

NOI MARKERI PENTRU DIAGNOSTICUL NON-INVAZIV ÎN ENDOMETRIOZĂ

NEW MARKERS FOR THE NON-INVASIVE DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

Şef lucr. dr. *Costin Anastasiu*, dr. *Liana Pleş*, prof. univ. dr. *Aurel Mironescu*,
dr. *Alina Jegan*, drd. *Oana Dimienescu*, dr. *Ana-Maria Dull*
Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania Braşov
Autor corespondent: *Costin Anastasiu*, e-mail: canastasiu@gmail.com

Abstract:

Endometriosis represents one of the most frequent benign gynaecological diseases causes of pelvic pain and infertility. The pathogenesis is related to the peritoneal implants of endometrial fragments which are generating local inflammation, cytokine production by peritoneal T and B cells, macrophages, mastocytes, epithelial and mesothelial cells, on the background of an altered immune response. Even the laparoscopy is the main diagnostic tool, some seric markers (IL-6, TNF- α , hsCRP) could be used for the diagnosis and the severity assessment of this condition.

Key-words: *endometriosis, IL-6, TNF- α*

Endometrioza reprezintă una dintre cele mai frecvente afecţiuni ginecologice fiind responsabilă de infertilitate şi dureri pelvine având ca principal substrat fiziopatologic inflamaţia [5, 22]. Afectează aproximativ 10% din femeile aflate la vârsta reproductivă. Cauzele apariţiei endometriozei nu sunt cunoscute în totalitate; mai multe teorii au încercat să explice apariţia acestei afecţiuni [5, 11].

O primă teorie este cea a transplantăţiei care explică apariţia endometriozei prin fluxul retrograd în trompe al fragmentelor endometriale în timpul menstruaţiei. O dată ajuns în cavitatea pelvină, acest ţesut se va implanta pe suprafeţele peritoneale şi va genera leziunile endometrioze. O altă teorie propune ca mecanism de apariţie transportul ţesutului endometrial pe cale hematogenă şi limfatică [11, 22]. Metaplazia celomica în ţesut endometrial sub stimul hormonal estrogenic sau sub acţiunea altor agenţi chimici din celulele endometriale degenerate a fost de asemenea incriminată. O parte din markerii inflamatori au fost investigaţi în lichidul peritoneal al femeilor cu endometrioza precum şi din sângele periferic [21, 27, 29]. Teoria imunităţii alterate via mecanism inflamator este actualmente calea finală comună acceptată a patogenezei endometriozei. Primum movens este reprezentat de procesul inflamator local cauzat de citokinele produse de către celulele T şi B de la nivel

peritoneal, mastocite, macrofage, celulele epiteliale şi mezoteliale [8, 20]. Modificările imunologice la pacientele cu endometrioza sunt asociate cu un răspuns exagerat al celulelor B, niveluri serice crescute de autoanticorpi şi un defect de activitate al celulelor natural killer NK rezultând o citotoxicitate scăzută a endometrului autolog [24, 34, 37].

În rândul pacientelor cu endometrioza întâlnim frecvent volum crescut al lichidului peritoneal, activitate inflamatorie crescută, concentraţie crescută a leucocitelor şi macrofagelor, o creştere a statusului activator al macrofagelor, producere crescută de autoanticorpi împotriva celulelor endometriale, aderenţă crescută a endometrului la peritoneu, angiogeneză exagerată precum şi reducere a activităţii imunologice şi a clearance-ului celulelor endometriale [4, 24, 31, 32].

La femeile cu endometrioza concentraţia macrofagelor peritoneale este crescută, acest lucru putând fi atribuit unor nivele crescute de M-CSF (factor de stimulare a coloniilor macrofagice) şi MPC-1 (proteina a chemotactismului monocitar) [16, 32]. Aceste celule mononucleare periferice activate, ca şi celulele endometriale, se presupune că secretă diferite citokine cu activităţi biologice pleiotrope [18]. Câţeva studii recente au încercat să demonstreze importanţa prezenţei citokinelor inflamatorii în sângele periferic la pacientele cu endometrioza.

La acest nivel au fost investigate interleukinele 6, 12 și interferonul gama [14]. Descreșterea activității NK din lichidul peritoneal la femeile cu endometrioza implică creșterea macrofagelor și limfocitelor în sângele periferic, cu un nivel crescut al factorilor de creștere și citokinelor precum IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, VEGF, interferon. În sprijinul celor menționate vin anumite studii ce presupun interacțiunea dintre răspunsul imun Th 1 și Th 2 cu un grup de citokine ce includ IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ [2, 9, 14, 18]. Mastocitele joacă un rol critic în susținerea răspunsurilor mediate Th 2, prin secreția unor niveluri ridicate de IL-4. Studiile efectuate au remarcat creșterea numărului de celule mastocitare înalt activate în stroma leziunilor peritoneale endometriale comparativ cu endometrul eutopic [24,38]. Migrarea și proliferarea mastocitelor poate fi legată de creșterea nivelului factorului celulelor stem CSF în lichidul peritoneal al femeilor cu endometrioza, mai ales în stadiul incipient [30]. Ca urmare, nivelul IFN- γ și cel al IL-10 este semnificativ crescut în lichidul peritoneal al pacientelor cu endometrioza comparativ cu cel al pacientelor fără endometrioza. În plus există o importantă alterare a raporturilor IL-4/IFN- γ , IL-4/IL-2, IL-10/IFN- γ , IL-10/IL-2 în lichidul peritoneal al pacientelor cu endometrioza și o predominanță a IL-4 și IL-10 reflectând trecerea spre răspunsul imun Th2 în ciuda creșterii concentrațiilor IFN- γ . IL-6 este o citokină produsă de o varietate largă de celule, incluzând monocitele, limfocitele, fibroblaștii, celulele endoteliale, keratinocitele și celulele mezangiale [1, 3, 17]. Citokinele mediază numeroase procese fiziopatogenice fiind produse de o largă varietate de celule ce reglează răspunsul imun, hematopoieza, funcția neuronală și osteoneogeneza. De altfel citokinele dețin un rol important în fiziologia reproductivă, incluzând reglarea producției steroide ovariene, foliculogeneza și faza inițială de implantare [19, 28]. TNF- α împreună cu alte citokine și factori de creștere este un component important în răspunsul imun al organismului uman și joacă un rol central în neoangiogeneză [7]. De altfel el joacă un rol important în progresia endometriozei și a formelor asociate cu infertilitate, el putând fi un marker atât pentru activitatea cât și pentru stadiul endometriozei [5, 11, 35]. Mai multe studii au relevat faptul că nivelul TNF- α

este crescut în lichidul peritoneal al pacientelor cu endometrioza [8, 12,13,23].

Studiile de asemenea au remarcat că IL-6 și a TNF- α pot fi utilizate pentru discriminarea pacientelor cu endometrioza de cele fără endometrioza cu un grad ridicat de sensibilitate și specificitate. Aromataza P450 mRNA a fost propusă ca marker de diagnostic, însă sensibilitatea și specificitatea afectează aplicarea sa în practică [10,26,36]. Faptul că aceasta nu este influențată de faza ciclului menstrual îi conferă un avantaj important. În lumina acestor cercetări, a început să se contureze ideea conform căreia concentrațiile IL-6 și cea a TNF- α pot fi markeri valoroși pentru diagnosticul non-chirurgical al afecțiunii [6,15].

Cercetări recente axate pe identificarea implicării altor citokine susțin faptul că lactoferina și concentrația mieloperoxidazei sunt scăzute semnificativ la pacientele cu endometrioza stadiul I comparativ cu endometrioza din stadiile III/IV [25]. În același timp și nivelurile antigenului CA 125 sunt crescute la pacientele cu endometrioza stadiile III/IV.

Studii recente evidențiază o asociere între numărul trombocitelor, distribuția și volumul acestora, numărul limfocitelor și nivelul proteinei C reactive semnaland relația dintre trombocite și reacția inflamatorie. Trombocitele joacă un rol important bine cunoscut în hemostază. În afară de asta este bine cunoscută importanța creșterii acestora pe parcursul procesului inflamator. Pe parcursul activării, trombocitele eliberează conținutul granulelor- α , ce secretă o largă varietate de citokine, chemokine și factori de creștere. Acest lucru este corelat cu studii recente ce au demonstrat faptul că valoarea trombocitelor în endometrioza este relativ crescută. În concluzie, trombocitoza este aparent un marker al inflamației cronice, ce este incriminată în patogeneza endometriozei. Proteina C reactiva ultrasensibilă poate fi de asemenea un marker al inflamației asociate endometriozei, superior PCR clasice, mai ales în cazurile cu endometrioza moderată-severă [33].

Înțelegerea patogenezei și evoluției spontane a endometriozei necesită înțelegerea implicării sistemului imun și cascadei inflamatorii în dezvoltarea acestei patologii. În prezent diagnosticul de certitudine al endometriozei se bazează pe laparoscopie și biopsia leziunilor

suspecte cu confirmarea histologică ulterioară a țesutului endometrial. Implementarea unor noi tehnici neinvazive de diagnostic bazate pe citokine ar putea reprezenta un mare beneficiu în diagnosticul, stadializarea, aprecierea evoluției și managementul endometriozii.

Bibliografie:

- [1] Akoum A., Lemay A., Maheux R., Estradiol and interleukin-1beta exert a synergistic stimulatory effect on the expression of the chemokine regulated upon activation, normal T cell expressed, and secreted in endometriotic cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:5785–5792
- [2] Anaf V., Chapron C., El Nakadi I., De Moor V., Simonart T., Noel J.C. - Pain, mast cells, and nerves in peritoneal, ovarian, and deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2006; 86: 1336–1343
- [3] Antsiferova Y.S., Sotnikova N.Y., Posiseeva L.V., Shor A.L. - Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2005; 84: 1705–1711
- [4] Beliard A., Noel A., Goffin F., Frankenne F., Foidart J.M. - Adhesion of endometrial cells labeled with III Indium-tropolonate to peritoneum: a novel in vitro model to study endometriosis. *Fertil Steril* 2003; 79 [Suppl 1]: 724-729
- [5] Clemenly P.B. - Blaustein's pathology of the female genital tract. Disease of the peritoneum. In Kurman RJ [ed.], Springer-Verlag, New York, NY, 1994, pp. 660–680
- [6] D'Antonio M., Martelli F., Peano S., Papoian R., Borrelli F. - Ability of recombinant human TNF binding protein-1 [r-hTBP-1] to inhibit the development of experimentally-induced endometriosis in rats. *J Reprod Immunol* 2000; 48:81-98
- [7] D'Hooghe T.M., Debrock S., Meuleman C., Hill J.A., Mwenda J.M. - Future directions in endometriosis research. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003; 30: 221-244
- [8] D'Hooghe T.M., Hill J.A. - Novak's Gynecology 13th edition. Chapter 25. Endometriosis. Edited by: Hassa et al. Cytokine and immune cells levels in peritoneal fluid and peripheral blood of women with early and late-staged endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* 2009; 279: 891-5
- [9] D'Hooghe T.M., Nugent N., Cuneo S., Chai D., Deer F., Debrock S., Mwenda J. - Recombinant human TNF binding protein [rhTBP-1] inhibits the development of endometriosis in baboons: a prospective, randomised, placebo- and drug controlled study. Presented at the Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, Orlando, USA, October 22nd–24th 2001 abstract. *Fertil Steril* 2001; 76:O-1-S-1
- [10] D'Hooghe T.M. - Immunomodulators and aromatase inhibitors: are they the next generation of treatment for endometriosis? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15:243-249
- [11] Eskenazi B., Warner M.L. - Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24: 235–258
- [12] Ewona G., Olejek A. - Endometriosis resulting in elevation of inflammatory cytokines in peripheral blood *Journal of Health Sciences* 2014;04[02]:169-172
- [13] Harada T., Iwabe T., Tarakawa N. - Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 76:1-10
- [14] Hirota Y., Osuga Y., Hirata T., Harada M., Morimoto C., Yoshino O., Koga K., Yano T., Tsutsumi O., Taketani Y. - Activation of protease-activated receptor 2 stimulates proliferation and interleukin [IL]-6 and IL-8 secretion of endometriotic stromal cells. *Hum Reprod* 2005; 20:3547–3553
- [15] Hornung D., Chao V.A., Vigne J.L., Wallwiener D, Taylor RN: Thiazolidinedione inhibition of peritoneal inflammation. *Gynecol Obstet Invest* 2003; 55:20-24
- [16] Iwabe T., Harada T., Tsudo T., Nagano Y., Yoshida S., Tanikawa M., Terakawa N. - Tumor necrosis factor-alpha promotes proliferation of endometriotic stromal cells by inducing interleukin-

- 8gene and protein expression. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:824-829
- [17] Jeon S.H., Chae B.C., Kim H.A., Seo G.Y., Seo D.W., Chun G.T., Kim N.S., Yie S.W., Byeon W.H., Eom S.H., Ha K.S., Kim Y.M., Kim P.H. -Mechanisms underlying TGF- β 1-induced expression of VEGF and Flk-1 in mouse macrophages and their implications for angiogenesis. *J Leukoc Biol* 2007; 81:557-566
- [18] Kempuraj D., Papadopoulou N., Stanford E.J., Christodoulou S., Madhappan B., Sant G.R., Solage K., Adams T., Theoharides T.C. - Increased numbers of activated mast cells in endometriosis lesions positive for corticotropin-releasing hormone and urocortin. *Am J Reprod Immunol*, 2004; 52:267-275
- [19] Li A., Dubey S., Varney M.L., Dave B.J., Singh R.K. - IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J Immunol* 2003; 170:3369-3376
- [20] Matsuura K., Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H: Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 47[Suppl 1]: 18-22
- [21] Nisolle M and Donnez J .Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 1997;68:585-596
- [22] Olive DL and Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1759-1769
- [23] Pizzo A, Salmeri FM, Ardita FV, Sofo V, Tripepi M, Marsico S: Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 54:82-87
- [24] Podgaec S, Abrao MS, Dias JA Jr, Rizzo LV, de Oliveira RM, Baracat EC Endometriosis: an inflammatory disease with a Th2 immune response component. *Hum R* 2007
- [25] Polak G, Wertel I, Tarkowski R, Morawska D, Kotarski Decreased lactoferrin levels in peritoneal fluid of women with minimal endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 ; 131(1):93-6
- [26] Pugsley MK: Etanercept. *Immunex.Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2:1725-17
- [27] Sampson JA: Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Obstet Gynecol* 1927; 14:422-469.
- [28] Sokolov DI, Solodovnikova NG, Pavlov OV, Niauri DA, Volkov NN, Sel'kov SA Study of cytokine profile and angiogenic potential of peritoneal fluid in patients with external genital endometriosis. *Bull Exp Biol Med* 2005;140:541-544
- [29] Suginami H: A reappraisal of the coelomic metaplasia theory by reviewing endometriosis occurring in unusual sites and instances. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:214-218
- [30] Sukhikh GT, Sotnikova NY, Antsiferova YS, Posiseeva LV, Veryasov VN, Van'ko LV Cytokine production by immunocompetent cells of peritoneal fluid in women with external genital endometriosis. *Bull Exp Biol Med* 2004;137:568-571
- [31] Sukhikh GT, Sotnikova NY, Antsiferova YS, Possiseeva LV, veryasov VN, Vaniko LV . Citokine production by immunocompetent cells of peritoneal fluid in women with external genital endometriosis. *Bull Exp Biol Med* 2004; 137:568-571
- [32] Vinatier, D., Cosson, M. & Dufour, P. Is endometriosis an endometrial disease? *European Journal of Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Biology* 2000; 91[2] 113-25
- [33] Vodolazkaia A, Bossuyt X, Fassbender A, Kyama CM, Meuleman C, Peeraer K, Tomassetti C, D'Hooghe TM . A high sensitivity assay is more accurate than a classical assay for the measurement of plasma CRP levels in endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011 ; 9;9:113
- [34] Wickiewicz D et al. Diagnostic accuracy of interleukin-6 levels in peritoneal fluid

- fordetection of endometriosis. Arch Gynecol Obstet 2013; 288: 805-14.
- [35] Wieser F, Fabjani G, Tempfer C, Schneeberger C, Zeillinger R, Huber JC, Wenzl R: Tumor necrosis factor-alpha promotor polymorphismsand endometriosis. J Soc Gynecol Investig 2002, 9:313-318.
- [36] Williams and Wilkins, JS Berek.Gynecology Philadelphia,USA; 2002:931-972.
- [37] Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. Am J Reprod Immunol 49:285–296.
- [38] Wu MY, Yang JH, Chao KH, Hwang JL, Yang YS, Ho HN Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis. Fertil Steril 2000; 74:1187–1191