

Pregledni prispevek/Review article

MOLEKULARNE OSNOVE PATOGENEZE ENDOMETRIOZE

MOLECULAR BASIS OF ENDOMETRIOSIS

*Tina Šmuc,¹ Martina Ribič-Pucelj,² Tea Lanišnik-Rizner¹*¹ Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana² Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Šljajmerjeva 3, 1525 Ljubljana**Izvleček**

Zihodišča *Endometrioza je bolezen, pri kateri se endometrijske žleze s stromo pojavljajo tudi zunaj maternične votline. Bolezen je zelo pogosta, ocenjujejo, da se pojavlja kar pri 15 % žensk v rodnem obdobju. Endometriotično tkivo se lahko razraste po celotni peritonealni votlini (jajčniki, črevo, omentum), bolezenski simptomi pa so največkrat hude bolečine ob menstruaciji, 30–50 % povezane z neplodnostjo. Poznamo tri različne oblike endometrioze, ki predstavljajo ločene bolezni z različno etiologijo in patogenezo: peritonealno endometrioza, endometrioza jajčnika in globoko infiltrativno endometrioza. Patogeneza endometrioze še ni dobro raziskana, znano pa je, da je endometrioza od hormonov odvisna bolezen, velik vpliv imajo genetski in imunološki dejavniki, pa tudi okolje.*

Zaključki *Pregledni članek obravnava in razlaga procese, ki so moteni pri bolnicah z endometrioza. Poznavanje molekularnih osnov patogeneze endometrioze bo v prihodnosti pripomoglo k novim načinom diagnosticiranja in zdravljenja te bolezni.*

Ključne besede *pripenjanje celic; razgradnja zunajceličnega matriksa; angiogeneza; metabolizem in delovanje steroidnih hormonov; imunski odziv*

Abstract

Background *Endometriosis is defined as the presence of endometrial glands and stroma within extrauterine sites. Estimations show that up to 15 % of women in their reproductive age are affected. Extrauterine endometrial tissue can be found on the pelvic peritoneum, on the ovaries, in the rectovaginal septum, and more rarely, in the pericardium and pleura forming three different entities: peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis and deep endometriotic nodules of the rectovaginal septum. Symptoms for endometriosis may include painful and/or heavy periods, pain during intercourse, pelvic pain, 30–50 % reduced fertility and low back pain. Pathogenesis of endometriosis is not yet fully understood. It is well known that endometriosis is an estrogen-dependent disease, with distinctive genetic, immunological and environmental risk factors.*

Conclusions *The review focuses on different cell processes which are disturbed in endometriosis patients. A better understanding of the molecular basis of endometriosis will aid in identification of molecular markers and novel drug targets in the future, providing better diagnostics and treatment.*

Key words *cell adhesion; structural changes of extracellular matrix; angiogenesis; metabolism and action of steroid hormones; immune system*

Avtorica za dopisovanje / Corresponding author:

Izr. prof. dr. Tea Lanišnik-Rizner, Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenia, tel.: 01 / 543 76 57, fax: 01 / 543 76 41, e-mail: tea.lanisnik-rizner@mf.uni-lj.si

Uvod

Endometrijoza je bolezen, pri kateri se endometrijske žleze s stromo pojavljajo tudi zunaj maternične votline.¹ Bolezen je zelo pogosta, ocenjujejo, da se pojavlja kar pri 15 % žensk v rodnem obdobju.¹ Endometriotično tkivo se lahko razraste po celotni peritonealni votlini (jajčnik, črevo, omentum).² Morfološko in histološko ločimo tri oblike endometrijoze, ki predstavljajo ločene bolezni z različno etiologijo in patogenezo: peritonealno endometriozo, endometriozo jajčnika in globoko infiltrativno endometriozo.³ Bolezenski simptomi so največkrat hude bolečine ob menstruaciji, v 30–50 % pa so povezane z neplodnostjo.⁴ Endometriozo lahko diagnosticiramo le z invazivnimi diagnostičnimi postopki: laparoskopijo in laparotomijo.¹

Patogeneza endometrijoze še ni dobro raziskana. Obstaja več teorij, ki bolj ali manj razložijo nastanek različnih oblik endometrijoze.¹ Najbolj razširjena Samssova teorija trdi, da prihaja do presaditve endometriotičnega tkiva zaradi procesa, imenovanega retrogradna menstruacija.^{1,4} Med menstruacijo gre namreč del menstruacijske krvi preko jajcevodov v trebušno votlino.^{1,4} Druga teorija, teorija metaplazije celomskega epitela, razlaga nastanek endometrijoze s preoblikovanjem celic seroznih membran.⁵ Degenerirani menstruacijski endometrij sprošča faktorje, ki inducirajo metaplazni proces seroznega epitela jajčnikov in mezotelija.⁵ Tako nastane tkivo z značilnimi endometrijskimi žlezami in stromo.⁵ Tretja teorija pravi, da lahko celice endometrija transplantiirajo na ektopična mesta tudi po limfnih poteh ali po krvi.^{1,4} Take celice imajo določene sposobnosti, ki jim omogočajo implantacijo v tujem okolju.^{1,4} Te lastnosti so bile delno dokazane v celicah endometrija, ki so jih osamili iz svetline jajcevodov in iz peritonealne tekočine z metodo »supravital staining«, ki omogoča zaznavanje živih celic.^{1,4} Četrta teorija razlaga, da moteno delovanje imunskega sistema, ki neuspešno odstranjuje endometrijsko tkivo iz peritonealne votline, omogoča, da to tkivo na ektopičnih mestih preživi.⁴

Celice endometriotičnega tkiva bolnic z endometriozo imajo torej določene lastnosti, ki jim omogočajo preživetje na ektopičnih mestih.⁴ Ugotovili so, da so pri bolnicah z endometriozo moteni različni biološki procesi in poti, kot so: pripenjanje celic, razgradnja zunajceličnega matriksa, metabolizem in delovanje steroidnih hormonov, angiogeneza, imunski odziv.^{1,4,5}

Pripnjanje celic

Proces pripenjanja celic zunaj maternične votline je zelo pomemben za nastanek endometrijoze.⁵ Endometriotični fragmenti se pripenjajo le na poškodovane mezotelijske membrane zunaj maternične votline.⁵ Zdrav mezotelij tako lahko služi kot pregrada in prepreči adhezijo in implantacijo endometrijskih celic, vendar pa lahko celice endometrija sprožijo morfološke spremembe mezotelija in tako same sebi pripravijo primerno okolje za pripenjanje in implantacijo.⁵ Proteini, ki omogočajo pripenjanje, so transmem-

branski receptorji, ki omogočijo znotrajcelične interakcije in interakcije celic z zunajceličnim matriksom.⁶ Med tovrstne proteine uvrščamo tudi integrine, družino receptorjev za molekule, ki se nahajajo na površinah celic.⁶ Integrini se izražajo tako v evtopičnem kot v ektopičnem endometriotičnem tkivu.⁶ Izražanje integrinov uravnava hormoni in integrin $\beta 3$ se celo uporablja kot molekularni označevalec maternične sposobnosti za sprejemanje embria.⁷ V ektopičnem endometriotičnem tkivu pa izražanje integrinov ni odvisno od faze menstruacijskega cikla.⁸ Zaradi nenadzorovanega izražanja različnih integrinov, npr. integrina $\beta 3$, prihaja do vzpostavljanja interakcij med celicami in matriksom, kar omogoča nastanek in razvoj endometrijoze.^{8,9} Tudi druge molekule, ki sodelujejo pri migraciji in pripenjanju celic, so različno izražene pri endometriji (LAMA1 [laminin $\alpha 1$], CTHRC1 [collagen triple helix repeat containing 1], ARGAP25 [Rho GTPase activating protein 25], ADAM23 [A disintegrin and metalloproteinase domain 23]), kar še dodatno vpliva na pripenjanje celic.⁹

Razgradnja zunajceličnega matriksa

Endometrij se zaradi cikličnega spreminjanja koncentracije estrogenov in progesterona spreminja. Pri menstruaciji se zunajcelični matriks (ECM) razgradi zaradi delovanja metalomatriks proteinaz (MMP). MMP pa lahko z uravnavanjem proteinov ECM vplivajo tudi na osnovne celične funkcije, kot so proliferacija, diferenciacija, apoptoza.^{5,10} Izražanje proteinaz MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP9, odgovornih za fiziološke spremembe endometrija, uravnava ovarijski hormon, IL1 (interlevkin 1), TNF α (tumor necrosis factor α) in TGF β (transforming growth factor β).⁵ Ker igrajo MMP pomembno vlogo pri razgrajevanju ECM že pri normalnem endometriju, so v primeru nenadzorovanega izražanja pomembne tudi pri uspešni vsaditvi endometriotičnega tkiva zunaj maternice.⁵ Poleg kliničnih opažanj, da so celice endometrija zelo invazivne, so tudi molekularne in biokemijske raziskave potrdile, da se pri teh celicah čezmerno izražajo različne MMP, zato se razgradnja ECM poveča, s tem pa se omogoči implantacija endometrijskega tkiva na ektopičnih mestih.¹⁰ Pomembno vlogo pri kontroli delovanja MMP imajo tudi inhibitorji metaloproteinaz (TIMP).¹¹ Razmerje med prisotnostjo MMP in njihovimi inhibitorji je ključno pri uravnavanju invazivnosti in metastaziranju celic pri različnih tipih raka.¹² Tudi v endometriotičnem tkivu so opazili zmanjšano izražanje TIMP1 in TIMP2, kar še dodatno vpliva na razgradnjo matriksa.^{13,14} Raziskave pa so tudi pokazale, da je pri endometriji jajčnika zmanjšana raven MMP in povečana raven TIMP.¹⁵ Ko je endometriotična cista jajčnika že razvita, se količina proteinov, potrebnih za razgradnjo matriksa, zmanjša, poveča pa se količina proteinov, ki sodelujejo pri izgradnji ECM.^{9,15}

Angiogeneza

Ožiljanje v zdravem endometriju uravnava različni angiogeni faktorji. Podroben mehanizem še ni znan, lahko pa poteka po štirih različnih poteh.¹⁶ Najpomembnejšo vlogo pri vaskularizaciji ima VEGF (vas-

cular endothelial growth factor), ki poleg delovanja na endotelijske celice vpliva tudi na prehodnost žil in na vnetni odziv.¹⁶ Znano je, da steroidni hormoni jajčnika uravnavajo izražanje VEGF, saj se le-ta v endometriju izraža v skladu z menstruacijskim ciklom.¹⁷ V proliferativni fazi estradiol sproži izražanje VEGF v epitelijskih celicah, vpliv progesterona v sekretijski fazi na izražanje tega dejavnika ožiljanja pa je počasnejši in šibkejši.¹⁶

Ožiljanje ektopičnega tkiva je zelo pomembno pri nastanku, razvoju in obstanku endometriotičnega tkiva zunaj maternice.^{5, 17} Pri peritonealni endometriozii so zaznali višjo raven VEGF-A pri zgodnjih, bolj ožiljenih zunajmaterničnih endometriotičnih tvorbah, raven je bila višja tudi pri ženskah s hujšo obliko endometrioze. Pri kasnejših stadijih peritonealne endometrioze pa žile dozori in prenehajo izločati dejavnike, ki pospešujejo nastanek novih žil.¹⁷ Pri endometriozii jajčnika pa je bila raven VEGF mRNA nižja v primerjavi s kontrolno skupino, vendar pa so bili prisotni drugi dejavniki ožiljanja (EDIL3 [EGF-like repeats, I-like domains 3], EDG1 [endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor 1], PTGIR [prostaglandin I2 {prostacyclin} receptor {IP}]). Za globoko infiltrativno endometriozo velja, da je tkivo sicer dobro ožiljeno, ampak ne sprošča dodatnih proinflammatory dejavnikov.¹⁷

Mehanizem in delovanje steroidnih hormonov

Endometriozia je hormonsko odvisna bolezen. Ektopično endometriotično tkivo je prav tako kot evtopično odvisno od estradiola: estradiol stimulira rast, medtem ko progesteron stimulira diferenciacijo celic.¹ Kljub visoko sofisticiranemu endokrinemu sistemu pri človeku pa se velik del spolnih hormonov sintetizira tudi v perifernem tkivu.¹⁸ Pri višjih primatih jajčniki in testisi niso edini viri androgenov in estrogenov, ampak se steroidi v veliki meri sintetizirajo lokalno v perifernih tkivih iz neaktivnih androgenov nadledvične žleze.^{18, 19} Pri endometriozii je že dolgo znano, da je čezmerno izražena aromataza ključni encim pri pretvorbi androstendiona ali testosterona v estron oziroma estradiol.²⁰ Klinične raziskave so pokazale, da je zdravljenje endometrioze z inhibitorjem aromataze pri nekaterih bolnicah uspešno.²¹ Pri endometriozii pa je lokalni metabolizem estrogenov in progesterona še dodatno moten.²²⁻²⁴ Raziskave na ravni mRNA in na ravni proteinov so pokazale, da se v endometrioznem tkivu čezmerno izražajo encimi, ki sodelujejo pri sintezi estradiola (17 β -HSD tip 1, 5, 7, sulfataza), zmanjšano pa se izražajo encimi, ki so odgovorni za pretvarjanje estradiola v manj aktivno obliko estron (17 β -HSD tip 2, 4). Prav tako je v endometrioznem tkivu spremenjeno izražanje estrogenskih in progesteronskih receptorjev, vendar pa še ni znano, ali estradiol deluje preko estrogenskih receptorjev ali preko drugih signalnih poti.²³⁻²⁵

Imunski sistem in vnetni proces

Imunski odziv je zelo pomemben pri nastanku in napredovanju endometrioze.⁴ Menstruacijski tok preko jajcevodov v trebušno votlino sproži vnetni odziv.^{4, 25}

Pri bolnicah z endometriozo se celice endometrija zunaj maternice izogone delovanju imunskega sistema in ostanejo na ektopičnih mestih.²⁶ Pri teh bolnicah so v peritonealni tekočini (PT) prisotni proteini vnetnega procesa, povečan je volumen PT in koncentracija levkocitov.^{4, 26} Zaradi povišane koncentracije kemoatraktanta proteina RANTES (regulated on activation, normal T expresses and secreted) je povišano število makrofagov, ki izražajo citokine (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α), ti pa vplivajo na ugodno mikrookolje za implantacijo celic endometrija in nastanek endometrioze.⁴

Nesposobnost imunskega sistema, da posreduje signale, ki bi posredno onemogočili preživetje celic endometrija zunaj maternice, je ključno pri nastanku bolezni.²⁶ Protein ICAM1 igra pomembno vlogo pri vnetnem odzivu, celicam endometrija na ektopičnih mestih pa omogoča preživetje.²⁷ Limfociti se lahko pripenjo na celice preko ICAM1 (intercellular adhesion molecule 1 [CD54], human rhinovirus receptor) odgovorne poti in označijo celice endometrija zunaj maternične votline za celice ubijalke.²⁷ Raziskave pa so pokazale, da endometriotično tkivo zunaj maternice izloča večje količine topnega ICAM1 (sICAM1).²⁷ Ta lahko prav tako veže limfocite, ker pa je topen, zaščiti celice pred imunskim sistemom.²⁷ Pri endometriozii jajčnika pa je moten tudi komplementni sistem.⁹ Izražanje C3 (complement component 3), glavnega proteina alternativne poti, in C4 (complement component 4A), fragmenta, ki nastane pri aktiviranju klasične poti, je povečano, medtem ko je mRNA raven regulatorja HF1 (H factor 1 [complement]) zmanjšana.⁹ Študije so pokazale tudi povečane količine genov mRNA, ki sodelujejo pri vnetnem odzivu, avtoimunih boleznih in genov, ki imajo pomembno vlogo pri zaščiti gostitelja.⁹

Zaključki

Patogeneza peritonealne endometrioze, endometrioze jajčnika in globoke infiltrativne endometrioze vključuje motnje v različnih bioloških procesih, kot so: pripenjanje celic, razgradnja zunajceličnega matriksa, angiogeneza, metabolizem in delovanje steroidnih hormonov, imunski odziv in vnetni proces. Poznavanje molekularnih osnov patogeneze teh treh oblik endometrioze bo v prihodnosti omogočilo odkriti biološke označevalce in nove tarče za razvoj zdravilnih sredstev, ki bodo uveljavile zgodnejše diagnosticiranje endometrioze in nove oblike zdravljenja, ki bo prilagojeno posameznim bolnicam.

Literatura

1. Olive DL, Barrie Schwartz L. Endometriosis. *New Eng J Med* 1993; 328: 1759-69.
2. Berkley KJ, Rapkin AJ, Papka RE. The pains of endometriosis. *Science* 2005; 308: 1587-9.
3. Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 1997; 68: 585-96.
4. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* 2004; 364: 1789-99.
5. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Evers JH, Dunselman GAJ. Pathogenesis of endometriosis. *Best Practise & Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 233-44.

6. Klemt PAB, Carver JG, Koninckx P, McVeigh EJ, Ardon HJ. Endometrial cells from women with endometriosis have increased adhesion and proliferative capacity in response to extracellular matrix components: towards a mechanistic model for endometriosis progression. *Hum Reprod* 2007; 22: 3139-47.
7. Ota H, Tanaka T. Integrin adhesion molecules in the endometrial glandular epithelium in patients with endometriosis or adenomyosis. *J Obstet Gynaecol Res* 1997; 23: 485-91.
8. Regidor PA, Vogel C, Redigor M, Schindler AE, Winterhager E. Expression pattern of integrin adhesion molecules in endometriosis and human endometrium. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 710-8.
9. Šmuc T, Guggenberger C, Ribič-Pucelj M, Šinkovec J, Husen B, Thole H, et al. Gene expression study of differences between ectopic and eutopic endometrium. Unpublished work 2007.
10. Mizumoto H, Saito T, Ashihara K, Nishimura M, Takehara M, Tanaka R, et al. Expression of metalloproteinases in ovarian endometriomas: immunohistochemical study and enzyme immunoassay. *Life Sci* 2002; 71: 259-73.
11. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMP. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 562-73.
12. Zhao YG, Xiao AZ, Park HI, Newcomer RG, Yan M, Man YG. Endometase/matrilysin-2 in human breast ductal carcinoma in situ and its inhibition by tissue inhibitors of metalloproteinases-2 and -4: a putative role in initiation of breast cancer invasion. *Cancer Res* 2004; 64: 590-8.
13. Szamatowicz J, Laudiński P, Tomaszewska I. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1: a possible role in pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod* 2002; 17: 284-8.
14. Chung HW, Lee JY, Moon HS, Hur SE, Pak MH, Wen Y, et al. Matrix metalloproteinases, membranous type 1 matrix metalloproteinase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in ectopic and eutopic endometrium. *Fertil Steril* 2002; 78: 787-95.
15. Ramón L, Gilabert-Estellés J, Castelló R, Gilabert J, España F, Romeu A, et al. mRNA analysis of several components of the plasminogen activator and matrix metalloproteinase system in endometriosis using real-time quantitative RT-PCR assay. *Hum Reprod* 2005; 20: 272-8.
16. Van Langendonck A, Donnez J, Defrere S, Dunselman GAJ, Groothuis PG. Antiangiogenic and vascular-disrupting agents in endometriosis: pitfalls and promises. *Mol Hum Reprod* 2008; 14: 259-68.
17. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 45-55.
18. Labrie F, Luu-The V, Lin SX, Simard J, Labrie C, El-Alfy M, et al. Intracrinology: role of the family of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in human physiology and disease. *J Mol Endocrinol* 2000; 25: 1-16.
19. Vikho P, Harkonen P, Soronen P, Torn S, Herrala Kurkela R, Pulkka A, et al. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase-their role in pathophysiology. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 83-5.
20. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, Sasano H. Estrogen biosynthesis in endometriosis: molecular basis and clinical relevance. *J Mol Endocrinol* 2000; 25: 35-42.
21. Patwardhan S, Nawathe A, Yates D, Harrison GR, Khan KS. Systematic review of the effects of aromatase inhibitors on pain associated with endometriosis. *BJOG* 2008, 115: 818-22.
22. Zeitoun K, Takayama K, Sasano H, Suzuki T, Moghrabi N, Andersson S, et al. Deficient 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17 β -estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4474-80.
23. Šmuc T, Ribič-Pucelj M, Šinkovec J, Husen B, Thole H, Lanišnik-Rižner T. Expression analysis of the genes involved in estradiol and progesterone action in human ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2007; 23: 105-11.
24. Dassen H, Punyedera C, Kamps R, Delvoux B, Van Langendonck A, Donnez J, et al. Estrogen metabolizing enzymes in endometrium and endometriosis. *Hum Reprod* 2007; 22: 3148-58.
25. Matsuzaki S, Murakami T, Uehara S, Canis M, Sasano H, Okamura K. Expression of estrogen receptor alpha and beta in peritoneal and ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 75: 1198-205.
26. Kyama CM, Debrock S, Mwenda JM, D'Hooghe TM. Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 123.
27. Van de Stolpe A, Van der Saag PT. Intercellular adhesion molecule-1. *J Mol Med* 1999; 74: 13-33.