



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2022; 36 (2): 161 - 166
http://www.fusabil.org

Tansel SAPMAZ ^{1, a}
Sude TOPKARAOĞLU ^{1, b}
Gülfidan COŞKUN ^{2, c}
Muhammetnur TEKAYEV ^{1, d}
Sait POLAT ^{2, e}
Ekrem SAPMAZ ^{3, f}

¹ Sağlık Bilimleri
Üniversitesi,
Hamidiye Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı,
İstanbul, TÜRKİYE

² Çukurova Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Adana, TÜRKİYE

³ Sağlık Bilimleri
Üniversitesi,
Adana Şehir Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve
Doğum Anabilim Dalı,
Adana, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-7820-5837

^b ORCID: 0000-0002-7680-7156

^c ORCID: 0000-0001-8219-2816

^d ORCID: 0000-0003-1407-6199

^e ORCID: 0000-0003-1646-8831

^f ORCID: 0000-0002-9988-2183

Geliş Tarihi : 22.04.2022
Kabul Tarihi : 02.06.2022

Yazışma Adresi Correspondence

Tansel SAPMAZ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Hamidiye Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı,
İstanbul - TÜRKİYE

sapmaz.tansel@gmail.com

Sıçan Endometriozisinde Metformin, Letrozol ve Atorvastatinin Karaciğer ve Böbrekler Üzerindeki Etkileri*

Amaç: Endometriozis, uterusun endometrium tabakasının vücudun başka bir bölgesinde büyümesi sonucu gelişen bir hastalıktır. Ayrıca endometriozis sonucu oluşan inflamasyon, karaciğer ve böbrek gibi dokularda uzak organ hasarına neden olur. Yapılan bu çalışmada sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan ovaryan ve peritoneal endometrioziste metformin, letrozol ve atorvastatinin karaciğer ve böbrek dokusuna etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 35 sıçan rastgele 5 gruba ayrıldı. 1. Grup kontrol grubu olarak belirlendi, endometriozis oluşturulmadı. Grup 2, 3, 4 ve 5 ratlarda endometriozis oluşturuldu. Tedavi grupları olan Grup 3'e 100 mg/kg/gün/oral metformin, Grup 4'e 0.1 mg/kg/gün/oral letrozol, Grup 5'e 2.5 mg/kg/gün/oral atorvastatin verildi. 28 günün sonunda karaciğer ve böbrek dokuları çıkarıldı ve histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Endometriozis modeli oluşturulan sıçanların karaciğer dokularında hafif ödematöz ve hemorajik alanların oluştuğu belirlendi. Tedavi grupları endometriozis modeli oluşturulan sıçanlarla karşılaştırıldığında bu alanların varlığı belirgin şekilde azaldı ve klasik karaciğer lobül yapısı bütünlüğünü korumaktaydı. Endometriozis modeli oluşturulan sıçanların böbrek doku örneklerinde tübül epitelinde vakuolizasyon, tübül epitelinde dökülme ve kapiller konjesyon dikkati çekti. Tedavi gruplarına ait böbrek doku örneklerinde ise bu bulguların azaldığı görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada; metformin, letrozol ve atorvastatinin, deneysel olarak oluşturulan peritoneal ve ovaryan endometrioziste karaciğer ve böbrek dokuları üzerinde anti inflamatuvar etkiler gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Metformin, letrozol, atorvastatin, endometriozis, karaciğer, böbrek

The Effects of Metformin, Letrozole, and Atorvastatin on the Liver and Kidneys in Rat Endometriosis

Objective Endometriosis is a disease that develops as a result of the growth of the endometrial layer of the uterus in another part of the body. In addition, inflammation resulting from endometriosis causes distant organ damage in tissues such as the liver and kidneys. In this study; we aimed to investigate the effects of metformin, letrozole, and atorvastatin on the liver and kidneys in experimentally induced ovarian and peritoneal endometriosis in rats.

Materials and Methods: 35 rats were randomly divided into 5 groups. Group 1 was determined as the control group. Endometriosis was formed in Group 2, 3, 4, and 5 rats. Group 3 received 100 mg/kg/day/oral metformin, Group 4 received 0.1 mg/kg/day/oral letrozole, Group 5 received 2.5 mg/kg/day/oral atorvastatin. At the end of 28 days, the liver and kidneys were removed and examined histopathologically.

Results: It was determined that mild edematous and hemorrhagic areas were formed in the liver tissues of rats for which the endometriosis model was created. The presence of these areas was significantly reduced, and the classical liver lobule structure preserved its integrity when the treatment groups were compared with endometriosis modeled rats. Tubular epithelial vacuolization, tubular epithelial detachment, and capillary congestion were noted in renal tissue samples of rats with an endometriosis model. A decrease in these pathological damages was observed in renal tissue samples of the treatment groups.

Conclusion: In this study; metformin, letrozole, and atorvastatin were found to have anti-inflammatory effects on liver and kidneys in experimentally induced peritoneal and ovarian endometriosis.

Key Words: Metformin, letrozole, atorvastatin, endometriosis, liver, kidney

Giriş

Endometriozis, uterus dışında endometriyal bezler ve stroma varlığı ile karakterize, östrojene bağımlı kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Bu lezyonlar peritonda veya over dokuda yerleşebilir veya bağırsak ve idrar kesesine derinlemesine infiltre olabilir. Karmaşık bir klinik sendrom olarak endometriozis, üreme çağındaki kadınlarda şiddetli menstrüel ağrı, pelvik ağrı, tubal tıkanıklığa bağlı infertilite, over kistleri, subklinik pelvik inflamatuvar hastalık, kötü oosit kalitesi, endometriyal reseptivitede bozulma ve kansere neden olabilir (1-4). Farklı hasta koşulları ve farklı tanı kriterleri nedeniyle endometriozis

* Bu proje, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (SBÜ-BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2017/050).

prevalansını belirlemek zor olsa da genel olarak infertil kadınların yaklaşık %25-50'sinde endometriozis olduğu bilinmektedir. Endometriozisli kadınların %30 ila %50'sinin kısır olduğu bildirilmektedir (5).

Endometriozisin patolojik kökeni hakkında bir fikir birliği yoktur. Bununla birlikte, endometriozisin en çok kabul edilen nedeni, endometriyal dokunun fallop tüpleri yoluyla periton boşluğuna retrograd menstrüel akışıdır (6, 7). Alternatif etiyolojik faktörlerin, fetal gelişim, sölomik metaplazi ve venler ile lenfatik damarlar yoluyla menstrüel hücre göçü sırasında farklılaşmayan veya göç etmeyen Müllerian kalıntıları olduğu düşünülmektedir (8). Bu olaylar genetik, çevresel ve immünolojik faktörler tarafından kontrol edilir (6-8).

Endometriozis, üriner sistemde de görülmektedir. Mesanede görülen endometriozis durumunda sessiz böbrek kaybı görüldüğü bildirilmektedir (9-11). Endometriozis nedeniyle böbrek fonksiyon kaybı riski de oluşmaktadır (12). Üriner sistem dışında, pelvik bölgede görülen endometriozis sonucu ise endometriozis kaynaklı hücrelerin uzak organlara göç ettiği kaydedilmiştir (13). Ancak ovaryan ve peritoneal endometriozis durumunda uzak organ hasarı olarak karaciğer ve böbrek dokularına dair bir çalışma henüz yapılmamıştır.

Endometriozisi tedavi etmek için birçok farklı tıbbi, cerrahi ve alternatif tedavi uygulanmaktadır. Ancak androjen ve gonadotropin salgılatıcı hormon kullanılarak yapılan hormonal tedavi birçok ciddi yan etkiye neden olabileceğinden, potansiyel terapötik ajanlar olarak non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar ve aromataz inhibitörleri tercih edilmektedir. Bu ajanlardan biri olan metforminin, insülin duyarlılığını geliştirmek için bir anti-diyabetik ajan olarak kullanıldığı, inflamatuvar yanıtı baskıladığı, aromatazi aktive ettiği ve endometriotik stromal hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir (14, 15). Endometriozisi azalttığı bilinen başka bir tıbbi tedavi ajanı, toplam vücut östrojenini etkili bir şekilde azaltan, steroid olmayan bir aromataz inhibitörü olan letrozoldür (15-17). Genellikle kardiyovasküler hastalıkları önlemek için kullanılan atorvastatin, endometriotik implantlar üzerinde de anti-anjiyojenik ve gerileyici etkilere sahiptir (18).

Ayrıca endometriozis sonucu oluşan inflamasyon sadece bulunduğu dokuyu etkilemekle kalmaz, kan yoluyla tüm vücuda dağılır. Bu inflamasyon durumu, özellikle kan akışının diğer organlara nazaran daha çok olduğu organlarda, uzak organ hasarına neden olur (11, 13).

Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan over ve peritoneal endometrioziste metformin, letrozol ve atorvastatinin karaciğer ve böbrek dokuları üzerine etkilerinin histopatolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Sıçanlar sıcaklık kontrollü bir ortamda (21-23 °C) ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngülerinde çelik kafeslerde gruplar halinde barındırılmıştır. Deneysel prosedürler, Sağlık

Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından etik olarak uygun bulunmuştur ve Uluslararası Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesi'ne göre yapılmıştır (No: 2018-02/08).

Cerrahi İşlem: Sıçanlar intraperitoneal olarak 75 mg/kg ketamin (Eczacıbaşı, İstanbul) ve 10 mg/kg ksilazin (Bayer, İstanbul) ile ameliyat masasına alındı. Penset ile ayakları kısırlarak anestezik maddenin etkisinden emin olundu ve sıçanlar ameliyat masasına supin pozisyonda sabitlendi. Endometriozis, Vernon ve Wilson tarafından açıklanan yöntem kullanılarak cerrahi olarak başlatıldı (19). Çalışmada, her biri 250-300 gram ağırlığında, 12 haftalık 35 olgun dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Vajinal sitoloji yoluyla, sıçan östrus (kızgınlık) fazında olup olmadıkları tespit edildi. Östrus siklusunun değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntem olan direkt mikroskopik inceleme ile sıçanların östrus fazında olup olmadıkları değerlendirildi. Bu yöntem, vajinal yıkama solüsyonunu yayma haline getirilerek ışık mikroskopunda direkt gözlemlerle değerlendirme şeklinde yapılmıştır (19). Östrus fazında oldukları tespit edilen sıçanlara anestezi uygulandı. Kontrol grubu sıçanların (n=7) batinları açılıp gözlenip kapatıldı, herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. Geriye kalan 28 sıçanın yaklaşık 1 cm sağ uterin boynuzu, supra-umbilikal medyan laparotomi yoluyla eksize edildi. Daha sonra, bu endometriotik fragmanların 0.5 cm'si peritoneal endometriozisi indüklemek için pelvik peritonun sol tarafının en vaskülarize bölgelerine nakledildi. Endometriotik fragmanın diğer 0.5 cm'si, 6/0 Vicryl sütür kullanılarak ovaryan endometriozisi indüklemek için sol over yüzeyine sabitlendi. İlk ameliyattan sonra tüm sıçanlar 28 gün boyunca kafeslerinde herhangi bir uygulama yapılmadan gözlemlendi, ardından bu 28 sıçan rastgele gruplara ayrıldı. Tüm grupların detayları aşağıdaki şekildedir:

1. Kontrol (n=7): Batın açılıp kapatılan, ilaç verilmeyen grup.
2. Endometriozis (n=7): Tedavi edilmemiş, endometriozis modeli oluşturulan grup.
3. E+M (n=7): Metformin (Sandoz, Türkiye) ile tedavi edilen endometriozis grubu (100 mg/kg/gün).
4. E+L (n=7): Letrozol (Novartis, Türkiye) ile tedavi edilen endometriozis grubu (0.1 mg/kg/gün).
5. E+A (n=7): Atorvastatin (Sanovel, Türkiye) ile tedavi edilen endometriozis grubu (2.5 mg/kg/gün).

Daha sonra sıçanlara ilaçlar 28 gün süreyle 1 ml içme suyunda eritilerek oral gavajla (po) uygulandı. 28 günlük tedavi süresi sonunda, deneyin 59. günü, tüm sıçanlara ketamin-ksilazin anestezisi ile ötenazi ve laparotomi yapıldı. Karaciğer ve böbrek dokuları çıkarıldı. Karaciğer ve böbrek dokuları histopatolojik olarak incelemek için %10'luk formalin içine alındı ve fikse edildi.

Histopatolojik İnceleme: 24 saat %10'luk formalin içinde fiksasyonları tamamlanan karaciğer ve böbrek dokuları dereceli alkollerle dehidrasyona uğratıldı ve parafine gömüldü. Parafine gömülen dokular,

hematoksilen ve eozin ile ışık mikroskopik yöntemle incelenmek üzere mikrotom (Shandon Finesse 325, Thermo Scientific) ile 5 µm'lik kesitler halinde kesildi ve lam üzerine alındı. Önce etüvde fiziksel deparafinizasyon daha sonra ksilen içinde kimyasal deparafinizasyonu tamamlanan örnekler azalan alkol serilerinden geçirilerek suya ulaştırıldı ve hematoksilen ve eosin boya ile boyandı. Daha sonra artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilen ile berraklaştırılarak entellan ile kapatıldı. Boyalı bölümlerin görüntüleri ışık mikroskobu (Olympus BX53, Tokyo, Japonya) ile analiz edildi ve fotoğraflandı.

Bulgular

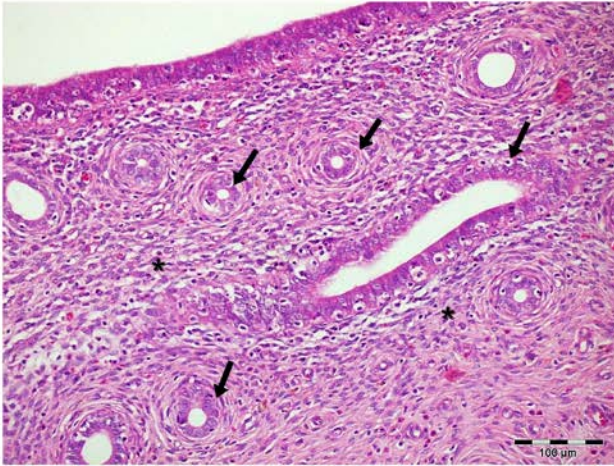
Histopatolojik bulgular (Endometriozis): Ovarian ve peritoneal endometriozis oluşturulan deneklerde hem overde hem de peritonda endometrial bezler ile endometrial stroma benzer yapılar izlenmiştir (Şekil 1).

Histopatolojik Bulgular (Karaciğer): Kontrol grubuna ait karaciğer doku örneklerinin ışık mikroskopik düzeyde incelemeleri sonucu merkezi ven, portal triad ve hepatosit kordonlarından oluşan klasik karaciğer lobülü

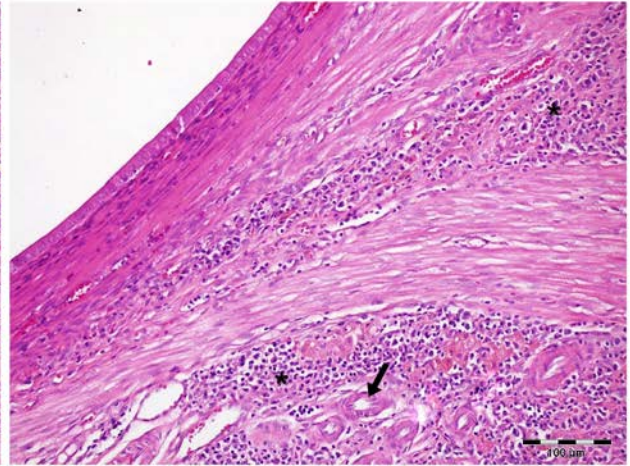
yapısının normal görünümde olduğu belirlendi. Endometriozis modeli oluşturulan deneklerin karaciğer doku örneklerinde ise bazı hepatosit çekirdeklerinin piknotik hale geldiği, hücre sütunları arasında sinusoidal konjesyona bağlı hemorajik alanların olduğu dikkati çekti. Tüm tedavi uygulanan gruplar arasında bir farklılık olmamakla birlikte, endometriozis modeli oluşturulan deneklerle karşılaştırıldığında piknotik çekirdek sayısı ile hemorajik alanların varlığı belirgin şekilde azalmıştı. Klasik karaciğer lobül yapısı bütünlüğünü korumaktaydı (Şekil 2).

Histopatolojik Bulgular (Böbrek): Kontrol grubuna ait böbrek doku örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde; Bowman kapsülü ve glomerular kapiller ağdan oluşan renal cisimcikler ile tübül sisteminin normal yapıda olduğu görüldü. Endometriozis modeli oluşturulan deneklerin böbrek doku örneklerinde ise kapiller konjesyon ile birlikte bazı tübüllerin epitelinde vakuolizasyon ve dökülme ile karakterize hafif dejeneratif değişiklikler dikkati çekti. Tüm tedavi uygulanan denekler ile endometriozis modeli oluşturulan denekler karşılaştırıldığında kapiller konjesyonda azalma dışında bir farklılık bulunamadı (Şekil 2).

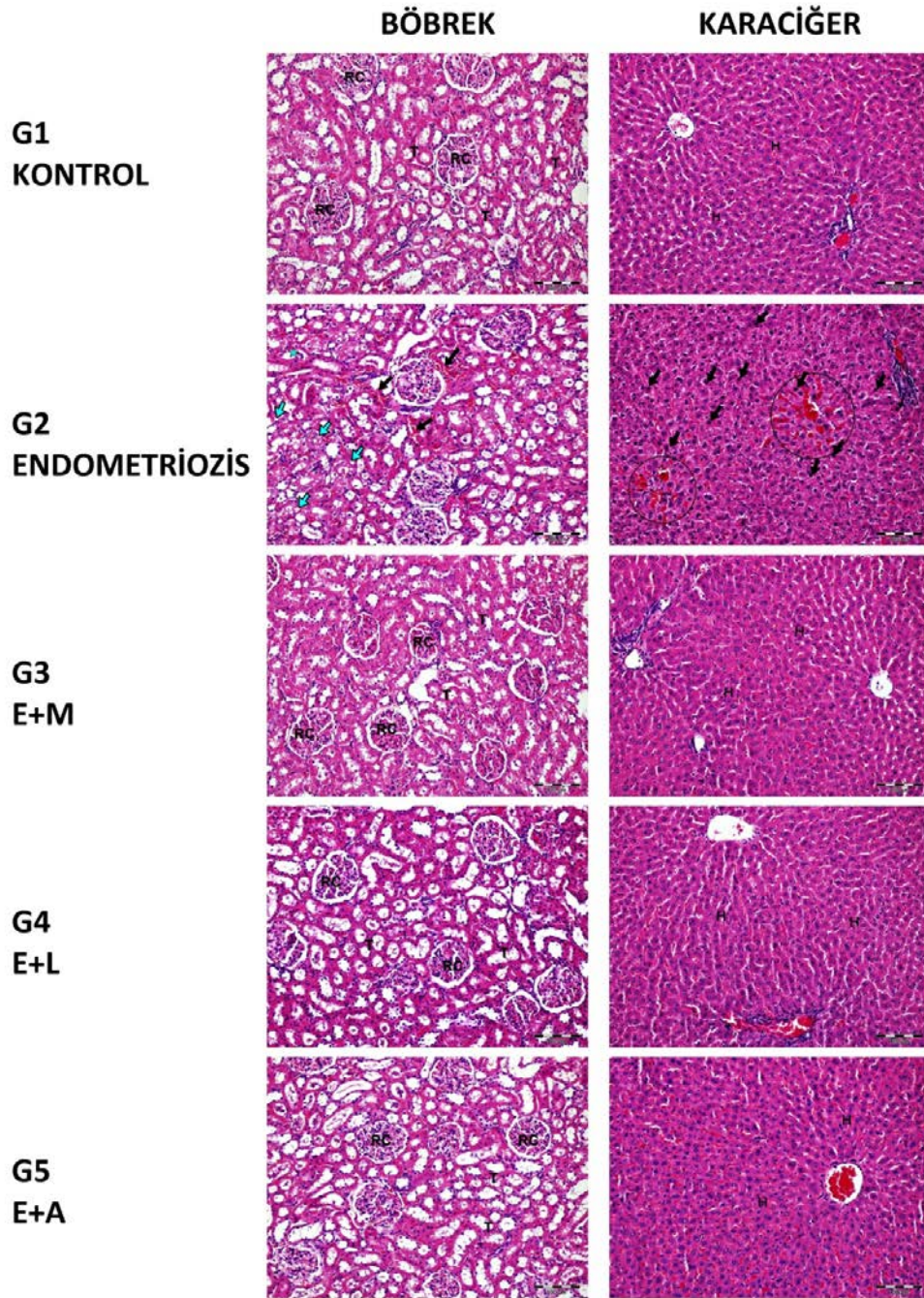
OVARIAN ENDOMETRİOZİS



PERİTONEAL ENDOMETRİOZİS



Şekil 1. Ovarian ve peritoneal endometriozis modelinde endometrial bezler (ok) ve endometrial stroma (yıldız) gösterilmektedir. (Boya: Hematoksilen & Eozin)



Şekil 2. Tüm grupların böbrek ve karaciğer dokularının histopatolojik olarak karşılaştırılması. Böbrek doku kesitlerinde renal cisimcikler (RC), normal yapıda tübüller (T), tübül epitelinde vakuolizasyon (mavi ok), tübül epitelinde dökülme (yıldız) ve kapiller konjesyon (siyah ok) gösterilmektedir. Karaciğer doku kesitlerinde normal yapıda hepatositler (H) ile piknotik çekirdeğe sahip hepatositler (ok) ve hemorajik alanlar (daire) gösterilmektedir. (Boya: Hematoksilin & Eozin)

Tartışma

Bu çalışma, sıçan modelinde deneysel olarak oluşturulan ovarian ve peritoneal endometriozisin karaciğer ve böbrek üzerine etkilerini karşılaştırmak için yapılmıştır. Son zamanlarda, endometriozis için tedavi modaliteleri olarak yeni bileşikler araştırmaya

başlanmıştır. Örneğin, aromataz inhibitörleri endometriozisi tedavi etmek için başarıyla kullanılmıştır (20). Endometriotik lezyonlardaki yüksek aromataz aktivitesi, endometriozis patogeneğinde rol oynar. İnflamatuar sitokinler endometrioziste cAMP'ye bağlı bir yol aracılığıyla aromataz sentezini de teşvik eder ve bu da endometriotik lezyonlarda östrojen üretimine neden

olur. Bu nedenle, sentetik aromataz inhibitörleri genellikle endometriotik lezyonları doza bağlı bir şekilde azaltmak için kullanılır (21). Metformin, letrozol ve atorvastatin gibi aromataz inhibitörlerinin apoptoz üzerinde önemli olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (22-24). Bir in vitro çalışma, metforminin inflamasyon, aromataz enzim aktivitesi ve endometriotik proliferasyon üzerinde baskılayıcı etkileri olduğunu bildirmiştir (14). Metformin ve letrozol, başka bir in vivo çalışmada, endometriotik implantlarda istatistiksel olarak anlamlı gerilemeye neden olmuştur (15). Yüksek dozda atorvastatinin endometriotik implantların boyutunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (21). Bu çalışmalar ışığında, bu üç etken maddenin endometriozisin olumsuz etkilerini azalttığını belirledik. Biz de bu çalışmamızda, peritoneal ve ovaryan endometriozisin metformin, letrozol ve atorvastatinle tedavisi ile endometriozisin sebep olduğu uzak organ hasarının karaciğer ve böbrek dokularında azaltıldığını histolojik olarak gösterdik.

Metforminin endometriozis üzerindeki etkisi ile ilgili ilk çalışma 2007 yılında Takemura ve ark. (14) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre, bir aromataz inhibitörü olarak metformin, endometriotik hücreler tarafından üretilen IL-1 β 'yi baskılayarak, endometriotik hücre proliferasyonuna neden olmak için IL-8 sekresyonunu indüklemiştir. IL-8 üretiminin inhibisyonu, endometriotik hücrelerin proliferasyonunu durdurabilir. Metforminin endometriozis üzerindeki anti-inflamatuar ve anti-proliferatif etkileri, proinflamatuar sitokin sekresyonunu azaltarak, bir anti-endometriotik ilaç olarak kabul edilebileceği anlamına gelir (14, 25). Bir başka aromataz inhibitörü olarak letrozol, ileri evre meme kanseri olan post menopozal kadınlarda rutin klinik uygulamada kullanılmaktadır; serum östrojen konsantrasyonlarını azaltmak için aromataz enzimini inhibe ederek etki eder (26). Bu çalışmada, aromataz aktivitesini inhibe ederek sitokin salgısını azaltmak için letrozol kullanılmıştır. Birkaç çalışma, peritoneal endometriozis implantlarında anjiyogenezin belirgin şekilde arttığını doğrulamıştır. Bu nedenle, anjiyogenezin olası stimülasyonu sitokin düzeylerinin artmasına neden olabilir. Atorvastatin gibi anjiyogenezi inhibe eden ajanlar, fare endometriozis modellerinde ektopik lezyon oluşumunu etkili bir şekilde önler ve sitokin seviyelerini düşürür (21, 27). Tüm bu sebepler ışığında, yapılan bu

çalışmada endometriozisin etkilerini azaltmak amacıyla metformin, letrozol ve atorvastatin kullanılmıştır.

Endometriozisin üriner sistemde görülmesi, endometriozis hastalarının %1'inde bildirilmiştir. Mesanede görülen endometriozis durumunda pelvik ağrıdan kronik üreteral obstrüksiyon durumunda sessiz böbrek kaybına kadar değişen sonuçlar oluşur (9-11). Endometriozis nedeniyle takip edilen hastalarda akut sindirim tıkanıklığı veya böbrek fonksiyon kaybı riski de olmaktadır (12). Pelvik bölgede görülen endometriozis sonucu endometriozis kaynaklı hücreler uzak organlarda görülmüştür; örneğin beyin, karaciğer, akciğer ve dalak gibi (13). Ancak ovaryan ve peritoneal endometriozis durumunda uzak organ hasarı olarak karaciğer ve böbrek dokularına dair bir çalışma tespit edilememiştir. Bu çalışma, ovaryan ve peritoneal endometriozis durumunda böbrek dokusunda herhangi bir hasarın oluşup oluşmadığını gösterme amacıyla yapılmıştır. Ayrıca endometriozis kaynaklı inflamatuvar hasarın karaciğer üzerindeki etkileri histolojik olarak gösterilmiştir.

Sonuç olarak; endometriozis, erişkin ve adolesan hastalarda yaşam kalitesini düşüren bir hastalıktır. Ayrıca endometriozis sonucu oluşan inflamasyon, birçok organda uzak organ hasarına neden olur (9, 28). Endometrioziste inflamatuvar süreçlerin metformin, letrozol ve atorvastatin ile tedavi edilmesi mümkündür (22-24). Endometriozis modeli oluşturulan sıçanların karaciğer dokularında ödematöz ve hemorajik alanların oluştuğu belirlendi. Tedavi grupları endometriozis modeli oluşturulan sıçanlarla karşılaştırıldığında bu alanların varlığı belirgin şekilde azaldı. Endometriozis modeli oluşturulan sıçanların böbrek doku örneklerinde ise vazodilatasyon ve tübüler yapıda nekrotik değişiklikler gözlemlendi. Tedavi uygulanan sıçanlar ile endometriozis modeli oluşturulan sıçanlar karşılaştırıldığında vazodilatasyonda azalma görüldü. Bu çalışma, deneysel endometriozis modelinde metformin, letrozol ve atorvastatinin karaciğer ve böbrek dokuları üzerinde anti-inflamatuar etkilerini doğrulayan histopatolojik veriler sağlasa da bu mekanizmanın ileri çalışmaları olarak immunohistokimyasal ve biyokimyasal verilerle desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. J Lancet 2004; 364: 1789-1799.
- Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: Epidemiology, diagnosis and clinical management. J Curr Obstet Gynecol Rep 2017; 6: 34-41.
- Bulun SE, Yilmaz BD, Sison C, et al. Endometriosis. J Endocr Rev 2019; 40: 1048-1079.
- Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, et al. Endometriosis: Pathogenesis and treatment. J Nat Rev Endocrinol 2014; 10: 261-275.
- Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. American Journal of Epidemiology 2004; 160: 784-796.
- Halme J, Hammond MG, Hulka JF, et al. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. J Obstet Gynecol 1984; 64: 151-154.
- D'Hooghe TM, Debrock S. Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and in baboons. J Hum Reprod Update 2002; 8: 84-88.
- Ferguson BR, Bennington JL, Haber SL. Histochemistry of mucosubstances and histology of mixed müllerian pelvic lymph node glandular inclusions. Evidence for histogenesis by müllerian metaplasia of coelomic epithelium. J Obstet Gynecol 1969; 33: 617-625.

9. Bolze PA, Paparel P, Golfier F. [Urinary tract involvement by endometriosis. Techniques and outcomes of surgical management: CNGOF-HAS Endometriosis Guidelines]. *J Gynecol Obstet Fertil Senol* 2018; 46: 301-308.
10. Muthuppalaniappan VM, Wiles KS, Mukerjee D, et al. Silent obstruction in a young woman with systemic lupus erythematosus: a case report and literature review on kidney injury from ureteral endometriosis. *J Postgraduate Medicine* 2016; 128: 307-310.
11. Ponticelli C, Graziani G, Montanari E. Ureteral endometriosis: A rare and underdiagnosed cause of kidney dysfunction. *J Nephron Clinical Practice* 2010; 114: c89-c94.
12. Borghese B, Santulli P, Marcellin L, et al. Définition, description, formes anatomo-cliniques, pathogenèse et histoire naturelle de l'endométriose, RPC Endométriose CNGOF-HAS. *J Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2018; 46: 156-167.
13. Samani EN, Mamillapalli R, Li F, et al. Micrometastasis of endometriosis to distant organs in a murine model. *J Oncotarget* 2019; 10: 2282-2291.
14. Takemura Y, Osuga Y, Yoshino O, et al. Metformin suppresses interleukin (IL)-1beta-induced IL-8 production, aromatase activation, and proliferation of endometriotic stromal cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2007; 92: 3213-3218.
15. Oner G, Ozcelik B, Ozgun MT, et al. The effects of metformin and letrozole on endometriosis and comparison of the two treatment agents in a rat model. *J Hum Reprod* 2010; 25: 932-937.
16. Li Z, Liu H, He Z, et al. Effects of cisplatin and letrozole on surgically induced endometriosis and comparison of the two medications in a rat model. *European journal of pharmaceutical sciences: Official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 2016; 93: 132-140.
17. Sapmaz T, Coskun G, Saker D, et al. Effects of metformin, letrozole and atorvastatin on inflammation and apoptosis in experimental peritoneal and ovarian endometriosis in the rat. *Pathology - Research and Practice* 2022: 153951.
18. Yılmaz B, Ozat M, Kilic S, et al. Atorvastatin causes regression of endometriotic implants in a rat model. *J Reprod Biomed Online* 2010; 20: 291-299.
19. Çoban ZD, Güran Ş, Altaylı E, et al. Farede östrus siklusu tayininde hızlı, kolay ve etkin bir yöntem. *J Gulhane Medical Journal* 2016; 58: 82-87
20. Harada T, Taniguchi F, Izawa M, et al. Apoptosis and endometriosis. *J Front Biosci* 2007; 12: 3140-3151.
21. Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *J Fertil Steril* 1985; 44: 684-694.
22. Bulun SE, Imir G, Utsunomiya H, et al. Aromatase in endometriosis and uterine leiomyomata. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 2005; 95: 57-62.
23. Xia X, Guo L, Su J, et al. Effect of letrozole on endometriosis and apoptosis of ectopic endometrial cells in rats. *Journal of Central South University Medical Sciences* 2013; 38: 54-59.
24. Sahin E, Eraslan Sahin M, Dolanbay M, et al. Induction of apoptosis by metformin and progesterone in estrogen-induced endometrial hyperplasia in rats: Involvement of the bcl-2 family proteins. *J Gynecol Endocrinol* 2018; 34: 433-436.
25. Foda AA, Aal IAA. Metformin as a new therapy for endometriosis, its effects on both clinical picture and cytokines profile. *J Middle East Fertility Society Journal* 2012; 17: 262-267.
26. Lamb HM, Adkins JC. Letrozole. A review of its use in postmenopausal women with advanced breast cancer. *J Drugs* 1998; 56: 1125-1140.
27. Hull ML, Charnock-Jones DS, Chan CL, et al. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2003; 88: 2889-2899.
28. Schindler AE. Pathophysiology, diagnosis and treatment of endometriosis. *J Minerva Ginecol* 2004; 56: 419-435.