

2005

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM  
ANABİLİM DALI**

**RAT ENDOMETRİOZİS MODELİNDE SELEKTİF  
ÖSTROJEN RESEPTÖR MODÜLATÖRLERİ'NİN  
ETKİNLİĞİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Kerim Emrah YAVUZ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Hulusi Bülent ZEYNELOĞLU**

**ANKARA  
2005**

## ***Teşekkür***

*Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, uzmanlık eğitimimde önemli yeri olan ve tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, sonsuz desteği olan, tez danışmanım Doç. Dr. Hulusi Bülent Zeyneloğlu'na, uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emekleri olan öncelikle Doç. Dr. Esra Kuşçu'ya olmak üzere, Doç. Dr. Filiz Yanık'a, Uzm. Dr. Derya Eroğlu'na ve eğitimimdeki emeğinin yanısıra tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mesut Öktem'e, asistan arkadaşlarıma, tezimin tamamlanış sürecinde ve hayatımdaki en özel, en büyük destekçim olan, hayat arkadaşım, sevgili eşim Dr. İlke Yavuz'a ve aileme sonsuz TEŞEKKÜR ederim.*

***Dr. Kerim Emrah YAVUZ***

## **İÇİNDEKİLER**

<b>I.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>II.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
<b>A. Endometriozis.....</b>	<b>2</b>
<b>B. Östrojen Reseptörleri.....</b>	<b>10</b>
<b>C. SERM' ler.....</b>	<b>14</b>
<b>II.ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>17</b>
<b>III.SONUÇLAR.....</b>	<b>23</b>
<b>IV.TARTIŞMA.....</b>	<b>28</b>
<b>V.ÖZET.....</b>	<b>32</b>
<b>VI.KAYNAKLAR.....</b>	<b>34</b>

# I.GİRİŞ:

Endometriozis endometrial dokunun uterin kavite dışında yer alması olarak tanımlanmaktadır.(1) Doktora başvuran kadın popülasyonunda %10-25 olarak görülür.(2)

Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır, standart medikal tedavide östrojenin azaltılması amaçlanır. Uzun süreli medikal tedaviler, fertilitiyi geciktirdiği ve menapozda görülen sıcak basması, terleme ve osteoporoz gibi durumları ortaya çıkardığı için efektif olarak kullanılamamaktadır.(3)

Ektopik endometrium dokusunda bulunan östrojen reseptörleri (ER) patogeneizde önemli rol oynar. Östrojen reseptörleri iki tiptir: alfa (ER- $\alpha$ ) ve beta (ER- $\beta$ ). ER- alfa daha çok reproduktif dokularda bulunur ve endojen östrojenin temel etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. ER-beta'nın ise fonksiyonu tam bilinmemektedir. Ancak ER beta uyarımının endometrial dokuda supressif etki yaptığı bilinmektedir.

Raloksifen, SERM (spesifik östrojen reseptör modülatörü ) grubu ve ana etkisini endometriumda ER alfa antagonistliği ile gerçekleştiren moleküldür. Diğer bir SERM grubundan olan molekül ise; Isoflavon'lar, potent östrojen reseptör beta agonisti etkinliği olan moleküllerdir. Isoflavonlardan Genistein, potent ER beta agonist etkisi olan ajandır.

Farklı Moleküllerin ER-Alfa ve ER-Beta Bağlanma Afiniteleri;

Molekül	ER-Alfa(%)	ER-Beta(%)
17-B estradiol....	100	100
17-Alfa estradiol...	58	11
Estron.....	60	37
Estriol.....	14	21
Genistein.....	4	<u>87</u>
Tamoxifen.....	4	3
Raloksifene.....	<u>69</u>	16
Daidzein.....	0,1	0,5

Bu deneysel çalışma; raloksifen ve genistein' in ektopik endometriotik dokudaki etkilerini araştırmak üzere planlanmıştır.

## II. GENEL BİLGİLER:

### A.Endometriozis

Endometriozis endometrial bezlerin ve stromanın ekstrauterin ortamdaki mevcudiyetidir.(1)

Genel olarak östrojen bağımlı bir hastalıktır.

İnsidansı tam olarak bilinmemekle ; infertilite hastalarında %25-35, üreme çağındaki kadınlarda %3-10, dismenoreli kadınlarda %40-60 oranında görölmektedir. Tanı anındaki yaş ortalaması 25-30 yıldır.(2)

Endometriozisin kesin nedenibilinmemesine rağmen oluşumunu açıklamaya yönelik bazı teori ve risk faktörleri tanımlanmıştır.(3) Transport (metastaz), çöloomik metaplazi, indüksiyon gibi teoriler ile immünolojik faktörler, genetik faktörler ve çevresel faktörler bunlardan en önemlileridir;(4)

**Transplantasyon Teorisi;** Bu teori 1920' lerde Simpson tarafından öne sürölmüştür. Mens kanamaları sırasında endometrial hücrelerin tubalardan rejurgitasyon yolu ile peritoneal kaviteye dökölerek implante olması sonucunda endometriotik odakların oluştuğu düşünölmüştür. Bu görüşü destekleyen klinik çalışmalar mevcuttur.(4,5) Ayrıca uterin anomalisi olan kadınlarda ve cerrahi yapışıklığı olan kadınlarda endometriosis sıklıkla görölür.Yapılan çalışmalarda endometriozisli kadınlarda normal popülasyona göre daha sık retrograd menstruasyon gösterilmiştir. Ancak kadınlarda %70-90 gibi yüksek oranda retrograd menstruasyon görölebilmesine rağmen endometriozis sıklığı korele değildir.(6,7,8) Ayrıca teori pelvik lokalize endometriotik odakları açıklayabilmekle beraber uzak alan tutulumlarını açıklayamamaktadır.(11,12,13)

**Çölomik Metaplazi;** Bu teoriye göre normal çölomik epitel hücrelerde endometrial dokuya dönüşüm olmaktadır. Ancak bu teoriyi destekleyen güçlü klinik çalışmalar bulunmamaktadır.

**İndüksiyon Teorisi;** Temelde çölomik metaplazi teorisinin genişletilmiş şeklidir. Farklılaşmamış periton epitel hücrelerinin endojen kimyasal uyarıcılar ile endometrial hücrelere transforme olduğunu savunur.(14,15)

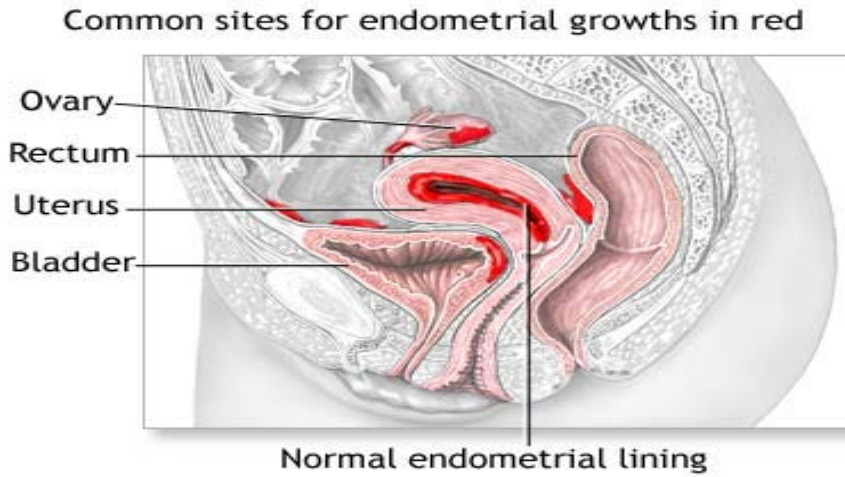
**Genetik Faktörler;** Yapılan popülasyon çalışmalarına göre birinci dereceden akrabalarında endometriozis bulunan kadınlarda endometriozis riski normal popülasyona göre 7 kat daha yüksektir.(15,16) Spesifik mendelian bir kalıtım paterni tesbit edilememiştir ve geçişin multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir.(17) Yine yapılan çalışmalarda östrojen reseptörü gen polimorfizmleri ile endometriozis arasında ilişki kurulmuştur.(18)

**İmmünolojik Faktörler ve İnflamasyon;** Bir çok kadında menstruasyon sırasında peritoneal kavitede endometrial hücreler tesbit edilmesine rağmen bunların hepsinde endometriozis oluşmamaktadır. Peritoneal hücrelerin temizlenmesinde kadından kadına farklılıklar olduğu ve bunun da immünolojik yanıtta farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür.(24) Gerçekten de endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında Natural Killer (NK) hücrelerin ve makrofajların aktivitelerinde azalma gösterilmiştir.Ayrıca yapılan çalışmalarda endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında lökosit, inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, anjiogenezis başlatıcı faktörler ve matriks metaloproteinazlarının miktarlarında artış gösterilmesi ile olayın Fokal inflamatuvar reaksiyon olduğu anlaşılmış ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde bunlar özellikle göz önüne alınmıştır. A.Arıcı ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaların sonuçlarında da endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında makrofaj ve derivelilerinin, lokal sitokinlerin arttığı ve bunların infertilite oluşumunda önemli rol oynadıkları gösterilmiştir.(25,26) Ayrıca endometriotik odaktaki artmış aromataz aktivitesi sonucu artan prostaglandin E lokal inflamatuvar olayın büyümesinde pozitif feed-back etki yapar.(40)

**Çevresel Faktörler;** insanlarda kesin olarak gösterilememiş olmasına rağmen polivinil klorid' in yanması sonucunda ortaya çıkan dioksin ile endometriozis arasındaki ilişki üzerinde durulmuştur.

## SEMPATOM VE BULGULAR

Endometriozisli kadınların bazıları asemptomatik olsalar da, sıklıkla pelvik ağrı (dismenore, disparenie) ve/veya infertilite problemi ile doktora başvurduklarında tesbit edilirler.(69,70) Ayrıca endometriotik odaklar pelvis dışındaki alanlarda da bulunabileceği için bulunduğu dokuya özgü semptomlarda ortaya çıkabilmektedir. GIS’ de (kolon-rektum) siklik kanama, ağrı, konstipasyon, üriner sistem’ de hematüri, yan ağrısı, pulmoner sistem’ de (Ekstra periton-plevra) hemoptizi, pnömotoraks... gibi.



İnfertilite hastalığının neden olduğu önemli bir problemdir. İnfertilite tuba-over anatomik ilişkisinin bozulması sonucu olabildiği gibi anatomik bozukluk olmaksızın çeşitli mekanizmalarla da (immünolojik mekanizmalar ) ortaya çıkabilmektedir

Ektopik endometrium dokusu en çok pelviste lokalize olmaktadır. Pelviste en çok bulunduğu odaklar ise sıklık sırasına göre; ön ve arka cul-de-sac, overler, posterior broad ligament ve uterosacral ligamenttir. Sıklık sırası değerlendirildiğinde de görüldüğü gibi lokalizasyonda yerçekiminin etkisi bulunmaktadır.

## TANI

Tanıda kullanılanlar; klinik prezentasyon, fizik muayene, USG, Ca-125 ve laparoskopidir.(29,30,31)

Klinik prezentasyon hastalığın lokalizasyonuna göre de değişebilmekle birlikte pelvik ağrı ve infertilite çağrışım yaptıran temel unsurlardandır. (32,33)

Fizik muayenede özellikle douglasa yerleşim gösteren derin infiltratif endometriozis olgularında vaginal manuel muayenede dolgunluk hissedilir.Yine

overlerdeki endometrioma kistleri de adneksiyel dolgunluk olarak tesbit edilebilir. Uterosakral ligament üzerindeki nodülasyonlar endometriosis lehinedir.(Tablo 1) (34)

**Tablo.1**

Symptoms distribution among patients with early- and late-stage endometriosis

Symptoms on admission	Total (N = 68), n (%)	Early stage (N = 46), n (%)	Late stage (N = 22), n (%)	P-value <sup>a</sup>
Cases admitted for pelvic pain	33 (39)	20	13	NS
Cases with symptoms of at least 6 months duration (infertility excluded)	53 (78)	33	20	NS
Infertility				NS
Primary	22 (32)	16	6	
Secondary	5 (7)	5	0	
Dysmenorrhoea				NS
Primary	16 (24)	10	6	
Secondary	19 (27)	13	6	
Noncyclic pelvic pain	33 (49)	20	13	NS
Deep dyspareunia	15 (22)	7	8	NS
Cyclic pelvic pain	30 (44)	16	14	0.04
Dyschesia	3 (4)	3	0	NS
Leg pain	18 (27)	10	8	NS
Cyclic dysuria	7 (10)	4	3	NS
Cyclic dyschesia	3 (4)	1	2	NS
Cyclic tenesmus	5 (7)	3	2	NS
Urinary incontinence	9 (13)	5	4	NS
Depressive mood	14 (21)	8	6	NS

NS = not significant.

Transvaginal USG; Overde yerleşen endometriomaların tanısında ve postoperatif dönemde rekürrenslerin değerlendirilmesinde oldukça güvenilir bir yöntemdir.

Ca-125; Çölemik epitel türevlerinden sentezlenir ve sıklıkla non-müsinöz over kanserinde kullanılan bir serum markeridir.(35,36)Yine ağırlı infertil kadınlarda %80 spesifite, %40 sensitiviteye sahiptir. Tanı ve tarama için yeterli güvenilirlik aralığına sahip değildir. Serum cut-off düzeyi 35 U/ml dir.(39) Hastalık rekürrensi ile serum düzeyleri korelasyon gösterir. Serum yarılanma ömrü 5-40 gün arasındadır. Ca 19-9 son zamanlarda endometrioziste artışı gösterilen diğer bir moleküldür. Düzeyleri endometriozisli olgularda kontrol grubuna oranla yüksek bulunmuş ayrıca endometrioma kist kapsülü örneklerinin %75 inde immünohistokimyasal boyama teknikleri ile Ca 19-9 saptanmıştır.

Laparoskopi; Kesin tanı için gold-standart yöntemdir.Laparoskopi anında şüpheli alanlardan biyopsi alınarak patolojik tanı konmalıdır.(51) Laparoskopi görünümü çok



çeşitlidir. (48) Bu çeşitliliğe neden olan gland-stroma oranı, skarlaşma, lezyon içine kanama, hemosiderin miktarı gibi antitelendir.(42)En sık görünümler; skarlaşmış beyaz lezyonlar, çilek benzeri kırmızı lezyonlar,peritoneal defektler (powder-burn,gunshot), kırmızı alev benzeri lezyonlar, adezyonlar, siyah kırışık lezyonlar,overyan kistler (çikolata kistleri). Laparoskopi sırasında endometriozis ile en sık karışan görünümler; *de novo* adezyonlar, eski sütürler, lazer cerrahi sonrası karbon kalıntıları, yağlı kontrast

maddeye reaksiyon, epitelyal inklüzyon kistleri, peritoneal cep ve pencereler, over kanseri gibi

durumların görüntüleridir. Bu sebeple şekli, boyutu, görüntüsü ne olursa olsun her periton anomalisi endometriozis olasılığı taşımaktadır ve incelenmelidir.

Tanı için öne sürülen yeni teknikler; Transvajinal hidrolaparoskopi ve konvansiyonel manyetik rezonans görüntülemidir. Transvajinal hidrolaparoskopi tuba-over fizyolojik bütünlüğünü de değerlendirme açısından özellikle infertil hastalarda önemli olsa da magnetik rezonans inceleme pahalı bir tekniktir ve USG ile de benzer nitelikte bilgiler elde edilebilmektedir.

Gonadotropin releasing hormone agonist'leri de tanı amacıyla kullanılabilir. Adet görmeyen kadında kronik pelvik ağrı ortadan kalkarsa, bu ağrının endometriozis kökenli olduğu düşünülür. (52)

Hastalığın tanısında ve prognozunda, lokalizasyon alanları ve lezyon boyutları önem arz ettiği için makroskopik olarak yapılan değerlendirmelerde subjektiviteyi ortadan kaldırmak amacı ile bir evreleme yapılmıştır.(Resim 1) Bu evreleme sonucu alınan puanlar değerlendirilerek 'Revize edilmiş Amerikan Reprodüktif Tıp Cemiyeti Sınıflaması' ile hastalığın şiddeti belirlenmektedir. (Revised American Society for Reproductive Medicine Classification of Endometriozis) (55)

Buna göre;

Evre 1: Minimal 1-5

Evre 2: Hafif 6-15

Evre 3: Orta 16-40

Evre 4: Şiddetli >40



American Society for Reproductive Medicine  
Revised Classification of Endometriosis

Patient's name \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

Stage I (minimal) — 1-5  
 Stage II (mild) — 6-15  
 Stage III (moderate) — 16-40  
 Stage IV (severe) — >40

Laparoscopy \_\_\_\_\_ Laparotomy \_\_\_\_\_ Photography \_\_\_\_\_  
 Recommended treatment \_\_\_\_\_

Total \_\_\_\_\_ Prognosis \_\_\_\_\_

Peritoneum	Endometriosis	<1 cm	1-3 cm	>3 cm
	Superficial	1	2	4
Deep	2	4	6	
Ovary	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
Posterior cul-de-sac obliteration		Partial	Complete	
		4	40	
Ovary	Adhesions	<1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	>2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
Dense	4	8	16	
Tube	R Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16

\*If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16. Denote appearance of superficial implant types as red [(R), red, red-pink, flame-like, vesicular blots, clear vesicles], white [(W), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown], or black [(B), black, hemosiderin deposits, blue]. Denote percent of total described as R\_\_\_%, W\_\_\_%, and B\_\_\_%. Total should equal 100%.

**Resim 1.** ASRM endometriozis evrelemesi

Tedavinin amacı semptomları başarılı bir şekilde yönetmek ve/veya hastalığı ortadan kaldırmak olarak düşünülebilir.(83) Tedavi kronik pelvik ağrı ve/veya endometriozis ile ilgili infertilitenin tedavisidir. Günümüzde elimizdeki tedavi modaliteleri medikal tedavi, cerrahi tedavi ve medikal-cerrahi tedavinin birlikte uygulanması gibi yöntemlerdir. Ağrı için medikal tedavi, (yalancı menopoz veya yalancı gebelik), cerrahi tedavi endometriozis odaklarının tahribi veya eksizyonu, adezyolizis ile ilgili sinirlerin tahribini içerir. Cerrahi tedavide ağrıya yönelik yöntemler olarak LUNA, Presakral Nevrektomi gibi operasyonlar önerilmiştir.(61,62)

LUNA: Laparoscopic Uterine Nerve Ablation; özellikle santral pelvik ağrının , tedaviye dirençli olgularda uygulanabilir. Uterosakral ligamanlar boyunca ilerleyen korpus uterinin duysal sempatik ve serviks uterin duysal parasempatik lifleri kesilir. Prospektif çalışmalarda, 3-6.ayın sonunda, olguların %62-81'inde ağrıda belirgin azalma bildirilmiştir. Ancak 1 yılın sonunda olguların yarısında ağrı nüksü olabilmektedir.

LPSN: Laparoskopik/Laparotomik Presakral Nörektomi; Uterusun sempatik innervasyonunun, superior hipogastrik plexus hizasından kesilmesidir.(63) Oldukça tehlikeli olup cerrahi deneyim gerektirir.Bir yıllık takip sonunda %80-91 olgu ağrısız bulunmuştur. Cerrahi rekürrens oranlarına baktığımızda L/S sonrası ilk 1 yılda nüks %10, 5 yılda nüks %20 dir.(128)

Medikal tedavide kullanılan ajanlar ;

<b>Hormonal Ajanlar</b>	<b>Non-Hormonal Ajanlar:</b>
OKS ( Oral KontraSeptifler)	Sitokin Modülatörleri
Progestinler	Antiinflamatuvarlar
Gestrinone İnhibitörleri	Matriks Metaloproteinaz
Danazol	
GnRH Analogları	
Aromataz İnhibitörleri	
SERM (Spesifik Estrogen Reseptor Modülatörleri)	
Östrojen Reseptör Beta Spesifik Ajanlar	

OKS: 6-12 ay boyunca, sürekli, düşük doz monofazik kombine OKS, günde bir hap olarak kullanılır.(59) Temel etki mekanizması “yalancı gebelik” oluşturmalarıdır. Histolojik olarak etkilerine bakıldığında endometrial implantların inaktif glandlarla birlikte desidual hücelere dönüşümüne neden olurlar. Tedavi sonrası gebelik şansı % 40-50 kadar tahmin edilmektedir.

Progestinler: Antiendometriotik etkileri, desidualizasyon ve atrofi sonucunda olmaktadır.(84) Hangi tip progestinin kullanılabileceği kesin olarak kanıtlanmamıştır ancak günümüzde en çok 30mgr/gün şeklinde Medroksiprogesteronasetat p.o kullanılmaktadır.(88) Yan etki olarak; sıvı retansiyonu, kilo alımı, kırılma kanamaları, depresyon en sık görülenlerdir.

Danazol: Yüksek androjen,düşük östrojen ortamı yaratır.İmmünolojik mekanizmaları da kullanarak etki ettiğine dair çalışmalar mevcuttur.(101) Günde iki kere 200 mg verilir ve semptomlara göre doz ayarlanır.Yan etki olarak; akne, hirsutizm, sıcak basmaları, sıvı retansiyonu, lipit değişiklikleri (LDL artar,HDL azalır.), seste kalınlaşma (non-reversible) gözlenebilir. KC hastalığı olanlarda kullanılmamalıdır.(104)

GnRH Analogları: Tonik FSH,LH reseptör uyarımı ile down-regulation ve Gonadotropinlerin azalması ile “yalancı menapoz” ortamı yaratarak etki ederler.(48) En iyi terapötik etkiyi 20-40 pgr/mlt E2 düzeylerinde gösterirler. Oral olarak inaktifirler bu yüzden IM,SC veya intranazal kullanılmalıdırlar.(66) Kullanım sırasında yan etki olarak; sıcak basması, vajinal kuruluk, libido azalması, osteoporoz (6 aylık kullanımda trabeküler kemikte %6- 8 kayıp gözlenir ve bu “add-back” östrojen tedavisi ile önlenir.) (73,113)

Aromataz inhibitörleri: Aromataz androjen→östrojen dönüşümünde rol alan enzimlerdir ve bunların inhibisyonu ile endometriotik odakların küçüldüğünü gösteren çeşitli çalışmalar vardır.(114,117) Anastrozole, Fadrozole hydrochloride, YM511 bu ajanlardan bazılarıdır.

Spesifik Östrojen Reseptör Modülatörleri: Bu grup ajanlardan özellikle

Raloksifen'in estrogen reseptör alfa antagonizması ile endometriotik odakları küçülttüğü düşünülmektedir, yine literatürde yapılmış çalışma bulunmamasına karşın Genistein'in estrogen reseptör beta uyarımı ile endometriotik odaklarda gerileme yapabileceği düşünülmektedir.(118)

Non-hormonal etkiler; Sitokinlerin modülasyonu (TNF-alfa, İnterferon-alfa2B, Loxoribine ve Levamisole), Antiinflamatuvar etki (Leukotriene receptor antagonists , Pentoxifylline ) ve matriks metaloproteinazlarının inhibisyonu üzerinde çalışılan ve endometrioziste etkili olabileceği düşünülen hormonal olmayan diğer yeni mekanizmalardır. (111,112,115,116,121-124,136)

Genel olarak, medikal ajanlarla bugüne kadar yapılan uygulamalar göstermiştir ki, medikal ajanlar tedavi edici değildir, infertilite üzerine olumlu etkileri yoktur ve genel olarak birbirlerine üstünlükleri yoktur.(127) Medikal tedavi sonrasında rekürrens oranları; yıllık:%5-20, 5 yıl sonra: %40, 7 yıl sonra:%56 dır.

Sonuç olarak şu an için cerrahi tedavi medikal tedaviden daha üstündür. Bu yüzden daha az yan etkili,daha efektif medikal ajanların arayışına devam edilmektedir.Ümit edilmektedir ki, yeni bulunan medikal ajanlar ile medikal tedavi sadece ağrının değil infertilitenin de tedavisinde kullanılacaktır.

## **B.Östrojen Reseptörleri:**

Östrojen Reseptörleri (ER) yaklaşık olarak sayısı 150 kadar olduğu tahmin edilen hormon-reseptör ailesi üyesidirler. İki tip östrojen reseptörü tanımlanmıştır: ER- $\alpha$  ve  $\beta$ .(137)

ER-  $\alpha$ ; Geni 6. kromozomun uzun kolunda bulunan ve moleküler ağırlığı 66000 olan, aminoasit dizininden oluşan proteindir. Yarı ömrü 4-7 saatir. Meme duktal epitelinde-kanser hücrelerinde, endometriumda ve over stromal hücrelerde en çok bulunan reseptör tipidir.

ER-  $\beta$ ; Geni 14. kromozomun kısa kolunda bulunan 485 aminoasit dizininden oluşan proteindir. Fonksiyonu ve yapısı ER-  $\alpha$ ' dan daha az bilinmektedir.Daha çok böbrek,intestinal sistem mukozası, akciğer parankimi, kemik iliği, kemik, beyin ve prostat bezinde tesbit edilmiştir.

Reseptörlerin moleküler yapıları temelde benzerlik gösterir.(Resim 2) Her iki

reseptörde 5 domain ve 6 alan (A-F) içerir. ER-  $\beta$  da düzenleyici domaindeki transkripsiyon

aktivasyon fonksiyon-I (TAF-I) bulunmamaktadır yada belirgin olarak modifiye olmuştur.

1. A/B alanı, Düzenleyici Domain; TAF-I içeren bölgedir. Bu bölge hormon reseptöre

bağlı olmadığı durumlarda da transkripsiyonu aktive edebilir.

2. C alanı, DNA- Bağlayan Domain; Molekülün orta kısmında bulunan 100 aminoasit

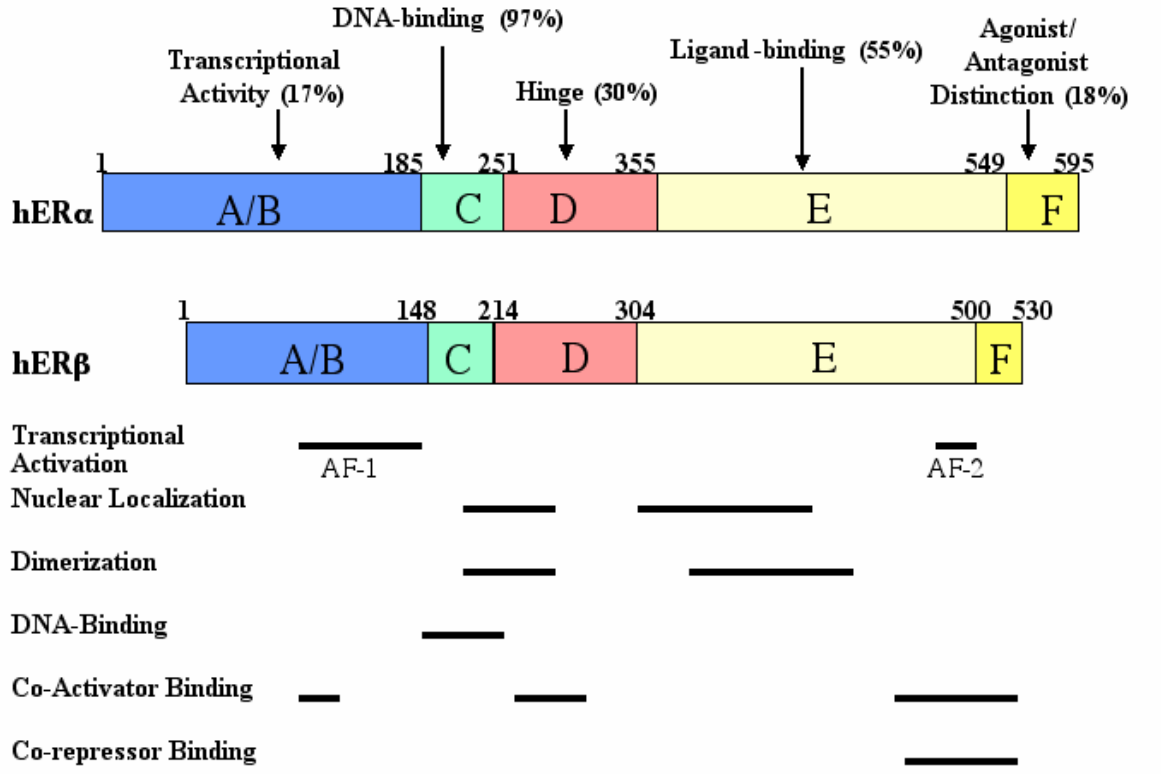
içeren domaindir. Ayrıca bu domainler “çinko parmaklar” ı içerir. Bu domain transkripsiyonun aktivasyonu için temel yerdir. Hormonun bu domaine bağlanması ile hedef gendeki hormona yanıtı sağlayacak olan elementlerin yapısal değişiklikleri başlar. Ayrıca bağlanan hormonun hücrede açığa çıkaracağı işlemlerin belirlenmesinde yani hormon-reseptör spesifitesinin belirlenmesinde bu domainde bulunan “çinko parmaklar”önemli rol oynar.

3. D alanı; Destek Domain; DNA bağlayan ve hormon bağlayan domainlerin arasında

olan domaindir. Reseptörün sentez sonrası çekirdekten stoplazmaya hareketinde ve uyarım sırasında rotasyon hareketlerinde önemli rol oynar.

4. E alanı; Hormon Bağlayan Domain ; Bu alan reseptör-hormon etkileşimini sağlandığı kısımdır. Ayrıca heatshock proteinlerde bu alana bağlanır. Heatshock proteinler bağlandığı zaman dimerizasyon ve reseptörün DNA ya bağlanması engellenir. Ayrıca bu domain transkripsiyon aktivasyon fonksiyon-II yi içerir (TAF-II). Ancak; TAF-II tam aktivite gösterebilmesi için TAF-I ‘in aksine hormon bağlanmasına bağımlıdır.

5 F alanı; Bu alan özellikle antiöstrojenlerin gendeki transkripsiyonu engellemeleri açısından önemlidir. Östrojen agonistleri aktivite için bu alana ihtiyaç duymazlar. Bu alan hem TAF-I hem de TAF-II nin aktivitesini engeller.



**Resim 2. Östrojen Reseptörleri alfa ve beta**

Reseptörlerin östrojenlere ve diğer maddelere olan afiniteleri aynı değildir. Aşağıdaki tablo da farklı moleküllere karşı olan reseptörlerin afiniteleri gösterilmiştir.

Farklı Moleküllerin ER-Alfa ve ER-Beta Bağlanma Afiniteleri;(140)

Molekül	ER-Alfa(%)	ER-Beta(%)
17-B estradiol....	100	100
17-Alfa estradiol...	58	11
Estron.....	60	37
Estriol.....	14	21
Genistein.....	4	87
Tamoxifen.....	4	3
Raloksifene.....	69	16
Daidzein.....	0,1	0,5

Östrojen reseptörlerinin farklı rollerini araştırmak için erkek ve dişi fareler kullanılarak yapılmış bir çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.(Tablo 2)

**Tablo 2**

<b>ER- <math>\alpha</math> geni eksilti miř fareler</b>	<b>ER- <math>\beta</math> geni eksilti miř fareler</b>
Normal yařam süresi	Normal yařam süresi
İnfertil erkek ve diřiler	Fertil erkekler, subfertil diřiler
Normal genitoüriner sistem geliřimi, fakat adölo san geliřim yok	Normal genitoüriner geliřim ve normal adölo san geliři
Ovulasyon yok	Ovulasyon normal
Pubertede meme geliřimi yok	Pubertede meme geliřimi normal

Sonuç; olarak reseptörler farklı dokularda bulunmalarına rağmen benzer moleküler yapıdadırlar ve akltivite mekanizmaları birbirlerine benzemektedir. Aktiviteleri için ortamda östrojen agonisti veya antagonisti maddeler olması gerekebileceği gibi herhangi bir ligand olmadan da aktivite gösterebilmektedirler.

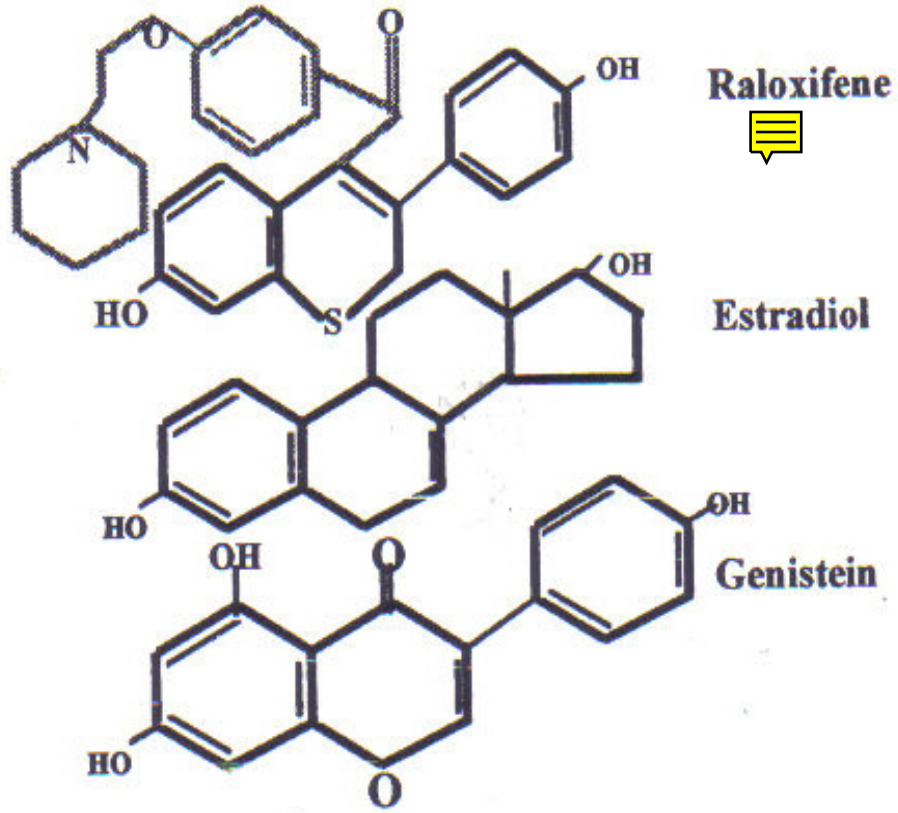


## C.SERM'ler:

SERM' ler (spesifik östrojen reseptör modölatörleri ), ortamdaki östrojen konsantrasyonuna bağlı olarak ER' leri üzerine farklı şekilde ortaya çıkan, agonistik ve antagonistik özellikler kazanabilen ajanlardır. Başka bir deyişle “ doku-seçici östrojen agonist-antagonist” leridir.

Kullanımları özellikle postmenapozal kadınlarda menapoz semptomlarını azaltmak için hormon replasman tedavisine alternatif yöntemler aranması sonucu artmıştır. Moleküler yapıları östrojenlere benzemektedir.(Resim 3 )

SERM' ler denildiğinde raloksifen, tamoksifen ve bitkilerde doğal olarak bulunan fitoöstrojenler (izoflavonlar-genistein- ve lignanlar ) akla gelmektedir.



**Resim 3.** Raloksifen, Östrojen ve Genistein' in moleküler yapısı

## **Raloksifen;**

Non-steroidal bir SERM dir. Özellikle postmenapozal osteoporozisin tedavisinde kullanılmaktadır. Benzothiopeene bileşigidir. ER-  $\beta$  ya göre, ER-  $\alpha$  ya çok daha yüksek afinitesi vardır ve genel etkisini ER-  $\alpha$  antagonizması ile gerçekleştirir.

Klinik olarak iskelet ve kardiyovasküler sistem üzerine östrojen benzeri etki yaparken uterus ve memede östrojen antagonisti özellikler gösterir. Lipidler üzerinde olumlu etkisi vardır.Endometriumda proliferasyon yapmaz. Bun olumlu etkilerine rağmen ne yazık ki postmenapozal sıcak basmalarını geriletmez. (134)

Overektomize ratlarda yapılan bir çalışmada 10 mg-kg/gün raloksifen verilen ratlarda femurun distal metafizinde kemik kaybında azalma ve serum kolesterol düzeylerinde %60-75 azalma görülmüştür. Histomorfometrik değerlendirmelerde aynı östrojende olduğu gibi özellikle kansellöz kemik rezorbisyonunda azalma yaptığı gözlenmiştir.

Spontan endometriozisi olan rhesus maymunlarında 10 mg-kg/gün raloksifenin 90 gün uygulanmasından sonra peritoneal kavitedeki endometrial odaklarda gerileme ve uterin volümde azalma gözlenmiştir.(177)

Östrojen bağımlı bir patoloji olduğu bilinen uterin fibroidlerle ilgili bir çalışmada, raloksifen tedavisi sonrasında, plasebo verilen gruba göre fibroidlerin boyutlarında anlamlı derecede gerileme gözlenmiştir. (178)

Ayrıca raloksifenin hücre kültürlerinde leiomyom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. (179)

## **Genistein;**

SERM sınıfında olan bitkisel östrojenlerden (phytoestrogens) dir. Bitkisel östrojenler; izoflavonlar ve lignanlardır. Bitkisel östrojenlerin temel kaynağı soyafasülyesi ve keten tohumudur. Genistein en potent izoflavondur ve ER-  $\beta$  spesifik agonisttir.

Dokuya spesifik östrojen agonist ve antagonist özellikleri vardır. Estradiolün yoğun olarak bulunduğu ortamlarda östrojen antagonisti gibi çalışır. Östrojen verilerek beslenmiş hayvanlarda genisteinin bir antagonist gibi davrandığı gözlenmiştir. Hayvan modellerinde ortamdaki östrojenin uterin tutulumunu azalttığı gösterilmiştir. Endometrial proliferasyon yapmaz. İn vitro ortamdaki özelliklerine bakıldığında antiöstrojen gibi aromataz aktivitesini azalttığı ve meme kanser hücrelerinde proliferasyonu engellediği gözlenmiştir. Yine bitkisel östrojenler ile beslenen kadınlarda serum seks hormon bağlayan globulin düzeylerinde artış gözlenmiştir.(Östrojenik aktivite) (141)

Postmenapozal kullanılan bitkisel östrojenlerin etkilerine bakacak olursak;

Epidemiyolojik ve coğrafi çalışmalarda Doğu Asyalı kadınların Batılı kadınlara oranla klimakterik semptomları ve hot-flushları daha az yaşadığı görülmüştür. Bunun Asyalı kadınların diyetlerinde yüksek miktarda bitkisel östrojen bulunmasına bağlanmıştır. Yine Japon kadınlarda batılılara oranla hormon bağımlı jinekolojik kanserler daha az görülmektedir ve Japon kadınlarında meme kanseri oranı çok düşüktür. Yapılan bir çalışmada bitkisel östrojen verilen grubun menapoz semptomları skoru (özellikle hot-flushlar ve vajinal kuruluk ) kontrol grubuna göre daha az gözlenmiş ve seks hormon bağlayan globulin düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli miktarda yükseklik saptanmıştır.(142)

Bitkisel östrojenler postmenapozal kadınlarda osteoporozu önlemektedir. Genistein'in kemik üzerinde pleotrofik etkisi vardır. Çalışmalarda primitif mezenşimal hücrede preosteoblast diferansiyasyonunu indüklediği ve daha ileri aşamalarda da osteoklastları inhibe ettiği gözlenmiştir. Kardiyovasküler sistem (KVS) üzerinde de önemli pozitif etkileri vardır. Bitkisel östrojenler total kolesterol, LDL ve trigliseridlerin serum düzeyini azaltırken HDL serum miktarını arttırarak ateroprotektif ve kardiyoprotektif etki yaparlar.

## **III. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM:**

### **Araştırma yeri ve ortamı:**

Bu çalışma ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 35 adet Wistar-Albino dişi rat kullanılarak Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Hayvanlar çalışmaya başlamadan 1 hafta önce araştırma merkezine getirilerek sıcaklığı sabit (22°C) , 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.

### **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 Merkezi'ne bağlı hayvan üreme çiftliğinden temin edildi.

### **Anestezi:**

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

### **Araştırma Grupları:**

Deneysel çalışma, ratlarda laparotomi ile endometrial implantlar oluşturulduktan ve haftalık bekleme sonrasında kontrol laparotomilerinde endometrial implant odaklarının başarılı biçimde olduğu tesbit edilip, randomize seçilen 3 grup üzerinde yapıldı.

Grup I: Kontrol grubu

Grup II: Raloksifen (10 mg/kg/gün-p.o)

Grup III: Genistein (500 mg/kg/gün-p.o)

## **Araştırma Parametreleri ve Yöntemi:**

### **Laparotomi Modeli:**

Araştırma için işlemler üç aşamada yapıldı;

#### **1. Aşama;**

Araştırmaya 35 rat ile başlandı. Ratların tamamına ilk işlem sırasında %10 povidone iodin solüsyonu kullanılarak cilt antisepsisi sağlandı. Bütün ratlarda 50mg/kg ketamin HCl ve 5-7 mg/kg xylazin HCl aseptik şartlarda intraperitoneal verilerek anestezi sağlandı.

Laparotomi ile 5 cm alt ortahat insizyonu ( Resim 4 ) yapıldıktan sonra uterin horn uterotubal junction ve servikal bölge arasından tutulup kesilerek ( Resim 5 ) uzaklaştırıldı ve alınan dokudan endometrium disseke edilerek salin solusyona yerleştirildi.

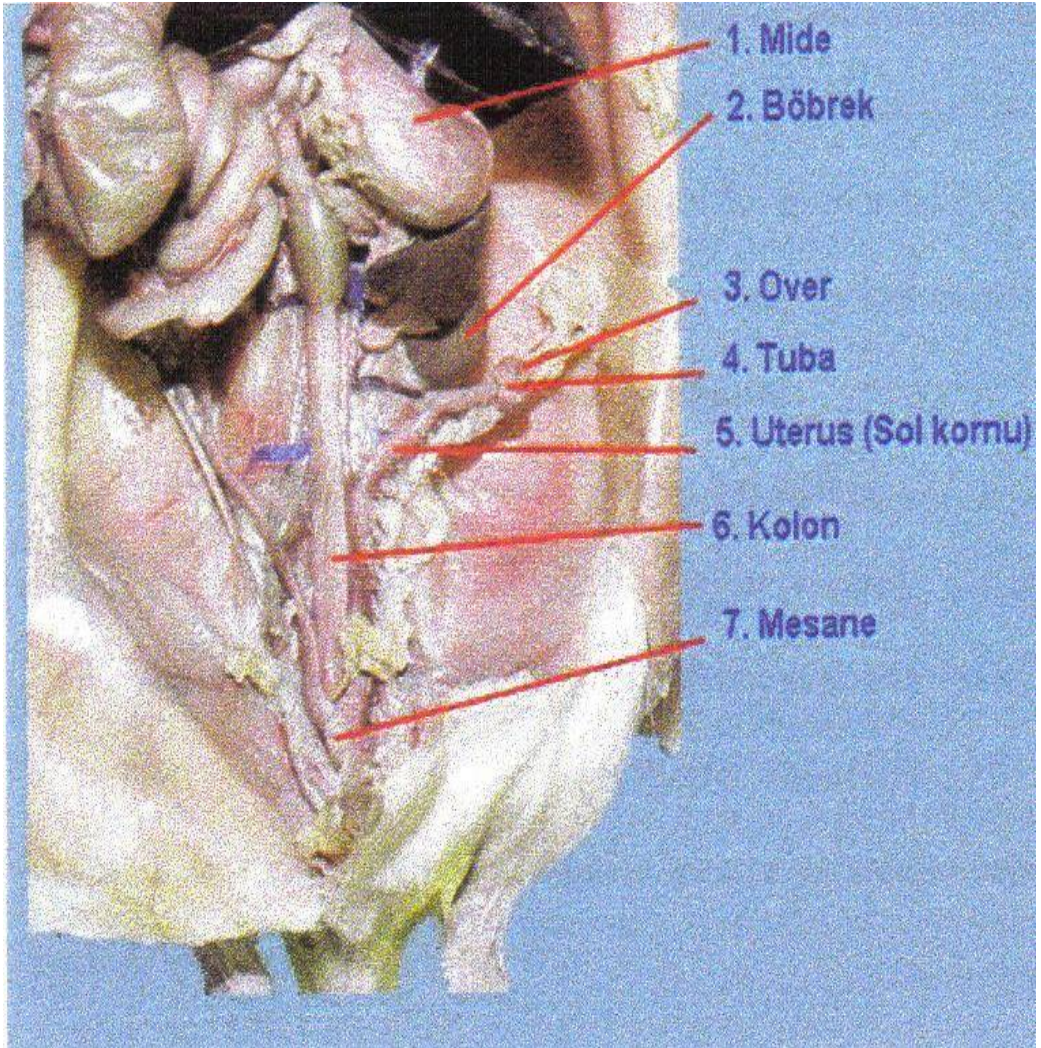
Takiben batın ön duvarı peritonuna vaskülarizasyonun yoğun gözlendiği alanlara endometrial doku (ortalama 30 mm<sup>2</sup>) 7/0 ipek sutur ile tutturuldu. Batın ön duvarı iki tabaka halinde ve cilt sırası ile vicryl 3/0, kromik katgut 3/0 kullanılarak kapatıldı. Tüm operasyonlar standart şekilde tek bir araştırmacı (E.Y) tarafından uygulandı.



**Resim 4.** Laparotomi modeli

## 2. Aşama;

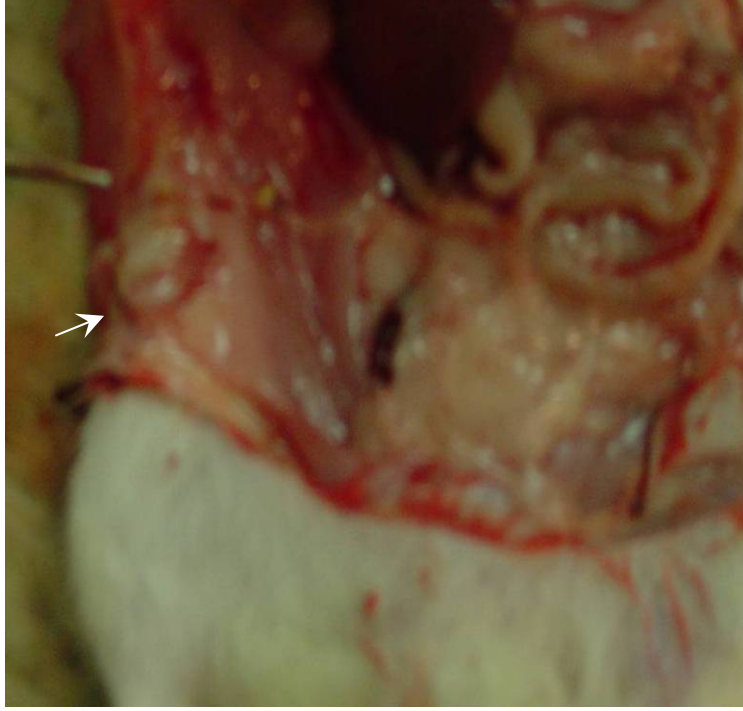
Tüm ratlar 3 hafta boyunca sadece günlük besinlerini alacak şekilde ek bir ilaç verilmeden takip edildi. 3 haftalık takip sırasında 2 rat bilinmeyen bir nedenle eksitus oldu.



**Resim 5.** Dişi ratın ürogenital sistemi

3 haftalık takip süresi sonrası bütün ratlara endometrial implantların durumlarını gözlemek ve implantların alanlarının ölçümlerini yapmak üzere ikinci laparotomi işlemi

aynı yöntemler ile uygulandı. İşlem sırasında endometrial imlantların başarı ile oluştuğu gözlendi ( Resim 6 ) ve odakların çapları metrik cetvel ile mikroskop altında ölçülerek alanları mm<sup>2</sup> cinsinden tek tek not edildi.



**Resim 6.** Kontrolde periton implantı görünümü (beyaz ok )



### 3. Aşama;

Ölçüm işlemleri sonrası ratlar batınları aynı şekilde kapatılarak 3 günlük dinlenme süresi verildi; bu işlemler sonrası ve sonrasında ratlarda eksitus olmadı. Dinlenme süresinin ardından

33 rat; 13 adet kontrol grubu, 10 adet Raloksifen verilecek grup, 10 adet Genistein verilecek grup olacak şekilde randomize olarak seçildi ve ayrı kafeslere alındı.

21 gün boyunca kontrol grubu sadece günlük su ve yemleri ile beslenirken; raloksifen alan gruba ek olarak 10mg/kg/gün olacak şekilde raloksifen ve genistein alan gruba 500 mg/kg/gün olacak şekilde genistein orogastrik sonda ile verildi. 3 haftalık bu besleme işlemi sırasında ratlarda bir problem gözlenmedi ve sonrasında üçüncü laparotomi işlemi yapıldı. İşlem sırasında odaklar makroskopik olarak gözlemlendi ve her gruptaki odakların çapları tek tek ölçülerek not edildi. (Resim 7,8,9).

Takiben endometrial implantlar eksize edilerek histolojik inceleme yapılmak üzere %10 formalin solüsyon ile tesbit edildi. Formalin ile tesbit edilmiş endometriotik odaklardan yaklaşık 5 mikrometre kalınlıkta olan kesitler alındı (her örnekten dört kesit). Örnekler Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi. İncelemede endometrial tabakanın devamlılığı göz önünde bulundurularak skorlama yapıldı.

#### Tablo 3

Skorlama;

Skor 3: İyi korunmuş epitelyal tabaka.

Skor 2: Orta derecede korunmuş epitelyal tabaka (lökosit infiltrasyonlu epitel).

Skor 1: Kötü korunmuş epitel tabaka (seyrek epitel hücreleri).

Skor 0: Epitel hücresi yok.

Bu skorlama ve değerlendirme daha önceki endometriozis çalışmaları temel alınarak yapılmıştır(139)



### **İstatiksel Analiz:**

Araştırma bulgularının istatiksel analizi “SPSS for windows release 13.0” programı ile yapılmıştır. Gruplar arası farklılıklar için “Kruskal-Wallis” ve “Mann-Whitney U” testleri kullanılmıştır.  $P < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

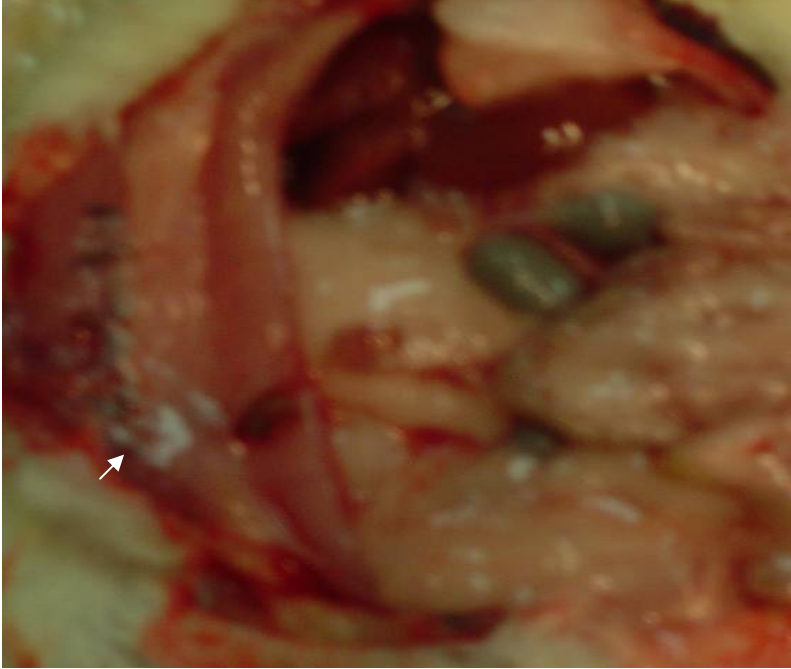
### **IV. SONUÇLAR**

Endometriozis odaklarının kontrolü için yapılan ikinci laparotomi sırasındaki odakların boyutlarını üç grup arasında karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark gözlenmedi.

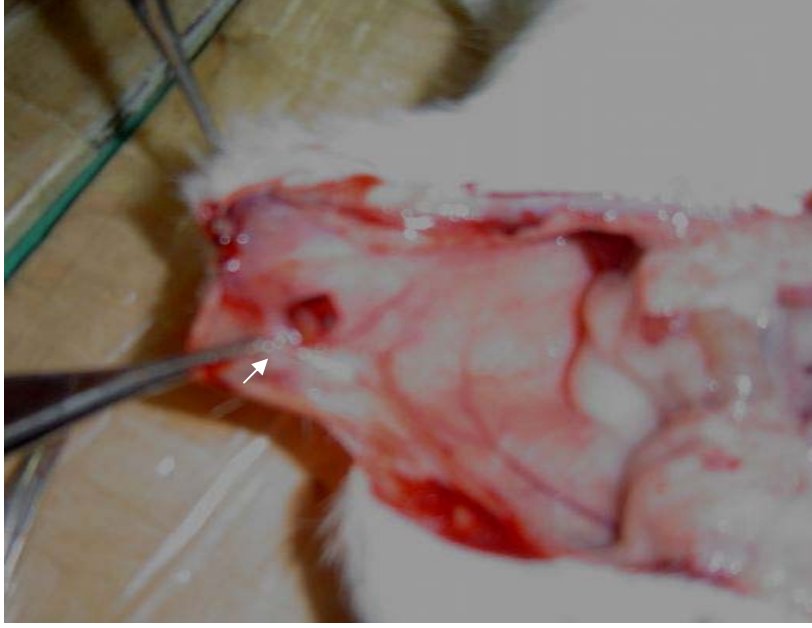
Kontrol grubunda ikinci ve üçüncü laparotomideki implantların boyutları arasında anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlenirken, raloksifen ve genistein verilen gruplarda ise implantların boyutlarında anlamlı derece küçülme olduğu gözlemlendi.(Tablo 4, Grafik 1)



**Resim 7.** Kontrol grubu



**Resim 8.** Raloksifen alan grup



**Resim 9.** Genistein alan grup

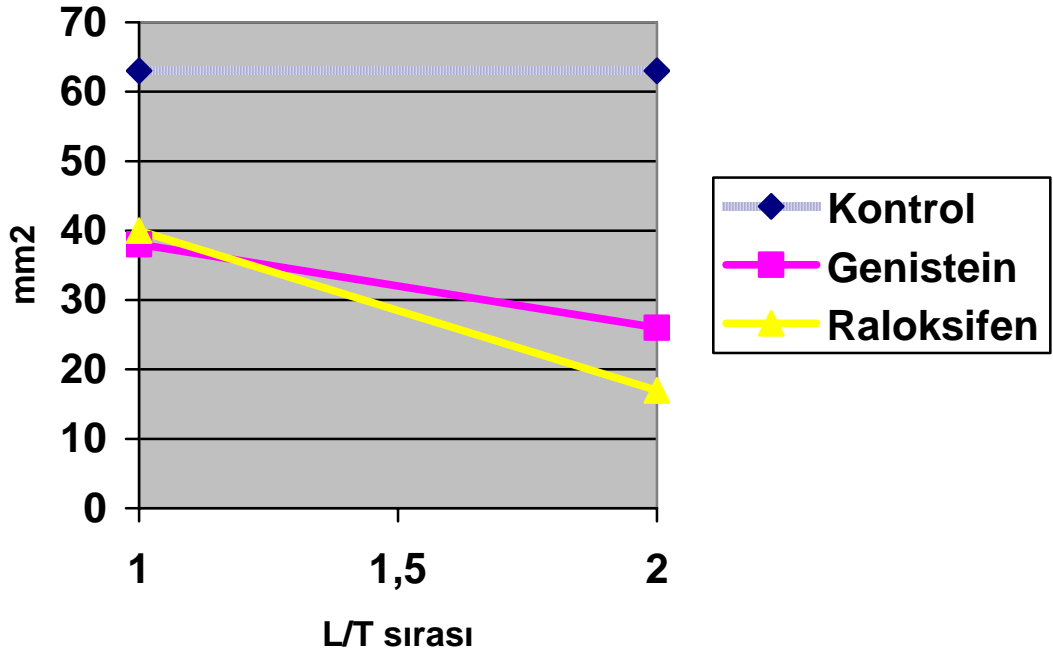
Gruplar	II. Laparotomi(mm <sup>2</sup> )	III. Laparotomi(mm <sup>2</sup> )	P***
Kontrol	35,63 ± 7,35	36,63 ± 5,86	0,6
Genistein	38,11 ± 7,52	26,22 ± 5,09	0,05
Raloksifen	40 ± 9,17	17,6 ± 4,52	0,001

**Tablo 4**

\* İlaçlar verilmeden önceki kontrol laparotomisi

\*\* İlaçlar verildikten sonraki kontrol laparotomisi

\*\*\* P< 0,05



**Grafik 1:** İlaç verilmesi öncesi-sonrası odaklardaki boyut değişikliklerinin figürasyonu

Odak alanları açısından gruplar arası karşılaştırma yaptığımızda ise; raloksifen ve genistein verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede küçülme gözlenirken raloksifen verilen gruptaki küçülme genistein verilen gruptan daha anlamlı gözlenmiştir.(Tablo 5)

Karşılaştırılan Gruplar	P
Kontrol- Raloksifen	0,001
Kontrol- Genistein	0,001
Raloksifen- Genistein	0,002

**Tablo 5**

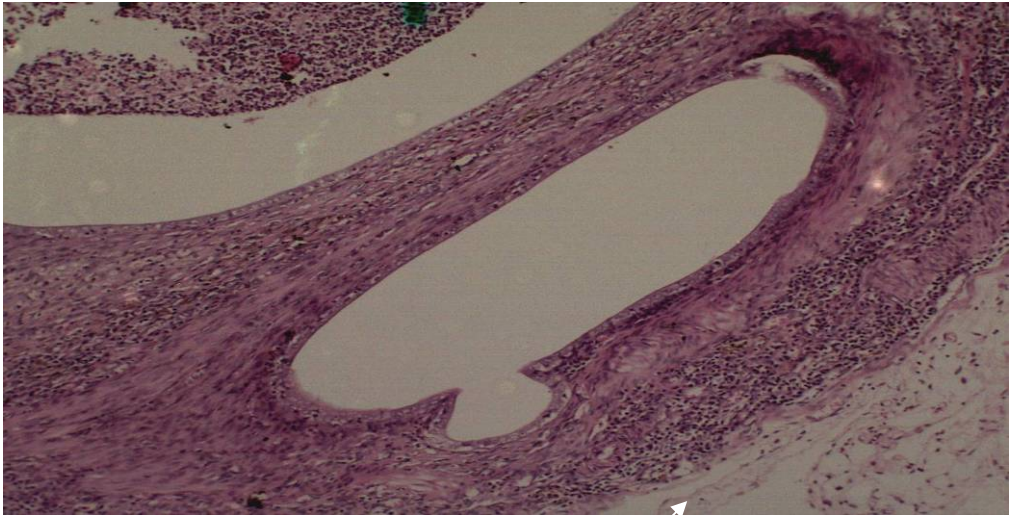
### **Histolojik inceleme:**

Kontrol grubundaki odakların çoğunda epitelyal tabakanın korunduğu gözlemlendi.(Resim 10) 5 rat skor 3, 2 rat skor 2 ve 2 ratta skor 1 aldılar. ( $2,23 \pm 0,86$ ) Kontrol grubundaki örneklerden 2'sinde yabancı cisim reaksiyonu gözlemlendiği için çalışmadan çıkarıldı.

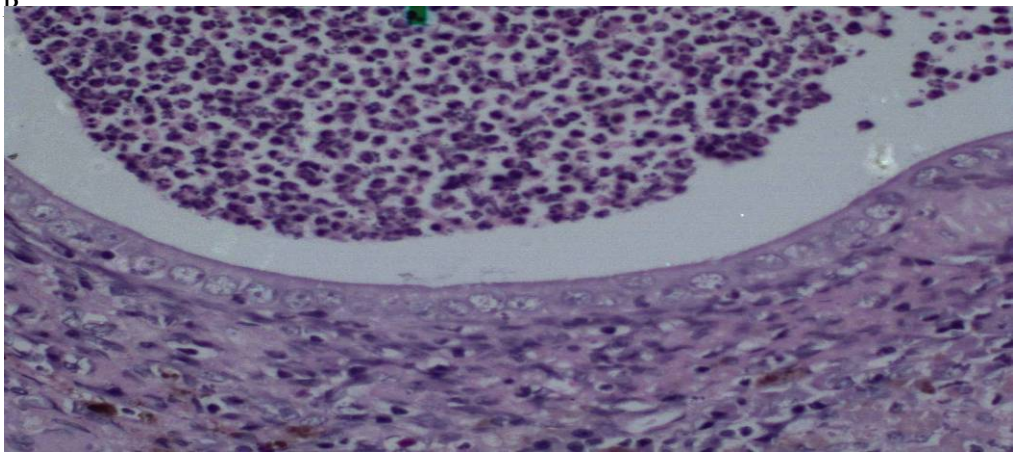
Raloksifen verilen grupta; 1 rat skor 3 alırken, 2'si skor 2, 5' i skor 1 ve 2 si de skor 0 almıştır.(Resim 11) ( $1,20 \pm 0,91$ )

Genistein verilen gruba baktığımızda ratlardan 2' si skor 3 , 3'ü skor 1 ve 4' ü de skor 0 almışlardır.(Resim 12) ( $1,0 \pm 1,2$ )

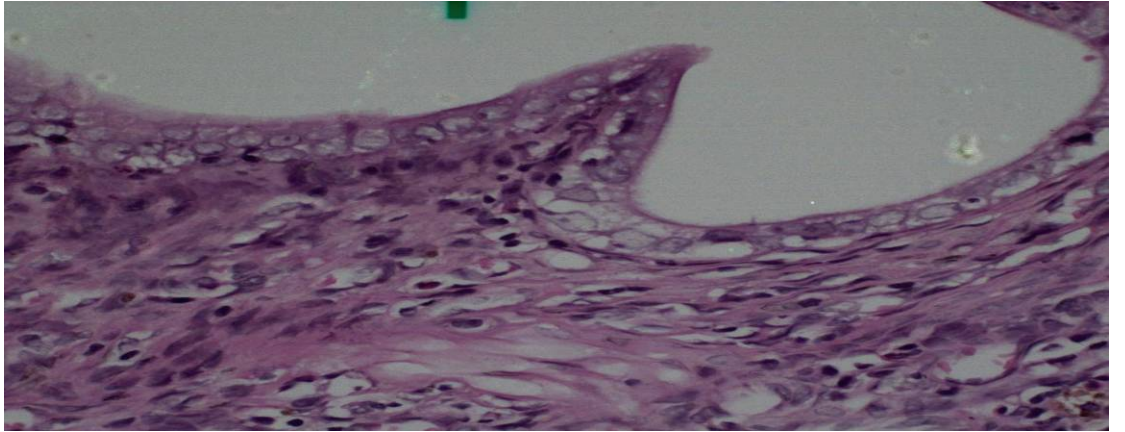
Raloksifen ve genistein verilen gruplarda ki endometriotik odaklar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin derecede düşük skor aldıkları gözlenirken, raloksifen ve genistein alan grupların ortalama skorları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.(Tablo 6)



**Resim 10.**Kontrol Grubu (Korunmuş epitel sırası)



**Resim 11.**Genistein Grubu



**Resim 12.** Raloksifen Grubu

Skorları Karşılaştırılan Gruplar	P
-------------------------------------	---

Kontrol-Raloksifen	0,019
Kontrol-Genistein	0,023
Raloksifen-Genistein	0,462

**Tablo 6**

## V. TARTIŞMA:

Klasik olarak endometriozisin medikal tedavisinde amaç endojen östrojen miktarını veya etkinliğini azaltmak ve böylelikle endometrial epitel hücrelerindeki proliferasyonu önlemektir. Bunun sebeple progesteron, danazol, oral kontraseptifler ve GnRH analogları uzun zamandır kullanılmakta ve bunların hem ağrı üzerine hem de odakların boyutlarını küçültme üzerine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Ancak yine bilinmektedir ki, kullanılan bu ajanların yan etkileri uzun süreli kullanımlarını kısıtlamakta ve infertilite üzerinede olumlu etkileri olmamaktadır. Bundan dolayı yan etkileri daha az olan ve infertilite üzerine negatif etkileri olmayan ajanların aranmasına başlanılmıştır. Son zamanlarda etkinliği araştırılan yeni ajanlar arasında; aromataz inhibitörleri, SERM'ler (Spesifik Estrogen Reseptör Modülatörleri), Östrojen Reseptör Beta spesifik ajanlar, sitokin modülatörleri, antiinflamatuvarlar ve matriks metaloproteinaz inhibitörleri özellikle dikkat çekmektedirler.

Literatüre baktığımızda, ratlar endometriozis modeli oluşturulmasında uygun hayvanlardır. Otolog endometrial parçalar ototransplantasyon ile peritoneal kavitelere implante edilmiş ve insanlardakine benzer endometriozis odakları oluşturulmuştur. Böylelikle bu modellerde hem endometriozisin patofizyolojisi hakkında bilgi edinilmekte, hem de yeni tedavi ajanlarının etkinliği sağlıklı biçimde değerlendirilebilmektedir.

Bizim çalışmamızda da açıkça gösterildiği gibi raloksifen ve genistein rat modellerindeki endometriotik odakların gerilemesine neden olmaktadır.

Raloksifen ve Genistein bu etkilerini muhtemelen östrojen reseptörleri üzerine direk etki ile göstermektedirler. Zira bu hayvanlar oofektomize değil, ve östrojenik



kalmışlardır.

Çalışmalarda raloksifenin ER-  $\alpha$  afinitesinin daha yüksek olduğu ve kemik-kardiyovasküler sistemde bu reseptörlere bağlanmanın östrojenik etkilere neden olduğu gözlenirken, endometrium ve memede bulunan alfa reseptörlere bağlanmanın östrojen antagonisti etkileri açığa çıkardığı gösterilmiştir. (156)

Yao Z. ve ark. yaptıkları çalışmada ratlarda oluşturulan cerrahi endometriozis modeli sonrası 10 mg/kg raloksifen verilmesi ile odakların çaplarında belirgin derecede küçülme olduğunu göstermişlerdir.(177)

Raloksifenin endometriotik odaklarda ER-  $\alpha$  antagonizması ile endojen östrojenin uyarıcı etkisini bloke etmesinin yanısıra immünmodülatör etki ile de odaklarda gerilemeye neden olduğu düşünülmektedir. Yine yapılan çalışmalarda ER-  $\alpha$  antagonistliğinin immün reaksiyonların gelişimini baskıladığı gösterilmiştir.MC Erlandsson ve ark. ER-  $\alpha$  da oluşturulan delesyon sonucunda timus ve dalak gibi immün sisteme ait organlarda hipoplazi ve T lenfosit immün hücrelerde matürasyon bozukluğu olduğunu göstermişlerdir.(144,153)

Esposito E. ve ark. yaptıkları çalışmalarında, ratlarda indüklenen akut inflamatuvar olayın raloksifen verilmesinden sonra gerilediği ve inflamasyon alanında özellikle polimorfonükleer lökositlerin migrasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etki yaptığı gözlenmiştir.(159)

Genistein, etkisini ER-  $\beta$  uyarımı ile göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda ER-  $\beta$  uyarılması sonucunda bulunduğu dokuda antiöstrojenik etkiler gözlenmiştir.(138) Ayrıca genisteininde raloksifende olduğu gibi sadece östrojen reseptörleri üzerinden değil, aynı zamanda immünolojik olayları da etkileyerek endometriotik odaklarda regresyona neden olduğu düşünülmektedir.(141)

Erlandsson MC. ve ark. yaptıkları bir çalışmada genistein verilen farelerde, endojen östrojenin antagonizması sonucunda, uteruslarının ağırlıklarında azalma saptanmıştır.(170)

Yellavi S. ve ark. nın çalışmalarında genistein verilen overektomize farelerde timus ve dalak gibi lenfoid sisteme ait organlarda atrofi gözlenmiş ve yine raloksifende

gözlenen etkilere benzer şekilde T lenfosit matürasyonunda bozukluklar saptanmıştır. Ayrıca genistein verilen farelerde sistemik lenfositopeni ve humoral immünitede baskılanma gözlenmiştir.(152)

Özellikle menapoz semptomları, osteoporozu olan hastalarda yaygın biçimde kullanılan ve genel olarak östrojenlerin birçok pozitif etkilerine sahip olan bu ajanların endometriozisin medikal tedavisinde alternatif ajanlar olacakları son derece açıktır.

Tabii ki çalışmaların insan çalışmaları ile tamamlanması ve özellikle bizim de çalışmamızda değerlendirmedığımız ilacı bıraktıktan sonraki rekürrens oranları ve süresi hakkında bilgi sahibi olmamız gerekmektedir. Ayrıca ajanların infertilite üzerine olumlu veya olumsuz etkileri hakkında bilgimiz bulunmamaktadır. Gelecek yıllarda yapılacak çalışmalar sonucunda soru işaretlerinin azalacağını ve kullanım alanların genişleyeceğini ümit ediyoruz.

Sonuç olarak, günümüzde endometriozis medikal tedavisinde kullanılan ajanların yan etkilerinin çokluğundan ve uzun süre kullanımlarının kısıtlı olmasından dolayı raloksifen ve genistein gibi SERM grubu ajanların önemi artacaktır.

## **VI. ÖZET**

Endometriozis endometrial bezlerin ve stromanın ekstrauterin ortamdaki mevcudiyetidir.

Genel olarak östrojen bağımlı bir hastalıktır.

İnsidansı kesin olarak belli olmamakla birlikte;infertilite hastalarında %25-35, reproduktif yaştaki kadınlarda %3-10,dismenoreli kadınlarda %40-60 kadar görülmektedir.Tanı anındaki yaş ortalaması 25-30 dur.

Endometriozisin kesin nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen oluşumunu açıklamaya yönelik bazı teori ve risk faktörleri tanımlanmıştır. Transport (metastaz), çöломik metaplazi, indüksiyon gibi teoriler ile immünolojik faktörler, genetik faktörler ve çevresel faktörler bunlardan en önemlileridir.

Endometriozisli kadınların bazıları asemptomatik olsalar da sıklıkla pelvik ağrı (dismenore, disparanue) veya infertilite problemi ile doktora başvurduklarında tesbit

edilirler. Ayrıca endometriotik odaklar pelvis dışındaki alanlarda da bulunabileceği için bulunduğu dokuya özgü semptomlarda ortaya çıkabilmektedir. GIS' de (kolon-rektum) sıklık kanama, ağrı konstipasyon, üriner sistem' de hematüri, yan ağrısı, pulmoner sistem' de (Ekstra periton-plevra) hemoptizi, pnömotoraks... gibi.

İnfertilite hastalığının neden olduğu önemli bir problemdir. İnfertilite tuba-over anatomik ilişkisinin bozulması sonucu olabildiği gibi anatomik bozukluk olmaksızın çeşitli mekanizmalarla da (immünolojik mekanizmalar ) ortaya çıkabilmektedir

Laparoskopi; kesin tanı için gold-standart yöntemdir. Laparoskopi anında şüpheli alanlardan biyopsi alınarak patolojik tanı konmalıdır. Laparoskopi görünümü çok çeşitlidir. Bu çeşitliliğe neden olan gland-stroma oranı, skarlaşma, lezyon içine kanama, hemosiderin miktarı gibi antitelere dir.

Tedavide genel amaç; semptomları başarılı bir şekilde tedavi etmek ve hastalığı başarılı bir şekilde tedavi etmek olarak düşünülebilir. Ayrıca zaman kaybetmeden tanı konur konmaz tedaviye başlanmalıdır. Günümüzde elimizdeki tedavi modaliteleri medikal tedavi, cerrahi tedavi ve medikal-cerrahi tedavinin birlikte uygulanması gibi yöntemlerdir. Cerrahi tedavide semptoma yönelik yöntemler olarak LUNA, Presakral Nevrektomi gibi operasyonlar yapılabildiği gibi daha sık olarak L/S veya L/T ( şiddetli endometriozis ) tercih edilmektedir.

Klasik olarak kullanılan hormonal etkili ajanlar dışında farklı mekanizmalar üzerinden etki gösteren ve yan etkilerinin daha az olacağı düşünülen birçok yeni ajan denenmektedir. Bunlardan bazıları ; Sitokin modülatörleri (TNF-alfa, İnterferon-alfa2B, Loxoribine ve Levamizole), Antiinflamatuvar etkili ajanlar (Leukotriene receptor antagonists ,Pentoxifylline ) ve matriks metaloproteinazlarının inhibisyonu ile etki yapan ajanlar gibi ajanlardır. Bizde çalışmamızda farklı etki mekanizmalarını kullanarak etki edebileceğini düşündüğümüz SERM grubu ajanları kullandık.

Deneysel çalışma herbiri laparotomi ile endometrial eksplantları oluşturulan ve 3 haftalık bekleme sonrasında kontrol laparotomide endometrial eksplant odaklarının başarılı biçimde olduğu tesbit edilen 33 raktan randomize seçilen 3 grup üzerinde yapıldı. Gruplar kontrol grubu, Raloksifen verilen grup ve genistein verilen grup olacak şekilde oluşturuldu. Takiben 6 haftalık yönetim sonrasında çalışma sonlandırıldı.

Bulgulara bakıldığı zaman raloksifen verilen grupta daha belirgin olmak üzere her iki

ilaç verilen grupta da eksplantların alanlarında, kontrol grubuna göre belirgin gerileme vardı.

Histolojik inceleme de ise hem raloksifenin hem de genisteinin endometrial alanlarda gerileme ve endometriotik odakların tipik histolojik görünümünün bozulduğu tesbit edildi.(Daha düşük skorlar )

Her iki ajanda temel etkilerini direk östrojen reseptörlerine bağlanarak göstermeleri ile beraber, immünolojik olayları etkileyerekte pozitif etkilerini potansiyelize ettiklerini düşünmekteyiz.

## **KAYNAKLAR:**

1. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the pelvic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:422-469.
2. Haney AF. Endometriosis: pathogenesis and pathophysiology. In: Wilson EA, ed. *Endometriosis*. New York: AR Liss, 1987:23-51.
3. Liu DTY, Hitchcock A. Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynecol* 1986;93:859-862.
4. Simpson JL, Elias S, Malinak LR, et al. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetics studies. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:327-331.
5. Moen MH, Magnus P. The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993;72:560-564.
6. Treloar SA, O'Connor DT, O'Connor VM, et al. Genetic influences on endometriosis in an Australian twin sample. *Fertil Steril* 1999;71:701-710.
7. Hadfield RM, Mardon HJ, Barlow DH, et al. Endometriosis in monozygotic twins. *Fertil Steril* 1997;68:941-94
8. Simpson JL, Malinak LR, Elias S, et al. HLA associations in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:395-397.
9. Moen M, Bratlie A, Moen T. Distribution of HLA-antigens among patients with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1984;123:25-27
10. Misao R, Sun WS, Iwagaki S, et al. Identification of various exon-deleted progesterone-receptor mRNAs in human endometrium and ovarian endometriosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252:302-306
11. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol* 1987;69:412-415.
12. Pinsonneault O, Goldstein DP. Obstructing malformations of the uterus and vagina. *Fertil Steril* 1985;44:241-247.
13. D'Hooghe TM, Bambra CS, Suleman MA, et al. Development of a model of retrograde menstruation in baboons (*Papio anubis*). *Fertil Steril* 1994;62:635-638.
14. Levander G, Normann P. The pathogenesis of endometriosis: an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1955;34:366-398
15. Moen MH, Magnus P. The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993;72:560-564.
16. Hadfield RM, Mardon HJ, Barlow DH, et al. Endometriosis in monozygotic twins.

Fertil Steril 1997;68:941-942.

17. Thomas EJ, Campbell IG. Molecular genetic defects in endometriosis. *Gy Raloksifen Grub Obstet Invest Suppl* 2000;50:44-50.
18. Georgiou I, Syrrou M, Bouba I, et al. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with endometriosis. *Fertil Steril* 1999;72:164-166
19. Barlow DH, Glynn CJ. Endometriosis and pelvic pain. *Baillieres Clin Obstet Gynecol* 1993;7:775-790.
20. Anaf V, Simon Ph, El Nakadi I, et al. Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules. *Hum Reprorf2000a*;15:1744- 1750.
21. American Fertility Society. Revised American Fertility Society Classification of Endometriosis. *Fertil Steril* 1985;43:351-352.
22. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, et al. A prospective controlled study over 2 years shows anormal monthly fertility rate (MFR) in baboons with stage I endometriosis and a decreased MFR in primateswith stage II-IV disease. *Fertil Steril* 1994;5[Suppl]:l-113.
23. Haney AF. Endometriosis-associated infertility. *Baillieres Clin Obstet Gynecol* 1993;7:791-812.
24. D'Hooghe TM, Hill JA. Immunobiology of endometriosis. In: Bronson RA, Alexander NJ, Anders DJ, et al, eds. *Immunology of reproduction*. Blackwell Science, 1996;322-358.
25. Arici A. Local cytokines in endometrial tissue: the role of interleukin-8 in the pathogenesis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*.2002 Mar;955:101-9; discussion 118, 396-406.
26. Glden Halis and Arıcı Endometriosis and Inflammation in Infertility *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1034: 300–315 (2004).
27. Koninckx PR, Oosterlynck D, D'Hooghe TM, et al. Deeply infiltrating endometriosis is a disease whereas mild endometriosis could be considered a non-disease. *Ann N Y Acad Sci* 1994;734:333-341.
28. Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, et al. Diagnosis of deep endometriosis By clinical examination during menstruation and plasma CA 125 concentration. *Fertil Steril* 1996;65:280-287.
29. McBean JH, Gibson M, Brumsted JR. The association of intrauterine filling defects on HSG with endometriosis. *Fertil Steril* 1996;66:522-526.
30. Guerriero S, Paoletti AM, Mais V, et al. Transvaginal ultrasonography combined with CA125 plasma levels in the diagnosis of endometrioma. *Fertil Steril* 1996;65:293-298.
31. Fedele L, Bianchi S, Portuese A, et al. Transrectal ultrasonography in the

- assessment of rectovaginal endometriosis. *Obstet Gynecol* 1998;91:444-448.
32. Calhaz-Jorge C, Mol BW, Nunes J, Costa AP. Clinical predictive factors for endometriosis in a Portuguese infertile population. *Hum Reprod* 2004;19:2126-31.
  33. Wolfler MM, Nagele F, Kolbus A, Seidl S, Schneider B, Huber JC, et al. A predictive model for endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20:1702-8.
  34. Hassa H, Tanir HM, Uray M. Symptom distribution among infertile and fertile endometriosis cases with different stages and localisations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Mar 1;119(1):82-6.
  35. Pittaway DE, Fayeze JA. Serum CA125 levels increase during menses. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156: 75-76.
  36. Masahashi T, Matsuzawa K, Ohsawa M, et al. Serum CA125 levels in patients with endometriosis: changes in CA125 levels during menstruation. *Obstet Gynecol* 1988;72:328-331.
  37. O'Shaughnessy A, Check JH, Nowroozi K, et al. CA125 levels measured in different phases of the menstrual cycle in screening for endometriosis. *Obstet Gynecol* 1993;81:99-103.
  38. Pittaway DE, Douglas JW. Serum CA125 in women with endometriosis and chronic pain. *Fertil Steril* 1989;51:68-70.
  39. Mol BWJ, Bayram N, Lijmer JG, et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998;70:1101-1108.
  40. Dawood MY, Khan-Dawood FS, Wilson L Jr. Peritoneal fluid prostaglandins and prostanoids in women with endometriosis, chronic pelvic inflammatory disease, and pelvic pain. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:391-395.
  41. Vasquez G, Cornillie F, Brosens IA. Peritoneal endometriosis: scanning electron microscopy and histology of minimal pelvic endometriotic lesions. *Fertil Steril* 1984;42:696-703.
  42. PM, et al. 150. Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1407-1413.
  43. Czernobilsky B. Endometriosis. In: Fox H, ed. *Obstetrical and gynecological pathology*. New York: Churchill Livingstone, 1987:763-777.
  44. Nisolle M, Casanas-Roux F, Anaf V, et al. Morphometric study of the stromal vascularization in peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 1993;59:681-684.
  45. Anaf V, Simon Ph, Fayt I, et al. Smooth muscles are frequent components of endometriotic lesions. *Hum Reprod* 2000; 15:767-771.
  46. Wardle PG, Hull MGR. Is endometriosis a disease? *Baillieres C/in Obstet Gynecol* 1993;7:673-685.

47. Murphy AA, Green WR, Bobbie D, et al. Unsuspected endometriosis documented by scanning electron microscopy in visually normal peritoneum. *Fertil Steril* 1986;46:522-524.
48. Steingold KA, Cedars M, Lu JKH, et al. Treatment of endometriosis with a long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist. *Obstet Gynecol* 1987;69:403-411.
49. Nezhat F, Allan CJ, Nezhat F, et al. Nonvisualized endometriosis at laparoscopy. *Int J Fertil* 1991 ;36:340-343.
50. Thomas EJ, Cooke ID. Impact of gestrinone on the course of asymptomatic endometriosis. *BMJ* 1987;294:272-274.
51. Mahmood TA, Templeton A. The impact of treatment on the natural history of endometriosis. *Hum Reprod* 1990;5:965-970.
52. Barbieri RL. Primary gonadotropin-releasing hormone agonist therapy for suspected endometriosis: a nonsurgical approach to the diagnosis and treatment of chronic pelvic pain. *Am J Manag Care*. 1997 Feb;3(2):285-90. Review
53. D'Hooghe TM, Bambra CS, Isahakia M, et al. Evolution of spontaneous endometriosis in the baboon (*Papio anubis*, *Papio cynocephalus*) over a 12-month period. *Fertil Steril* 1992;58:409-412.
54. Redwine DB. Age-related evolution in color appearance of endometriosis. *Fertil Steril* 1987;48:1062-1063.
55. Wiegierinck MAHM, Van Dop PA, Brosens IA. The staging of peritoneal endometriosis by the type of active lesion in addition to the revised American Fertility Society classification. *Fertil Steril* 1993;60: 461-64.
56. Hanton EM, Malkasian GD Jr, Dockerty MB, et al. Endometriosis associated with complete or partial obstruction of menstrual egress. *Obstet Gynecol* 1966;28:626-629.
57. McArthur JW, Ulfelder H. The effect of pregnancy upon endometriosis. *Obstet Gynecol Sure* 1965;20: 709-733.
58. D'Hooghe TM, Bambra CS, De Jonge I, et al. Pregnancy does not affect endometriosis in baboons (*Papioanubis*, *Papio cynocephalus*). *Arch Gynecol Obstet* 1997;261:15-19.
59. Italian Endometriosis Study Group. Oral contraceptive use and risk of endometriosis. *Br J Obstet Gynecol* 1999;106:695-699.
60. Tulandi T, Al Took S. Reproductive outcome after treatment of mild endometriosis with laparoscopic excision and electrocoagulation. *Fertil Steril* 1998;69:229-231
61. Hemmings R, Bissonnette F, Bouzayen R. Results of laparoscopic treatments of ovarian endometriomas: laparoscopic ovarian fenestration and coagulation. *Fertil Steril* 1998;70:527-529.



62. Saleh A, Tulandi T. Reoperation after laparoscopic treatment of ovarian endometrioma by excision and by fenestration. *Fertil Steril* 1999;72:322-324.
63. Beretta P, Franchi M, Ghezzi F, et al. Randomized clinical trial of two laparoscopic treatments of endometriosis: cystectomy versus drainage and coagulation. *Fertil Steril* 1998;70:1176-1180.
64. Koninckx PR, Timmermans B, Meuleman C, et al. Complications of CO-2 laser endoscopic excision of deep endometriosis. *Hum Reprod* 1996; 11:2263-2268.
65. Candiani GB, Fedele L, Vercellini P, et al. Presacral neurectomy for the treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a controlled study. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:100-103.
66. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, et al. Buserelin acetate in the treatment of pelvic pain associated with minimal and mild endometriosis: a controlled study. *Fertil Steril* 1993;59:516-521.
67. Overton CE, Lindsay PC, Johal B, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of luteal phase dydrogesterone (Duphaston) in women with minimal to mild endometriosis. *Fertil Steril* 1994;62 701-707.
68. Feste JR. Laser laparoscopy: a new modality. *J Reprod Med* 1985;30:413-17.
69. Vercellini P, Cortesi I, Trespidi L, et al. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertil Steril* 1996;65:299-304
70. Stovall DW, Bowser LM, Archer DF, et al. Endometriosis-associated pain: evidence for an association between the stage of disease and a history of chronic pelvic pain. *Fertil Steril* 1997;68:13-18.
71. Sutton CJG, Hill D. Laser laparoscopy in the treatment of endometriosis: a 5 year study. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;97:181-185.
72. Hornstein MD, Hemmings R, Yuzpe AA, et al. Use of nafarelin versus placebo after Laparoscopic surgery for endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68:860-864.
73. Vercellini P, Crosignani PG, Fadini R, et al. A gonadotropin-releasing hormone agonist compared with expectant management after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:672-677.
74. Guzick DS, Canis M, Silliman NP, et al. Prediction of pregnancy in infertile women based on the ASRM's revised classification for endometriosis. *Fertil Steril* 1997;67:822-836.
75. Chapron C, Fritel X, Dubuisson JB. Fertility after laparoscopic management of deep endometriosis infiltrating the uterosacral ligaments. *Hum Reprod* 1999;14:329-332.
76. American Fertility Society. Classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1979;32:633-634.

77. Adamson GD, Hurd SJ, Pasta DJ, et al. Laparoscopic endometriosis treatment: is it better? *Fertil Steril* 1993;59:35-40
78. Olive DL, Lee KL. Analysis of sequential treatment protocols for endometriosis-associated infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:613-619.
79. Badawy SZA, El Bakry MM, Samuel D, et al. Cumulative pregnancy rates in infertile women with endometriosis. *J Reprod Med* 1988;33:757-760.
80. Nowroozi K, Chase JS, Check JH, et al. The importance of laparoscopic coagulation of mild endometriosis in infertile women. *Int J Fertil* 1987;32:442-444.
81. Paulson JD, Asmar P, Saffan DS. Mild and moderate endometriosis: comparison of treatment modalities for infertile couples. *J Reprod Med* 1991;36:151-155.
82. Tulandi T, Mouchawar M. Treatment-dependent and treatment-independent pregnancy in women with minimal and mild endometriosis. *Fertil Steril* 1991;56:790-791.
83. Rosen GF. Treatment of endometriosis-associated infertility. *Infert Reprod Med Clin North Am* 1992;3: 721-730.
84. Kistner RW. The use of progestins in the treatment of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 75: 264-278.
85. Moghissi KS. Pseudopregnancy induced by estrogen-progestogen or progestogens alone in the treatment of endometriosis. *Prog Clin Biol Res* 1990;323:221-232.
86. Dawood MY. Endometriosis. In: Gold JJ, Josimovich JB, eds. *Gynecologic endocrinology*. New York: Plenum, 1987:387-404.
87. Dmowski WP. Endometriosis. In: Glass RH, ed. *Office gynecology*. Baltimore:Williams & Wilkins, 1987:317-336.
88. Vercellini P, De Giorgi O, Oldani S, et al. Depot medroxyprogesterone acetate versus an oral contraceptive combined with very-low-dose danazol for long-term treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:396-341.
89. Vercellini P, Cortesi I, Crosignani PG. Progestins for symptomatic endometriosis:a critical analysis of the evidence. *Fertil Steril* 1997;68:393-341.
90. Moghissi KS, Boyce CR. Management of pelvic endometriosis with oral medroxyprogesterone-acetate. *Obstet Gynecol* 1976;47:265-267.
91. Luciano AA, Turksoy RN, Carleo J. Evaluation of oral medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol* 1988;72:323-327.
92. Harrison RF, Barry-Kinsella C. Efficacy of medroxy-progesterone treatment in infertile women with endometriosis: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Fertil Steril* 2000;74:24-30.

93. Vercellini P, Aimi G, Panazza S, et al. A levonorgestrel-releasing intrauterine system for the treatment of dysmenorrhea associated with endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril* 1999;72:505-508.
94. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, et al. Treatment of endometriosis with the antiprogestosterone mifepristone (RU486). *Fertil Steril* 1996;65:23-28.
95. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, et al. Preliminary report on the treatment of endometriosis with low-dose mifepristone (RU486). *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:1151-1156.
96. 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;10:3264-3271.
97. Fuhrmann U, Hess Stumpp H, Cleve A, et al. Synthesis and biological activity of a novel, highly potent progesterone receptor antagonist. *J Med Chem* 2000;43:5010-5016.
98. Slayden OD, Chwalisz K, Brenner RM. Reversible suppression of menstruation with progesterone antagonists in rhesus macaques. *Hum Reprod* 2001;8:1562-1574.
99. Schlaff WD, Dugoff L, Damewood MD, et al. Megestrol acetate for treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol* 1990;75:646-648.
100. Brosens IA, Verleyen A, Cornillie FJ. The morphologic effect of short-term medical therapy of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:1215-1221.
101. Fedele L, Bianchi S, Viezzoli T, et al. Gestrinone versus danazol in the treatment of endometriosis. *Fertil Steril* 1989;51:781-785.
102. Wingfield M, Healy DL. Endometriosis: medical therapy. *Baillieres Obstet Gynecol* 1993;7:813-838.
103. Hornstein MD, Gleason RE, Barbieri RL. A randomized double-blind prospective trial of two doses of gestrinone in the treatment of endometriosis. *Fertil Steril* 1990;53:237-241.
104. Barbieri RL, Ryan KJ. Danazol: endocrine pharmacology and therapeutic applications. *Am J Obstet Gynecol* 1981;141:453-463.
105. Hill JA, Barbieri RL, Anderson DJ. Immunosuppressive effects of danazol in vitro. *Fertil Steril* 1987;48:414-418.
106. El-Roeiy A, Dmowski WP, Gleicher N, et al. Danazol but not gonadotropin-releasing hormone agonists suppresses autoantibodies in endometriosis. *Fertil Steril* 1988;50:864-871.
107. Ota H, Maki M, Shidara Y, et al. Effects of danazol at the immunologic level in patients with adeno-myosis, with special reference to autoantibodies: a multi-center

- cooperative study. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:481-486.
108. Braun DP, Gebel H, Rotman C, et al. The development of cytotoxicity in peritoneal macrophages from women with endometriosis. *Fertil Steril* 1992;1203:1203-1210.
109. Gelfand JA, Sherins RJ, Ailing DW, et al. Treatment of hereditary angioedema with danazol. *N Engl J M* 1976;295:1444-1448.
110. Borroni R, Di Blasio AM, Gaffuri B, et al. Expression of GnRH receptor gene in human ectopic endometrial cells and inhibition of their proliferation by leuprolide acetate. *Mol Cell Endocrinol* 2000;159:37-43.
111. Sharpe-Timms KL, Zimmer RL, Jolliff WJ, et al. GnRHa therapy alters activity of plasminogen activators, matrix metalloproteinases, and their inhibitors in rat models for adhesion formation and endometriosis: potential GnRHa regulated mechanisms reducing adhesion formation. *Fertil Steril* 1998;68:916-923.
112. Barbieri RL. Hormone treatment of endometriosis: the estrogen threshold hypothesis. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:740-745.
113. Franke HR, van de Weijere PHM, Pennings TMM, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist plus "add-back" hormone replacement therapy for treatment of endometriosis: a prospective randomized placebo-controlled double-blind trial. *Fertil Steril* 2000;74:535.
114. Yano S, Ikegami Y, Nakao K. Studies on the effect of the new non-steroidal aromatase inhibitor fadrazole hydrochlorid in an endometriosis model in rats. *Arzneimittelforschung* 1996;46:192-195
115. Yano S, Ikegami Y, Nakao K. Studies on the effect of the new non-steroidal aromatase inhibitor fadrozole hydrochloride in an endometriosis model in rats. *Arzneimittelforschung* 1996;46:192-195.
116. Kudoh M, Susaki Y, Ideyama Y, et al. Inhibitory effects of a novel aromatase inhibitor, YM511, in rats with experimental endometriosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;63:1-3.
117. Kudoh M, Susaki Y, Ideyama Y, et al. Inhibitory effects of a novel aromatase inhibitor, YM511, in rats with experimental endometriosis. *J. Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 63:1-3
118. Buelke SJ, Bryant HU, Francis PC. The selective estrogen receptor modulator, raloxifene: an overview of nonclinical pharmacology and reproductive and developmental testing. *Reprod Toxicol* 1998;12:217-221.
119. D'Antonio M, Martelli F, Peano S, et al. Ability of recombinant human TNF binding protein-1 (r-b.TBP-1) to inhibit the development of experimentally induced endometriosis in rats. *J Reprod Immunol* 2000;48:81-98.

120. D'Hooghe TM, Nugent N, Cuneo S, et al. Recombinant human TNF binding protein (r-hTBP-1) inhibits the development of endometriosis in baboons: a prospective, randomized, placebo- and drug-controlled study. Accepted for oral presentation at the Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, Orlando, USA, October 22nd-24th 2001.
121. Ingelmo JM, Quereda F, Aden P. Intraperitoneal and subcutaneous treatment of experimental endometriosis with recombinant human interferon-alpha-2b in a murine model. *Fertil Steril* 1999;71:907-911.
122. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, et al. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with immune modulators loxoribine and levamisole. *Fertil Steril* 2000;72:135-141
123. Abu JI, Konje JC. Leukotrienes in gynaecology: the hypothetical value of anti-leukotriene therapy in dysmenorrhea and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000;6:200-205.
124. Balasch J, Creus M, Fabregues F, et al. Pentoxifylline versus placebo in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis: a pilot randomized clinical trial. *Hum Reprod* 1997;12:2046-2050.
125. Bruner KL, Matrisian LM, Rodgers WH, et al. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. *J Clin Invest* 1997;99:2851-2857.
126. Telimaa S, Puolakka J, Ronnberg L, et al. Placebo-controlled comparison of danazol and high-dose medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 1987;1:13-23.
127. Fedele L, Bianchi S, Di Nola G, et al. The recurrence of endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 1994;734:358-364.
128. Busacca M, Marana R, Caruana P, et al. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:519-523.
129. Schindler AE, Foertig P, Kienle E, et al. Early treatment of endometriosis with GnRH-agonists: impact on time to recurrence. *Eur J Obstet Gynecol* 2000;93:123-125.
130. Ghezzi F, Beretta P, Franchi M, et al. Recurrence of endometriosis and anatomical location of the primary lesion. *Fertil Steril* 2001;75:136-140.
131. Muzii L, Marana R, Caruana P, et al. Postoperative administration of monophasic combined oral contraceptives after laparoscopic treatment of ovarian endometriomas: a prospective, randomized trial. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:588-592.
132. Busacca M, Fedele L, Bianchi S, et al. Surgical treatment of recurrent

- endometriosis. *Hum Reprod* 1998;13:2271-2274.
133. Vercellini P, Trespidi L, Colombo A, et al. A gonadotropin-releasing hormone agonist versus a low-dose oral contraceptive for pelvic pain associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1993;60:75-79.
134. *J Invest Surg.* 2005 Jul-Aug;18(4):177-87 Validation of rat endometriosis model by using raloxifene as a positive control for the evaluation of novel SERM compounds.
135. *Curr Opin Investig Drugs.* 2003 Oct;4(10):1209-12. Use of estrogen antagonists and aromatase inhibitors in endometriosis.
136. *Minerva Ginecol.* 2003 Feb;55(1):15-23. [The therapy of endometriosis. New prospects]
137. Expression of oestrogen receptor alpha and beta in ovarian endometriomata. J.Fujimoto,R.Hirosa,H.Sakaguchi,T.Tamaya. *Molecular Human Reproduction* vol.5 No.8 pp.742-747,1999
138. A selective estrogen receptor beta agonist causes lesion regression in an experimentally induced model of endometriosis. *Human Reproduction*
139. Regression of endometrial explants in rats treated with the cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib. Erbil Dogan,Ugur Saygili, Cemal Posaci, Burcin Tuna, SezerCaliskan,Sabahattin Altinyurt. *Fertility and Sterility*
140. Grubel Cj et al. Productions and actions of Estrogens. *N.England J. Med* 346:340-352 2002
141. Ren MQ et al;isoflavones, Substance with multibiological and clinicaly properties. *Eur J Nutr.*40,135-146,2001
142. Vincent aet al,Soy izoflavones:Are they usefull in menopause. *Mayo Clin Proc.* 1174- 84.2000
143. Elloso MM, Phiel K, Henderson RA, Harris HA, Adelm Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis using estrogen receptor-selective ligands. *J Endocrinol.* 2005 May;185(2):243-52.
144. Erlandsson MC, Gomori E, Taube M, Carlsten H. Effects of raloxifene, a selective estrogen receptor modulator, on thymus, T cell reactivity, and inflammation in mice. *Cell Immunol.* 2000 Nov 1;205(2):103-9.
145. Sanders MC, Levinson AI, Schreiber AD. Hormonal modulation of macrophage clearance of IgG-sensitized cells. *Trans Assoc Am Physicians.* 1987;100:268-75
146. *Life Sci.* 2005 Oct 26; [Epub ahead of print] Oral administration of soy-derived genistein suppresses lipopolysaccharide-induced acute liver inflammation but does not induce thymic atrophy in the rat. Zhao JH, Arao Y, Sun SJ, Kikuchi A, Kayama F.

148. *Food Chem Toxicol.* 2005 Sep 12; [Epub ahead of print] Modulation of immune response following dietary genistein exposure in F(0) and F(1) generations of C57BL/6 mice: Evidence of thymic regulation. Guo TL, Chi RP, Zhang XL, Musgrove DL, Weis C, Germolec DR, White KL Jr.
149. *APMIS.* 2005 May;113(5):317-23. Estrogenic agonism and antagonism of the soy isoflavone genistein in uterus, bone and lymphopoiesis in mice. Erlandsson MC, Islander U, Moverare S, Ohlsson C, Carlsten H.
150. *J Sports Med Phys Fitness.* 2004 Sep;44(3):281-7. The effect of chronic and acute exercise on thymocyte apoptosis and necrosis in ovariectomized mice given dietary genistein. Hoffman-Goetz L, Duerrstein L.
151. *Toxicology.* 2003 Dec 15;194(1-2):115-28. The immune system of geriatric mice is modulated by estrogenic endocrine disruptors (diethylstilbestrol, alpha-zearalanol and genistein): effects on interferon-gamma. Calemine J, Zalenka J, Karpuzoglu-Sahin E, Ward DL, Lengi A, Ahmed SA.
152. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 May 28;99(11):7616-21. The phytoestrogen genistein induces thymic and immune changes: a human health concern? Yellayi S, Naaz A, Szewczykowski MA, Sato T, Woods JA, Chang J, Segre M, Allred CD, Helferich WG, Cooke PS.
153. *Cell Immunol.* 2000 Nov 1;205(2):103-9. Effects of raloxifene, a selective estrogen receptor modulator, on thymus, T cell reactivity, and inflammation in mice. Erlandsson MC, Gomori E, Taube M, Carlsten H.
154. *J Endocrinol.* 2002 Nov;175(2):319-27. Raloxifene- and estradiol-mediated effects uterus, bone and B lymphocytes in mice. Erlandsson MC, Jonsson CA, Lindberg MK, Ohlsson C, Carlsten H.
155. *Neuroendocrinology.* 2000 Sep;72(3):162-70. Effects of estradiol and raloxifene analog on brain, adrenal and serum allopregnanolone content in fertile and ovariectomized female rats. Genazzani AR, Bernardi F, Stomati M, Monteleone P, Luisi S, Rubino S, Farzati A, Casarosa E, Luisi M, Petraglia F.
156. *Ann Intern Med.* 1999 Mar 2;130(5):431-9. Clinical effects of raloxifene hydrochloride in women. Khovidhunkit W, Shoback DM.
157. *Reproduction.* 2003 Apr;125(4):597-606. Effect of treatment with the selective estrogen receptor modulator LY117018-HCl on pituitary sensitivity to GnRH and subsequent ovulation. Hernandez G, Hernandez-Jimenez JG, Guelmes P, Martinez-Morales JR, Prieto L, Marin F, Glidewell-Kenney C, Lopez FJ, Alonso R.
158. *Immunology.* 2001 May;103(1):17-25. Role of oestrogen receptors alpha and beta immune organ development and in oestrogen-mediated effects on thymus.

- Erlandsson MC, Ohlsson C, Gustafsson JA, Carlsten H
159. *Endocrinology*. 2005 Aug;146(8):3301-8. Epub 2005 Apr 28. Raloxifene, a Selective estrogen receptor modulator, reduces carrageenan-induced acute inflammation in normal and ovariectomized rats. Esposito E, Iacono A, Raso GM, Pacilio M, Coppola A, Meli R.
  160. *Biochem Pharmacol*. 2001 Oct 1;62(7):953-61. Transcriptional activities of estrogen receptor alpha and beta in yeast properties of raloxifene. Jisa E, Dornstaud E, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Jungbauer A.
  170. *APMIS*. 2005 May;113(5):317-23. Estrogenic agonism and antagonism of the soy isoflavone genistein in uterus, bone and lymphopoiesis in mice. Erlandsson MC, Islander U, Moverare S, Ohlsson C, Carlsten H.
  171. *J Bone Miner Metab*. 2001;19(2):65-75. Raloxifene. Seeman E
  172. *Cancer J*. 2003 Jan-Feb;9(1):4-14. Current status of selective estrogen receptor modulators (SERMs). Conzen SD
  173. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2003 Aug;41(8):331-45. Review on raloxifene: profile of a selective estrogen receptor modulator. Heringa M
  174. *Acta Pharmacol Sin*. 2002 Mar;23(3):208-12. Molecular simulation of interaction between estrogen receptor and selective estrogen receptor modulators. Guo ZR, Yi X, Xu ZB
  175. *Reprod Fertil Dev*. 2001;13(4):331-6. Selective estrogen receptor modulators: mechanism of action and clinical experience. Focus on raloxifene. Thiebaud D, Secrest RJ.
  176. *Presse Med*. 2002 Sep 7;31(28):1323-8. [Specific estrogen receptor modulators (SERMs) Tremollieres F, Lopes P.
  177. Yao Z, Shen X, Capodanno I, Donnelly M, Fenyk-Melody J, Hausamann J, Nunes C, Strauss J, Vakerich K. Validation of rat endometriosis model by using raloxifene as a positive control for the evaluation of novel SERM compounds. *J Invest Surg*. 2005 Jul-Aug;18(4):177-83.
  178. Stefano Palomba M.D, Antiproliferative and proapoptotic effects of raloxifene on uterine leiomyomas in postmenopausal women. *Fertility and Sterility* Volume 84, Issue 1, July 2005, Pages 154-161
  179. R. Fuchs-Young, S. Howe, L. Hale, R. Miles and C. Walker, Inhibition of estrogen stimulated growth of uterine leiomyomas by selective estrogen receptor modulators, *Mol Carcinog* 17 (1996), pp. 151–159.