and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in endometriosis: new questions--old answers? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Oct 1;122(2):144-50. Epub 2005 Sep 12.
116. Dogan E, Saygili U, Posaci C, Tuna B, Caliskan S, Altunyurt S, Saatli B. Regression of endometrial explants in rats treated with cyclooxygenase inhibitor rofecoxib. *Fertil Steril* 2004 Oct; 82 Suppl 3:1115-20.
117. Shakiba K, Falcone T Tumour necrosis factor-alpha blockers: potential limitations in the management of advanced endometriosis? A case report. *Hum Reprod.* 2006 Sep;21(9):2417-20. Epub 2006 Jun 19.
118. Barrier BF, Bates GW, Leland MM, Leach DA, Robinson RD, Propst AM Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy in the treatment of spontaneous endometriosis in baboons. *Fertil Steril.* 2004 Mar;81 Suppl 1:775-9.
119. Uygur D, Aytan H, Zergeroglu S, Batioglu S. Leflunomide--an immunomodulator--induces regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis. *J Soc Gynecol Investig.* 2006 Jul;13(5):378-83. Epub 2006 May 19.
120. Taylor RN, Lebovic DI, Mueller MD. Angiogenic factors in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002 Mar;955:89-100.
121. Becker CM, D'Amato RJ Angiogenesis and antiangiogenic therapy in endometriosis. *Microvasc Res.* 2007 May.

122. Ingelmo JM, Quereda F, Ación P. Intraperitoneal and subcutaneous treatment of experimental endometriosis with recombinant human interferon-alpha-2b in a murine model. *Fertil Steril*. 1999 May;71(5):907-11.
123. Alborzi S, Ghotbi S, Parsanezhad ME, Dehbashi S, Alborzi S, Alborzi M. Pentoxifylline therapy after laparoscopic surgery for different stages of endometriosis: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2007 Jan-Feb;14(1):54-8.
124. Aytan H, Caliskan AC, Demirturk F, Aytan P, Koseoglu DR Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone reduces the size of experimental endometriosis in the rat model. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2007 Aug;47(4):321-5.
125. Badawy SZ, Souid AK, Cuenca V, Montalto N, Shue F. Gossypol inhibits proliferation of endometrioma cells in culture. *Asian J Androl*. 2007 May;9(3):388-93.
126. Huber AV, Huber JC, Kolbus A, Imhof M, Nagele F, Loizou D, Kaufmann U, Singer CF. Systemic HCG treatment in patients with endometriosis: a new perspective for a painful disease. *Wien Klin Wochenschr*. 2004 Dec 30;116(24):839-43.
127. Agostini A, De Lapparent T, Collette E, Capelle M, Cravello L, Blanc B. In situ methotrexate injection for treatment of recurrent endometriotic cysts. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007 Jan;130(1): 129-31.
128. Tee MK, Vigne JL, Taylor RN. All-trans retinoic acid inhibits vascular endothelial growth factor expression in a cell model of neutrophil activation. *Endocrinology*. 2006 Mar;147(3):1264-70.
129. Wieser F, Vigne JL, Ryan I, Hornung D, Djalali S, Taylor RN. Sulindac suppresses nuclear factor-kappaB activation and RANTES gene and protein expression in endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Dec;90(12):6441-7.
130. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertil Steril*. 2007 Jun.
131. Zheng H, Zuo LD. [Experimental study on treatment of endometriosis with xiaochaihu decoction] *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2006 Jun;26 Suppl:119-22.
132. Lian F, Liu HP, Wang YX, Zhang JW, Sun ZG, Ma FM, Zhang N, Liu YH, Meng Q. Chin J Expressions of VEGF and Ki-67 in eutopic endometrium of patients with endometriosis and effect of Quyu Jiedu Recipe on VEGF expression. *Integr Med*. 2007 Jun;13(2):109-14.
133. Bruner-Tran KL, Zhang Z, Eisenberg E, Winneker RC, Osteen KG. Down-regulation of endometrial matrix metalloproteinase-3 and -7 expression in vitro and therapeutic regression of experimental endometriosis in vivo by a novel nonsteroidal progesterone receptor agonist, tanaproget. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Apr;91(4):1554-60.

134. Raffetto JD, Khalil RA. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol.* 2007 Jul 7; [Epub ahead of print].
135. Lalu MM, Cena J, Chowdhury R, Lam A, Schulz R Matrix metalloproteinases contribute to endotoxin and interleukin-1beta induced vascular dysfunction. *Br J Pharmacol.* 2006 Sep;149(1):31-42. Epub 2006 Jul 31.
136. Ferdinando Mannello. Natural Bio-Drugs as Matrix Metalloproteinase Inhibitors: New Perspectives on the Horizon? *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 2006, 1, 91-103 91.
137. Raffetto JD, Khalil RA, Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease, *Biochem Pharmacol* (2007).
138. Dorothe Burggraf, Andreas Trinkl, Martin Dichgans, Gerhard F. Hamann Doxycycline inhibits MMPs via modulation of plasminogen activators in focal cerebral ischemia. *Neurobiology of Disease* 25 (2007) 506–513.
139. Bendeck MP, Conte M, Zhang M, Nili N, Strauss BH, Farwell SM. Doxycycline modulates smooth muscle cell growth, migration and matrix remodeling after arterial injury. *Am J Pathol.* 2002Mar;160(3):1089-95.
140. Franco C, Ho B, Mulholland D, Hou G, Islam M, Donaldson K, Bendeck MP. Doxycycline alters vascular smooth muscle cell adhesion, migration, and reorganization of fibrillar collagen matrices. *Am J Pathol.* 2006 May;168(5):1697-709.
141. Riazi-Esfahani M, Peyman GA, Aydin E, Kazi AA, Kivilcim M, Sanders DR Prevention of corneal neovascularization: evaluation of various commercially available compounds in an experimental rat model. *Cornea.* 2006 Aug;25(7):801-5.
142. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res.* 2006 Sep;83(3):526-35. Epub 2006 Apr 27.
143. Jantzie LL, Rauw GA, Todd KG. The effects of doxycycline administration on amino acid neurotransmitters in an animal model of neonatal hypoxia-ischemia. *Neurochem Int.* 2006 Dec;49(8):717-28. Epub 2006 Aug 17.
144. Onoda T, Ono T, Dhar DK, Yamanoi A, Nagasue N . Tetracycline analogues (doxycycline and COL-3) induce caspase-dependent and -independent apoptosis in human colon cancer cells. *Int J Cancer.* 2006 Mar 1;118(5):1309-15.
145. Mouratidis PX, Colston KW, Dalglish AG. Doxycycline induces caspase-dependent apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Int J Cancer.* 2007 Feb 15;120(4):743-52.
146. Chen X, Su Y, Fingleton B, Acuff H, Matrisian LM, Zent R, Pozzi A. Increased plasma MMP9 in integrin alpha1-null mice enhances lung metastasis of colon carcinoma cells. *Int J Cancer.* 2005 Aug 10;116(1):52-61.

147. Holmes SG, Still K, Buttle DJ, Bishop NJ, Grabowski PS. Chemically modified tetracyclines act through multiple mechanisms directly on osteoclast precursors. *Bone*. 2004 Aug;35(2):471-8.
148. El Sayed F, Dhaybi R, Ammoury A. Subcutaneous nodular sarcoidosis and systemic involvement successfully treated with doxycycline. *J Med Liban*. 2006 Jan-Mar;54(1):42-4.
149. Baykal C, Buyukbabani N, Akinturk S, Saglik E. Prurigo pigmentosa: not an uncommon disease in the Turkish population. *Int J Dermatol*. 2006 Oct;45(10):1164-8
150. Dogan G Pruritic eruption with reticular pigmentation: Confluent and reticulate papillomatosis. *Australas J Dermatol*. 2007 Aug;48(3):185-6.
151. Cianfrocca M, Cooley TP, Lee JY, Rudek MA, Scadden DT, Ratner L, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor COL-3 in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma: a phase I AIDS malignancy consortium study. *J Clin Oncol* 2002;20:153-9.
152. Sapadin AN, Fleischmajer R . Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol*. 2006 Feb;54(2):258-65.
153. Chen M, On VO, Mingwei L, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2000;6:797-801.
154. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, Kim BYS, Ona V, Mingwei LI, et al. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* 2002;417:74-8.
155. Mosorin M, Juvonen J, Biancari F, Satta J, Surcel HM, Leinonen M, et al. Use of doxycycline to decrease the growth rate of abdominal aortic aneurysms: a randomized double-blind, placebo-controlled pilot study. *J Vasc Surg* 2001;34:757-8.
156. Takeshita S, Ono Y, Kozuma K, Suzuki M, Kawamura Y, Yokoyama T, et al. Modulation of oxidative burst of neutrophils by doxycycline in patients with acute myocardial infarction. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:411-3.
157. Layton AM, Cunliffe WJ. Phototoxic eruptions due to doxycycline--a dose-related phenomenon. *Clin Exp Dermatol*. 1993 Sep;18(5):425-7.
158. Akcam M, Artan R, Akcam FZ, Yilmaz A. Nail discoloration induced by doxycycline. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Sep;24(9):845-6.
159. Cac NN, Messingham MJ, Sniezek PJ, Walling HW Stevens-Johnson syndrome induced by doxycycline. *Cutis*. 2007 Feb;79(2):119-22.
160. Adisen E, Gürer MA, Erdem Ö, Tetracycline/doxycycline-induced cutaneous depressed pigmentation *International Journal of Dermatology* 2006, 45, 1238–1240.
161. Heveling T, Kubalek R. Doxycycline-induced amnesia: a case report. *Eur J Clin Pharmacol* (2007) 63:95–96.