

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

**ENDOMETRİOZİSLİ HASTALARDA
SERUM SİTOKİN VE BÜYÜME FAKTÖRÜ
DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇÜRÖK KUBATOVA

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. AHMET ERDEM**

ANKARA-2006

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

**ENDOMETRİOZİSLİ HASTALARDA
SERUM SİTOKİN VE BÜYÜME FAKTÖRÜ
DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYÇÜRÖK KUBATOVA

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. AHMET ERDEM**

ANKARA-2006

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimimde ve uzmanlık tezimin hazırlanmasında emeği geçen başta Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Haldun GÜNER olmak üzere tüm hocalarıma ve tez danışmanım Doç. Dr. Ahmet ERDEM'e, tez vakalarımın toplanmasında yardımlarını gördüğüm Doç. Dr. Mehmet ERDEM'e, tüm öğretim görevlisi arkadaşlarıma, tez yazımında yardımlarını esirgemeyen Uzman Dr. Ayla AÇAR ve Araştırma Görevlisi Dr. Güven GÜNAYDIN'a, ayrıca tezimin gerçekleşmesinde çok önemli katkısı olan İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ayşegül YÜCEL'e şükranlarımı sunarım.

Dr. Ayçürök KUBATOVA

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
A- ENDOMETRİOZİS.....	3
A1-Tanım	3
A2-İnsidans.....	4
A3-Epidemiyoloji	5
A4-Patogenez.....	6
A5-Klinik.....	8
A6-Tanı Yöntemleri	9
A7-Evreleme.....	10
A8-Tedavi.....	10
A9-Rekürrens	11
B- ENDOMETRİOZİSTE İMMÜN SİSTEM VE İMMÜN YANIT	12
B1- İmmün sistem ve immün yanıt	12
B2- sitokinler ve büyüme faktörleri.....	15
B3- İmmün yanıt değişiklilerinin endometriozis patogenezindeki olası etki mekanizmaları ve endometriozis tanısında immün yanıt belirteçlerin kullanımı	19
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
IV. BULGULAR.....	35
V. TARTIŞMA	47
VI. SONUÇ.....	55
VII. ÖZET.....	57
VIII. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	58
IX. KAYNAKLAR	59

KISALTMALAR

CA 19.9	: Cancer Antigen 19-9
CA 125	: Cancer Antigen 125
CSF-1	: Colony Stimulating Factor-1
EGF	: Epidermal Growth Factor
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
G-CSF	: Granulocyte Colony Stimulating Factor
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormone
IFN-γ	: Interferon-gamma
IL-1, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13,	: İnterleukin- 1, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13
IL- 1 β	: Interleukin-1Beta
M-CSF	: Monocyte-macrophage Colony Stimulating Factor
NK cell	: Natural Killer cell
OKS	: Oral kontraseptif
PAI-1	: Plazminogen Activator Inhibitor-1
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PG E₂	: Prostaglandin E ₂
suPAR	: Soluble Urokinase Plazminogen Activator Receptor
TGF-β	: Transforming Growth Factor-beta
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor-alfa
uPA	: Urokinase Plazminogen Activator
VEGF/ VPF	: Vascular Endothelial Growth Factor /Vascular Permeability Factor

I. GİRİŞ

Endometriozis, endometrial bez ve stromanın uterin kavite dışında bulunması ve çoğalması ile karakterize, östrojen bağımlı bir hastalıktır. Üreme çağındaki kadınların yaklaşık % 10'unda görülür (22). Benign bir hastalık olmakla birlikte, üreme çağındaki kadınlarda dismenore, dispareni, kronik pelvik ağrı ve infertilite gibi yaşam kalitesini bozan olaylara yol açması nedeni ile önemli bir hastalıktır. En sık yerleşim yerleri pelvik organlar ve pelvik peritondur (sakrouterin ligamentler, douglas peritonu, pelvik yan duvarlar, over yüzeyleri, uterus ve tuba yüzeyleri gibi) (Şekil 1) (9, 32). Pelvis dışı endometriozis nadir (% 1-2) olmasına rağmen potansiyel olarak endometrial hücrelerin vasküler veya lenfatik yayılımı sonucu oluştuğu düşünülür.

Endometriozisin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte etiyopatogenezde günümüzde üzerinde en sık durulan olası mekanizmalardan birisi de çeşitli çalışmalarda gösterilen, periton yüzeyleri ve peritoneal sıvıda lokal immün yanıt (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1, VEGF, CSF-1, MCP-1, hepatosit büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri ve sitokinler) değişiklikleridir. Sitokinler ve büyüme faktörleri; kemotaksis, angiogenez ve mitozda önemli rolleri olduğu bilinen, düşük molekül ağırlıklı çözünebilir proteinlerdir. Bu faktörler immün sistem ve diğer sistemler arasında otokrin ve parakrin etkileşimde önemli rol oynarlar ve etkilerini özel reseptörler aracılığıyla gerçekleştirirler (26, 58).

Endometriozisin tanısında altın standart laparoskopik olarak alınan doku örneklerinde histolojik tanıdır (9). Laparoskopinin invazif bir yöntem olmakla birlikte, henüz laparoskopi ile histolojik tanıya alternatif olabilecek ve periferik kandan endometriozis

tanısını sağlayabilecek ideal bir belirteç ortaya konamamıştır. Bu amaçla klinik pratikte en çok kullanılan serum belirteçi CA 125'tir (2, 46). CA 125 dışında endometriozisin etiopatogenezinde varlığı düşünülen sitokin ve büyüme faktörlerinin kan düzeyleri ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır (3, 7, 15, 19, 40, 52, 60). Bu çalışmaların sonucunda serum sitokin veya büyüme faktörü düzeylerinden herhangi birinin CA 125'ten daha duyarlı bir serum belirteci olabileceğine dair herhangi bir veri elde edilememekle beraber sonuçları klinik kullanımda yararlı görülenler serum IL-6 ve TGF- β 1 seviyeleridir.

Bu prospektif çalışmada;

- 1- Üreme çağındaki kadınlarda sık görülen, yaşam kalitesi ve üreme fonksiyonları üzerine olumsuz etkileri bilinen endometriozis hastalığında serum sitokin düzeylerinin ölçülmesi yoluyla etiopatogeneze yönelik bilgi elde edilmesi,
- 2- Endometriozisli hastalarda serum sitokin düzeylerinin hastaların klinik evreleri ve diğer tanısal testler ile karşılaştırılması,
- 3- Bu şekilde endometriozisin klinik tanı ve takibine katkı sağlayabilecek non-invazif ve pratik tanı testlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla laparoskopik olarak endometriozis tanısı almış hastalarda preoperatif serum CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6 ve IL-12 düzeyleri endometriozisi olmayan kontrol grubu hastalar ile karşılaştırılmıştır.

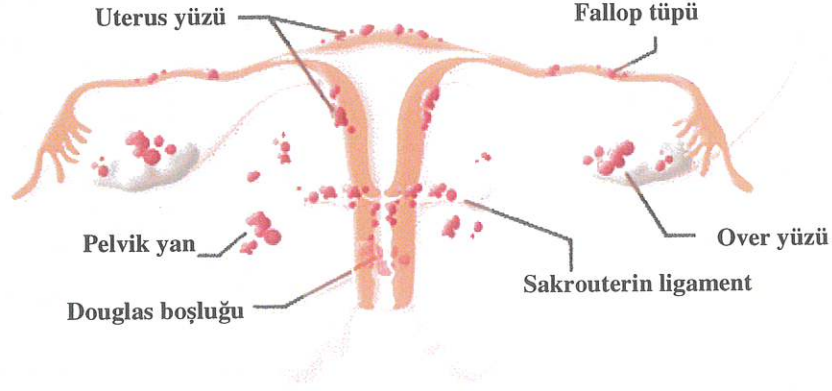
II. GENEL BİLGİLER

A- ENDOMETRİOZİS

A1. Tanım

Endometriozis, endometrial bez ve stromanın uterin kavite dışındaki varlığı olarak tanımlanır. Üreme çağıdaki kadınların % 10'unda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (22). İnfertil kadınlarda %40 gibi yüksek oranlarda görülebilir (9). En sık yerleşim yerleri pelvik organlar ve pelvik peritondur. Sakrouterin ligamentler, douglas peritonu, pelvik yan duvarlar, over yüzeyleri, uterus ve tuba serozası pelviste en sık yerleşim bölgeleridir (**Şekil 1**) (32). Pelvis dışı endometriozis nadir olmasına rağmen (% 1-2) potansiyel olarak endometrial hücrelerin vasküler veya lenfatik yayılımı sonucu oluştuğu düşünülür. Sıklıkla vulva, vulvadaki epizyotomi skarları, vajen, serviks gibi jinekolojik; apendiks, rektum, sigmoid kolon, ileum, herni keseleri, mesane, üreter, akciğer, plevra, lenf bezleri, beyin ve cerrahi skarlar gibi jinekolojik olmayan bölgelerde de izlenebilir.

Peritoneal endometriozisin karakteristik makroskopik lezyonları peritoneal yüzeylerde siyah koyu kahverengi veya mavimsi (barut yanığı) nodüller veya değişken derecelerde fibrozis ile çevrili eski hemoraji içeren küçük kistlerdir. Bunun dışında, peritoneal endometriozis makroskopik olarak kırmızı implantlar (peteşiyal, veziküler, polipoid, hemorajik, alev benzeri), seröz veya berrak veziküller, beyaz plaklar veya skarlaşma, sarı kahverengi peritoneal diskolarasyon ve subovarian adezyonları kapsayan lezyonlar şeklinde ortaya çıkabilir. Laparoskopik inspeksiyon bulguları tanı için çok önemli olmasına rağmen spesifikite yaklaşık % 77'dir ve tanıda altın standart histopatolojik incelemedir (9).



Şekil 1. Endometriozis odaklarının en sık yerleşim yerleri (32).

A2. İnsidans

Endometriozis prevalansının ve epidemiyolojisinin tam olarak değerlendirilebilmesi zordur. Çünkü kesin tanı için cerrahi ve histopatolojik inceleme gerekmektedir (9). Endometriozisin Amerika Birleşik Devletleri'nde üreme çağındaki kadınların %10'unda ortaya çıktığı tahmin edilmektedir ve jinekolojik nedenlere bağlı hastaneye yatışlar arasında 3. sırada yer almaktadır (14, 22). Yapılan laparoskopik işlemin endikasyonu görülme sıklığını etkileyebilir. Genel olarak, pelvik ağrı ve infertilitesi olan kadınlarda endometriozis prevalansı % 20-90 olarak rapor edilmesine karşın, tüp ligasyonu yapılan asemptomatik kadınlarda endometriozis prevalansı % 3-43 olarak bildirilmiştir. Yapılan cerrahi endikasyona göre endometriozis prevalansının karşılaştırıldığı bir çalışmada ise; tubal anastomoz sırasında % 0.7, tüp ligasyonu sırasında % 1.6, abdominal histerektomi sırasında % 11.3, cerrahi laparaskopi sırasında % 31 endometriozis tespit edilmiştir (14, 68). Bildirilen prevalans yüzdelerindeki bu geniş değişkenlikte hastaların yaş grubu ve

cerrahi endikasyonları dışında başka faktörlerin de etkisi olabilir. Tanısal cerrahi metod olarak laparoskopinin özellikle minimal (evre I) ve hafif (evre II) endometrioziste laparotomiye göre daha sensitif olduğu kabul edilmektedir.

A3. Epidemiyoloji

Endometriozis sıklığında birçok demografik, antropometrik ve yaşam tarzı faktörlerinin ilişkisi olabilir. Endometriozis daha çok üreme çağındaki kadınlarda görülmesine rağmen, nadir de olsa adölesanlarda ve hormon yerine koyma tedavisi kullanan postmenapozal dönemdeki kadınlarda da saptanabilmektedir. En sık yaşamın 3. ve 4. dekatlarında görülmesine rağmen hastaların çoğu 25-29 yaşlar arasında tanı alır. Endometriozis görülme sıklığı 44 yaş üzerindeki kadınlarda belirgin olarak azalır. Menapoz sonrası dönemdeki kadınlarda daha nadirdir. Endometriozis nedeniyle laparaskopi gerektiren kadınların sadece % 2-4'ü postmenapozal dönemdedir. Özellikle uterin anomali varlığında adölesan dönemde de görülebilir. Afrika kökenli kadınlarda endometriozise beyaz kadınlara göre daha az sıklıkta rastlanmaktadır (45).

Son yapılan bir epidemiyolojik çalışmada, endometriozis ile hastaların 18 yaşındaki vücut kitle indeksleri (BMI) ve alkol kullanımları arasında ters bir ilişki olduğu, infertil hastalarda ise çalışma anındaki BMI ve sigara kullanımı arasında ters ilişki olduğu, ancak boy, bel/kalça oranı, kafein kullanımıyla endometriozis arasında herhangi bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise kısa menstrual siklusu olan (≤ 27 gün) ve uzun mensturasyon fazı olan (≥ 7 gün) kadınlarda endometriozis riskinin uzun menstrual

siklusu ve kısa mensturasyon fazı olan kadınlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (8, 45). Yine aynı çalışmada dismenore sıklığı ile endometriozis arasındaki ilişki gösterilmiştir.

A4. Patogenez

Endometriozis patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Histogenezi açıklamak için üç teori ileri sürülmüştür;

- i) Endometrial dokunun ektopik transplantasyonu,
- ii) Çölomik metaplazi
- iii) İndüksiyon teorisi

i) Transplantasyon Teorisi

Sampson tarafından 1920'lerin ortalarında ortaya koyulmuştur. Menstruasyon sırasında transtubal regurjitasyon sonucu endometrial hücrelerin periton yüzeylerine implantasyonu ile endometriozis oluştuğu düşüncesine dayanır. Retrograd menstruasyon kadınların % 70-90'ında görülür. Retrograd menstruasyonu destekleyen bir diğer kanıt da menstruasyon sırasında peritoneal dialize giden kadınların dializ sıvılarında endometrial hücrelerin saptanmasıdır. Menstruasyon sırasında elde edilen endometrial dokular hayvanların karın duvarında cilt altına veya pelvik kaviteye enjekte edildiğinde endometriozis gelişebilmektedir. Serviksin intraabdominal menstruasyona izin verecek şekilde cerrahi transpozisyonu sonrası rhesus maymunlarının % 50'sinde endometriozis tespit edilmiştir. Menstrual kanın uterustan akımının obstruksiyonu ile artmış retrograd menstruasyon kadınlarda ve baboonlarda yüksek endometriozis insidansı ile birliktedir. Daha sık ve daha

uzun süreli menstruasyon görenler daha fazla retrograd menstruasyona ve daha yüksek oranda endometriozis gelişme riskine sahiptirler. Ovaryen endometriozis ya retrograd menstruasyon ya da uterustan overe lenfatik akım yoluyla oluşur. Pelvis dışı endometriozis potansiyel olarak endometrial hücrelerin vasküler veya lenfatik yayılımı ile birçok jinekolojik (vulva, vajen, serviks) ve jinekolojik olmayan bölgede (apendiks, rektum, sigmoid kolon, ileum, herni keseleri, akciğerler, plevral kavite, lenf bezleri, sinirler ve beyin) görülmektedir (9).

ii) Çölomik Metaplazi Teorisi

Endometriozis gelişiminde çölomik epitelin endometrial dokuya transformasyonu (metaplazi) patogeneiz mekanizmalarından biridir. Bu teorinin güçlü klinik ve deneysel verilerle desteklenmesi gerekmektedir. Yapılan bir çalışmada reteovari ve epöforonların yapısal ve hücre yüzeyindeki antijenleri karşılaştırılmış ve endometriozis ile over yüzey epiteli arasında benzerlik tespit edilememiştir. Bu da overdeki serozal metaplaziyi açıklamakta yeterli değildir (32).

iii) İndüksiyon Teorisi

İndüksiyon teorisi, aslında çölomik metaplazi teorisi ile ilişkilidir. Bu teoride savunulan hipotez, bilinmeyen bir endojen biyokimyasal faktörün diferansiye olmamış peritoneal hücreleri, endometrial doku gelişmesi yönünde indüklemesidir. Tavşanlar üzerinde yapılmış çeşitli çalışmalarda bu teoriyi destekleyen bulgular olmasına rağmen kadınlar ve primatlar üzerinde yapılmış henüz kabul gören bir çalışma bulunmamaktadır (32).

A5. Klinik

Subfertilitesi, dismenore ve disparoni veya kronik pelvik ağrısı olan kadınlarda endometriozisten şüphelenilmelidir. Çalışmaların çoğunda endometriozis şiddeti ile pelvik ağrının derecesi arasında bir korelasyon saptanmamıştır (38). Olası diğer semptomlar Tablo 1’ de sıralanmıştır .

Tablo 1- Endometriozis semptomları

- Pelvik ağrı
- Hipermenore
- Menoraji
- Premenstrual lekelenme
- Disparoni
- Suprapubik ağrı
- Dizüri
- Hematüri
- Ağrılı defekasyon (diskezi)
- Alt sırt bölgesinde ağrı
- Umbilikal bölgede palpabl kitle ve siklik ağrı

Endometriozisli birçok kadında klinik inceleme sırasında hiçbir anormal bulgu saptanmayabilir. Olası fizik muayene bulguları; sakrouterin ligamentlerde veya cul-de-sac’ta nodülerite, sakrouterin ligamentlerde skar oluşumu nedeni ile serviksin laterale yer değiştirmesi, rektovajinal septumda ağrılı şişme ve unilateral ovarian büyümedir. Daha ileri hastalıkta uterus sıklıkla fikse retroverttir ve over ve fallop tüplerinin mobilitesi azalmıştır (9).

A6. Tanı Yöntemleri

Endometriozis tanısında ayrıntılı öykü ve fizik muayeneyi takiben çeşitli görüntüleme ve laboratuvar yöntemleri kullanılır (**Tablo 2**). Ancak gerçek tanı şüpheli lezyonlardan alınan biyopsilerde histolojik olarak endometrial dokunun gösterilmesi olduğu için, tanıda altın standart laparoskopik incelemedir. Tanıda görüntüleme yöntemleri olarak ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans görüntüleme, histerosalpingografi, serum belirteçleri olarak CA 125, CA 19-9 kullanılmaktadır. İmmünolojik belirteçler olan sitokinler ve büyüme faktörleri (TNF- α , VEGF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TGF- β gibi) üzerinde çalışmalar devam etmektedir (9).

Tablo 2: Endometriozis Tanı Yöntemleri

-
- a. Öykü ve klinik inceleme
 - b. Görüntüleme yöntemleri
 - c. Serum belirteçleri
 - d. İmmünolojik belirteçler
 - I. Sitokinler
 - e. Histolojik inceleme
-

Endometrioziste tek başına tanı koyabilecek kan testi yoktur. Çöломik epitel kaynaklı over tümörlerinde serum belirteçi olan CA-125'in minimal veya hafif evre endometriozis'te normal, orta ve ileri evre endometriozislilerde yüksek olduğu bilinmektedir (2). Tek bir serum CA-125 değerinin endometriozis tanısında sensitivitesi % 0, 4 ile 100, spesifisitesi ise % 38 ile 100 arasında değişmektedir (46). Genel olarak sensitivitesinin düşük olması

nedeniyle CA-125 ölçümü tanıdan ziyade tedavinin ve rekürrenslerin takibinde daha değerli bir test olarak kabul edilmektedir.

A7. Evreleme

Günümüzde geçerli olan sınıflama sistemi Amerikan Fertilité Topluluğu sisteminin (AFS) major değişiklikler olmaksızın düzeltilmiş şeklidir. Bu sistem; implantların görünümü, boyutu, peritoneal-ovaryen implantların görünümü, büyüklüğü, derinliği, adneksiyal adezyonların varlığı, yaygınlığı ve cul-de-sac obliterasyonuna dayanır. Yeni sınıflama sisteminde peritoneal ve ovaryen implantların morfolojisi; kırmızı (kırmızı, kırmızı-pembe ve renksiz lezyonlar), beyaz (beyaz, sarı-kahverengi ve peritoneal hasarlar) ve siyah (siyah ve mavi lezyonlar) olarak tanımlanmaktadır. Bu sistem endometriotik hastalığın yaygınlığını yansıtır fakat ağrı ve infertilite korelasyonuna dayanmaz ve gözlemciden kaynaklanan ve gözlemciler arası belirgin değişkenliğe sahiptir (29, 36). Diğer yandan bu sistem spontan gerilemeyi değerlendirmek ve terapötik yaklaşımları (ağrının giderilmesi, fertilitede artış) karşılaştırmak için enternasyonal olarak kabul edilmiş en iyi modeldir.

A8. Tedavi

Tanı koyulduktan sonra klinik profilden bağımsız olarak endometriozis tedavisine başlanmalıdır. Çünkü tanı konulduktan sonra 1 yıl içerisinde hastaların %30-60'ında endometriozis ilerleme eğilimindedir ve hangi hastalarda ilerleme olacağını tahmin etmek mümkün değildir (38). Endometriotik implantların cerrahi veya medikal tedavi ile ortadan

kaldırılması sadece geçici rahatlama sağlar. Bu nedenle amaç; endometriotik lezyonları ortadan kaldırmanın yanısıra sıklıkla endometriozise eşlik eden pelvik ağrı ve subfertiliteyi tedavi etmektir (9). Tedavi yaklaşımları **Tablo 3**'de özetlenmiştir.

Tablo 3: Endometriozis Tedavi Yaklaşımları

1. Cerrahi Tedavi

2. Medikal Tedavi

a) Oral kontraseptifler

b) Progestinler

c) Progesteron antagonistleri

d) Gestrinon *19 nof esterosteron*

e) Danazol *17 α etinil testosteron*
(Danocrine)

f) Gonadotropin Releasing Hormon Agonistleri

g) Aromataz inhibitörleri

h) Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri

Raloksifen O₂ baskı.

A9. Rekürrens

Endometriozis yetersiz cerrahi durumunda tekrarlama eğilimindedir. Rekürrens oranı her yıl için yaklaşık % 5-20 olup, 5 yıl sonrasında % 40'lık bir kümülatif orana ulaşır. Rekürrens oranı hastalığın evresi, takip süresi ve daha önce cerrahi yapıp yapılmamasına göre değişmektedir (6, 10, 16, 57, 67). Randomize kontrollü bir çalışmada postoperatif düşük doz siklik oral kontraseptif (OKS) kullanımı ile 1 yıl içindeki kümülatif rekürrens oranı düşmekle beraber 2. veya 3. yıllar için fark saptanmamıştır (47). Reküren endometriozis

nedeni ile ikinci bir operasyon gerektiğinde laparaskopi ve laparatominin kümülatif rekürrens oranları aynıdır (6). Değişik GnRH agonistleri ile tedaviden 5 yıl sonra kadınlarda bildirilen rekürrens oranları minimal hastalık için % 37 ve ciddi hastalık için % 74'tür (16). Eşlik eden ağrı semptomu tedavinin kesilmesinden sonra sıklıkla geri döner (66). Görülebilen endometriotik lezyonların tam olarak laparoskopik eksizyonu ile tedavi edilen her 5 hastadan birinde ağrı beş yıl içinde tekrar ortaya çıkacaktır (54).

B. ENDOMETRİOZİSTE İMMÜN SİSTEM ve İMMÜN YANIT

Endometriozisin etiyopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte birçok çalışmada periton yüzeyleri ve peritoneal sıvıda rol oynayabileceği düşünülen lokal immün yanıt değişikliklerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu immün değişikliklerin endometriozis oluşumunda neden mi yoksa endometriozise bağlı ortaya çıkan bir yanıt mı olduğu tam olarak ortaya konamamakla birlikte bu konudaki çalışmalarda elde edilecek veriler endometriozisin etiyopatogenezine ışık tutacaktır.

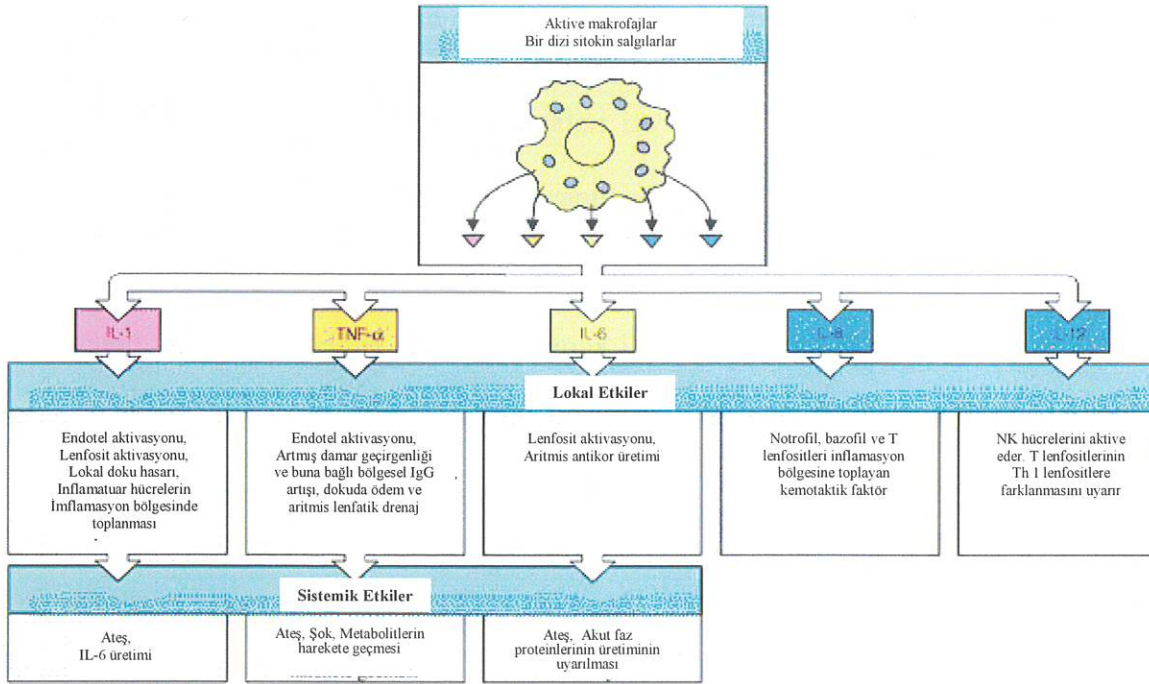
B1 İmmün sistem ve immün yanıt

İmmün (bağışık) yanıt bir biyolojik olay olarak, konağın kendine yabancı maddeyi tanıması ve buna karşı yanıt vermesidir. İmmün sistemin en önemli özelliği, kendi ve kendinden olmayan antijenleri ayırdedebilmesidir. Bireylerin yaşamlarını sürdürmeleri, türlerin oluşumu immün sistemin bir fonksiyonudur. İmmün yanıtı oluşturan hücreler ve organlara "immün sistem" adı verilir. İmmün yanıt, **hüморal** ve **hücresel** yanıtıtan oluşur. Hüморal yanıt kan serumunda ve vücut sıvılarında bulunan antikor moleküllerinden

oluşurken hücresel bağışıklık da kanda, belirli organ ve dokularda bulunan T lenfositlerinin bir fonksiyonudur (23).

İmmün yanıt; **doğal immünite** ve **kazanılmış immünite** olmak üzere iki ana bileşenden oluşur. **Doğal immün yanıt**; doğuştan getirilen, antikorlardan bağımsız ve birçok zararlı etkene karşı hemen reaksiyon oluşturan immün yanıttır. Bu yanıtın en önemli hücreleri mononükleer fagositer sistemin ana hücreleri olan kandaki monositler ve bu monositlerin dokudaki aktif şekilleri olan makrofajlardır. Makrofajlar vücudun koruyucu ve çöpçü hücreleri olarak bilinirler. Bu hücreler, yabancı materyalleri, hücre artıklarını ve canlılığını kaybetmiş hücreleri ortadan kaldırırlar. Bu fonksiyonları sırasında; çeşitli hidrolitik enzimler, prostaglandinler, kompleman komponentleri, sitokinler ve büyüme faktörleri salgırlar. Asıl amaç zararlı ve gereksiz olan materyalleri ortadan kaldırmak olmasına rağmen istenmeyen bir etki olarak, salgılanan mediatörler çevredeki hücrelere zarar verebilir ve etraftaki diğer istenmeyen dokulara ait hücrelerin gelişim ve proliferasyonunu uyarabilirler (**Şekil 2**) (58).

Doğal immün yanıtın diğer önemli hücreleri; Natural Killer (NK) hücreleridir. Bu hücreler konakçı organizmanın tümör hücreleri ve enfeksiyon etkenlerine karşı savaşında önemli görevler üstlenirler. Natural killer hücreleri hedeflerini iki şekilde yok ederler; birincisi, diğer immün sistem hücrelerine benzer şekilde immünglobulin G (IgG) aracılığı ile hedef hücreye bağlanıp sitotoksik etki gösterirler (İmmün globulin bağımlı sitotoksosite). İkinci tanıma sistemi ise, NK hücrelerine özgü sistem olan *killer-activating reseptörler* (KARs) ve *killer inhibitory reseptörler* (KIRs) aracılıklı sitotoksik etkidir. Eğer *killer-activating* reseptörler uyarılırsa NK hücreleri sitotoksik aktivite gösterirken aksine *killer inhibitory* reseptörler uyarılırsa öldürme sinyali ve sitotoksik aktivite baskılanır (58).



Şekil 2. Aktive makrofajlardan salınan sitokinler; bu sitokinlerin lokal ve sistemik etkileri (31).

Kazanılmış immün yanıtın ana hücreleri ise lenfositlerdir. B lenfositler hüморal (antikor üretimi ve antikor aracılıklı immün yanıt) yanıtın sorumlu iken, T lenfositler ise hücreyel kazanılmış immün yanıtın sorumludurlar ve bu iki sistem bağışık yanıt oluşumunda karşılıklı işbirliği içinde çalışırlar. Kemik iliğinde üretilen T lenfositler timusta kazandıkları yüzey antijenlerine göre iki ana gruba farklanırlar; birincisi CD4+ (helper -Th) T lenfositler, ikincisi CD8+ (supresör / sitotoksik -Ts) T lenfositlerdir (58).

B2 Sitokinler ve büyüme faktörleri

Sitokinler, hücreler arası mesaj iletiminde fonksiyon gören peptit yapılı mediatörlerdir. Enfeksiyon hastalıklarında ve immün yanıtın oluşumunda, hücreler arası etkileşimde bu çözünür maddelerin rolü vardır. Bu hormon benzeri peptitler; lenfositler, monosit ve makrofajlardan salınır, parakrin (yakın) ve otokrin (kendi) tarzda etki yaparlar. Sitokinler lökositler ve diğer immün hücrelerin hareketlerine, gelişmelerine ve farklılaşmalarına etki yaparak konağın yabancı antijenlere ve zarar verici etkenlere karşı reaksiyonlarını düzenlerler. Genelde uyarılmış hücrelerin sitokin salgılamasına karşın normal istirahat halindeki hücreler de sitokinlerle uyarılabilirler. Antijenlerle aktive edilen T ve B lenfositleri sitokin salgırlar. Uyarılmış hücrelerden aynı anda birçok sitokin salgılanır.

Sitokinler çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilir ve sitokinleri fonksiyonlarına göre dört grupta incelemek mümkündür (**Tablo 4**) (23).

Tablo 4: Sitokinler ve büyüme faktörleri

- 1. Grup:** Mononükleer fagositler tarafından salgılanan ve doğal bağışıklıkta etkili olan sitokinler;
- Tip 1 interferon, Tümör Nekroz Faktörü, İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-8 (IL-8);
- 2. Grup:** Lenfosit aktivasyonu, gelişmesi ve farklılaşmasında etkili olan sitokinler;
- İnterlökin-2 (IL-2), İnterlökin-4 (IL-4), Transforming growth factor- β (TGF- β)
- 3. Grup:** İltihap hücrelerini aktive eden sitokinler;
- Gamma-Interferon (γ -IFN), Lenfotoksin (LT), İnterlökin-5 (IL-5), İnterlökin-12 (IL-12), Migration Inhibition Factor (MIF);
- 4. Grup:** Hematopoezi stimüle eden sitokinler;
- İnterlökin-3 (IL-3), Granülosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (GM-CSF), monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF), Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF), İnterlökin-7 (IL-7);

Bizim çalışmamızda TGF- β 1, VEGF, IL-6 ve IL-12 çalışıldığı için sadece bu sitokinlerle ilgili ayrıntılı bilgi verilecektir.

Transforming Growth Faktör- β (TGF- β); Transforming growth faktör- β ailesi, hücre büyüme ve diferansiasyonu üzerinde multifonksiyonel etkisi olan birbirine benzer beş dimerik polipeptiten oluşan bir ailedir. Hücre gelişimi, diferansiasyonu, immün yanıt ve apoptozisi etkileyen çok fonksiyonlu bir sitokindir (69). Belirli tümör hücrelerinin bir

salgısı olarak bulunmuştur ve lokal tümör progresyonunu güçlü bir şekilde uyarırlar. Etki şekli değişkendir. Birçok hücrenin gelişimini önlerken bazı hücrelerin özellikle de tümör hücrelerinin gelişimini uyarır. İn vivo olarak yeni kan damarı oluşumunu (anjiyogenezis) sağlar. B lenfositler üzerine inhibitör etki eder, makrofaj aktivasyonunu, T lenfosit fonksiyonlarını baskılar. Diğer bir deyişle TGF- β antisitokin etkiye sahiptir ve immün yanıtı durduran bir faktördür (23). Memelilerde bilinen üç formu vardır; TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3. Bu üç izoform da gelişim süresince farklı roller oynarlar ve embriyogenezis süresince farklı şekillerde eksprese edilirler. Mezenşimal hücreler üzerinde stimülatör etkiye sahipken birçok epitel hücresi üzerinde inhibitör etkiye sahiptir (69).

Vasküler Endotelial Growth Factor (VEGF); Vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak da bilinir (12). Endotel hücrelerinde proliferasyon, tomurcuklanma, migrasyon ve tüp formasyonu oluşumunu da kapsayan güçlü bir anjiyogenik faktördür. Anjiyogenezi stimüle eder ve vasküler permeabiliteyi artırır (1). Güçlü mitojenik aktivite vasküler epitel hücreleri ile sınırlıdır. Değişik sayılarda aminoasit içeren (121, 145, 165, 183, 189 ve 206) en az altı izoformu vardır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉ birçok hücre tipinden salınan üç major formudur. Endotel hücrelerinde yüksek afiniteli üç tirozinkinaz reseptörü vardır. Hematopoetik sistem, melanoma hücreleri, monositler, osteoblastlar ve pankreatik beta hücreleri gibi birkaç tip non-epitelyal hücrelerde de VEGF reseptörü eksprese edilir. Vasküler endotelial growth faktör, monosit, makrofaj ve düz kas hücreleri tarafından üretilen potent anjiyogenik bir glikoproteindir (58). Vasküler endotelial growth faktör, endometrial glandüler hücrelerde daha baskın olarak bulunur, stromal hücrelerde boyanma daha azdır. VEGF ekspresyonunu artıran diğer faktörler hipoksi, IL-1, PDGF, TGF- β , EGF, PG E₂' dir.

İnterlökin-6; İmmün yanıt, inflamasyon ve hematopoeziste fonksiyon görür. Geçmişte interferon $\beta 2$, B hücre stimülatör faktör 2, human plazmositoma growth faktör veya hepatosit stimülatör faktör gibi isimlerle anılmıştır. Tek zincirli 184 aminoasitten oluşan bir polipeptit mediatördür. İnterlökin-1 ve daha az olarak da TNF etkisiyle mononükleer fagositer hücreler (aktive monositler ve makrofajlar), T lenfositler, damar endoteli, fibroblast ve diğer hücrelerden salgılanır. B lenfositlerinin aktive edilmesini, geç dönemde farklılaşmalarını ve monoklonal antikor üretimini uyarır. T lenfositler ve timositlere ko-stimülatör etki yapar ve kemik iliginde hematopoezi uyarır (35).

İnterlökin-12 (IL-12); İlk kez NK cell stimülatör faktör olarak tanımlanmıştır. Takiben Th1 hücrelerinin gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İntrasellüler patojenler, makrofajları IL-12 üretmek üzere uyararak Th1 hücre popülasyonunun gelişimini başlatırlar ve doğal immün yanıtta kazanılmış immüniteye geçiş döngüsüne öncülük ederler. Yapı olarak; 40 kD (IL-12 B) lik bir ağır zincir ve 35 kD (IL-12 A) lik bir hafif zincir olmak üzere iki zincirden oluşan heterodimerik bir sitokindir. Üretildiği en önemli yer fagositer hücrelerdir. İnterlökin-12 ve IFN- γ arasında pozitif feed back etki vardır ve her biri diğeri için uyarıcı görev yapar. İnterlökin-12 salınımı, Th2 lenfositler tarafından üretilen IL-10, TGF- β , IL-4 ve IL-13 aracılığı ile inhibe edilir. İnterlökin-12 bakterial, fungal ve parazitik enfeksiyonlara karşı dirençte vazgeçilmez olan güçlü bir proinflamatuvar moleküldür. Enfeksiyon durumunda birkaç saat içerisinde üretilip NK hücrelerini aktive ederek IFN- γ üretimini başlatır, fagositik hücrelerin fagositik ve bakterisidal etkilerini kuvvetlendirir ve bu hücrelerden IL-12'yi de içeren proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır. Aynı zamanda özellikle Th1 yanıtlarında olmak üzere anahtar immün regülatör moleküldür. İnflamasyon ve enfeksiyonun erken fazlarında üretilerek T lenfositlerin Th1 lehine

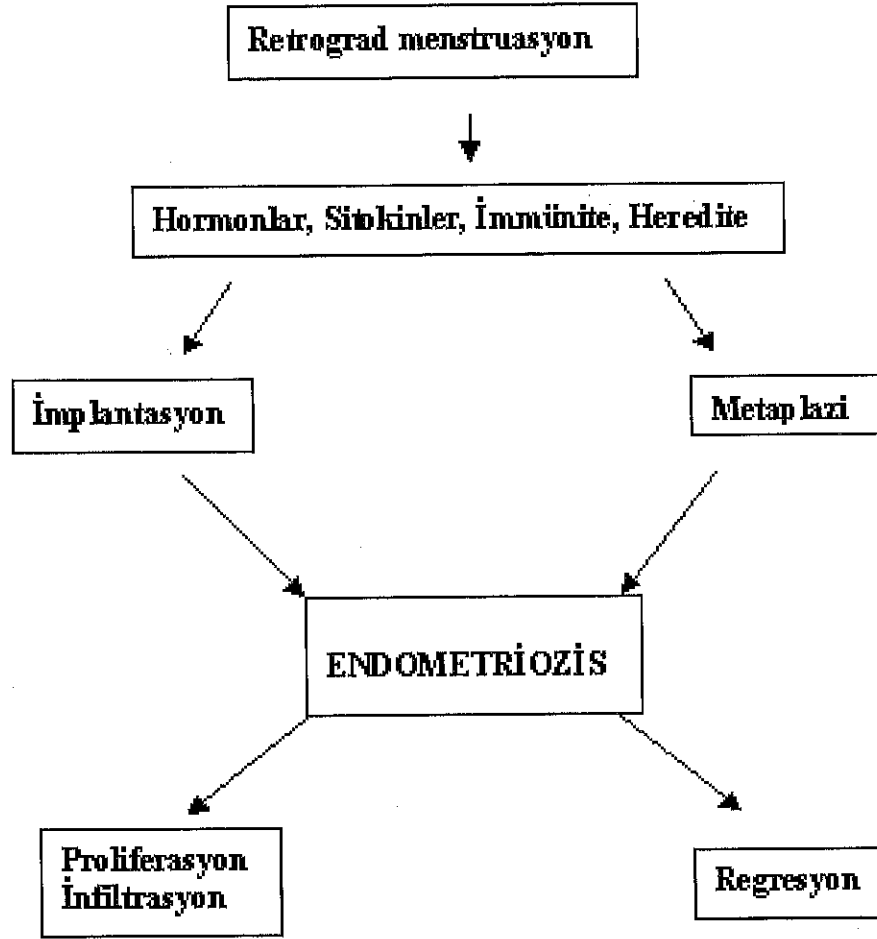
farklanmasını uyarırken Th2 farklanmasını baskılar. Bütün bunlara karşın periferel kanda bulunan dinlenme halindeki T hücreleri ve NK hücrelerinde proliferasyonu uyarmaz (35).

B3 İmmün yanıt değışikliklerinin endometriozis patogeneziindeki olası etki mekanizmaları ve endometriozis tanısında immün yanıt belirteçlerin kullanımı

Bütün endometriozis olgularını tek bir teori ile açıklamak mümkün değildir. Peritoneal endometriozisi açıklamada en geçerli teori "Retrograd mensturasyon" teorisidir. Bununla birlikte, retrograd mensturasyon kadınların % 76-90'ında görülürken, endometriozis prevalansı çok daha düşüktür (% 6, 2-8, 2) (58). Retrograd mensturasyon olan her kadında endometriozis gelişmemesi, endometriozis gelişen olgularda bu gelişime neden olabilecek ek birtakım faktörlerin varlığını düşündürmektedir. Son yıllarda endometriozis etiyopatogenezi ile ilgili üzerinde sıkça durulan konulardan birisi de bozulmuş immün yanıt teorisidir. Abdominal kaviteye dökülen endometrial hücrelerin orada yerleşip, varlıklarını sürdürebilmeleri ve çoğalabilmelerinin normalden farklı gelişen immün yanıtın bir sonucu olduğunu ileri süren çok sayıda çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir.

Endometriozis hem hücreseel hem de hümoreal immünitedeki değışikliklerle ilişkilidir. Bozulmuş NK hücre aktivitesi, peritoneal kaviteye dökülen menstureal kan ve debrislerin yetersiz temizlenmesiyle sonuçlanan endometriotik implantların gelişiminde rol oynayabilir. Üstelik endometriozisi olan kadınların peritoneal sıvılarında makrofajlar başta olmak üzere çok sayıda immün sitem hücresinde artış olduğu tespit edilmiştir. Burada makrofajların asıl görevlerinin peritoneal kaviteyi menstureal kan ve debrislerden temizlemek gibi görünmesine rağmen aynı zamanda salgıladıkları çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri

aracılığı ile de endometrial hücrelerin peritoneal yüzeylere implantasyonlarını kolaylaştırdıkları ve endometriozis gelişimine katkıda bulundukları ileri sürülmektedir (Şekil 3) (58).



Şekil 3: Endometriozis Patogenezi (26)

Endometriozis etiopatogenezinde immün yanıtın etkisini gösteren ilk çalışmalar endometriozisli hastalarda periton sıvısında makrofaj düzeylerinin değerlendirmesi üzerine başlamıştır. İlk kez Haney ve arkadaşları endometriozisli infertil kadınların peritoneal sıvılarında makrofaj sayısının artmış olduğunu göstermişlerdir (25). Daha sonra yapılan

Çalışmalarda da endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında makrofaj sayı ve aktivitesinin artmış olduğu doğrulanmıştır (13, 24, 28, 49, 71). Ancak minimal ve orta derecede endometriozisli kadınlarda peritoneal kavitede değişen sayılarda makrofaj olmasına rağmen endometriozis yaygınlığının makrofaj sayısıyla korele olmadığı gösterilmiştir (49).

Endometrioziste peritoneal makrofajların sayıca artmış olmasının yanında bu hücrelerin fonksiyonlarında da bozukluk olduğunu destekleyen çalışmalar vardır. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarının kültüre edilmiş endometrial stroma hücrelerinin proliferasyonunu arttırdıkları gösterilmiştir. Benzer ve daha ilginç bir çalışmada ise fertil kadınlardan elde edilen periferik kan monositlerinin, kültüre edilmiş otolog endometrial hücrelerin gelişimini inhibe ettiği, endometriozisli kadınlardan elde edilen periferik kan monositlerinin ise otolog endometrial hücrelerin proliferasyonunu arttırdıkları gösterilmiştir (5).

Hücresel immünitedeki bozukluğu destekleyen çalışmalardan bir kısmı da NK hücre sayı ve aktivitesi ile ilgilidir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarındaki NK hücre sayısı ile ilgili çalışmalar çelişkilidir; bazı çalışmalar sayıda azalma olduğunu ortaya koyarken, bazı çalışmalar ise sayıda değişiklik olmadığı ya da artış olduğunu göstermiştir (58). Diğer yandan, yapılan çalışmaların çoğu NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerinin azalmış olduğu konusunda hemfikirdir (58). İki çalışmada endometriozisli kadınların, hem peritoneal sıvılarından hem de periferik kanlarından elde edilen NK hücrelerinin hem otolog hem de heterolog endometrial hücrelere karşı sitotoksik aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (51, 69). Bu bulgular endometriozisli kadınlardaki NK hücre sitotoksik aktivitelerindeki azalmanın kantitatif değişikliklerden ziyade kalitatif olduğunu desteklemektedir (58).

Makrofajlar ve NK hücreleri ile ilgili çalışmaların yanı sıra hücre sel immünite değişikliğini araştıran bazı çalışmalarda da lenfosit sayı ve fonksiyonlarındaki değişiklikler üzerinde durulmuştur. Spontan endometriozisli rhesus maymunlarında otolog endometrial doku üzerine T-lenfosit aracılığıyla hücre sel immünitenin baskılanmış olduğu gösterilmiştir (10). Benzer şekilde endometriozisli kadınlarda periferik kan lenfositlerinde otolog endometrial hücrelere karşı sitotoksik aktivitenin azalmış olduğu tespit edilmiştir (62).

Diğer yandan endometriozis patogeneğinde humöral immün yanıt değişikliklerinin de etkili olduğu ileri sürülmektedir. Endometriozis poliklonal B-hücre aktivasyonu ve artmış otoantikor insidansı ile ilişkilidir (58). Endometriozisli kadınlarda otoantikor insidansının normalden fazla olduğu ve endometriozisli hastalar ile otoimmün hastalığı olan hastaların benzer otoantikor profillerinin olabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca, endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarında ise IgG ve kompleman depozitlerinin varlığının azalmış serum total kompleman seviyeleri ile birlikte olduğu da gösterilmiştir (58).

Literatürde endometriozis ile sitokin ve büyüme faktörlerinin ilişkilendirildiği çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalardan bizim çalışmamızda serum düzeylerini değerlendirdiğimiz TGF- β 1, VEGF, IL-6 ve IL-12 ile ilgili veriler özetlenecektir:

TGF- β hücre büyüme ve diferansiasyonu üzerinde multifonksiyonel etkisi olan bir sitokindir. Tümör invazyonunda tümör hücrelerinden salınan TGF- β 'nın lokal immün yanıtı baskılayarak tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışına ve lokal invazyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir. Aynı mekanizma ile ektopik endometrial hücreler de TGF- β salgılayarak immün sistemden kurtulup peritoneal kavitede varlıklarını sürdürebilir ve diğer anjiyogenetik faktörlerin etkisiyle de periton yüzeylerine implante olabilirler. Literatür

bilgileri de bunu destekleyecek yöndedir. Bütün uterin hücre tipleri TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 mRNA eksprese ederler. Geç proliferatif ve erken-midsekretuar faz arasında en yüksek seviyede eksprese edilirler. Birkaç çalışmada endometriozisli kadınların serum ve peritoneal sıvılarında TGF- β aktivitesinin arttığı gösterilmiştir ve TGF- β 'nın endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarındaki NK hücre aktivitesini inhibe edebileceği ileri sürülmüştür (17, 50, 53).

Abdominal kaviteye dökülen endometrial hücrelerin lokal immün yanıt ve immün sistem hücrelerinden kurtulmasını takiben hem peritoneal kavitede yaşamlarını sürdürebilmeleri hem de çoğalabilmeleri için yeni oluşacak kan damarları ve kan akımı desteğine ihtiyaçları vardır. Aktif endometrial implantlar belirgin şekilde vaskülarizedir. Lokal anjiyogenezin en önemli mediatörü VEGF'dir. Hızlı bir anjiyogenez sürecinin başlaması ve devam edebilmesi için gerek endometriotik odaklardan otokrin etkiyle gerekse bozulmuş immün yanıtın birer komponenti oldukları düşünülen aktive immün sistem hücreleri tarafından salındığı düşünülen VEGF'nin artmış salınımına ihtiyaç vardır. VEGF monosit, makrofaj ve düz kas hücreleri tarafından üretilen potent anjiyogenik bir glikoproteindir. VEGF, endometrial glandüler hücrelerde daha baskın olarak bulunur, stromal hücrelerde boyanma daha azdır. Yeni ve aktif endometriotik odakların kırmızı ve hipervasküler olmasının temel nedeni de bu artmış VEGF etkisine bağlanmaktadır. VEGF, endometriotik implantlar tarafından da eksprese edilir ve ekspresyon inaktif siyah barut yanığı şeklindeki implantlarla karşılaştırıldığında kırmızı endometriotik lezyonların çevresinde daha fazladır. Estradiol peritoneal makrofajlarda ve kültüre edilmiş endometrial stromal hücrelerde VEGF ekspresyonunu artırır (11, 43, 59).

Yapılan çalışmalarda endometriozisi ve ovarian endometrioması olan hasta gruplarında; hem endometriotik kist sıvısında hem periton sıvısında hem de hasta serumlarında artmış VEGF düzeyleri tespit edilmiştir. Periton sıvısı VEGF düzeylerin endometriozisli kadınlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (17, 39, 42). Mahnke ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada periton sıvısı VEGF düzeylerinin orta ve ciddi endometriozisi olan kadınlarda hafif endometriozisi olan kadınlardan anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (39). Endometriozisli hastalarda serum VEGF düzeylerinin incelendiği çalışmaların sonuçları ise daha çelişkilidir. Pellicer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, serum VEGF düzeylerinin endometriozisli hastalarda kontrol grubuna göre yükselme eğiliminde olduğu bildirilmekle beraber artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (52). Fasciani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ovarian kistik yapı nedeni ile opere edilen 100 olgudan elde edilen kist sıvısı ve aynı olguların serumlarında CA 125, IL-8 ve VEGF düzeyleri bakılmıştır ve ovarian karsinoma ve endometrioması olan grupta hem kist sıvısında hem de hasta serumlarında VEGF düzeylerinin diğer gruptan anlamlı ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (15). Matalliotakis ve arkadaşları endometriozisli kadınların serumlarında VEGF konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu bildirirken (40), Gagne ve arkadaşları endometriozisli hastalarda serum VEGF düzeylerinde ne kontrol grubu ile ne de endometriozis evrelerine göre belirgin bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir (19).

VEGF endometriozis patogeneğinde aldığı varsayılan bir lokal mediator olması yanında over fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir parakrin regulator olarak da kabul edilmektedir. VEGF foliküler sıvı ve ovarian granüloza hücrelerinde tespit edilmiştir (48, 70). Foliküler sıvı içerisindeki VEGF konsantrasyonu folikül sağlığı ve oosit kalitesi ile ilişkilidir. Aynı zamanda, IL-6 folikül sıvısı içerisinde bulunan ve granüloza hücrelerinde

steroidogenezi ve folikülogenezi etkileyerek ovarian fonksiyonların düzenlenmesinde önemli olduğu düşünülen bir sitokindir (37). IVF için yapılan oosit toplama işlemi sırasında elde edilen luteinize granüloza hücreleri ve foliküler sıvıda IL-6 ve VEGF düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada sağlıklı kadınlarla karşılaştırıldığında endometriozisli kadınların folikül sıvılarında artmış IL-6 ve azalmış VEGF seviyeleri gösterilmiştir (20). Bu bulgular, VEGF'nin over fonksiyonları üzerindeki doğrudan etkileriyle endometrioziste yetersiz ovarian anjiyogenezis, dolayısıyla bozulmuş oosit kalitesi ve kalitesiz embriyolara bağlı düşük implantasyon oranları ile endometriozis infertilite ilişkisinde rol alabileceğini düşündürmektedir.

Endometriozis patogenezinde rol oynadığı düşünülen sitokin ve büyüme faktörlerine ait verilerin bazıları da tedavide kullanılan ajanların etki mekanizmalarından yola çıkarak elde edilmiştir. Endometriozis tedavisinde kullanılan GnRH analoglarının daha çok hipoöstrojenik ortam oluşturarak tedavide etkili oldukları kabul edilmekteyken son dönemlerde yapılan çalışmalarda GnRH analoglarının endometriozis odakları üzerine doğrudan etkilerinin de olduğu gösterilmiştir. Meresman ve arkadaşlarının yaptığı ve ötopik endometrial doku örneklerinde GnRH analoglarının apoptozis, IL-1 β ve VEGF salınımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada hem kontrol hem de endometriozis grubunda Leuprolid asetatla muamele edilen endometrial doku örneklerinde apoptoziste artış olduğu ve IL-1 β ve VEGF salınımının azaldığı gösterilmiştir (44). Ancak, endometriozisli hastalarda GnRH analogu veya Danazol tedavisinin serum VEGF düzeylerine olan etkisinin değerlendirildiği tek çalışmanın sonuçları bu ajanların serum VEGF düzeylerinde belirgin bir değişime neden olmadığı yönündedir (40).

Endometriozis patogenezinde rol aldığı düşünölen diğör iki proinflatuar sitokin ise IL-6 ve IL-12'dir. IL-6'nın endometriozis patogenezindeki rolü üzerinde yapılan çalışmalarda endometriozisli kadınlarda peritoneal ve periferik makrofajlarda ve endometrial stromal hücrelerde IL-6 cevabının bozuk olduğu gösterilmiştir (4, 55, 64). Periton sıvısı IL-6 düzeyleri ile ilgili veriler ise tutarsızdır. Bazı çalışmalarda periton sıvısı IL-6 düzeyleri yükselmiş olarak bulunurken, bazılarında değışiklik tespit edilememiştir (3, 27, 33, 34, 63). Bazı çalışmalarda da IL-6 konsatrasyonunun endometriozis evresiyle anlamlı ölçüde korele olduğu ve ileri evrelerde periton sıvısı IL-6 düzeylerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (6, 7).

Endometriozisli hastalarda serum IL-6 düzeylerinin incelendiğı bir çalışmada Iwabe ve arkadaşları ovarian endometriomalı ve kontrol grubu olarak endometriozisi olmayan benign ovarian kistli hastaları karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada preoperatif olarak endometrioma grubunda serum IL-6 düzeyinin kontrol grubundan anlamlı ölçüde yüksek olduğunu, aynı grupta postoperatif ikinci haftada serum IL-6 seviyesinin anlamlı derecede düşüş gösterdiğini ve preoperatif dönemde 3 ay süreyle verilen GnRH analog tedavisinin serum IL-6 düzeylerini tedavi öncesi döneme göre anlamlı derecede düşürdüğünü göstermişlerdir (7). Buradan yola çıkarak araştırmacılar; başta IL-6 olmak üzere endometriozis patogenezinde rol oynayan sitokinlerin en önemli kaynaklarından birisinin de endometriotik dokular olduğunu ve GnRH analog tedavisinin stromal hücrelerin IL-6 üretme ve salgılama yeteneklerini zayıflattığını böylece ovarian endometrioma hücrelerinin biyoaktivitelerinin azaldığını ileri sürmüşlerdir. Ayrıca aynı çalışmada serum CA 125 seviyelerinin serum IL-6 seviyeleri ile korelasyon göstermediğı de tespit edilmiştir (7). Bedaiwy ve arkadaşlarının yaptığı bir diğör çalışmada ise pelvik ağrı, infertilite, tubal ligasyon ve tubal reanastomoz

nedeni ile toplam 130 kadına yapılan laparaskopi sırasında elde ettikleri periton sıvısı ve hasta serumlarında IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-13 ve TNF- α düzeylerini çalışmışlardır. Sonuçta serum IL-6 ve peritoneal sıvıda TNF- α düzeylerinin ölçülmesi ile endometriozisi olan ve olmayan hastaları birbirinden ayırt etmenin mümkün olabileceği yorumunu yapmışlardır (3). Pellicer ve arkadaşları da IVF tedavisine alınan endometriozisli hastaların serum IL-6 düzeylerinin endometriozisi olmayanlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (52). Bu konuda en son yapılan bir çalışmada ise serum seviyelerinin endometriozisli hastalarda olmayanlara göre değişiklik göstermediği bildirilmiştir (60).

Interlökin-12, NK cell stimülatör faktör olarak tanımlanmıştır. T lenfosit ve NK hücrelerini sitokin üretimi yönünde uyarır. Peritoneal sıvıda endometriozis varlığı veya yokluğu dikkate alınmaksızın IL-12 seviyeleri düşük fakat tespit edilebilir düzeylerde (26). İmmün sistem hücrelerinin, yabancı ajanlara karşı uyarılabilmesi, yeterli ve sağlıklı yanıt verebilmesi ve onları ortadan kaldırabilmesi için (ektopik endometrial hücrelerin ortadan kaldırılması gibi) yeterli düzeyde IL-12 uyarısına ihtiyaçları vardır. Bu uyarıdaki yetersizlik abdominal kaviteye dökülen endometrial hücrelerin yetersiz temizlenmesi ve endometriozis gelişimi ile ilişkili olabilir. Somigliana ve arkadaşlarının yaptığı endometriozis modeli olan bir çalışmada; IL-12 uygulamasının ektopik endometrial implantasyonu önlediği bulunmuştur (61). Ayrıca, IL-12'ni p40 subüntinin fazlalığının NK aktivitesini inhibe ederek endometriozis gelişiminde etkiliği olabileceği bildirilmiştir (41). Periton sıvısında IL-12 düzeyinin incelendiği çalışmaların sonuçları da IL-6 'da olduğu gibi çelişkilidir. Birçok çalışmada endometriozisli hastalarda periton sıvısı IL-12 seviyelerinin olmayanlara göre farklılık göstermediği bildirilirken, bir çalışmada orta ve şiddetli endometriozisli hastalarda periton sıvısı IL-12 düzeylerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir ((3, 21, 65, 72).

Endometriozisli hastalarda serum IL-12 düzeylerinin değerlendirildiği tek çalışmada kontrol grubuna göre bu hastaların serum IL-12 düzeylerinin farklı olmadığı bulunmuştur (3).

Sonuç olarak; sitokinler, hücresel aktiviteleri düzenleyen düşük molekül ağırlıklı çözünebilir proteinlerdir. Bu aracılar hem immün sistem içinde hem de vücutta diğer sistemler ile immün sistem arasında otokrin ve parakrin haberciler olarak fonksiyon görürler. Sitokinler ve büyüme faktörleri; kemotaksis, mitoz, anjiyogenezis ve diferansiasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Bozulmuş hücresel immün yanıt endometrial hücrelerin peritoneal kavite içerisinde yaşamalarına izin vererek etkili olurken, sitokin ve büyüme faktörleri ise proliferasyon ve anjiyogenezis aracılığı ile ektopik endometrial hücrelerin implantasyon ve gelişimlerini uyarıyor gibi görünmektedir. Üstelik belirli sitokinler endometrial hücrelerin peritoneal yüzeylere tutunmalarını ve bu hücrelerin mezotel içerisine invazyonunu sağlamaktadır (58). Endometrioziste sitokin düzeylerinin incelendiği çalışmaların çoğu peritoneal sıvıda sitokin düzeyleri ölçülerek yapılmıştır. Endometriozisli hastaların serumlarında sitokin düzeylerinin endometriozisi olmayan hastalar ile karşılaştırıldığı az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda temel amaç endometriozis tanısında ve verilen tedavilerin takibinde cerrahi gerektirmeyen (serum) belirteçlerinin ortaya konması olmuştur. Yukarıda özetlenen çalışmaların ışığında sitokinlerin endometriozisin etiyopatogenezindeki rolü belirgin iken, bu immün belirteçlerin tanı ve takip için kullanılabilirliği ile ilgili veriler henüz yeterli değildir.

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar

Bu çalışmaya Aralık 2002 – Eylül 2005 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Kliniği'ne başvuran ve tanısız laparaskopi işlemi sırasında endometriozis tanısı almış erken evre endometriozisi olan 15 kadın hasta ve endometrioma tanısı almış 47 kadın hasta dâhil edildi. Myoma uteri, dermoid kist veya herhangi bir jinekolojik malignensi tespit edilen, oral kontaseptif kullanan veya hormon replasman tedavisi alan hastalarla pelvik inflamatuvar hastalık bulgusu olan kadınlar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak ise tanısız laparaskopi ve elektif tüp ligasyonu işlemi sırasında endometriozis olmadığı kanıtlanmış 17 sağlıklı kadın kabul edildi (Tablo 6).

Çalışma ve kontrol grubuna dahil edilen hastaların sayısı ve yaşlarına göre dağılımı Tablo 5'de özetlenmiştir. Tek yönlü anova testinde 3 grup hastanın yaş ortalamaları arasında istatistiksel fark olmadığı görülmüştür ($p=0,23$).

Tablo 5: Olguların sayısı ve yaş dağılımları

Grup	n	Yaş (Ortalama $\pm$ SD)
Kontrol grubu	17	29,4 $\pm$ 7,3
Peritoneal endometriozis	15	30 $\pm$ 5,7
Endometrioma	47	32,6 $\pm$ 7,4

Çalışma ve kontrol gruplarında olan olguların demografik ve klinik özellikleri **Tablo 6'**de özetlenmiştir. Bu olguların klinik özellikleri dikkate alındığında; kronik pelvik ağrı peritoneal endometriozis grubunda 5 (% 33, 3) olguda, endometrioma grubunda 24 (% 51, 1) olguda ve kontrol grubunda ise 4 (% 23, 5) olguda saptanmıştır. Dismenore ise peritoneal endometriozis grubunda 9 (% 60) olguda, endometrioma grubunda 34 (% 72, 3) ve kontrol grubunda 3 (% 17, 6) olguda saptanmıştır. Gruplar içinde evli olan hastalar arasında yapılan değerlendirmede peritoneal endometriozis grubunda 12 (% 86), endometrioma grubunda 8 (% 20, 5) ve kontrol grubunda 4 (% 25) olguda infertilite öyküsü saptanmıştır.

Tablo 6: Kontrol ve çalışma gruplarında demografik ve klinik özellikler

Hasta Özellikleri	Peritoneal endometriozis n (%)	Endometrioma n (%)	Kontrol N (%)
Bekar	1 (6, 7)	8 (17)	5 (29)
Evli-Dul	14 (93, 3)	39 (83)	12 (71)
Kronik pelvik ağrı	5 (33, 3)	24 (51, 1)	4 (23, 5)
Dismenore	9 (60)	34 (72, 3)	3 (17, 6)
Disparoni	7 (46, 7)	16 (34)	-
İnfertilite öyküsü*	12 (86)	8 (20, 5)	4 (25)

*Sadece evli olan hastalar dikkate alınmıştır.

Hastaların preoperatif pelvik ultrasonografi bulguları incelendiğinde; kontrol grubunda 12 (% 70, 6) hastada ultrason bulguları normal iken, 5 (% 29, 41) hastada over kisti saptanmıştır. Erken evre endometriozisli hastaların 1 (% 6, 7)'inde over kisti saptanmıştır. Endometrioma grubunda ise 1 (% 2, 1) hastada ultrason bulguları normal iken diğer hastaların tümünde preoperatif pelvik ultrasonografide tek veya çift taraflı over kisti saptanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastalarda laparoskopinin menstrual siklus fazı açısından zamanlaması **Tablo 7**'de özetlenmiştir. Peritoneal endometriozis grubundan 1 olgu primer amenore olduğu için laparaskopi zamanı menstureal siklus fazlarıyla ilişkilendirilemedi. Bu olguda laparaskopi sırasında müllerian agenezi (vajinal aplazi ve uterin hipoplazi) olduğu tespit edildi (**Tablo 7**).

Tablo 7: Olguların Laparaskopi zamanının menstureal siklus fazlarına göre dağılımları

Siklus Fazı	Peritoneal * n (%)	Endometrioma n (%)	Kontrol N (%)
Foliküler	10 (66, 7)	25 (53, 2)	10 (58, 8)
Luteal	2 (13, 3)	18 (38, 3)	2 (11, 1)
Mensturasyon	2 (13, 3)	4 (8, 5)	5 (29, 4)

* Bir olgu primer amenoreik (müllerian agenezi) olduğu için siklus fazı belli değil.

Olguların laparoskopik endometriozis evrelemesi intraoperatif olarak düzeltilmiş "Amerikan Fertilite Derneği Klasifikasyonu" göre yapıldı; Beklendiği gibi peritoneal endometriozisli

olguların çoğunluğu (% 86, 7) erken evre (evre 1-2) iken, endometrioma grubu hastaların tamamı ileri evre (evre 3-4) olarak saptandı (**Tablo8**).

Tablo 8: Peritoneal endometriozis ve endometriomalı olguların evrelere göre dağılımları

Evre	Peritoneal Endometriozis n (%)	Endometrioma n (%)
Evre 1	6 (40, 0)	-
Evre 2	7 (46, 7)	-
Evre 3	2 (13, 3)	33 (70, 2)
Evre 4	-	13 (27, 7)

Yöntem

Erken evre endometriozis tanısı almış 15 olgu ve endometrioma tanısı almış 47 olgudan preoperatif dönemde 10'ar ml venöz kan örneği alındı. Kan örnekleri pıhtılaşması beklenmeden 3000 rpm'de 15 dakika sentrifüj edilerek serumları ayrıldı ve - 50°C derin dondurucuda saklandı. Serumları hemolizli ve lipemik olan, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Serumlar çalışma günü oda ısısına çözüldü. Serum IL-6 ve CA 125 seviyeleri Gazi Hastanesi Merkez Laboratuvarında rutin inceleme olarak anında çalışılırken, IL-12, VEGF ve TGF- β 1 seviyeleri ise İmmunoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında araştırma sonunda toplu olarak çalışıldı. Serum CA 125 düzeyleri IMMULITE 2000 marka (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA)

hormon analizöründe orijinal kitler kullanılarak kemiluminesans yöntemi ile tayin edildi. Serum IL-6, IL-12, VEGF ve TGF- β 1 seviyeleri solid phase sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri (Biosource International, California, USA) kullanılarak ölçüldü.

IL-12, VEGF ve TGF- β 1 ELISA protokolü: İlk gün human IL-12+p40 standartları ve 50 μ L'lik serum örnekleri 100 μ L Biotin Congugate ile 2 saat inkübe edilip takiben hazırlanan standart yıkayıcı solusyon ile TECAN marka ELISA yıkayıcısında 4 kez yıkandı. Ardından 100 μ L Streptavidin-HRP Working solusyonu ile yarım saat inkübe edildikten sonra yine aynı şekilde yıkama işlemi uygulandı ve tüm örnekler yarım saat süreyle Stabilized Chromogen solusyonuyla inkübe edildi ve takiben üzerine 100 μ L Stop Solution eklenen örnekler TECAN marka Sunrise model ELISA okuyucusunda okutuldu. İşlem sırasında standart absorbans okuması 450 nm'de yapılırken referans filtre değeri 540 nm olarak seçildi. İkinci gün Multispecies TGF- β 1 standartları ve 200 μ L'lik serum örnekleri 50 μ L Biotin Congugate ile 3 saat inkübe edilip takiben hazırlanan standart yıkayıcı solusyon ile TECAN marka ELISA yıkayıcısında 4 kez yıkandı. Takiben tüm örnekler 100 μ L Streptavidin-HRP Working solusyonu ile yarım saat inkübe edildikten sonra yine aynı şekilde yıkama işlemi uygulandı ve hepsi yarım saat süreyle 100 μ L Stabilized Chromogen solusyonuyla inkübe edildi ve takiben üzerine 100 μ L Stop Solution eklenen örnekler TECAN marka Sunrise model ELISA okuyucusunda okutuldu. İşlem sırasında standart absorbans okuması 450 nm'de yapılırken referans filtre değeri 540 nm olarak seçildi. Üçüncü gün human VEGF standartları ve 50 μ L'lik serum örnekleri 50 μ L Standart diluent Buffer ile 2 saat inkübe edilip takiben hazırlanan standart yıkayıcı solusyon ile TECAN marka ELISA yıkayıcısında 4 kez yıkandı. Takiben tüm örnekler 100 μ L Biotin Congugate

ile 1 saat inkübe edilip aynı şekilde yıkama işlemi yapıldı. Ardından tüm örnekler 100 µL Streptavidin-HRP Working solusyonu ile yarım saat inkübe edilip sonra yine aynı şekilde yıkama işlemi uygulandı ve hepsi yarım saat süreyle 100 µL Stabilized Chromogen solusyonuyla inkübe edildi ve takiben üzerine 100 µL Stop Solution eklenen örnekler TECAN marka Sunrise model ELISA okuyucusunda okutuldu. İşlem sırasında standart absorbands okuması 450 nm'de yapılırken referans filtre değeri 540 nm olarak seçildi. Tüm optik dansite sonuçlarından bilgisayar ortamında regresyon analiz programı kullanılarak numerik IL-12, TGF-β1, VEGF düzeyleri hesaplandı.

İstatistik

Sonuçlar CA 125 için U/ml; TGF-β1, VEGF, IL-6, IL-12, için pg/ml cinsinden ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Tanımlayıcı istatistikler; tanı grupları arasında, CA 125 IL-6, IL-12, TGF-β1, VEGF düzey ortalamaları arasındaki farkın değerlendirilmesinde Kruskal Wallis Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. İki bağımsız grubun ortalamaları farkı non-parametrik "Mann-Whitney U" testi ile, iki bağımsız grubun farklarının ortalaması "Wilcoxon-signed rank" testi ile yapıldı. İki sayısal değişken arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. Veri giriş ve analizi SPSS for Windows Version 10.0 programı kullanılarak yapıldı. İki yönlü sonuçlarda p değeri 0,05'den küçük olanlar anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Endometriozisli hastaları içeren çalışma grubunda preoperatif serum CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6 ve IL-12 düzeylerinin birbiriyle olan korelasyonu değerlendirildiğinde çalışan sitokinlerden hiçbirinin serum düzeylerinin serum CA 125 düzeyleri ile korelasyon göstermediği görülmüştür. Serum sitokin düzeylerinin kendi aralarında korelasyonu incelendiğinde, sadece IL-6 ile IL-12 arasında zayıf ($r=-0,256$, $p=0,006$) ilişki olduğu görülmüştür. Değerlendirilen CA 125 ve sitokin düzeylerinden sadece serum TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evresi ($r=-0,424$, $p=0,001$) ve endometriozis skoru ($r=-0,395$, $p=0,002$) ile zayıf ilişkili olduğu görülmüştür. Yine, endometriozisli hasta grubunun evrelerine göre preoperatif ortalama serum ($\pm$ SD) CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6, IL-12 düzeylerinin karşılaştırılmasında sadece TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evrelerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ve bu farklılığın minimal endometriozis ile ileri evre endometriozis grupları arasında olduğu (evre I ile III ve evre I ile IV) görülmüştür (Tablo 9).

Tablo 9: Endometriozisli Hastalarda Endometriozis Evrelerine Göre Preoperatif Serum CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6, IL-12 Düzeyleri*

	Evre I Ort$\pm$SD n	Evre II Ort$\pm$SD n	Evre III Ort$\pm$SD n	Evre IV Ort$\pm$SD n	P değeri
CA 125 düzeyi (U/ml)	11, 19 $\pm$ 6, 56 6	13, 0 $\pm$ 5, 2 7	74, 6 $\pm$ 108, 9 35	74, 7 $\pm$ 116, 7 13	$P=4,30$
TGF-β1 düzeyi (pg/ml)	9473, 1 $\pm$ 5264, 4 ^{a, b} 6	11311, 5 $\pm$ 4341, 6 7	17403, 8 $\pm$ 5871, 2 ^a 35	18946, 1 $\pm$ 8945, 4 ^b 12	$P=,006^*$
VEGF düzeyi (pg/ml)	345, 6 $\pm$ 231, 3 5	183, 9 $\pm$ 158, 9 7	370, 0 $\pm$ 414, 5 33	256, 2 $\pm$ 136, 2 11	$P=0,64$
IL-6 düzeyi (pg/ml)	102, 2 $\pm$ 184, 2 6	31, 5 $\pm$ 37, 7 7	72, 5 $\pm$ 74, 5 35	156, 3 $\pm$ 263, 3 13	$p=0,31$
IL-12 düzeyi (pg/ml)	60, 0 $\pm$ 52, 3 6	73, 0 $\pm$ 43, 9 7	79, 8 $\pm$ 33, 2 35	76, 0 $\pm$ 38, 0 13	$P=0,59$

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

a TGF- β 1 düzeyi evre I – III arası farklı, Posthoc Scheffe testi ($p=0,06$)

b TGF- β 1 düzeyi evre I – IV arası farklı, Posthoc Scheffe testi ($p=0,04$)

Erken evre pelvik peritoneal endometriozisi ve endometrioması olan olguların ve kontrol grubunun preoperatif ortalama serum $\pm$ SD CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6, IL-12, düzeyleri **Tablo10'**da gösterilmiştir.

Tablo 10: Çalışma ve Kontrol Gruplarında Preoperatif Serum CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6, IL-12 Düzeyleri*

	Kontrol grubu (Ortalama $\pm$ SD)	Endometriozis grubu (Ortalama $\pm$ SD)	Endometrioma grubu (Ortalama $\pm$ SD)	P değeri
CA 125 düzeyi (U/ml)	12, 8 $\pm$ 7, 8 ^a	14, 37 $\pm$ 7, 8 ^b	75, 34 $\pm$ 110, 8 ^{b, a}	$p=0.001$
TGF-β1 düzeyi (pg/ml)	15657, 8 $\pm$ 5873, 8	11286, 1 $\pm$ 4862 ^c	17849, 1 $\pm$ 1022, 1 ^c	$p = 0.003$
VEGF düzeyi (pg/ml)	290, 1 $\pm$ 162, 6	227, 3 $\pm$ 194, 2	346, 4 $\pm$ 367, 8	$P=0, 441$
IL-6 düzeyi (pg/ml)	45, 7 $\pm$ 63, 7	57, 3 $\pm$ 119, 2	98, 1 $\pm$ 152, 7	$P=0, 03$
IL-12 düzeyi (pg/ml)	80, 3 $\pm$ 40 ^d	76, 4 $\pm$ 49, 8	76, 5 $\pm$ 32, 1 ^d	$P=0, 935$

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

a Posthoc Scheffe testi ($p=0, 05$)

b Posthoc Scheffe testi ($p=0, 04$)

c Posthoc Scheffe testi ($p = 0, 004$)

d Posthoc Scheffe testi ($p=0, 05$)

Serum CA 125 seviyelerinin karşılaştırılması

Kruskal Wallis testi ile erken evre endometriozis, endometrioma ve kontrol grupları arasında ortalama serum CA 125 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu gösterilmiştir ($p=0.01$). Yapılan posthoc testlerde ortalama serum CA 125 düzeylerinin

kontrol ve pelvik endometriozis grupları arasında farklılık göstermezken, endometrioma grubunun ortalama serum CA 125 düzeylerinin pelvik endometriozis ($p=0,05$) ve kontrol grubundan ($p=0,04$) anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 10**).

Endometriozisli hastaların serum CA 125 seviyeleri ile klinik özellikleri arasındaki ilişki Tablo 11 ve Tablo 12’de özetlenmiştir. Erken evre pelvik peritoneal endometriozisli ve endometrioma gruplarındaki hastalar kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum CA 125 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda pelvik peritoneal endometriozisli olgularda her üç erken evredeki (evre 1, evre 2 ve evre 3) hastalar arasında ortalama serum CA 125 seviyeleri evre ilerledikçe artma eğilimi göstermekle birlikte, evreler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Benzer şekilde endometrioma grubundaki hastalarda kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum CA 125 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda endometriomalı hastalarda evre 3 ve 4 arasında ortalama serum CA 125 seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 11: Endometriozisli Hastalarda Klinik Özellikler ve Serum CA 125 Seviyeleri Arasındaki İlişki*

	Endometriozis Grubu Ort $\pm$ SD (n)			Endometrioma Grubu Ort $\pm$ SD (n)		
	yok	var	p	Yok	var	P
Kronik pelvik ağrı	12, 94 $\pm$ 5, 42 (10)	17, 24 $\pm$ 11, 6 (5)	0, 46	55, 36 $\pm$ 35, 14 (23)	94, 49 $\pm$ 150, 42 (24)	0, 68
Dismenore	12, 61 $\pm$ 6, 53 (6)	15, 55 $\pm$ 8, 80 (9)	0, 48	59, 26 $\pm$ 40, 98 (13)	81, 49 $\pm$ 128, 01 (34)	0, 53
Disparoni	13, 46 $\pm$ 5, 95 (7)	16, 25 $\pm$ 9, 80 (7)	0, 56	49, 74 $\pm$ 37, 20 (23)	82, 18 $\pm$ 106, 04 (16)	0, 41
İnfertilite öyküsü	16, 91 $\pm$ 4, 12 (2)	14, 52 $\pm$ 8, 47 (12)	0, 58	64, 28 $\pm$ 81, 30 (30)	55, 81 $\pm$ 48, 44 (8)	0, 87

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır

Tablo 12: Endometriozisli Hastalarda Hastaların Evresine Göre Serum CA 125 Seviyelerinin Karşılaştırılması*

Evre	1	2	3	4	P değeri
Endometriozis Grubu (n)	(6)	(7)	(2)	-	0, 07
ort $\pm$ SD	11, 19 $\pm$ 6, 56	13, 00 $\pm$ 5, 20	28, 75 $\pm$ 0, 63		
Endometrioma Grubu (n)	-	-	(33)	(13)	0, 32
ort $\pm$ SD			77, 37 $\pm$ 111, 62	74, 70 $\pm$ 116, 66	

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

Serum TGF- β 1 seviyelerinin karşılaştırılması

Kruskal Wallis testi ile erken evre endometriozis, endometrioma ve kontrol grupları arasında ortalama serum TGF- β 1 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu gösterilmiştir ($p = 0.003$) (Tablo 10). Yapılan posthoc testlerde ortalama serum TGF- β 1 düzeylerinin kontrol ve pelvik endometriozis grupları arasında ($p = 0,13$) ve kontrol ve endometrioma grubu arasında ($p = 0,44$) farklılık göstermediği, endometrioma grubunun ortalama serum TGF- β 1 düzeylerinin pelvik endometriozis grubundan ($p = 0,004$) anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10). Yine hastaların evrelerine göre serum TGF- β 1 düzeyleri karşılaştırıldığında minimal endometriozis (evre I) grubuna göre ileri evre (III-IV) endometriozisli hastalarda ortalama serum TGF- β 1 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 9).

Endometriozisli hastaların serum TGF- β 1 seviyeleri ile klinik özellikleri arasındaki ilişki Tablo 13 ve Tablo 14'de özetlenmiştir. Erken evre pelvik peritoneal endometriozisli ve endometrioma gruplarındaki hastalar kronik pelvik ağrı, dismenore, dispareni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum TGF- β 1 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda pelvik peritoneal endometriozisli olgularda her üç erken evredeki (evre 1, evre 2 ve evre 3) hastalar arasında ve endometriomalı hastalarda evre 3 ve 4 arasında ortalama serum TGF- β 1 seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 13: Endometriozisli Hastalarda Klinik Özellikler ve Serum TGF- β 1 Düzeyleri Arasındaki İlişki*

	Endometriozis Grubu Ort $\pm$ SD (n)			Endometrioma Grubu ort $\pm$ SD (n)		
	yok	var	p	Yok	var	P
Kronik pelvik ağrı	11237, 40 $\pm$ 4118, 93 (10)	11383, 60 $\pm$ 6669, 24 (5)	0, 71	17708, 46 $\pm$ 7840, 52 (22)	17983, 79 $\pm$ 5942, 31 (23)	0, 75
Dismenore	13904, 66 $\pm$ 2541, 97 (6)	9540, 44 $\pm$ 5359, 59 (9)	0, 07	17959, 2 $\pm$ 7535, 74 (13)	17804, 49 $\pm$ 6688, 87 (32)	0, 53
Disparoni	12183, 14 $\pm$ 3887, 35 (7)	10044, 85 $\pm$ 6024, 71 (7)	0, 48	17214, 64 $\pm$ 6180, 99 (22)	17483, 41 $\pm$ 6958, 08 (15)	0, 71
İnfertilite öyküsü	11710 $\pm$ 2616, 29 (2)	11014, 66 $\pm$ 5366, 40 (12)	1	17840, 55 $\pm$ 6216, 85 (28)	15628, 25 $\pm$ 7614, 96 (8)	0, 45

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır

Tablo 14: Endometriozisli Hastalarda Hastaların Evresine Göre Serum TGF- β 1 Seviyelerinin Karşılaştırılması*

Evre	1	2	3	4	P değeri
Endometriozis Grubu (n) ort $\pm$ SD	(6) 19473, 06 $\pm$ 5264, 35	(7) 11311, 54 $\pm$ 4341, 56	(2) 16636, 40 $\pm$ 1427, 22	-	0, 13
Endometrioma Grubu (n) ort $\pm$ SD	-	-	(33) 17450, 30 $\pm$ 6043, 43	(12) 18946, 11 $\pm$ 8945, 36	0, 85

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

Serum VEGF seviyelerinin karşılaştırılması

Kruskal Wallis testi ile erken evre endometriozis, endometrioma ve kontrol grupları arasında ortalama serum VEGF düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklı olmadığı tespit edilmiştir (**Tablo 10**).

Endometriozisli hastaların serum VEGF seviyeleri ile klinik özellikleri arasındaki ilişki Tablo 15 ve Tablo 16'da özetlenmiştir. Erken evre pelvik peritoneal endometriozisli ve endometrioma gruplarındaki hastalar kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum VEGF seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda pelvik peritoneal endometriozisli olgularda her üç erken evredeki (evre 1, evre 2 ve evre 3) hastalar ve endometriomalı hastalarda evre 3 ve 4 arasında ortalama serum VEGF seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 15: Endometriozisli Hastalarda Klinik Özellikler ve Serum VEGF Düzeyleri Arasındaki İlişki*

Klinik Özellik	Endometriozis Grubu U/ml Ort ±SD (n)			Endometrioma Grubu Ort ±SD (n)		
	yok	var	p	Yok	var	P
Kronik pelvik ağrı	247, 70±219, 12 (10)	176, 50±120, 71 (4)	0, 67	176, 50±120, 71 (4)	335, 52±271, 13 (21)	0, 61
Dismenore	258, 5±269, 84 (6)	204±128, 78 (8)	1	238, 57±142, 97 (13)	393, 26±426, 84 (30)	0, 47
Disparoni	273, 28±230, 19 (7)	207, 00±151, 94 (6)	0, 56	393, 74±440, 58 (22)	267, 14±225, 54 (14)	0, 53
İnfertilite öyküsü	267, 14±225, 54 (14)	267, 14±225, 54 (14)	0, 11	371, 46±400, 50 (29)	371, 46±400, 50 (29)	0, 45

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır

Tablo 16: Endometriozisli Hastalarda Hastaların Evresine Göre Serum VEGF Seviyelerinin Karşılaştırılması*

Eyre	1	2	3	4	P değeri
Endometriozis Grubu (n)	(29)	(7)	(2)	-	0, 18
ort ±SD	371, 46±400, 50	183, 85±158, 93	84, 00±22, 62		
Endometrioma Grubu (n)	-	-	(31)	(11)	0, 74
ort ±SD			388, 40±421, 22	256, 19±136, 16	

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

Serum IL-6 seviyelerinin karşılaştırılması

Kruskal Wallis testi ile erken evre endometriozis, endometrioma ve kontrol grupları arasında ortalama serum IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**Tablo 10**). Yapılan posthoc testlerde ortalama serum IL-6 düzeylerinin endometrioma grubunun ortalama serum IL-6 düzeylerinin kontrol grubundan ($p=0,05$) anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (**Tablo 10**).

Endometriozisli hastaların serum IL-6 seviyeleri ile klinik özellikleri arasındaki ilişki Tablo 17 ve Tablo 18'de özetlenmiştir. Erken evre pelvik peritoneal endometriozisli ve endometrioma gruplarındaki hastalar kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum IL-6 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda pelvik

peritoneal endometriozisli olgularda her üç erken evredeki (evre 1, evre 2 ve evre 3) hastalar arasında ve endometriomalı hastalarda evre 3 ve 4 arasında ortalama serum IL-6 seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 17: Endometriozisli Hastalarda Klinik Özellikler ve Serum IL-6 Düzeyleri Arasındaki İlişki*

	Endometriozis Grubu U/ml Ort ±SD (n)			Endometrioma Grubu Ort ±SD (n)		
	yok	var	p	Yok	var	P
Kronik pelvik ağrı	73, 6±144, 17 (10)	24, 67±31, 40 (5)	0, 46	90, 96±100, 09 (23)	104, 97±192, 36 (24)	0, 55
Dismenore	112, 18±181, 19 (6)	20, 75±24, 38 (9)	0, 09	98, 88±109, 88 (13)	97, 83±167, 77 (34)	0, 44
Disparoni	81, 97±173, 22 (7)	24, 73±26, 40 (7)	0, 94	100, 41±102, 81 (23)	98, 20±230, 13 (16)	0, 06
İnfertilite öyküsü	244, 35±324, 77 (2)	21, 51±21, 52 (12)	0, 20	71, 80±88, 22 (30)	214, 48±308, 13 (8)	0, 06

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır

Tablo 18 Endometriozisli Hastalarda Hastaların Evresine Göre Serum IL-6 seviyelerinin karşılaştırılması*

Evre	1	2	3	4	P değeri
Endometriozis Grubu (n)	(6)	(7)	(2)	-	
ort ±SD	102, 24±184, 18	31, 51±37, 65	12, 93±13, 06		0, 68
Endometrioma Grubu (n)	-	-	(33)	(13)	
ort ±SD			76, 09±75, 21	156, 26±263, 30	0, 61

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

Serum IL-12 seviyelerinin karşılaştırılması

Kruskal Wallis testi ile erken evre endometriozis, endometrioma ve kontrol grupları arasında ortalama serum IL-12 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı farklı olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 10).

Endometriozisli hastaların serum IL-12 seviyeleri ile klinik özellikleri arasındaki ilişki Tablo 19 ve Tablo 20’de özetlenmiştir. Erken evre pelvik peritoneal endometriozisli hasta grubundaki hastalar kronik pelvik ağrı, dismenore ve dispareni ve infertilite öyküsü olup olmadığına göre ortalama serum IL-12 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda pelvik peritoneal endometriozisli olgularda her üç erken evredeki (evre 1, evre 2 ve evre 3) hastalar arasında ortalama serum IL-12 seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir.

Benzer şekilde endometrioma grubundaki hastalarda kronik pelvik ağrı, dismenore ve disparoni olup olmadığına göre ortalama serum IL-12 seviyeleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Aynı zamanda endometriomalı hastalarda evre 3 ve 4 arasında ortalama serum IL-12 seviyeleri yönünden anlamlı farklılık tespit edilememiştir. Buna karşın, endometrioma grubunda infertilite öyküsü olan hastaların ($49, 53 \pm 35, 15$ pg/ml) serum IL-12 düzeyinin infertilite öyküsü olmayan hastalardan ($77, 68 \pm 26, 16$ pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir ($p = 0, 01$).

Tablo 19: Endometriozisli Hastalarda Klinik Özellikler ve Serum IL-12 Düzeyleri Arasındaki İlişki*

	Endometriozis Grubu U/ml Ort $\pm$ SD (n)			Endometrioma Grubu Ort $\pm$ SD (n)		
	yok	var	p	Yok	var	P
Kronik pelvik ağrı	69, 95 $\pm$ 44, 84 (10)	89, 42 $\pm$ 62, 08 (5)	0, 9	76, 88 $\pm$ 28, 75 (23)	76, 27 $\pm$ 35, 80 (24)	0, 89
Dismenore	70, 90 $\pm$ 48, 10 (6)	80, 14 $\pm$ 53, 50 (9)	1	73, 42 $\pm$ 24, 48 (13)	77, 77 $\pm$ 34, 95 (34)	0, 86
Disparoni	71, 33 $\pm$ 51, 83 (7)	80, 29 $\pm$ 55, 21 (7)	0, 84	69, 68 $\pm$ 25, 79 (23)	78, 42 $\pm$ 37, 88 (16)	0, 41
İnfertilite öyküsü	94, 48 $\pm$ 87, 94 (2)	72, 70 $\pm$ 48, 75 (12)	0, 36	77, 68 $\pm$ 26, 16 (30)	49, 53 $\pm$ 35, 15 (8)	0, 01

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır

Tablo 20 Endometriozisli Hastalarda Hastaların Evresine Göre Serum IL-12 seviyelerinin karşılaştırılması*

Evre	1	2	3	4	P değeri
Endometriozis Grubu					
(n)	(6)	(7)	(2)	-	
ort $\pm$ SD	59, 96 $\pm$ 52, 34	73, 02 $\pm$ 43, 88	137, 87 $\pm$ 16, 21		0, 26
Endometrioma Grubu					
(n)	-	-	(33)	(13)	
ort $\pm$ SD			76, 26 $\pm$ 30, 62	75, 97 $\pm$ 38, 01	0, 78

* Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır

V. TARTIŞMA

Bu çalışmada erken evre peritoneal endometriozis ve endometrioma tanısı almış hastaların serumlarında CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6, ve IL-12 düzeyleri çalışılmış ve bunlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu sitokin ve büyüme faktörü seviyelerinin klinik özelliklerle ilişkisi de analiz edilmiştir.

Endometriozis patogenezinin birçok faktöre bağlı olabileceği bilinmekle birlikte, patogenezi açıklayabilecek tek bir teori yoktur. Günümüzde en çok üzerinde durulan ve etiyopatogeneizde rol aldığı düşünülen en önemli mekanizmalardan birisi de periton yüzeyleri ve peritoneal sıvıda meydana gelen lokal immün yanıt değişiklikleri (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , TGF- β , VEGF, CSF-1, MCP-1, hepatosit büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri ve sitokin değişiklikleri) dir (25). Sitokinler ve büyüme faktörleri; kemotaksis, angiogenez ve mitozda önemli rolleri olduğu bilinen, düşük molekül ağırlıklı çözünebilir proteinlerdir. Bu faktörler immün sistem ve diğer sistemler arasında otokrin ve parakrin etkileşimde önemli rol oynarlar ve etkilerini özel reseptörler aracılığıyla gerçekleştirirler (56). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda endometrioziste, ağırlıklı olarak peritoneal sıvıda ELISA yöntemiyle ve endometriotik dokularda immünohistokimyasal olarak bu sitokin ve büyüme faktörlerinin düzeylerinde değişiklikler tespit edilmiştir.

Endometriozis'in tanı ve takibinde günümüzde en yaygın olarak kullanılan serum belirteci CA 125'dir. CA 125'in minimal veya erken evre endometriozis'te normal, orta ve ileri evre endometriozislilerde yüksek olduğu bilinmektedir (2). Bizim çalışmamızda da, klasik

literatür bilgilerine paralel olarak, serum CA 125 düzeylerinin ileri evre (endometrioma) endometriozis grubunda kontrol grubu ve hafif veya minimal peritoneal endometriozis grubundan anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu ve hafif veya minimal endometriozis arasında serum CA 125 düzeylerinin farklı olmadığı bulunmuştur. Eldeki veriler tek bir serum CA 125 değerinin endometriozis tanısında sensitivitesinin oldukça düşük olduğunu göstermektedir (46). Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler de bunu desteklemektedir. Genel olarak kabul edilen normal sınır olan 35 U/ml baz alındığında, çalışmamızdaki erken evre hastaların tümünün ve ileri evre endometriozisli hastaların % 32'sinin serum CA 125 değerlerinin normal sınırlar içinde olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, endometriozis tanısında tek bir CA 125 ölçümünün sensitivitesinin oldukça düşük olması, serum seviyeleri ile hastalık yaygınlığı arasında birebir ilişki olmaması ve özellikle diğer malign kistlerde de artış göstermesi gibi faktörler nedeniyle serum CA 125 ölçümü endometriozisin tanı ve takibinde kullanılabilecek endometriozise spesifik ideal bir test değildir. Bu nedenle başta serum sitokin düzeyleri olmak üzere hem etiyopatogeneze yönelik bilgi elde etmek, hem de endometriozisin klinik tanı ve takibine katkı sağlayabilecek non-invazif, pratik ve ideal tanı testlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Ektopik endometrial hücrelerin lokal immün yanıtta kurtulup peritoneal kavitede varlıklarını sürdürebilmeleri ve diğer anjiyogenetik faktörlerin etkisiyle de periton yüzeylerine implante olabilmeleri için periton yüzeylerindeki hücrelerden veya doğrudan endometriotik bez hücrelerinden salgılanan sitokin ve büyüme faktörlerinin önemli katkıları olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda endometriozis patogenezinde özellikle implantasyon ve anjiogenez döneminde etkili olduğu bilinen iki büyüme faktörü olan TGF-

β ve VEGF özellikle tercih edilmiştir. Tümör hücrelerinden salınan TGF- β 'nın lokal immün yanıtı baskılayarak tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışına ve lokal invazyonuna yardımcı olma mekanizmasına benzer olarak endometriotik hücreler de TGF- β salgılayarak immün sistemden kurtulup peritoneal kavitede varlıklarını sürdürebilirler. Endometriozis etiyopatogenezinde TGF- β 'nın rolünü araştıran çalışmalarda ötopik ve ektopik endometrial doku örneklerinde immünohistokimyasal olarak TGF- β ekspresyonunun veya endometrial doku kültürlerinde TGF- β 'nın etkilerinin gösterildiği pek çok çalışma olmakla birlikte serum ve peritoneal sıvıda TGF- β düzeyleri sadece üç çalışmada araştırılmıştır (17, 50, 53). Bu çalışmalardan sadece birinde serum TGF- β düzeyleri araştırılmıştır. Pizzo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada endometriozisli hastalarda periton sıvısı ve serum TGF- β düzeylerinin endometriozisi olmayan kontrol grubuna göre periton sıvısında daha belirgin olacak şekilde anlamlı düzeyde yüksek olduğu gösterilmiştir (53). Bu çalışmada ayrıca periton sıvısı ve serum TGF- β düzeylerinin endometriozis evresi ile doğru orantılı olarak yükseldiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerde yukarıda belirtilen tek çalışmanın verilerini desteklemektedir. Serum TGF- β seviyeleri açısından, erken evre pelvik peritoneal endometriozis grubunda kontrol grubundan anlamlı bir fark tespit edilemezken, endometrioma grubunda erken evre pelvik peritoneal endometriozis grubundan istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hastaların endometriozis evrelerine göre karşılaştırılmasında ileri evre endometrioziste ortalama serum TGF- β seviyelerinin minimal endometriozis grubuna göre yüksek olması ve korelasyon analizinde endometriozis evresi ile TGF- β arasında ilişki bulunması TGF- β 'nın serum düzeylerinin hastalık şiddetini yansıtacak şekilde yükseldiğini göstermektedir. Bu bulgular çalışmamızda endometriozis için potansiyel bir serum belirteci olarak TGF- β düzeylerinin CA 125 düzeylerine benzer özellikte olduğunu göstermektedir.

Ektopik endometrial dokuların peritoneal yüzeylere başarılı adezyonunu takiben gerçekleşen anahtar olaylardan birisi de yaşamlarını sürdürebilmeleri için yeni kan desteğini sağlayabilmeleridir. Lokal anjiyogenezisin en önemli mediatörü VEGF'dir. VEGF, endometriotik implantlar tarafından da eksprese edilir ve ekspresyon inaktif siyah barut yanığı şeklindeki implantlarla karşılaştırıldığında kırmızı endometriotik lezyonların çevresinde daha fazladır (11). VEGF endometrioziste periton sıvısı ve serumda en çok çalışma yapılan büyüme faktörlerinden birisidir. Endometriozisli hastalarda periton sıvısı düzeylerinin genellikle yüksek olduğu bildirilmekle beraber serum VEGF düzeylerinin incelendiği çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Literatürde endometrioziste serum VEGF düzeylerinin karşılaştırıldığı dört çalışmanın ikisinde endometrioziste serum VEGF düzeylerinde yükselme bildirilirken (15, 40), diğer iki çalışmada kontrol grubu ve evrelerine göre serum VEGF düzeylerinde fark gösterilememiştir (19, 52). Çalışmamızda kontrol grubu ile erken evre peritoneal endometriozis ve ovarian endometrioması olan gruplar arasında ve endometriozisli hastaların evrelerine göre serum VEGF düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda serum VEGF seviyeleri arasında anlamlı ilişki tespit edilemedi. Literatürde serum VEGF seviyelerinin ölçülmesinde endometriozisli hastaların sonuçlarının genellikle kontrol grubundan farklılık göstermemesinin serum ölçümündeki metodolojik bir hatadan kaynaklanmış olabileceği öne sürülmüştür. Periferik kanda trombositler en önemli VEGF kaynağıdır. Kan örneklerinin serumunun ayrıştırılması sırasında kanın pıhtılaşması nedeniyle trombosit hücre içi VEGF'nin seruma karışması nedeniyle trombosit kaynaklı VEGF'nin kan düzeylerinde yüz katına yakın artışlara neden olabileceği, bunun da endometriotik odaklardan kaynaklanan minör farkları maskeleyeceği bildirilmiştir (18). Çalışmamızda serum örneklerinin elde edilmesinde hastalardan alınan kan örnekleri düz

tüplere alındıktan hemen sonra pıhtılaşma olmadan santrifüj edilerek serumu ayrıştırılmıştır. Bu nedenle, trombosit kaynaklı VEGF'nin etkisinin olmayacağını düşünmekteyiz.

Endometriozis patogenezinde rol aldığı düşünülen diğer iki proinflamatuvar sitokin ise IL-6 ve IL-12'dir. IL-6 endometrioziste üzerinde en çok çalışma yapılan sitokindir. Yapılan birçok çalışmada endometriozisle ilişkisi ortaya konmuştur (4, 55, 64). Bununla birlikte, endometriozisli hastalarda periton sıvısı ve serum IL-6 düzeyleri ile ilgili veriler çelişkilidir. Bazı çalışmalarda periton sıvısı IL-6 düzeyleri yükselmiş olarak bulunurken, bazılarında yükselme tespit edilememiştir (3, 27, 33, 34, 63). Bazı çalışmalarda da IL-6 konsantrasyonunun endometriozis evresiyle anlamlı ölçüde korele olduğu ve ileri evrelerde periton sıvısı IL-6 düzeylerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (6, 7). Endometriozisli hastalarda serum IL-6 düzeylerinin incelendiği daha önce yapılmış dört çalışmanın üçünde endometriozisli hastalarda serum IL-6 seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilirken (3, 7, 52), bu konuda en son yapılan bir çalışmada ise serum seviyelerinin endometriozisli hastalarda olmayanlara göre değişme göstermediği bildirilmiştir (60). Bu çalışmalardan ikisinde serum IL-6 düzeylerinin ölçümünde aynı firmanın ELISA kiti kullanılırken diğer iki çalışmada farklı firmaların ELISA kitleri kullanılmıştır. Bu dört çalışmada kullanılan ELISA kitlerinin hiçbirisi bizim kullandığımız kit değildir. Bu çalışmalardan serum IL-6 düzeylerinin endometriozisli hastalarda değişmediğini bildiren Somigliano ve arkadaşlarının çalışmasında elde edilen serum IL-6 düzeylerinin aynı kitin kullanıldığı Bedaiwy ve arkadaşlarının çalışmasından belirgin oranda düşük çıktığı görülmektedir. Dolayısıyla, Somigliano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın verileri kullanılan ticari ELISA testindeki metodolojik hatadan kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar endometrioziste serum IL-6 seviyelerinin yükseldiği yönündedir. Endometrioma grubunun ortalama serum IL-6 düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu ($p=0,05$) tespit edilmiştir. Çalışmamızda ortalama serum IL-6 düzeylerinin evrelere göre dağılımının incelenmesinde en yüksek ortalama serum düzeyinin evre IV hastalarda ($156,3 \pm 263,3$) olduğunun saptanmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır. Bunun nedeni erken evre hastalarda olgu sayısının azlığı olabilir. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz ortalama IL-6 düzeylerinin diğer çalışmalardan elde edilen ortalama değerlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Benzer vaka gruplarında bizim kullandığımız ticari ELISA kitinin kullanıldığı herhangi bir çalışma olmadığı için kendi verilerimizi bu yönden diğer çalışmaların sonuçları ile verifiye etme şansımız olmamıştır. Sonuç olarak, çalışmamız ve önceki çalışmalardan elde edilen veriler serum IL-6 düzeylerinin endometrioziste yükseldiği ve özellikle hastalığı ileri evrelerinde daha yüksek olduğu şeklindedir. Aynı zamanda serum IL-6 seviyelerinin GnRH analogları ile ve laparoskopi sonrası düşmesi (7), bu testin tedavi etkinliğinin ve relapsların takibinde kullanılabilirliğini desteklemektedir. Bu testin endometriozisin serum testi ile tanısında CA 125'e göre karşılaştırılmasında daha fazla olgu içeren çalışmalardan elde edilecek verilere ihtiyaç vardır.

İmmün sistem hücrelerinin, yabancı ajanlara karşı uyarılabilmeleri, yeterli ve sağlıklı yanıt verebilmeleri ve onları ortadan kaldırabilmeleri için (ektopik endometrial hücrelerin ortadan kaldırılması gibi) yeterli düzeyde IL-12 uyarısına ihtiyaçları vardır. Bu uyarıdaki yetersizlik abdominal kaviteye dökülen endometrial hücrelerin yetersiz temizlenmesi ve endometriozis gelişimi ile ilişkili olabilir. Somigliana ve arkadaşlarının yaptığı endometriozis modeli olan bir çalışmada; IL-12 uygulamasının ektopik endometrial

implantasyonu önlediği bulunmuştur (60). Ayrıca, IL-12' nin p40 subunitinin fazlalığının NK aktivitesini inhibe ederek endometriozis gelişiminde etkiliği olabileceği bildirilmiştir (41). Periton sıvısında IL-12 düzeyinin incelendiği çalışmaların sonuçları da IL-6'da olduğu gibi çelişkilidir. Birçok çalışmada endometriozisli hastalarda periton sıvısı IL-12 seviyelerinin olmayanlara göre farklılık göstermediği bildirilirken (3, 21, 72), bir çalışmada orta ve şiddetli endometriozisli hastalarda periton sıvısı IL-12 düzeylerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (65). Endometriozisli hastalarda serum IL-12 düzeylerinin değerlendirildiği tek çalışmada kontrol grubuna göre endometriozisli hastaların serum IL-12 düzeylerinin farklı olmadığı bulunmuştur (3). Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler de endometrioziste serum IL-12 seviyelerinin yükselme göstermediği yönündedir. Çalışmamızda endometriozisli hastalarda klinik özellikler; kronik pelvik ağrı, dismenore, dispareni ve endometriozis evresi ile serum IL-12 seviyeleri arasında anlamlı ilişki tespit edilemezken; serum IL-12 seviyelerinin infertilite öyküsü olan grupta infertilite öyküsü olmayan gruptan istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç da literatür bilgilerine paralel olup; yetersiz IL-12 seviyelerinin, yetersiz immün yanıt dolayısı ile abdominal kavitenin endometrial hücrelerden yetersiz eliminasyonu, sonuçta endometriozis gelişimi ve buna bağlı infertilite ile sonuçlanabileceği görüşünü desteklemektedir.

Sonuç olarak; sitokinler, hücrel aktiviteleri düzenleyen düşük molekül ağırlıklı çözünebilir proteinleri içeren büyük bir ailedir. Bu araçlar hem immün sistem içinde hem de vücutta diğer sistemler ile immün sistem arasında otokrin ve parakrin haberciler olarak fonksiyon görürler. Sitokinler ve büyüme faktörleri; kemotaksis, mitoz, anjiyogenezis, ve diferansiasyonun düzenlenmesinde önemli roller oynarlar. Bozulmuş hücrel immün yanıt

endometrial hücrelerin peritoneal kavite içerisinde yaşamalarına izin vererek etkili olurken, sitokin ve büyüme faktörleri ise proliferasyon ve anjiyogenezis aracılığı ile ektopik endometrial hücrelerin implantasyon ve gelişimlerini uyarıyor gibi görünmektedir. Üstelik belirli sitokinler endometrial hücrelerin peritoneal yüzeylere tutunmalarını ve bu hücrelerin mezotel içerisine invazyonunu sağlamaktadır (58). Endometriozis tanısında serum sitokin ve büyüme faktörleri ile ilgili bütün literatür bilgileri ve bizim sonuçlarımız doğrultusunda; hem endometriozis etiopatogenezinde rol aldıkları hem de tanı ve takip belirteçleri olarak kullanılmaları düşünülen sitokin ve büyüme faktörlerinden serum TGF- β 1 ve IL-6 düzeylerinin endometriotik kisti olan hasta grubunda serum düzeyinin yüksek olması nedeni ile endometrioma tanı ve takibinde serum belirteci olarak kullanılabilir olduğu görülmektedir. Bu testlerin endometriozisin cerrahi dışı tanısında serum CA 125 testine alternatif olup olamayacağını belirlemek için daha fazla olgu içeren çalışmalara ihtiyaç vardır. Serum IL-12 düzeyinin infertilite öyküsü olan endometriozisli hasta grubunda düşük tespit edilmesi nedeni ile infertil hasta popülasyonunda serum IL-12 düzeyi infertilite prognozunun tahmininde anlamlı bir belirteç olarak kullanılabilir.

VI. SONUÇ

Bu çalışmada erken evre pelvik peritoneal endometriozis tanısı almış 15 olgu, endometrioma tanısı almış 47 olgu ve 17 sağlıklı kadında serum CA 125, TGF- β 1, IL-6, IL-12 ve VEGF düzeylerinin karşılaştırılması sonucunda;

1. Serum sitokin düzeylerinin kendi aralarında korelasyonu incelendiğinde, sadece IL-6 ile IL-12 arasında zayıf ($r=-0,256$, $p=0,006$) ilişki olduğu görülmüştür. Değerlendirilen CA 125 ve sitokin düzeylerinden sadece serum TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evresi ($r=-0,424$, $p=0,001$) ve endometriozis skoru ($r=-0,395$, $p=0,002$) ile zayıf ilişkili olduğu görülmüştür. Yine, endometriozisli hasta grubunun evrelerine göre preoperatif ortalama serum düzeylerinin karşılaştırılmasında sadece TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evrelerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ve bu farklılığın minimal endometriozis ile ileri evre endometriozis grupları arasında olduğu (evre I ile III ve evre I ile IV) görülmüştür
2. Ortalama serum CA 125 düzeyleri yönünden erken evre endometriozis grubu ($14,37 \pm 7,86$ U/ml) ile kontrol grubu ($12,88 \pm 7,89$ U/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamazken ($p = 0,99$); endometrioma grubunda ($75.34 \pm 110,88$ U/ml) serum CA 125 düzeyinin erken evre peritoneal endometriozis grubu ($p=0,05$) ve kontrol grubundan ($p =0,03$) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir.
3. Ortalama serum TGF- β 1 düzeyleri açısından; erken evre peritoneal endometriozis grubu (11286 ± 4860 pg/ml) ile kontrol grubu ($15657,85 \pm 5873,80$ pg/ml) arasında ($p = 0$,

13) ve endometrioma grubu ($17849, 18 \pm 6856, 72$ pg/ml) ile kontrol grubu arasında ($p = 0, 44$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken; endometrioması olan grupta serum TGF- β 1 düzeyinin erken evre peritoneal endometriozisi olan gruptan istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p = 0, 002$).

4. Ortalama serum VEGF düzeyleri açısından; kontrol grubu ($290, 08 \pm 162, 64$ pg/ml), erken evre peritoneal endometriozis ($227, 35 \pm 194, 21$ pg/ml) grubu ve endometrioma grubu ($346, 49 \pm 369, 87$ pg/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir ($P=0, 441$).
5. Ortalama serum IL-6 düzeyleri açısından; kontrol grubu ($45, 79 \pm 63, 76$ pg/ml) ile erken evre peritoneal endometriozis grubu ($57, 32 \pm 119, 22$ pg/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemezken ($p = 0, 96$), endometrioma grubunun serum IL-6 düzeylerinin ($98, 12 \pm 152, 78$ pg/ml) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu ($p = 0, 05$) tespit edilmiştir.
6. Ortalama serum IL-12 düzeyleri açısından; kontrol grubu ($80, 34 \pm 40, 06$ pg/ml), erken evre peritoneal endometriozis grubu ($76, 44 \pm 49, 83$ pg/ml) ve endometrioma grubu ($76, 57 \pm 32, 19$ pg/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir. Endometrioma grubunda serum IL-12 düzeylerinin infertilite öyküsü olan grupta ($49, 53 \pm 35, 15$ pg/ml) infertilite öyküsü olmayan gruptan ($77, 68 \pm 26, 16$ pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olduğu bulunmuştur ($p = 0, 01$).

Bütün bu verilerin sonucunda; serum IL-6 ve TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis tanısında serum belirteci olarak kullanılabileceği görülmektedir.

VII. ÖZET

Endometriozis etiyopatogenezinde periton yüzeyleri ve periton sıvısında meydana gelen lokal immün yanıt değişikliklerinin rolü olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada endometriozis etiyopatogenez, tanı ve takibine katkıda bulunmayı amaçlayarak erken evre peritoneal endometriozisli 15, endometriomalı 47 ve 17 kontrol grubu olmak üzere toplam 79 olgunun serum CA 125, TGF- β 1, VEGF, IL-6 ve IL-12 düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır.

Serum sitokin düzeylerinden sadece IL-6 ile IL-12 arasında zayıf ($r=-0,256$, $p=0,006$) bir korelasyon olduğu görülmüştür. Serum TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evresi ($r=-0,424$, $p=0,001$) ve endometriozis skoru ($r=-0,395$, $p=0,002$) ile zayıf ilişkili olduğu görülmüştür.

Serum CA 125 düzeylerinin endometrioma grubunda ($75.34 \pm 110,88$ U/ml), kontrol grubundan ($12,88 \pm 7,89$ U/ml) ($p=0,03$) ve erken evre peritoneal endometriozis grubundan ($14,37 \pm 7,86$ U/ml) ($p=0,05$) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu bulunmuştur. Ortalama serum TGF- β 1 düzeylerinin endometrioma grubunda ($17849,18 \pm 6856,72$ pg/ml) erken evre peritoneal endometriozis grubundan (11286 ± 4860 pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,002$). Yine, TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis evrelerine göre anlamlı farklılık gösterdiği ve bu farklılığın minimal endometriozis ile ileri evre endometriozis grupları arasında olduğu (evre I ile III ve evre I ile IV) görülmüştür. Ortalama serum IL-12 düzeylerinin infertilite öyküsü olan grupta ($49,53 \pm 35,15$ pg/ml) infertilite öyküsü olmayan gruptan ($77,68 \pm 26,16$ pg/ml) anlamlı olacak şekilde düşük olduğu görülmüştür ($p=0,01$). Serum VEGF ve IL-12 düzeylerinin kontrol grubu ile diğer endometriozis grupları arasında farklılık göstermediği bulunmuştur. Bütün bu verilerin sonucunda; serum IL-6 ve TGF- β 1 düzeylerinin endometriozis tanısında serum belirteci olarak kullanılabileceği görülmektedir.

VIII. SUMMARY

It has already been shown that the changes in local immune response in the peritoneal surfaces and peritoneal fluid could play a role in the etiopathogenesis of endometriosis. In this study, serum CA 125, TGF- β 1, IL-6, IL-12 and VEGF levels were evaluated in 15 patients with peritoneal endometriosis, 47 patients with endometrioma, and 17 control patients making a total of 79 cases in order to clarify the etiopathogenesis of endometriosis and to define new markers that can be used in the diagnosis and follow-up.

Of the cytokines that were evaluated only a weak correlation were found between the serum levels of IL-6 and IL-12 ($r=-0,256$, $p=0,006$). Serum TGF- β 1 levels were found to be weakly correlated to the stage ($r=-0,424$, $p=0,001$) and the score ($r=-0,395$, $p=0,002$) of the endometriosis. Mean serum CA 125 levels were significantly higher in the endometrioma group ($75.34 \pm 110,88$ U/ml) when compared to control group ($12,88 \pm 7,89$ U/ml) ($p=0,03$) and early stage peritoneal endometriosis group ($14,37 \pm 7,86$ U/ml) ($p=0,05$). Mean serum TGF- β 1 levels were significantly higher in the endometrioma group ($17849,18 \pm 6856,72$ pg/ml) when compared to early stage peritoneal endometriosis group (11286 ± 4860 pg/ml) ($p=0,002$). In addition, mean serum TGF- β 1 levels were found to be significantly different with regard to the stage of the endometriosis (between stage I to III and stage I to IV). Mean serum IL-12 levels were found to be decreased in patients with endometrioma and having infertility history ($49,53 \pm 35,15$ pg/ml) compared to patients without infertility ($77,68 \pm 26,16$ pg/ml), ($p=0,01$). There were no differences in mean serum VEGF ve IL-12 levels between the study and control groups. Based on these data, it has been suggested that serum TGF- β 1 and IL-6 levels might be used in clinical practice as a serum marker for endometriosis.

IX. KAYNAKLAR

1. **Baficco A, Aaronson SA:** Growth Factors and Signal Transduction in Cancer, Section 1: Cancer Biology, Part II Scientific Foundation, In Kufe, Donald W., Pollock, Raphael E., Weichselbaum, Ralph R., Bast, Robert C., Jr., Gansler, Ted S., Holland, James F., Frei III, Cancer Medicine 6th ed. B.C.Dekker, Hamilton-Canada 2003.
2. **Barbieri RL, Niloff JM, Bast RC Jr:** Elevated serum concentrations of CA125 in patients with advanced endometriosis. *Fertil Steril* 45:630-634, 1986.
3. **Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, Agarwal A:** Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 17 (2):426-431, 2002 .
4. **Braun DP, Gebel H, House R, Rana N and Dmowski NP:** Spontaneous and induced synthesis of cytokines by peripheral blood monocytes in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 65: 1125-1129, 1996.
5. **Braun DP, Muriana A, Gebel H:** Monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis. *Fertil Steril* 61: 78-84, 1994.
6. **Busacca M, Fedele L, Bianchi S:** Surgical treatment of recurrent endometriosis. *Hum Reprod* 13: 2271-2274, 1998.

7. **Cheong YC, Shelton JB, Laird SM, Richomond M, Kudesia G, Li TC, Ledger WL:** IL-1, IL-6 and TNF- α concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesion. *Hum Reprod* 17 (1): 69-75, 2002.
8. **Cramer DW, Wilson E, Stillman RJ, Berger MJ, Belisle S, Schiff I, Albrecht B, Gibson M, Stadel BV, Schoenbaum SC:** The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking, and exercise. *JAMA* 255 (14):1904-1908, 1986.
9. **D'Hooghe TM, Hill JA:** Endometriosis, Chapter 26: in Novak's Gynecology 13th ed, Berek JS. Lippincott Williams&Wilkins Philadelphia 931-972. 2002.
10. **Dmowski WP, Cohen MR:** Antigonadotropin (danazol) in the treatment of endometriosis: evaluation of posttreatment fertility and three year follow-up data. *Am J Obstet Gynecol* 130: 41-48, 1978.
11. **Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F and Nisolle M:** Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum.Reprod* 13: 1686 $\pm$ 1690, 1998.
12. **Duffy AM, Bouchaier-Hayes DJ and Harmey JH:** Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF: Angiogenesis, In Eurakah Bioscience Collection Chapters taken from the Biosance database. Landes Bioscience 2000-2005.
13. **Dunselman GA, Hendrix MG, Bouckaert PX:** Fonctional aspects of peritoneal macrophages in endometriosis of women. *J Reprod Fertil* 82(2): 707-710, 1988.

14. **Eskenazi B, Warner ML:** Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 24: 235-58, 1997.
15. **Fasciani A, Ambrogio GD, Boci G, Luisi S, Artini PG and Genazzani AR:** Vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in ovarian cystic pathology. *Fertil Steril* 75 (6):1218-1221, 2001.
16. **Fedele L, Bianchihi S, DiNola G:** The recurrences of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 734:358-364, 1994.
17. **Felemban AA, Chowdhury M, Tulandi T and Philip A:** Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) and active and latent transforming growth factor- β (TGF- β) in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions and with endometriosis. *Fertil Steril* 76(3): 207, 2001.
18. **Ferrero S, Gillott DJ, Anserini P, Remorgida V, Teisner B, Grudzinskas JG:** Methodological concerns regarding levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 19 (1): 220-1, 2004.
19. **Gagne D, Page M, Robitaille G, Hugo P, Gosselin D:** Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 18 (8): 1674-80, 2003.
20. **Garrido N, Albert C, Krüssel JS, O'Connor JE, Remohi J, Simon C and Pellicer A:** Expression, production and secretion of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 by granulosa cells is comparable in women with and without endometriosis. *Fertil Steril* 76 (3): 568-575, 2001.

21. **Gazvani R, Bates M, Vince G, Christmas S, Lewis-Jones I, Kingsland C:** Concentration of interleukin-12 in the peritoneal fluid is not influenced by the presence of endometriosis, its stage or the phase of the menstrual cycle. *Acta Obstet Gynecol Scand* 80 (2):175-8, 2001.
22. **Goldman MB, Cramer DW:** Current concepts in endometriosis. *Pro Clin Biol Res* 323:17-23, 1989.
23. **Gülmezoğlu E, Erghüven S:** İmmünoloji Bölüm 1:İmmünolojiye Giriş, Ankara S.1. 1994.
24. **Hamle J, Becher S, Hammond MG:** Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 145:333-337, 1983.
25. **Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB:** Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 35: 696-698, 1981.
26. **Harada T, Iwabe T and Terekawa N:** Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 76 (1): 1-10, 2001.
27. **Harada T, Yoshioka H, Yoshida S, Iwabe T, Onohara Y, Tanikawa M, et al.:** Increased interleukin-6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 176: 593-597, 1997.
28. **Hill JA, Faris HMP, Schiff I:** Characterization of leukocyte subpopulation in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 50:216-222, 1988.

29. **Hornstein MD, Gleason RE, Orav J:** The reproducibility of the revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril* 59:1015-1021, 1993.
30. **Iwabe T, Herada T, Sakamoto Y, Iba Y, Horie S, Mitsunari M and Terakawa N:** Gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced serum interleukin-6 concentrations in patients with ovarian endometriomas. *Fertil Steril* 80 (2): 300-304, 2003.
31. **Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchick M:** Induced innate responses to infection, *Innate Immunity Part I An Introduction to Immunobiology and Innate Immunity Immunobiology* 5th ed. Garland Publishing-New York 2001.
32. **Jenkins S, Olive DL, Haney AF:** Endometriosis; pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 67 (3): 335-338, 1986.
33. **Kenan JA, Chen TT, Chadwell NL, Torrey DS and Caudle MR:** Interferon-gamma (IFN-gamma) and interleukin-6 (IL-6) in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 32: 180-183, 1994.
34. **Koyama N, Matsuura K and Okamura H:** Cytokines in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Int J Gynecol Obstet* 43: 45-50, 1994.
35. **Kurzrock R: Hematopoietic Growth Factors, Section 13: Biotherapeutics, Part IV Therapeutic Modalities,** In Kufe, Donald W.; Pollock, Raphael E, Weichselbaum, Ralph R.; Bast, Robert C., Jr.; Gansler, Ted S.; Holland, James F.; Frei III, Emil: *Cancer Medicine* 6th ed. B.C. Dekker, Hamilton-Canada 2003.

36. **Lin SY, Lee RKK, Hwu YM:** Reproductibility of the revised American Fertility Society classification of endometriosis during laparoscopy or laparotomy. *Int J Gynecol Obstet* 60:265-269, 1998.
37. **Machelon V, Emilie D, Lefevre A, Nome F, Durand-Gasselin I, Testart J:** Interleukin-6 biosynthesis in human preovulatory follicles: some of its peritoneal roles at ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 79:633-642, 1994.
38. **Mahmood TA, Templeton A:** The impact of treatment of the natural history of endometriosis. *Hum Reprod* 5:965-970, 1997.
39. **Mahnke JL, Dawood MY, and Huang JC:** Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 73 (1): 166-170, 2000.
40. **Matalliotakis IM, Goumenou AG, Koumantakis GE, Neonaki MA, Koumantakis EE, Dionyssopoulou E, Athanassakis I, Vassiliadis S:** Serum concentrations of growth factors in women with and without endometriosis: the action of anti-endometriosis medicines. *Int Immunopharmacol* 3 (1): 81-9, 2003.
41. **Mazzeo D, Vigano P, Di Blasio AM, Sinigaglia F, Vignali M and Panina-Bordignon P:** Interleukin-12 and its free p40 subunit regulate immune recognition of endometrial cells: potential role in endometriosis. *J Clin Endocrinol Met* 83: 911-916, 1998.

42. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK: Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod* 11 (1): 220-223, 1996.
43. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Millican SA, Muller KH, Sharkey AM, et al.: Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest* 98: 482-489, 1996.
44. Meresman GF, Bilotas MA, Lombardi E, Tesone M, Sueldo C and Baranao RI: Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1 β and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Hum Reprod* 18 (9): 1767-1771, 2003.
45. 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* 160 (8):784-796, 2004.
46. Mol BWJ, Bayram N, Lijmer JG, Maarten AHM, Wiegerinck MD, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PMM: The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* 70:1101-1108, 1998.
47. Muzi L, Marana R, Caruana P: Postoperative administration of monophasic combined oral contraceptives after laparoscopic treatment of ovarian endometriomas: a prospective, randomized trial. *Am J Obstet Gynecol* 183: 588-592, 2000.

48. **Neulan J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA:** Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 1967-1971, 1995.
49. **Olive DL, Weinberg JB, Haney AF:** Peritoneal macrophages and infertility: the association between cell number and pelvic pathology. *Fertil Steril* 44:772-777, 1985.
50. **Oosterlynck D, Meuleman M, Waer M, Koninckx P:** Transforming Growth Factor- β activity is increased in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Obstet Gynecol* 83: 287-292, 1994.
51. **Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M:** Women with endometriosis show a defect in natural killer activity results in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 56:45-51, 1991.
52. **Pellicer A, Albert C, Mercader A, Musoles FB, Remohi J and Simon C:** The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril* 70 (3): 425-431, 1998.
53. **Pizzo A, Salmeri FM, Ardita FV, Sofo V, Tripepi M, Marsico S:** Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 54 (2):82-7, 2002.
54. **Redwine DB:** Conservative laparoscopic excision of endometriosis by sharp dissection: life table analysis of re operation and persistent of recurrent disease. *Fertil Steril* 56:628-634, 1991.

55. **Rier SE, Parsons AK and Becker JL:** Altered interleukin-6 production by peritoneal leukocytes from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 61: 294-299, 1994.
56. **Santibanez JF, Frontelo P, Iglesias M, Martinez J, Quintanilla M:** Urokinaz expression and binding activity associated with the transforming growth factor beta 1-induced migratory and invasive phenotype of mouse epidermal keratinocytes. *Journal of Cell Biochemistry* 74: 61-73, 1999.
57. **Schindler AE, Foertig P, Kienle E:** Early treatment of endometriosis with GnRH agonists: impact on time to recurrence. *Eur J Obstet Gynecol* 93:123-125, 2000.
58. **Seli E, and Arıcı A: Endometriosis:** Interaction of Immune and Endocrine Systems. *Sem in Reprod Med* 21 (2): 135-144, 2003.
59. **Shifren JL, Tseng JF, Zaloudek CJ, et al.:** Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3112-3118, 1996.
60. **Somigliana E, Vigano P, Tirelli AS, Felicetta I, Torresani E, Vignali M, Di Blasio AM:** Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions. *Hum Reprod* 19 (8):1871-6, 2004.

61. **Somigliana S, Vigana P, Rossi G, Carinelli S, Vignali M, Panina-Bordignon P:**
Endometrial ability to implant in ectopic sites can be prevented by Interleukin-12 in a murine model of endometriosis. Hum Reprod 14: 2944-2950, 1999.
62. **Stelle RW, Domowski WP, Warmer DJ:** Immunologic aspects of human endometriosis. AM J Reprod Immunol 6:33-36, 1984.
63. **Taylor RN, Ryan IP, Moore ES, Hornung D, Shifren JL and Tseng JF:**
Angiogenesis and macrophage activation in endometriosis. Ann. N. Y. Acad Sci 828: 194-207, 1997.
64. **Tseng JF, Ryan IP, Milam TD, Murai JT, Schriock ED, Landers DV *et al.*:**
Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. J Clin Endocrinol Metab 81: 1118-1122, 1996.
65. **Velasco I, Campos A, Acien P:** Different concentrations of interleukins in the peritoneal fluid of women with endometriosis: relationships with lymphocyte subsets. Gynecol Endocrinol 18 (3):144-51, 2004.
66. **Vercellini P, Trespidi L, Colombo A:** A gonadotropin-releasing hormone agonist versus a low-dose oral contraceptive for pelvic pain associated with endometriosis. Fertil Steril 60: 75-79, 1993.
67. **Waller KG, Shaw MD:** Gonadotropin-releasing hormone analogues for the treatment of endometriosis: long term follow-up. Fertil Steril 59:511-515, 1993.

68. **Wheeler JM:** Epidemiology of endometriosis-associated infertility. *J Reprod Med* 34 (1):41-46, 1989.
69. **Wilson TJ, Hertzog PJ, Angus D:** Decreased natural killer cell activity in endometriosis patient: relationship to disease pathogenesis. *Fertil Steril* 62:1086-1088, 1994.
70. **Yan Z, Neulan J, Raczek S, Weich HA, Keck C, Grunwald K:** Vascular endothelial growth factor (VEGF)/ vascular permeability factor (VPF) production by luteinized granulosa cell in vitro: a paracrin signal in corpus luteum formation. *Gynecol Endocrinol* 12:149-153, 1998.
71. **Zeller JM, Henig I, Radvanska E:** Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 13:78-82, 1987.
72. **Zeyneloglu HB, Senturk LM, Seli E, Bahtiyar OM, Olive DL, Arici A:** The peritoneal fluid levels of interleukin-12 in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 39 (2):152-156, 1998.