

## ENDOMETRİOMALAR İLE OVERİN ENDOMETRİOİD VE BERRAK HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA FAS EKSPRESYONU

Murat ULUKUŞ\*, Teksin ÇIRPAN\*, Coşan TEREK\*, Murat GÖK\*, Çağnur ULUKUŞ\*\*,  
Osman ZEKİOĞLU\*\*\*, Yılmaz DİKMEN\*, Ömer DİNÇER\*

\*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir

\*\*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir

\*\*\*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir

### ÖZET

*Bu çalışmada overyan endometriomalar ve endometriozisle ilişkili oldukları bilinen overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomlarının Fas protein ekspresyonu yönünden immünohistokimyasal yöntemle karşılaştırılmasını amaçladık. Çalışmaya overyan endometriyozis (n = 22), overin endometrioid adenokarsinomu (n = 12) ve overin berrak hücreli karsinomu (n = 8) tanısı alan toplam 42 olgu dahil edilmiştir. Her üç grubu epitelial Fas ekspresyonu açısından kıyasladığımızda endometriyomalı olguların her iki tipteki over karsinomlu olgulara göre istatistiksel olarak daha fazla Fas proteini eksprese ettiklerini gösterdik (P < 0.001). Sonuç olarak endometriomalara kıyasla endometriozisle ilişkili over tümörlerinde apoptozis mekanizmalarının daha da bozulmuş olabileceği ve endometriozisin malign transformasyonuna azalmış Fas proteininin de katkıda bulunabileceği ileri sürülebilir.*

**Anahtar sözcükler:** apoptozis, endometriozis, endometrioma, fas, overin endometrioid ve berrak hücreli tümörleri, immünohistokimya.

### SUMMARY

#### Fas Expression in Endometriomas, Endometrioid Carcinomas and Clear Cell Carcinomas of Ovaries

*In this study we aimed to investigate the expression of Fas protein by immunohistochemistry between ovarian endometriomas and endometriosis related ovarian tumors, endometrioid and clear cell carcinomas. Ovarian endometriosis (n = 22), ovarian endometrioid adenocarcinomas (n = 12) and ovarian clear cell carcinomas (n = 8) histopathologic samples were included in this study. When we compared the epithelial Fas expression among three groups, we observed that endometriomas express significantly higher epithelial Fas than both ovarian tumors (P < 0.001). In conclusion, we suggest that in endometriosis related ovarian tumors apoptotic mechanisms might be more impaired than endometriomas and also decreased expression of Fas might be involved in the malign transformation of endometriosis.*

**Key words:** apoptozis, endometriosis, endometrioma, ovarian endometrioid and clear cell carcinomas, fas, immunohistochemistry.

## GİRİŞ

Endometriozis patogenezi ile ilgili olarak Sampson'un retrograd menstrüasyon teorisi öne sürülen teoriler arasında halen geçerliliğini korumakla beraber retrograd menstrüasyonun reproduktif dönemdeki kadınların yaklaşık %90'ında izlenmesi, buna karşın endometriyozis insidansının ancak %10-%20 arasında olması nedeniyle bunun tek başına endometriyozis gelişimi için yeterli bir etken olmadığı bilinmektedir (1,2). Son yıllarda gelişen moleküler teknikler sayesinde tubalar aracılığı ile periton boşluğuna geçen endometriyal hücrelerin hastalığı meydana getirmesinde immün, hormonal, genetik ve çevresel bir takım faktörlerin rolü olduğu gösterilmiştir(3-6).

İmmün sistem değişikliklerinin endometriyozis patofizyolojisinde önemli rolleri olduğu bilinmekte ve günümüzde endometriozisin inflamatuvar bir hastalık olduğu kabul edilmektedir(7-9). Normalde sağlıklı kadınlarda retrograd menstrüasyon ile periton boşluğuna gelen endometriyal hücrelerin iyi çalışan bir immün sistem sayesinde ortadan kaldırıldığı buna karşın genetik olarak hastalığa meyilli olduğu düşünülen bireylerde hücrel ve humoral immünitedeki değişiklikler nedeniyle bu işlemin gerçekleştirilemediği ve endometriyal hücrelerin periton ortamından temizlenemediği öne sürülmektedir. Ayrıca periton sıvısında sayıca artmış olan immün hücrelerin endometriyal hücrelerde proliferasyon, invazyon ve anjiogenez gibi bir takım olayları uyardıkları da gösterilmiştir(7-9).

Hücrel proliferasyon, doku invazyonu, yeni damar oluşumu gibi özelliklerinden ötürü endometriyozis ve kanserler arasında belirgin ortak özellikler vardır. Bununla beraber ovarian endometriotik lezyonlarda malign transformasyon yaklaşık %0.6 ila %1 arasında rapor edilmektedir(10). Overin berrak hücreli ve endometrioid karsinomları overyan endometriozis ile ilişkili olan tümörlerdir(11).

Apoptozis enflamatuvar bir yanıt oluşturmaksızın karakteristik morfolojik ve biyokimyasal birtakım olaylarla dokulardan hücrelerin eliminasyonunu sağlayan programlı bir hücre ölüm şeklidir. Hücre proliferasyonu, invazyon ve anjiogenezise ek olarak defektif apoptozis de hem endometriozis hem de kanser patogenezi izlenen ortak bir özelliktir(12,13). Kanser hücrelerinin immün sistem yanıtından kaçmak ve apoptozisi azaltmak amacıyla hücre yüzey moleküllerinde değişiklikler yaptıkları yada çözünen

bir takım inhibitör maddeler salgıladıkları gösterilmiştir (14). Benzer şekilde ektopik endometriyal hücrelerin periton ortamında kalıcı olmalarında önemli bir etken de bu hücrelerin apoptozise dirençli olmaları ile birlikte bu hücreleri ortadan kaldırması beklenen makrofaj ve T lenfositlerinde apoptozisin artmış olmasıdır(15). Fas CD45/APO-1 48 dalton ağırlığında tümör nekroz faktörü ailesine ait tip 1 transmembran hücre yüzey proteindir. Fas ve ligandı (FasL) apoptozda tetikleyici moleküller olarak tarif edilmiştir. Fas karaciğer, timus, kalp ve overlerde exprese edilmektedir. FasL başlıca T hücreler, B hücreler ve NK hücrelerde eksprese olmaktadır. FasL ile Fas proteinin birleşmesi sonucu trimerizasyon oluşur ve caspase-8 adlı proteaz aktive olur. Caspase-8 insan proteaz süperailisinin bir üyesidir. Caspase-8 proteazının aktive olması şelale sistemi ile bir dizi proteazın aktive olmasına ve kromozomal DNA'nın yıkılmasına yol açar(16). BCL-2 familyası ve Fas/FasL sisteminin tümörlerde olduğu gibi endometriozisi olan kadınlarda da değişikliğe uğradığı gösterilmiştir(13). Bu çalışmada overyan endometriomalar ve endometriozisle ilişkili oldukları bilinen overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomlarının Fas protein ekspresyonu yönünden immünohistokimyasal yöntemle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

### Dokuların toplanması

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde adneksiyal kitle nedeniyle opere edilen ve histopatolojik inceleme sonucunda overyan endometriyozis (n = 22), overin endometrioid adenokarsinomu (n = 12) ve overin berrak hücreli karsinomu (n = 8) tanısı alan toplam 42 olgu dahil edilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama için tüm olguların parafin blokları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden elde edilmiştir.

### İmmünohistokimya

Çalışmaya alınan toplam 42 olguya ait lezyonları en iyi örnekleyen parafin bloklar immünohistokimyasal boyama için seçildi. İmmünohistokimyasal boyama için öncelikle kesitler 20 dakika ksilolde bekletilerek deparafinize edildi ve inen alkol serilerinden (%96, %90, %80, %70) geçirilerek rehidrate edildi. Daha sonra %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 dakika uygulanarak endojen

peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Kesitler pH'ı 8.0 olan 1 mM.lık EDTA tampon solusyonu içerisinde özel kaplara yerleştirilerek, mikrodalga fırında 3 kez 5'er dakika süreyle kaynatıldı. Böylece epitopun açığa çıkması sağlandı. Kesitler 15-20 dakika süreyle oda ısısında soğumaya bırakıldı ve Tris tamponunda (pH:7.2) 5 dakika yıkandı. Kesitler üzerine monoklonal Fas primer antikoru (1:100 dilüsyonda, Novocastra, United Kingdom) damlatılarak 60 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler Tris solusyonunda 3 kez 5'er dakika yıkandı. Kesitlere biyotinize antikor damlatılıp, 10 dakika bekletildikten sonra tekrar 5 dakika Tris solusyonda yıkandı ve streptavidin-peroksidaz solusyonu damlatılarak 10 dakika bekletildi. Tekrar Tris solusyonu ile 5 dakika yıkandıktan sonra kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidinetetraklorür (DAKO, Denmark) damlatıldı. Kahverengi renklenme oluşana kadar beklendi. Daha sonra kesitler, çeşme suyu ile yıkandı. Tüm kesitler zıt boyama sağlamak için Mayer hematoksilinde 2 dakika bekletildi. Tekrar çeşme suyunda yıkandıktan sonra yükselen alkol seviyelerinden (%70, %80, %90, %96, izopropil alkol, izopropil alkol + ksilol) geçirilerek ksilolde 20 dakika bekletildi. Daha sonra kesitler entellan (Merck) damlatılarak kapatıldı. Fas'ın immünhistokimyasal boyanması semikantitatif (0 (boyanma yok, 3 (kuvvetli boyanma)( yöntem ile değerlendirildi. Her üç gruptaki olguların değerlendirilmesinde epitelyal hücreler göz önüne alındı. Ayrıca her bir olgu için her yoğunlukta boyanmış olan hücrelerin yüzdeleri toplanarak elde edilen HSCORE değeri hesaplandı ((HSCORE = ( Pi (i + 1)). Bu formüldeki i; yoğunluk skorunu, Pi ise hücrelerin tahmini yüzdesini ifade etmektedir. Her slayt için 50 büyütmede 5 farklı alan değerlendirilerek bu alanlar içerisindeki her yoğunluktan hücrelerin yüzdesi hesaplanmıştır. Bu 5 alanın ortalama değeri o olgu için ortalama HSCORE değeri olarak kullanılmıştır.

### İstatistiksel analiz

Epitelyal Fas değerleri Kolmogorov-Smirnoff testi ile normal dağılım göstermiştir. Endometriyozis, overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomları arasındaki epitelyal ekspresyon farklılığı One-way ANOVA testi kullanılarak analiz edilmiştir.

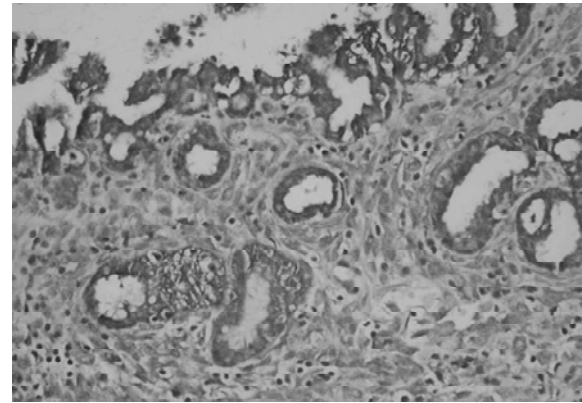
Tüm istatistiksel analizler Sigmastat for Windows version 3.0 programı (Jandel Scientific Corporation, San Rafael, CA) kullanılarak yapılmıştır. Datalar standart ortalama hatası (SEM) olarak belirtilmiştir. P < 0.05 değerinde

farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

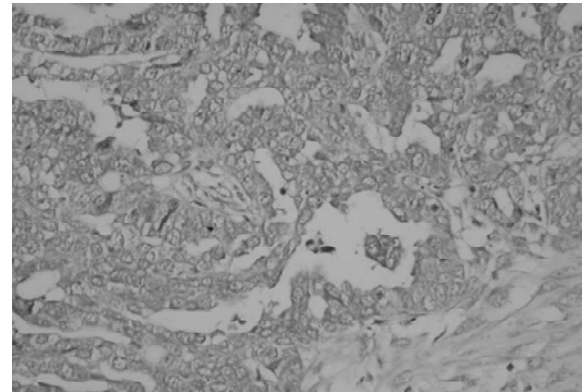
## BULGULAR

Ovarian endometriomasi olan olguların yaş ortalaması 35.8 (23-83); endometrioid over karsinomu grubunda 48.7 (35-68) ve berrak hücreli karsinom grubunda ise 59.7 (37-78) olarak bulunmuştur. Endometriozisli olguların tümü Amerikan Fertilité Cemiyeti'nin (AFS) yeniden düzenlenmiş sınıflamasına<sup>(17)</sup> göre evre 4 idi. Diğer taraftan endometrioid tipte over karsinomu olan olguların 8 tanesi evre 1, 4 tanesi evre3; berrak hücreli karsinomu olan olguların ise 4 tanesi evre 1, 2 tanesi evre 3 ve 2 tanesi de evre 4 idi.

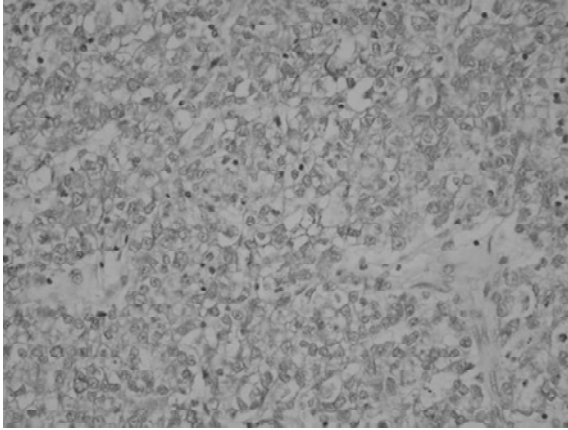
Her üç gruba ait dokuların tümünde epitelyal ve stromal Fas immünreaktivitesi izlenmiştir. Epitelyal ve stromal boyanmanın tüm endometriyoma ve kanser kesitlerinde sitoplazmik özellikte olduğu izlenmiştir (Şekil 1,2,3). Endometriomalı olguların kesitlerindeki epitelyal Fas immünreaktivitesinin overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomlarına göre daha yoğun olduğu görülmüştür.



**Resim 1:** Ovarian endometrioziste yoğun epitelyal ve stromal Fas immünreaktivitesi izlenmektedir. (X40)



**Resim 2:** Overin endometrioid adenokarsinomunda endometriomaya göre daha az epitelyal Fas immünreaktivitesi izlenmektedir. (X40)

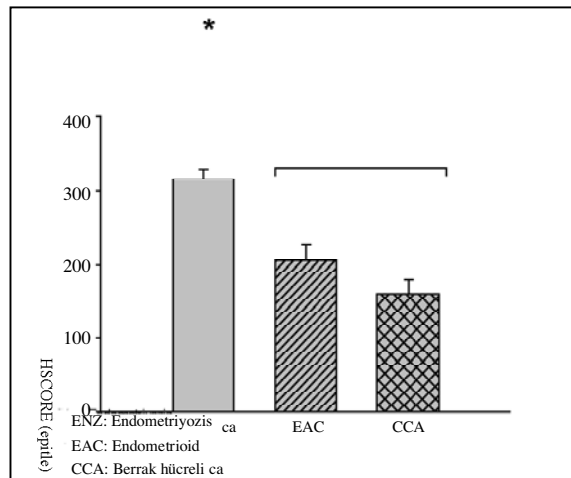


**Resim 3:** Overin berrak hücreli adenokarsinomunda endometriomaya göre daha az epitelyal Fas immünoreaktivitesi izlenmektedir. (X40)

Ayrıca her üç grup epitelyal Fas ekspresyonu açısından kıyaslandığında endometriyomalı olguların her iki tipteki over karsinomlu olgulara göre istatistiksel olarak daha fazla Fas proteinini eksprese ettikleri gösterilmiştir ( $P < 0.001$ ) (Tablo I, Grafik 1). Stromal Fas ekspresyonu da epitelyal ekspresyona benzer şekilde endometriyozisi olan olguların kesitlerinde daha yoğun olarak izlenmiştir. Ancak endometrioid ve berrak hücreli karsinomlar yüzey epitelyal karsinomları olduğu için stromal boyanma açısından gruplar arası kıyaslama yapılmamıştır.

**Tablo I:** Her üç gruptaki olguların ortalama HSCORE ve SEM değerleri

	No	HSCORE	SEM	P
Endometrioma	22	316.3	+12.3	<0.001
Endometrioid adenoca	12	205.8	+21.2	
Berrak hücreli adenoca	8	159.7	+18.5	



**Grafik 1:** Ovaryan endometriyozis, overin endometrioid ve berrak hücreli karsinomlarındaki epitelyal Fas immünoreaktivitesi (H-Score). Endometriyoziste tümörlere kıyasla daha yüksek epitelyal Fas ekspresyonu izlenmiştir ( $P < 0.001$ )

## TARTIŞMA

Endometriyozis premalign bir durum olmasa da neoplastik potansiyeli olabilen bir patolojidir<sup>(11)</sup>. Yapılan çalışmalarda overin endometriotik lezyonlarında malign transformasyon riskinin yaklaşık %0.6 ila %1 arasında olduğu rapor edilmektedir<sup>(10,11)</sup>. Erken menarş, kısa süreli sikluslar ve düşük parite endometriyozisli ve over kanserli hastalarda ortak olarak bulunan klinik özelliklerdir. İsveç'te yapılan ve 20.000 den fazla kadını kapsayan bir çalışmada uzun süreli endometriyozisi olan kadınlardaki relatif over kanseri riskinin 4 kat arttığı bildirilmiştir<sup>(18)</sup>. Overin berrak hücreli ve endometrioid karsinomları ovaryan endometriyozis ile ilişkili olduğu bilinen tümörlerdir<sup>(11)</sup>. Bu tümörlere dönüşen endometriotik lezyonlarda hem atipi sıklığı hem de bir tümör süpresör gen olan PTEN de benzer mutasyonlar gösterilmiştir<sup>(19,20)</sup>.

Endometriyozis ve kanserler arasında hücre proliferasyonu, doku invazyonu, neoanjiogenez gibi ortak histopatolojik özellikler mevcuttur. Programlı hücre ölümü olarak tanımlanan ve fizyolojik bir proses olan apoptozis, hücre çoğalması ve ölümü arasında dengeyi sağlayarak hücre homeostazisinde önemli bir görev almaktadır<sup>(13)</sup>. İmmün sistemde hücre turnoverının regülatörü olan apoptozisin de endometriyozis ve kanserlerde benzer olarak bozulmuş olduğu gösterilmiştir<sup>(12,13)</sup>.

Defektif apoptozis endometriyozis patogenezinin dair son yıllarda oldukça ilgi çekici bir mekanizmadır. Apoptozis başlıca bax/bcl-2 kompleksi gibi hücre dışı yaşamsal sinyallerle veya p53 düzeyini arttıran hücre içi ölüm sinyalleriyle yada Fas/FasL sistemi gibi membran reseptörlerini içeren hücre dışı ölüm sinyalleriyle başlatılabilmektedir<sup>(12)</sup>. Yapılan çalışmalar sağlıklı kadınlarda bax/bcl-2 ve Fas/FasL proteinlerinin menstrüel siklus süresince endometriyumda eksprese edildiğini göstermiştir<sup>(21-23)</sup>. Apoptotik protein ekspresyonlarının steroid hormonlarla ilişkili olacak şekilde proliferatif faz süresince düşük, geç sekretuar ve menstrüel fazda ise yüksek olduğu; buna karşın antiapoptotik protein ekspresyonlarının proliferatif fazda yüksek, menstrüasyon sırasında ise düşük olduğu gösterilmiştir<sup>(21-23)</sup>.

Endometriyozisli hastalarda yapılan çalışmalarda ise bu hastaların ötopik endometriyumlarında antiapoptotik bir protein olan BCL-2'nin ekspresyonunun arttığı gösterilmiş ve bunun da bu hücrelerin apoptozisinin

azalmasına neden olarak ektojik ortamda yaşamlarını sürdürmelerinde etkin bir faktör olduğu gösterilmiştir (24). Literatürde endometriotik dokularda Fas ekspresyonunu araştıran az sayıda çalışma olmakla beraber, endometriozisi olan ve olmayan bireylerin endometriyumlarındaki Fas ekspresyonunun menstrüel siklus süresince benzer olduğu gösterilmiştir(25). Diğer taraftan literatürde endometriotik dokulardaki FasL ekspresyonunun arttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur(26-28). Endometriozisli hastaların periton sıvısında sayıca artmış makrofajlar tarafından sekrete edilen PDGF (platelet derived growth factor) ve TGF- (transforming growth factor) gibi büyüme faktörlerinin ektojik endometrial stromal hücrelerde FasL ekspresyonunu arttırdığını ve böylece bu hücrelerin ektojik endometrial hücrelere saldırması beklenen ve Fas eksprese eden T lenfositlerini apoptoze uğrattığı gösterilmiştir(15,29). Dolayısıyla endometrioziste bozulmuş olan Fas/FasL sistemi de ektojik endometrial hücrelerin immün sistemden kurtularak periton ortamında kalıcı olmalarına katkıda bulunmaktadır. In-vitro bir çalışmada da Salem ve arkadaşları, endometriozis hastalarının periton sıvısında artmış miktarda bulunan kemokin ligand 2'nin Fas ligand ekspresyonunu artırdıklarını, bunun da T lenfosit apoptozisini indükleyerek ektojik endometrial implantların gelişimi için immunotolerans bir ortam oluşturduklarını ileri sürmüşlerdir(30).

Yapmış olduğumuz bu çalışmayla apoptozisi başlatıcı bir protein olan Fas proteininin ovaryan endometriomalarda endometriozisle ilişkili olduğu düşünülen overin endometrioid ve berrak hücreli tümörlerine göre daha fazla eksprese edildiğini göstermiş bulunmaktayız. Bu da bize endometriozise göre endometriozisle ilişkili over tümörlerinde apoptozis mekanizmalarının daha da bozulmuş olabileceğini düşündürmektedir. Her iki patolojinin klinik seyirleri düşünüldüğünde malign bir proses olan over tümörlerinde endometriozise göre apoptozisin azalmış olması akla yatkın gelmektedir. Diğer taraftan benzer şekilde kontrolsüz hücre proliferasyonunun da malign olaylarda endometriozise göre daha fazla artmış olması beklenen bir bulgudur. Bununla beraber atipi ve PTEN genindeki mutasyonlara ek olarak endometriozisle ilişkili tümörlerde Fas gibi apoptotik protein ekspresyonlarının azalmış olması da endometriomaların malign transformasyonuna katkıda bulunuyor olabilir.

Endometriomalar ve over tümörlerini apoptotik

proteinler açısından kıyaslayan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Nezhat ve ark benign endometriotik kistlerde endometrioid, berrak hücreli ve seröz papiller karsinoma göre daha az BCL-2 ekspresyonu rapor etmişlerdir(31). Bunun aksine Fauvet ve ark ise endometriomalar, benign ve malign over tümörleri arasında BCL-2 ekspresyonu açısından farklılık olmadığını, buna karşın Fas ekspresyonunun istatistiksel anlamlılık olmasa da benign over tümörlerine kıyasla ovaryan endometriomalarda daha yüksek oranlarda olduğunu göstermişlerdir(12).

Apoptozisin potent bir indükleyicisi olan tümör süpresör p53 geninin endometriozisin malign transformasyonunda etkili olabileceği belirtilmiştir(31). Nezhat ve ark nın yapmış oldukları çalışmada benign endometriotik kistlerde p53 negatif boyanırken, malign kistlerin %37-55'inde pozitif boyanma izlenmiştir(31). Yine bunun aksine Fauvet ve ark nın yapmış oldukları çalışmada p53 ekspresyonunun benign over tümörlerine göre endometriomalarda arttığı ancak endometriomalarla malign over tümörleri arasında farklılık olmadığı belirtilmiştir(12).

Görüldüğü üzere apoptozis endometriozisli hastalardaki kanser gelişiminde önemli roller üstlenmektedir. Ancak endometriotik lezyonların malign transformasyonuna neden olan faktörleri ortaya koyabilmek için daha fazla araştırma yapılması gerekliliği açıktır. Gelecekte belki de apoptotik faktörlere bakılarak tümör gelişimi açısından risk taşıyan endometriozisli kadınları belirlemek mümkün olabilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Hamle J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984;64:151-54.
2. Mülayim N, Arici A. The relevance of the peritoneal fluid in endometriosis-associated infertility. *Hum Reprod* 1999;14 supp 2:67-76.
3. Hill JA, Faris HMP, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocytes subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988;50:216-22.
4. Kennedy S, Mardon H, Barlow D. Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:32-34.
5. Noble LS, Simpson ER, Johns A, Bulun SE. Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:174-79.
6. Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations

- in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997;12:373-75.
7. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1-10.
  8. Ulukus M, Arici A. Immunology of endometriosis. *Minerva Ginecol* 2005;57:237-48.
  9. Harada T, Iwabe T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001;76:1-10.
  10. Heaps JM, Nieberg RK, Berek JS. Malignant neoplasms arising in endometriosis. 1990;75:1023-28.
  11. Stern RC, Dash R, Bentley RC, Snyder MJ, Haney AF, Robboy SJ. Malignancy in endometriosis: frequency and comparison of ovarian and extraovarian types. *Int J Gynecol pathol* 2001; 20:133-39.
  12. Fauvet R, Poncelet C, Hugol D, Lavaur A, Feldmann G, Darai E. Expression of apoptosis-related proteins in endometriomas and benign and malignant ovarian tumors. *VirchowsArch* 2003; 443:38-43.
  13. Harada T, Kaponis A, Iwabe T, Taniguchi F, Makrydimas G, Sofikitis N, Paschopoulos M, Paraskevaidis E, Terakawa N. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2004;10:29-38.
  14. Hefler L, Mayerhofer K, Nardi A, Reinthaller A, Kainz C. Serum soluble Fas levels in ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2000;96:65-9.
  15. Garcia-Velasco J, Arici A, Zreick T, Naftolin F, Mor G. Macrophage-derived growth factors regulate FasL expression in endometrial cells: a role in endometriosis. *Mol Hum Reprod* 1999;5:642-50.
  16. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995;267: 1449-56.
  17. American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1985;43:351.
  18. Brinton LA, Gridley G, Persson I, Baron J, Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:572-79.
  19. Nishida M, Watanabe K, Sato N. Malignant transformation of ovarian endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2000;50:18-25.
  20. Jiang X, Morland SJ, Hitchcock A, Thomas EJ, Campbell IG. Alleotyping of endometriosis with adjacent ovarian carcinomas reveals evidence of a common lineage. *Cancer Res* 1998;58: 1707-12.
  21. Otsuki Y. Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc* 2001;34:166-73.
  22. Tao X-J, Tilly KI, Maravei DV, Shifren JL, Krajewski S, Reed JC, Tilly JT, Isaacson KB. Differential expression of members of the bcl-2 gene family in proliferative and secretory human endometrium: glandular epithelial cell apoptosis is associated with increased expression of bax. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2738-46.
  23. Song J, Rutherford T, Naftolin F, Brown S, Mor G. Hormonal regulation of apoptosis and the Fas and Fas ligand system in human endometrial cells. *Mol Hum Reprod* 2002;8:447-55.
  24. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreas-Ortiz O, Tesone M, Rumi LS. Apoptosis and expression of Bcl-2, Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril* 2000;74:760-66.
  25. Harada M, Suganuma N, Furuchashi M, Nagasaka T, Nakashima N, Kikkawa F, Tomoda Y, Furui K. Detection of apoptosis in human endometrial tissues. *Mol Hum Reprod* 1996;2:307-15.
  26. Garcia-Velasco JA, Mulayim N, Kayisli UA, Arici A. Elevated soluble Fas ligand levels may suggest a role for apoptosis in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:855-59.
  27. Powell WC, Fingleton B, Wilson CL, Boothby M, Matrisian L. The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr Biol* 1999;9:1441-47.
  28. Selam B, Kayisli UA, Garcia-Velasco JA, Arici A. Extracellular matrix-dependent regulation of Fas ligand expression in human endometrial stromal cells. *Biol Reprod* 2002;66:1-5.
  29. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Koincek PR. Transforming growth factor beta activity is increased in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1994;84:287-92.
  30. Selam B, Kayisli UA, Akbas GE, Basar M, Arici A. Regulation of FAS ligand expression by chemokine ligand 2 in human endometrial cells. *Biol Reprod*. 2006;75(2):203-9.
  31. Nezhat F, Cohen C, Rahaman J, Gretz H, Cole P, Kalir T. Comparative immunohistochemical studies of bcl-2 and p53 in benign and malignant ovarian endometrial cysts. *Cancer* 2002;94:2935-40.