



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Endometriozisli hastaların ektopik ve ötopik dokularında glycodelin A mRNA ekspresyonlarının belirlenmesi

Determination of glycodelin A mRNA expressions in ectopic and etopic tissues of patients with endometriosis

Khayala Rasulova¹, Melek Pehlivan², Aygün Akberova³, Sefa Kızıldağ⁴

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İzmir, Turkey

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İzmir, Turkey

³Özel Ege Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir, Turkey

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Turkey

Cukurova Medical Journal 2021;46(1):310-317

Abstract

Purpose: In the present study, Glycodelin A mRNA expression levels of ectopic and etopic endometrial tissues were examined in the secretion and proliferation stages of women with endometriosis compared to healthy individuals.

Materials and Methods: 19 Patients with endometriosis, which were diagnosed during laparoscopy and laparotomy and confirmed histopathologically, and 7 control groups were included in the study of people between the age of 26-45. It was converted to cDNA after RNA isolation was performed from ectopic and etopic endometrial tissues taken during the secretion and proliferation stages of women with endometriosis and control group endometrial tissues. Glycodelin A expression levels were evaluated using real-time polymerase chain reaction.

Results: Glycodelin A expression levels were higher in the euphoric and ectopic tissues of the patients with endometriosis in the secretory and proliferating phases. The Glycodelin A level of patients in the ectopic secretory phase increased compared to those in the etopic patient., The expression decreased in some patients when the Glycodelin A level in the proliferation phases of the patients was compared with that of the etopic patient.

Conclusion: High expression of the Glycodelin A gene in the secretory and proliferative phases in endometriosis, and the increase in the Glycodelin A level in patients in the ectopic secretory phase, compared to the etopic patients, indicate that the evaluation of the Glycodelin A gene may be a guide in the diagnosis of the disease.

Keywords: Endometriosis, glycodelin A, mRNA, expression

Öz

Amaç: Çalışmamızda endometriozisli kadınların sağlıklı bireylere göre sekresyon ve proliferasyon evrelerinde, ektopik ve ötopik endometrium dokularının Glikodelin A mRNA ekspresyon seviyeleri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Laparaskopi ve laparotomi sırasında tanı alan ve histopatolojik olarak tanısı doğrulanan endometriozisli 19 hasta ve 7 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi (26-45 yaş). Endometriozisli kadınların sekresyon ve proliferasyon evrelerinde alınan ektopik ve ötopik endometrium dokuları ile kontrol grubu endometrium dokularından RNA izolasyonları gerçekleştirildikten sonra cDNA'ya çevrildi. Glikodelin A ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Sekretuar ve proliferasyon fazda olan endometriozisli hastaların kontrole göre olan ötopik ve ektopik dokularında Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ektopik sekretuar fazda olan hastaların Glikodelin A seviyesi, ötopik hastadakilere göre artış gösterdi. Hastalarda proliferasyon fazlarındaki Glikodelin A seviyesi ötopik hastalar ile kıyaslandığında bazı hastalarda ekspresyonun düştüğü saptandı.

Tartışma: Endometriozis'te Glikodelin A geninin sekretuar ve proliferatif fazda ekspresyonunun yüksek olması ve ektopik sekretuar fazda olan hastaların Glikodelin A seviyesinin, ötopik hastadakilere göre artış göstermesi, Glikodelin A geninin değerlendirilmesinin hastalığın tanısının konulması aşamasında yönlendirici olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Endometriozis, Glikodelin A, mRNA, ekspresyon

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Sefa Kızıldağ, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Turkey E-mail: sefa.kizildag@deu.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 16.09.2020 Kabul tarihi/Accepted: 03.11.2020 Çevrimiçi yayın/Published online: 15.01.2021

GİRİŞ

Endometriozis, üreme döneminde olan kadınlar arasında yaygın pelvis ağrılarında ve infertiliteye sebep olan kronik bir jinekolojik hastalıktır. Uterus dışında özellikle iç organların ve karın zarının üzerinde endometrial gland ve stromanın ektopik olarak bulunmasından kaynaklanan bir hastalıktır¹. Endometriozis, dünya üzerinde 70 milyon kadında, özellikle üreme dönemindeki kadınların yaklaşık %10'unda gözlenmektedir². Pelvik endometriozis hastalığının araştırmaları çok eski zamana dayansa da, hastalığın oluşma sebepleri kesin olarak bilinmemekte³, sadece teorilere (Retrograd Menstrasyon Teorisi, Çölemik Metaplazi Teorisi, İndüksiyon Teorisi, Vasküler ve Lenfatik Yayılım Teorisi) dayanarak açıklanmaktadır⁴⁻⁷.

Endometriozis prevalansını belirlemek oldukça zordur⁸. Hastalığın yaş, kilo, boy, ırk gibi çeşitli demografik risk faktörleri vardır. En yaygın görülen semptomları; kronik pelvik ağrı, menarji (uzun süre adet görme), disparoni (ağrılı cinsel ilişki), dismenore (adet ağrısı) ve infertilitedir. Hastalık, endometriozisli kadınların %50'sinde ağrı semptomları ile ortaya çıkmaktadır⁹. Bunun yanı sıra kısırlık ile başvuran kadınların %30'unda endometriozis teşhisi konulabilmektedir¹⁰.

Endometriozisin patogenezinde kromozom artış ve kayıpları ile birlikte gen mutasyonlarının ve gen ekspresyonu değişimlerinin de rol oynadığı ileri sürülmüştür¹¹. Yapılan çalışmalar Glikodelin proteininin aşırı ekspresyonunun endometriozis gibi birçok jinekolojik hastalıklarla ilişkili olabileceğini göstermiştir¹². Glikodelin geni (PAEP), 9q34 kromozom bölgesinde bulunan, 28kD ağırlığında, 180 aminoasit içeren bir gendir^{13,14}. Glikodelin, lipokalin süper ailesinin bir glikoproteini olup başlıca uterus boşluğunun endometrial dokusu olmak üzere fallop tüpleri, yumurtalık, kemik iliği, meme, seminal vezikül ve ektrin bezleri tarafından ifade edilmektedir¹⁵.

Glikodelin işlevinin glikozilasyon tipine bağlı olduğu düşünülmektedir¹. Bununla birlikte kontrasepsiyon, immünoşüpresyon, angiogenezise katılma ve apoptoz sürecinde de rol aldıkları ifade edilmektedir. Glandüler morfogenez indüksiyonu, epitelyal farklılaşma, tümör süpresyonu gibi glikozilasyondan bağımsız fonksiyonları da bulunmaktadır¹⁶.

Glikodelin proteini bir dizi glikozilasyon bölgesi içerir ve bilinen birden fazla izoformları (Glikodelin A, Glikodelin S, Glikodelin F vb.) vardır¹⁷.

Glikodelin A (Gd A)'nın, progesteron, insan koryonik gonadotropin ve relaksine yanıt olarak endometriyal glandüler epitel tarafından üretildiği bilinmektedir¹⁸. Glikodelin A ekspresyon seviyesi menstrasyon fazlarında değişiklikler göstermektedir. Yapılan araştırmalar, Glikodelin A ekspresyonunun menstürel siklusun proliferasyon fazında en düşük, erken sekresyon fazında ise en yüksek seviyede olduğunu ve sekresyon fazının bitiminde giderek azaldığını ifade etmektedirler¹⁹.

Çalışmamızda endometriozisli kadınların, sekresyon ve proliferasyon fazlarında alınan ektopik ve ötopik endometrium dokularının Glikodelin A mRNA ekspresyon seviyesi sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı. Ayrıca hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri yaş, doğum sayısı, disparoni, dismenore, kronik pelvik ağrısı açısından değerlendirildi. Bu çalışma ülkemizde Endometriozisli hastaların Glikodelin A ekspresyonunun değerlendirildiği ilk çalışmadır. Elde edilen veriler, endometriozis hastalığının tanısının konulmasında Glikodelin A geninin ekspresyonunun, bir biyobelirteç olarak kullanılabilmesi için yapılan çalışmalara bir ön veri oluşturmuştur.

GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda endometriozis tanısı konulan 26-45 yaş arası 19 hasta (7 hasta proliferasyon, 12 hasta sekresyon fazı) ve 7 sağlıklı bireyden (3 kişi proliferasyon, 4 kişi sekresyon fazı) Helsinki bildirgesi kapsamında, aydınlatılmış onam belgeleri imzalatılarak çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma için 11.02.2016 tarih ve 2518-GOA protokol numaralı 2016/04-22 karar numarası ile Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik kurulu tarafından onay alınmıştır.

Hastaların menopoz döneminde olması, hastanın adet düzensizliği yaşıyor olması, hastada endometrial polip saptanmış olması, endometrial hiperplazi, submukoz myom, yardımcı üreme teknikleri uygulanımı, hastanın son 3 ay içerisinde oral kontraseptif ve rahimiçi araç kullanması, son 6 ay içerisinde GnRH analog tedavisi veya hormonoterapi almış olması çalışmadan dışlanma kriteri olarak belirlendi. Kontrol grubu, infertilite öyküsü olmayan, makroskobik olarak pelvik patolojisi bulunmayan, benign hastalıklar nedeni ile histerektomi yapılan ve histopatolojik olarak değerlendirildiğinde endometriozis olmadığı gözlenen bireylerden oluşmaktadır. Endometriozis tanısı, endometrioma

şüphesi veya benign hastalıklar nedeni ile operasyon planlanan hastaları (laporoskopi veya laparotomi sırasında) opere eden primer cerrah tarafından Amerikan Üreme Tıbbı Derneği Endometriozis Sınıflandırma Sistemi kullanılarak konulmuş, patolog tarafından immünohistokimyasal olarak doğrulanmıştır¹⁸.

Uygulama

Kişiler çalışmaya katılmayı kabul ettikten sonra, poliklinik muayenesinde muayeneyi gerçekleştiren doktor tarafından hasta gruplarının ve kontrol gruplarının disparoni, dismenore, kronik pelvik ağrıları gibi semptomları, Vizuel Ağrı Skorlama (VAS) sistemine göre değerlendirilmiştir. VAS, sorular yardımı ile toplanan ağrı üzerine yoğunlaşan psikometrik tepki verisidir. VAS sisteminde skor aralığı 1-10 arasında olup, hiç ağrı olmaması 0, şiddetli ağrı olması 10 seviyeleri arasında değerlendirilmiştir²⁰. Hastaların onayları alındıktan sonra operasyonlarından hemen önce VKİ hesaplanmıştır. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan hastaların hepsinin demografik ve klinik verileri (disparoni, dismenore ve kronik pelvik ağrı) elde edilmiş ve karşılaştırılmıştır.

Tablo 1. Hedef gen Glikodelin A ve referans gen HPRT primer dizileri

Primer	Uzunluk	Forward ve Reverse primerler
Glikodelin	195 bp	Forward 5'-CTGGTGGAGGACGA TGAG-3' Reverse 5'-CTCTGGAGGTGTGG AAGG-3'
HPRT	192 bp	Forward 5'-CCCATCTCCTTCATGA CATCT-3' Reverse 5'-ATTATGCCGAGGATT TGGAA-3'

Total RNA izolasyonu ve cDNA (komplemeter DNA) sentezi

Çalışmada hasta bireylerin ektopik ve ötopik endometrium dokuları kullanıldı. Dokular Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalında laporoskopi ve laparotomi sırasında alındı. Dokuların canlılığını koruması için RNA Later (RNAlater® RNA Stabilization Solution - Thermo Fisher Scientific) içerisine alınarak, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim

Dalında -80°C'de saklandı. Her üç ayda bir toplanan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılarak daha sonraki analizler için -20°C'ye kaldırıldı. Sıvı nitrojen kullanılarak homojenizasyonu sağlanan dokuların RNA izolasyonları "PureLink RNA Mini Kit" (Ambion) ile izole edildi. RNA izolasyonu aşaması kitin protokolünde belirtilen şekilde uygulandı. RNA'ların saflığı OD 260/280 nm absorbansta ölçüldü. Hasta ve kontrol dokulardan elde edilen total RNA örnekleri "PrimeScript 1st strand cDNA synthesis kiti'nin (Takara) protokolüne göre cDNA 'ya çevrildi.

Real- Time PCR

cDNA örnekleri kalıp olarak kullanılarak Glikodelin A ekspresyon düzeyleri çalışıldı. Hedef geninin ekspresyon profilinin normalizasyonu için, farklı dokularda ekspresyonunun değişmediği bilinen Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz (HPRT) geni kullanıldı. Kullanılan primerlerin son konsantrasyonu 0.2-1 µM olacak şekilde hazırlandı (Tablo 1). Real-Time PCR, Sybrgreen master solüsyonu ile LightCycler 2.0 (Roche) cihazında gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol örneklerinin Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde, hedef Glikodelin A mRNA geninin Ct değerleri ile referans HPRT mRNA geninin Ct değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü kullanılarak hesaplandı.

İstatistiksel analiz

Analizlerde SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 22.0 programı kullanılmıştır. Çalışmada hasta ve kontrol sayısı, n<30 olduğundan kategorik değişkenler non-parametrik Mann-Whitney U testi ile (yaş, gravida, parite, ekspresyon değişimleri), nominal değişkenler Pearson Ki-Kare testi ile (dismenore, disparoni, KPA) değerlendirilmiştir. P < 0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmaya 19 endometriyozisli hasta ve 7 kontrol grubu olmak üzere toplam 26 hasta dahil edilmiştir. Hastaların demografik özellikleri değerlendirildiğinde; yaş (p> 0.05), gravida (p>0.05), disparoni şikayeti (p>0.05) açısından fark gözlenmezken, dismenore (p>0.05) ve kronik pelvik ağrı şikayetinin ve ağrı skorunun endometriyozisli kadınlarda kontrole kıyasla daha fazla olduğu saptandı (p<0.05).

Tablo 2. Hastaların demografik verileri.

Hasta	Yaş	Gravida-Parite	Dismenore	Disparoni	KPA	Ağrı skoru
Hasta 1	43	G2-P1	yok	var	var	7
Hasta 2	34	G2-P1	var	var	yok	0
Hasta 3	44	G3-P3	yok	yok	var	5
Hasta 4	47	G2-P0	var	yok	var	10
Hasta 5	40	G2-P1	var	var	var	8
Hasta 6	42	G1-P1	var	yok	var	7
Hasta 7	36	G2-P0	var	yok	var	9
Hasta 8	28	G3-P1	var	yok	var	7
Hasta 9	41	G3-P2	yok	yok	yok	0
Hasta 10	31	G0-P0	var	yok	var	8
Hasta 11	44	G2-P1	var	var	var	6
Hasta 12	39	G1-P1	yok	var	var	9
Hasta 13	46	G1-P1	var	yok	var	7
Hasta 14	44	G2-P2	yok	var	var	6
Hasta 15	38	G1-P1	var	var	var	4
Hasta 16	33	G0-P0	var	var	var	6
Hasta 17	43	G1-P1	yok	yok	yok	0
Hasta 18	42	G0-P0	var	yok	yok	7
Hasta 19	27	G0-P0	yok	var	yok	0
Kontrol						
Kontrol 1	45	G2-P0	yok	yok	yok	0
Kontrol 2	50	G3-P1	yok	var	yok	0
Kontrol 3	37	G2-P0	var	var	yok	2
Kontrol 4	42	G1-P1	yok	yok	yok	0
Kontrol 5	26	G2-P0	yok	var	yok	0
Kontrol 6	33	G1-P1	yok	yok	yok	0
Kontrol 7	36	G2-P0	yok	yok	yok	2

Tablo 3. Sekresyon fazda alınan dokularda Glikodelin mRNA ekspresyon değişim tablosu.

Faz Doku Hasta No	Sekresyon Ötopik / Kontrol Kat değişimi (p>0.05)	Sekresyon Ektopik / Kontrol Kat değişimi (p<0.05)	Sekresyon Ektopik / Ötopik Kat değişimi (p<0.05)
Hasta 1	↑ 2,03	↑ 14,95	↑ 7,36
Hasta 2	↑ 1,86	↑ 24,46	↑ 13,08
Hasta 3	↑ 4,50	↑ 18,66	↑ 4,14
Hasta 4	↑ 1,38	↑ 35,67	↑ 25,77
Hasta 5	↑ 1,30	↓ 0,604	↓ 0,46
Hasta 6	↑ 32,05	↑ 2,933	↓ 0,09
Hasta 7	↓ 0,001	↑ 43,07	↑ 29,04
Hasta 8	↓ 0,26	↑ 43,78	↑ 16,65
Hasta 9	↑ 10,14	↑ 35,81	↑ 3,51
Hasta 10	↓ 0,07	↑ 72,53	↑ 98,77
Hasta 11	↑ 21,74	↑ 84,59	↑ 3,89
Hasta 12	↑ 9,27	↑ 9,86	↑ 1,06

Bununla birlikte hasta grubu ile kontrol grubu parite açısından değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05) (Tablo 2). Çalışmamızda endometriozisli kadınların sekresyon fazında alınan ektopik ve ötopik dokularında Real-Time PCR

yöntemi kullanılarak Glikodelin mRNA ekspresyon seviyelerine bakıldı (Tablo 3).

Yapılan Real Time PCR sonucuna göre, sekretuar fazda olan endometriozisli hastaların % 75'inin

ötopik, % 91,6 sının ektopik dokularında Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin kontrole göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte sekretuar fazdaki hastaların %83,3'ünde ektopik dokularındaki ekspresyon düzeyinin ötopik dokularına göre yüksek olduğu bulundu. Çalışmamızda endometriozisli kadınların proliferasyon fazında alınan ektopik ve ötopik dokularında Real-Time PCR yöntemi kullanılarak Glikodelin mRNA ekspresyon

seviyelerine bakıldı (Tablo 4). Proliferasyon fazında olan endometriozisli hastaların % 85,7'sinin ötopik, % 100'ünün ektopik dokularında Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin kontrole göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte proliferasyon fazdaki hastaların %57,1'inde ektopik dokularındaki ekspresyon düzeyinin ötopik dokularına göre yüksek olduğu bulundu.

Tablo 4. Proliferasyon fazda alınan dokularda Glikodelin mRNA ekspresyonu değişim tablosu.

Faz Doku Hasta no	Proliferasyon Ötopik / Kontrol Kat değişimi (p>0.05)	Proliferasyon Ektopik/ Kontrol Kat değişimi (p>0.05)	Proliferasyon Ektopik/ Ötopik Kat değişimi (p>0.05)
Hasta 1	↑ 69,55	↑ 12,46	↓ 0,17
Hasta 2	↑ 10,62	↑ 21,55	↑ 2,02
Hasta 3	↑ 2,36	↑ 1,007	↓ 0,42
Hasta 4	↑ 6,96	↑ 20,82	↑ 2,99
Hasta 5	↑ 1,26	↑ 61,39	↑ 48,50
Hasta 6	↑ 94,10	↑ 30,91	↓ 0,003
Hasta 7	↓ 0,81	↑ 41,93	↑ 51,26

TARTIŞMA

Endometriozis, dünya genelinde 15 ila 49 yaş aralığındaki her 10 kadından birinde görülen yaygın bir hastalıktır. Dünya üzerinde yaklaşık 176 milyon kadın endometriozis hastalığına sahiptir²¹. Endometriozisin tanımlanmasından sonra uzun yıllar geçmesine rağmen etiolojisi ve fizyopatolojisi hakkında bilgiler oldukça kısıtlı ve tartışmalıdır⁷. Endometriozisin oluşma sebebi, retrograd menstural akım sonucu implantasyon, indüksiyon, vasküler ve lenfatik yayılma teorisi dahil çok sayıda teori ile açıklanmaya çalışılmıştır²². Çalışmamızda endometriozisli hastaların demografik özelliklerinde yaş, gravida açısından fark saptanmamıştır. Yapılan araştırmalara göre endometriozisli olan ve olmayan kadınlar kronik pelvik ağrısından şikayet etseler de, endometriozisli kadınlarda KPA skoru daha yüksek gözlenmiştir²³.

Rebecca ve arkadaşlarının 2009'ta yaptıkları araştırmaya göre 4000 üzeri endometriozisli kadının %98,4'ünün pelvik ağrılarında şikayet ettiği rapor edilmiştir²⁴. Endometriozis odağında bulunan dokular, menstruasyon süresince steroid hormonlara cevap vererek büyür ve ürettikleri kimyasallar vücudu terk edemez. Dolayısıyla yakın dokuları irrite ederek ağrı oluştururlar. Genellikle sakral bölgede ve pelviste

oluşan bu ağrı endometriozisin derinlere invazyon yaptığı durumlarda görülmektedir²⁵. Çalışmamızda, endometriozisli kadınların KPA şikayetlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kontrole göre daha fazla olduğu saptandı.

Endometriozis hastalarında yaşanan şiddetli dismenorenin, anormal uterin kasılmalarından ve endometriotik lezyonlardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Endometriozisli kadınlar arasında dismenore semptomunun yaygın olmasına karşın disparoni semptomu ile çok az karşılaşmaktadır²⁶. Marlon de Freitas Fonseca ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Deep infiltrating endometriosis (DIE)'te dismenore ve disparoni arasında bir ilişki olmadığını öne sürmüşlerdir²⁷. Çalışmamızda ise, disparoni şikayetinde bulunan hasta ve kontrol grubu arasında sayısal açıdan herhangi bir fark saptanmadığı halde, dismenore şikayeti olan hastaların daha fazla olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

Glikodelin A'nın, sekretuar endometriyumun glandüler epitel hücrelerinde²⁸, fallop tüplerinde²⁹, yumurtalık tümörlerinde ve sağlıklı yumurtalıkta³⁰, kemik iliğinde, meme tümöründe, sağlıklı göğüs dokusunda³¹ ve göbük kordonunun epitelyal dokusunda³² salgılandığı bilinse de, ana kaynağının

menstürel siklusun sekresyon fazı süresince endometrial glandlar olduğu saptanmıştır³³. Yapılan çalışmalarda Glikodelin A'nın endometriozisin potansiyel biyomarkır olması önerilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda endometriozisli kadınların serum, plazma ve perinatal sıvısında GdA'nın yüksek olduğu rapor edilmiş ve endometriozisin belirlenmesinde rol oynayabilecekleri öne sürülmüştür³⁴⁻³⁶. Elde ettiğimiz verilerden sekretuar ve proliferasyon fazda olan endometriozisli hastaların kontrole göre olan ötopik ve ektopik dokularında GdA ekspresyon düzeylerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Sadece sekretuar fazda olan hastaların kontrole göre ektopik dokularında artış gösteren GdA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

GdA ekspresyon seviyesinin menstruasyon fazlarda değişiklikler gösterdiği bilinmektedir. Menstruasyonun erken sekresyon, proliferatif ve geç sekresyon fazlarındaki Glikodelin A mRNA ekspresyon düzeyi karşılaştırıldığında, erken sekresyon fazında önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir. GdA'nın adet döngüsünün farklı fazlarında spesifik olarak ifade edilen 6 farklı glikoform içeren kompleks bir glikoprotein olduğunun gösterildiği çalışmada sekretuar fazda, ötopik endometriyumda farklı bir glikoform profiline sahip GdA protein ekspresyonunda önemli bir artış gözlemlenmiştir¹⁹. Bu çalışma ile endometriozis gibi patolojik durumlarda ekspresyon profilinin, bozulmuş endometriyal reseptivite ile ilişkili olarak değişebileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda hasta grubumuz sekresyon ve proliferasyon fazları ayrılarak çalışılmıştır. GdA ekspresyonunun normal adet döngüsü sırasında ve ayrıca glikoform bileşimi sırasında önemli ölçüde değiştiği bilinmektedir.

Sonuçlarımıza göre, sekretuar fazdaki hastaların %83.3'ünde ektopik dokularındaki ekspresyon düzeyinin ötopik dokularına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi. Juliana Meola ve arkadaşlarının çalışmalarında ektopik ve ötopik endometrial dokular karşılaştırılmış ve ektopik endometrial dokuda Glikodelin mRNA ekspresyonunun daha fazla olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımızla uyumluluk gösteren bu çalışmada ötopik Glikodelin mRNA ekspresyon düzeyinin kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha düşük seviyede olduğu, ektopik Glikodelin A mRNA ekspresyon düzeyinin ise daha yüksek olduğu belirtilmiştir¹³. Bununla birlikte Focarelli'nin yaptıkları çalışmada sekretuar fazda ötopik dokunun

Glikodelin A ekspresyonunun kontrole göre arttığı ve proliferasyon fazındaki hastalarda ötopik dokuda Glikodelin A ekspresyonunun kontrole göre azaldığı gösterilmiştir¹⁸. Çalışmamızda ise proliferasyon fazında olan endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik dokularında Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin kontrole göre daha yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte proliferasyon fazdaki hastaların % 42,9'ünde ötopik dokularındaki ekspresyon düzeyinin ektopik dokularına göre düşük olduğu bulundu.

GdA progesteron tarafından regüle edildiği için endometriozisli kadınlarda endometriyal dokularda bildirilen genlerin ve proteinlerin ekspresyonu, hem ötopik endometriyum hem de ektopik lezyonlarda progesteron reseptör izotiplerinin (PR-A / PR-B) ekspresyon paternindeki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla, GdA'daki değişen ekspresyon düzeylerinin, adet döngüsünün her aşamasında değişen progesteron yetmezliği ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür.

Literatür incelendiğinde endometriozisli hastalarda GdA seviyesinin proliferasyon ve sekretuar fazlarında çalışmalar arasında farklı sonuçların alındığı, GdA seviyelerinin ektopik dokuda ya da ötopik dokuda farklı ifade edildikleri gözlemlenmiştir. Çalışmamızda Türk toplumu üzerinde elde edilen veriler sunulmuş, GdA ekspresyonunun diferansiyel varlığının, endometriyozdan etkilenen kadınların endometriyal epitelinde, özellikle sekretuar fazda yüksek oranda arttığı gösterilmiştir. Endometriozis gelişiminin multifaktöriyel nedenlere dayanması ve kompleks bir süreç göstermesi nedeni ile ektopik ve ötopik Glikodelin A ekspresyon düzeylerinin değişebileceği düşünülmektedir. Hasta bazında değerlendirildiğinde, periton sıvısı ve lezyonların, intraovaryan mikroçevre gibi farklı endokrin ortamların, inflamasyon ve bağışıklık düzensizliğinden apoptoz aktivasyonuna kadar değişen farklı mekanizmaların endometriyal implantasyon için önemli olduğu gözlemlenmektedir. Farklı endokrin ortamlar ile ektopik endometriyum arasındaki ilişkinin endometriyozun patofizyolojisinde rol aldığı ve Glikodelin A geninin işlevinin daha kapsamlı araştırılmasının ileride endometriozis tedavisine katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

Sonuç olarak Glikodelin, salgısal endometriyum, gebelik desiduar ve orijinal olarak amniyotik sıvıda ifade edilen ve normal insan üreme faaliyetlerinin sürdürülmesi için hayati önem taşıyan bir tür glikoprotein olarak bilinmektedir. Kadınlarda glikodelin ekspresyonu, nedeni bilinmeyen kısırlık,

tekrarlayan spontan abortuslar, erken yumurtalık yetmezliği ve endometriyal kanserler gibi üreme sistemi hastalıkları ile ilişkilidir. Bu nedenle daha küçük bir invaziv işlem yapılarak Glikodelin A geninin ekspresyonunun belirlenmesi, birçok üreme sistemi hastalıklarının önceden tespit edilebilmesi açısından önem arz etmektedir. Elde edilen veriler, Glikodelin A geninin değerlendirilmesinin Endometriyozis hastalığının tanısının konulması aşamasında da yönlendirici olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada kontrol grubunun benign (myoma uteri) tanısı almış hastalardan seçilmesi çalışmanın kısıtlılığını oluşturmaktadır. Verilerimizin daha geniş bir hasta ve kontrol grubunda taranması endometriyozis tanısında GdA ekspresyonunun rolünün anlaşılması için önemli olacaktır. Özellikle ektopik dokuda GdA ekspresyonunun fazla olmasının nedeni araştırılması gereken bir konudur. Bununla birlikte endometriyal anormallikler, fetomaternal immünite ve enflamasyon açısından düşünüldüğünde GdA'nın bu süreçlerin regülasyonunda etkili olabileceği ve ekspresyonunun taranmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: KH, SK; Veri toplama: KR, MP, AA; Veri analizi ve yorumlama: MP, SK; Yazı taslağı: KR; İçerinin eleştirel incelenmesi: AA, MP, SK; Son onay ve sorumluluk: SK, KR, MP, AA; Teknik ve malzeme desteği: -; Süpervizyon: SK; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Etik Onay: Bu çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan 11.02.2016 tarih ve 2016/04-22 sayılı kararı ile etik onay alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Author Contributions: Concept/Design : KH, SK; Data acquisition: KR, MP, AA; Data analysis and interpretation: MP, SK; Drafting manuscript: KR; Critical revision of manuscript: AA, MP, SK; Final approval and accountability: SK, KR, MP, AA; Technical or material support: -; Supervision: SK; Securing funding (if available): n/a.

Ethical Approval: Ethical approval was obtained for this study from the Non-Invasive Research Ethics Committee of Dokuz Eylül University with the decision dated 11.02.2016 and numbered 2016 / 04-22.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

KAYNAKLAR

- Signorile PG, Baldi A. Endometriosis: new concepts in the pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42:778-80.
- Nothnick W, Alali Z. Recent advances in the understanding of endometriosis: the role of inflammatory mediators in disease pathogenesis and treatment. *F1000Res.* 2016;5:F1000 Faculty Rev-186.
- Sourial S, Tempest N, Hapangama DK. Theories on the pathogenesis of endometriosis. *Int J Reprod Med.* 2014;2014:179515.
- Podgaec S, Dias Junior JA, Chapron C, Oliveira RM, Baracat EC, Abrão MS. Th1 and Th2 immune responses related to pelvic endometriosis. *Rev Assoc Med Bras.* 1992;56:92-8.
- Bellelis P, Dias JA Jr, Podgaec S, Gonzales M, Baracat EC, Abrão MS. Epidemiological and clinical aspects of pelvic endometriosis—a case series. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56:467-71.
- D. Vinatier, G. Orazi, M. Cosson, and P. Dufour. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;96:21–34.
- Acien P, Velasco I. Endometriosis: a disease that remains enigmatic. *ISRN Obstet Gynecol.* 2013;2013:242149.
- Hickey M, Ballard K, Farquhar C. Endometriosis. *BMJ.* 2014;19:348-1752.
- Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;955:11-406.
- Yuka O, Takashi M, Yukihiro T, Nobuo Y, Kunihiro O, Shinichi K et al. Management of the pain associated with endometriosis: an update of the painful problems. *Tohoku J Exp Med.* 2006;210:175-188.
- Rahmioglu N, Montgomery GW, Zondervan KT. Genetics of endometriosis. *Womens Health (Lond).* 2015;11:577-586.
- Horowitz, I. R, Cho C, Song M, Flowers L. C, Santanam N, Parthasarathy S et al. Increased glycodeilin levels in gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer.* 2001;11:173-179.
- Juliana M, Daniel B.D, Júlio C. R. e S, Rui A.F, Luciana C.V, Cláudia C.P de P et al. "Glycodeilin expression in the endometrium of healthy women and in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis. *Fertil steril.* 2009;91:676-1680.
- Mingqing S, Sreemathy R, Sumathi R, Lisa C.F, Ira R.H, John A.R et al. Angiogenic role for glycodeilin in tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:9265-9270.
- Seppälä M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodeilin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev.* 2002;23:401-430.
- Marzieh F. S, Tahereh A, Shamila F, Massoud S, Reza Y, Nooshin S et al. Effect of myomectomy on endometrial glutathione peroxidase 3 (GPx3) and glycodeilin mRNA expression at the time of the implantation window. *Iran Biomed J.* 2014;18:60-66.
- Seppälä. M, Koistinen H, Koistinen R, Mandelin E, Oehninger S, Clark G.F et al. Glycodeilins: role in regulation of reproduction, potential for contraceptive development and diagnosis of male infertility. *Hum Reprod* 1998;2017:262-270.
- Focarelli R, Luddi A, De Leo V, Capaldo A, Stendardi A, Pavone V et al. Dysregulation of GdA expression in endometrium of women with endometriosis:

- implication for endometrial receptivity. *Reprod Sci.* 2018;25:579-586.
19. Mylonas I, Jeschke U, Kunert-Keil C, Shabani N, Dian D, Bauerfeind I et al. Glycodelin A is expressed differentially in normal human endometrial tissue throughout the menstrual cycle as assessed by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Fertil Steril.* 2006;86:1488-1497.
 20. Cozzolino M, Coccia ME, Lazzeri G, Basile F, Troiano G. Variables associated with endometriosis-related pain: a pilot study using a visual analogue scale. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2019;41:170-175.
 21. Gemmell LC, Webster KE, Kirtley S, Vincent K, Zondervan KT, Becker CM. The management of menopause in women with a history of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2017;23:481-500.
 22. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2010;27:441-7.
 23. Ailawadi RK, Jobanputra S, Kataria M, Gurates B, Bulun SE. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. *Fertil Steril.* 2004;81:290-6.
 24. Greene R, Stratton P, Cleary SD, Ballweg ML, Sinai N. Diagnostic experience among 4,334 women reporting surgically diagnosed endometriosis. *Fertil Steril.* 2009;91:32-9.
 25. Unutkan A, Kukulcu K. Endometriozis ilişkili ağrının yönetimi ve ağrının yönetiminde hemşirenin rolü. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2014;3:804-814.
 26. Harada T. Dysmenorrhea and endometriosis in young women. *Yonago Acta Med* 2013;56:81-4.
 27. Marlon de F.F, Felipe V.S, Lilian de C.A, José A.D de R.Jand Claudio P.C. The association between dyspareunia and dysmenorrhea in women with deep endometriosis : a pre- planned observational study. *Annals of Public Health and Research* 2015;2:1018.
 28. Hausermann HM, Donnelly KM, Bell SC, Verhage HG, Fazleabas AT. Regulation of the glycosylated β -lactoglobulin homolog, glycodelin [Placental Protein 14:(PP14)] in the baboon (*Papio anubis*) uterus, *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1226–1233.
 29. Saridogan E, Djahanbakhch O, Kervancioglu ME, Kahyaoglu F, Shrimanker K, Grudzinskas JG. Placental protein 14 production by human Fallopian tube epithelial cells in vitro. *Hum Reprod.* 1997;12:1500-7.
 30. Kämäräinen M, Leivo I, Koistinen R, Julkunen M, Karvonen U, Rutanen EM et al. Normal human ovary and ovarian tumors express glycodelin, a glycoprotein with immunosuppressive and contraceptive properties. *Am J Pathol.* 1996;148:1435-43.
 31. Shabani N, Mylonas I, Kunert-Keil C, Briese V, Janni W, Gerber B et al. Expression of glycodelin in human breast cancer: immunohistochemical analysis in mammary carcinoma in situ, invasive carcinomas and their lymph node metastases. *Anticancer Res.* 2005;25:1761-4.
 32. Zhou HM, Ramachandran S, Kim JG, Raynor DB, Rock JA, Parthasarathy S. Implications in the management of pregnancy: II. Low levels of gene expression but enhanced uptake and accumulation of umbilical cord glycodelin. *Fertil Steril.* 2000;73:843-7.
 33. Mylonas I, Speer R, Makovitzky J, Richter DU, Briese V, Jeschke U et al. Immunohistochemical analysis of steroid receptors and glycodelin A (PP14) in isolated glandular epithelial cells of normal human endometrium. *Histochem Cell Biol.* 2000;114:405-11.
 34. Kocbek V, Vouk K, Mueller MD, Rižner TL, Bersinger NA. Elevated glycodelin-A concentrations in serum and peritoneal fluid of women with ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 2013;29:455-9.
 35. Wang P, Zhu L, Zhang X. The role of placental protein 14 in the pathogenesis of endometriosis. *Reprod Sci.* 2013;20:1465-70.
 36. Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod.* 2012;27:2698-711.