

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/271742400>

# Razlika v dejavnikih celične in humoralne imunosti pri bolnicah z endometriozo v primerjavi z zdravimi ženskami Difference in...

Article in *Zdravniški vestnik* · July 2011

CITATIONS

0

READS

74

1 author:



[Martina Ribič-Pucelj](#)

75 PUBLICATIONS 401 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

## Razlika v prisotnosti dejavnikov celične in humoralne imunosti pri bolnicah z endometriozo v primerjavi z zdravimi ženskami

Difference in the presence of cell-mediated and humoral immunity in patients with endometriosis compared with healthy women

Nina Slabe,<sup>1</sup> Renata Košir Pogačnik,<sup>1</sup> Robert Pantar,<sup>2</sup> Alenka Vizjak,<sup>3</sup> Alojz Ihan,<sup>4</sup> Martina Ribič Pucelj,<sup>5</sup> Špela Smrkolj,<sup>5</sup> Helena Meden Vrtovec<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup> Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

<sup>3</sup> Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

<sup>4</sup> Inštitut za mikrobiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

<sup>5</sup> Ginekološka klinika, Univerzitetni Klinični center Ljubljana, Štajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

### Korespondenca/ Correspondence:

prof. dr. Helena Meden Vrtovec, dr. med.  
Ginekološka klinika  
Univerzitetni klinični center  
Štajmerjeva 3, 1525  
Ljubljana  
E-mail: helena.meden@kclj.si

### Izveleček

**Izhodišča:** Endometriozo lahko opredelimo tudi kot raznoliko imunsko nepravilnost. Na to kažejo tudi podatki, da imajo ženske z endometriozo pogosteje Hashimotov tiroiditis, sistemski eritematozni lupus, Sjögrenov sindrom, revmatoidni artritis, astmo in ekcem, zvečano dejavnost poliklonalnih celic B, nepravilno delovanje limfocitov T in B, zmanjšano dejavnost naravnih celic ubijalk in prisotna protientometrijska protitelesa. V naši raziskavi smo želeli opredeliti endometriozo v sklopu drugih avtoimunskih bolezni in določiti vrsto imunskih nepravilnosti.

**Metode:** V prospektivni raziskavi je v študijski skupini sodelovalo 60 žensk z endometriozo, v kontrolni skupini pa 49 zdravih žensk. Vpetost endometrioze v sklop drugih avtoimunskih bolezni smo ovrednotili s ciljano družinsko, osebno in reproduktivno anamnezo ter z imunološkimi preiskavami na celični ravni s subtipizacijo limfocitov, citotoksičnih in regulatornih celic T in celic NK, ter na humoralni ravni z določanjem protientodotelnih, protiovarijskih in protientometrijskih protiteles. Rezultate smo statistično ovrednotili, pri čemer smo uporabili Pearsonov test hi kvadrat in Mann – Whitneyev test.

**Rezultati:** Bolnice z endometriozo imajo pogosteje pridružene alergije ( $p = 0,039$ ). Prisotnost protientodotelnih protiteles, ki so specifično usmerjena proti žilju endometrija, smo dokazali pri 5 bolnicah. Statistično značilne razlike med kontrolno in študijsko skupino smo ugotovili

pri določanju deleža regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25++) v periferni krvi ( $p = 0,025$ ).

**Zaključki:** Hipoteze, da gre pri ženskah z endometriozo za spremenjen imunski odziv, nismo v celoti potrdili, vendar pa se naša raziskava pridružuje tistim stališčem, ki v ospredje etiopatogeneze endometrioze postavljajo spremenjen imunski odziv, in dodaja pomembne informacije. Na humoralni ravni smo dokazali prisotnost protientodotelnih avtoprotiteles, ki so usmerjena proti žilju endometrija, kažejo pa se tudi spremembe v populaciji regulatornih limfocitov T.

### Abstract

**Background:** Endometriosis is often defined as heterogeneous immune abnormality. In accordance with the data, women with endometriosis are more frequently affected by Hashimoto's thyroiditis, systemic lupus erythematosus, Sjögren syndrome, rheumatoid arthritis, asthma, eczema and have increased activity of polyclonal B-cells, abnormal activity of T- and B-lymphocytes, decreased activity of natural killer cells and presence of antiendometrial antibodies. In our study, we tried to define the disease in the context of other autoimmune diseases and determine the type of immune abnormality.

**Methods:** In the prospective study 60 females with endometriosis were included in the study group and 49 healthy females in the control group. The presence of endometriosis in the complex of other autoimmune diseases was evaluated by targeted family, personal and re-

**Ključne besede:**

endometrijoza, protiovarijska protitelesa, protiendometrijska protitelesa, protiendotelna protitelesa, regulatorni limfociti T, avtoimunska bolezen

**Key words:**

endometriosis, anti-ovary antibodies, anti-endothelial antibodies, anti-endometrial antibodies, regulated T lymphocytes, autoimmune disease

**Citirajte kot/Cite as:**

Zdrav Vestn 2011; 80: 538–45

Prispelo: 09. jun. 2010,  
Sprejeto: 11. avg. 2010

productive history. The type of immune abnormality was evaluated by immunological analysis on the cell level: subtyping of lymphocytes, cytotoxic and regulatory T cells and NK cells. On the humoral level, we defined anti-ovary, anti-endometrial and anti-endothelial antibodies. The results were statistically evaluated using the Pearson's Chi-square test and Mann – Whitney test.

**Results:** Patients with endometriosis are more frequently affected by allergies ( $p = 0.039$ ). Five serums of endometriosis patients were positive for anti-endothelial antibodies specifically reacting with vascular endothelium. There was statistically significant difference between the study and the control group in the proportion of regulated T lymphocytes (CD3+ CD25++) in the peripheral blood ( $p = 0.025$ ).

**Conclusions:** We have not fully confirmed the hypothesis that women with endometriosis have alterations in the immune response. However, the present study supports and adds important information to the views that immune abnormality plays an important role in the etiopathogenesis of endometriosis. On the humoral level, we showed the presence of anti-endothelial antibodies reacting with vascular endothelium.

## Uvod

Endometrijoza je pogost in zapleten ginekološki sindrom neznane etiopatogeneze, ki prizadene ženske v rodni dobi.<sup>1</sup> Zunaj maternice se pojavi endometriju podobno tkivo, ki vsebuje stromo in žlezne strukture.<sup>2</sup> Leta 1860 je Rokitsansky prvič opredelil endometrijozo kot patološko celoto, izraz pa je prvi uporabil Sampson leta 1921.<sup>3,4</sup> Endometrijoza ne ogroža življenja, vendar pa je pomemben vzrok obolevnosti pri ženskah.<sup>1</sup>

Od odkritja endometrijoze, ki je ena glavnih povzročiteljic neplodnosti, je minilo že skorajda 150 let. Kljub velikemu napredku v medicini pa ostaja patofiziološko ozadje bolezni še vedno nepojasnjeno.<sup>5</sup>

Vrsto let je v stroki prevladovalo mnenje, da endometrijozo povzroča retrogradno zatekanje menstruacije skozi jajcevode v peritonealno votlino s posledično implantacijo ektopičnega endometrijskega tkiva na visceralno in parietalno peritonealno površino.<sup>6–8</sup> Ta teorija danes ne zdrži več, ker ne pojasnjuje nastanka oddaljenih endome-

trioznih zasevkov na mestih, kot so pljuča ali možgani, ki nimajo nikakršnega stika z retrogradno menstruacijo, ter pojava endometrijoze po menopavzi.<sup>9–11</sup>

Drugačno možnost nastanka endometrijoze opisuje hipoteza o metaplaziji celomskega epitela, po kateri endometrijozne spremembe izvirajo iz celomskega epitela. Celomski epitel, ki v času embrionalnega razvoja predstavlja zasnovo za Müllerjeve vode, plevro in peritonej, naj bi se pod vplivom hormonov, različnih dejavnikov iz okolja ali neznanih kemijskih snovi dediferenciral v endometrijozno spremembo.<sup>4,12</sup> S to teorijo lahko pojasnimo pojav zasevkov na oddaljenih mestih, pri moških in menopavznih ženskah, a so te oblike endometrijoze tako redke, da hipoteze o metaplaziji celomskega epitela kot resne ideje ni smiselno upoštevati.<sup>12</sup>

Tretja teorija, ki delno pojasnjuje nastanek oddaljenih zasevkov, je teorija žilnega in limfnega razvoja endometrijoze, ki razlaga oddaljene spremembe z razsojem endometrijskih celic po krvnih žilah in mezogvničah s posledično embolizacijo. Tudi to teorijo opuščajo.<sup>5,12</sup>

Današnje prevladujoče mnenje o patogenezi bolezni temelji na predpostavki, da je endometrijoza posledica spremenjenega imunskega odziva na prisotnost endometrijskih celic znotraj peritonealne votline. Vprašanje, ki se ob tem poraja, je, kaj vpliva na celice endometrija, da se pri nekaterih ženskah implantirajo. Znano je, da se retrogradni tok menstruacije pojavlja tako rekoč pri vseh ženskah, medtem ko se endometrijoza razvije le pri nekaterih, ne vemo pa, kaj vpliva na samo razširjenost in velikost sprememb.

Humoralno imunost obravnavamo kot enega izmed možnih vpletenih dejavnikov, njena vloga pa naj bi bila predvsem v spremenjeni aktivnosti celic B in s tem povezano nastajanje avtoprotiteles.<sup>13</sup> Udeležena naj bi bila protiendometrijska protitelesa, protiovarijska protitelesa, protifosfolipidna protitelesa in protihistonska protitelesa razredov imunoglobulina (Ig) G, IgM in IgA.<sup>8,14,15</sup> Tudi neplodnost, ki je pogosto povezana z endometrijozo, bi lahko pojasnili s prisotnostjo avtoprotiteles. Trditev, da je endome-

**Tabela 1:** Določanje protiovarijskih, protiendometrijskih in protiendotelnih protiteles.

Avtoprotitelesa		Niso prisotna	So prisotna	p
protiovarijska	študijska sk. kontrolna sk.	59 (98,3 %) 48 (98 %)	1 (1,7 %) 1 (2 %)	0,880
protiendometrijska	študijska sk. kontrolna sk.	59 (98,3 %) 48 (98 %)	1 (1,7 %) 1 (2 %)	0,880
protiendotelna na tkivu endometrija	študijska sk. kontrolna sk.	55 (91,7 %) 48 (98 %)	5 (8,3 %) 1 (2 %)	0,150

Legenda: p–statistična značilnost, sk.–skupina

trioza zagotovo avtoimunska bolezen, je še nekoliko preuranjena, vendar pa je dokazov, ki kažejo na vpletenost imunskega sistema, vedno več.

## Metode

### Vzorci

V študijski skupini je sodelovalo 60 žensk, ki so bile sprejete na Ginekološko kliniko v Ljubljani za kirurški poseg pri endometriozni. V kontrolno skupino smo vključili 49 žensk, ki so bile sprejete na Ginekološko kliniko v Ljubljani za kirurški poseg sterilizacije. Vse bolnice smo prej natančno seznanili s potekom raziskave, pri raziskavi pa so sodelovale prostovoljno. Raziskavo smo opravili v skladu z načeli Helsinške deklaracije o biomedicinskih raziskavah na človeku, v skladu z določili Konvencije Sveta Evrope o varovanju človekovih pravic in dostojanstva človeškega bitja v zvezi z uporabo biologije in medicine (Oviedska konvencija) in v skladu s slovenskim Kodeksom medicinske deontologije.

### Imunološke preiskave

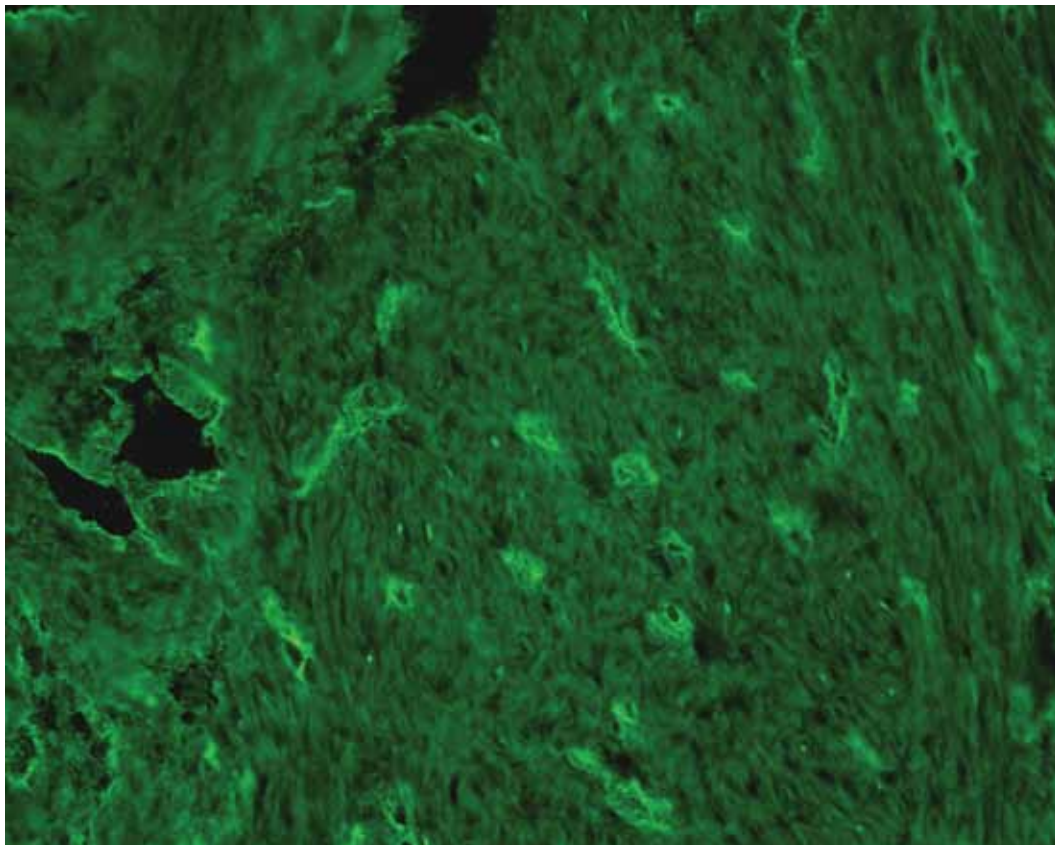
Vrsto imunskih nepravilnosti smo opredelili z imunološkimi preiskavami na celični ravni: s subtipizacijo limfocitov, citotoksičnih in regulatornih celic T in celic NK. Na humoralni ravni smo določali prisotnost protiovarijskih, protiendometrijskih in protiendotelnih protiteles.

Za analizo limfocitnih populacij smo bolnicam, vključenim v raziskavo, odvzeli 2 ml venske krvi v vakuumsko epruveto, ki je vsebovala antikoagulant etilendiamintetraacetat (EDTA). Z metodo pretočne citome-

trije (Becton Dickinson FACS, New Jersey, ZDA) smo v venski krvi določili delež in koncentracijo limfocitnih populacij: limfocitov T (CD3+), celic T pomagalk (CD4+), citotoksičnih limfocitov T (CD8+), celic NK (CD56+ / CD16+) in regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25+). Uporabili smo monoklonska telesa CD3, CD4, CD8, CD56/CD16 in CD25 (Becton and Dickinson, New Jersey, ZDA). Za analizo limfocitnih populacij smo uporabili program Cell Quest. Na podlagi prikaza limfocitnih populacij v obliki posameznih točk na diagramu smo najprej razmejili limfocite, monocite in granulocite. Posamezne podvrste limfocitov in izražanje CD25 na limfocitih T smo določili s pomočjo diagrama, ki razmejene limfocite prikazuje kot točke. Na osi x so vrednosti za svetilnost celic, na osi y pa vrednosti za svetilnost celic, označenih s protitelesi z drugo vrsto fluorokroma. Predhodno smo napravili diferencialno krvno sliko s standardnim laboratorijskim postopkom, ki nam je v kombinaciji z analizo limfocitnih populacij omogočila določitev posameznih koncentracij celičnih populacij. Preiskave smo opravili v laboratoriju za pretočno citometrijo Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani.

Za določanje protiovarijskih, protiendometrijskih in protiendotelnih protiteles smo potrebovali 5 ml seruma žensk, ki smo jih vključili v raziskavo, in žensk v kontrolni skupini. Protiovarijska, protiendometrijska in protiendoteljska protitelesa IgG smo določali z metodo indirektno imunofluorescence na kriostatskih rezinah normalnega tkiva humanega jajčnika, endometrija in ledvice. Normalno tkivo smo pridobili z avtopsijo ali iz operativno odstranjenih jajčnikov, endometrija in ledvic. Tkivo smo zamrznili v

**Slika 1:** Prikaz protientotelnih protiteles IgG proti žilju endometrija (indirektna imunofluorescenca, IgG). Prepričljiva pozitivna reakcija je vidna v endotelu malih žil. (Avtor fotografije je dr. Alenka Vizjak, Inštitut za Patologijo, Medicinska fakulteta v Ljubljani.)



tekočem dušiku in hranili na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Zamrznjeno tkivo smo rezali v kriostatu, rezine 15 minut sušili na sobni temperaturi in nato kratko fiksirali v ohlajenem acetonu. Sledilo je spiranje s fosfatnim pufrom s soljo (PBS), 30-minutna inkubacija s serumom bolnice, ponovno spiranje s PBS in 30 minutna inkubacija s protitelesi, specifično usmerjenimi proti humanim IgG in označenimi s fluorokromom izotiocianatom (FITC). Po ponovnem spiranju s PBS smo preparate prekrili z medijem proti bledenju za pokrivanje imunofluorescenčnih preparatov. Preparat smo nato pregledali s fluorescenčnim mikroskopom. Ocenili smo umeščenost in semikvantitativno intenzivnost pozitivne reakcije (1–4). Vse preiskave smo opravili na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani.

### Statistična obdelava

Statistično analizo smo izdelali s programom SPSS, verzija 17, Chicago, ZDA. Kjer so bile spremenljivke razporejene normalno, smo uporabili Pearsonov test hi-kvadrat. Če spremenljivke niso bile razporejene normal-

no, smo uporabili neparametrični Mann-Whitneyev test, kot srednjo vrednost pa smo upoštevali mediano z najnižjo in najvišjo vrednostjo. Rezultati so bili ovrednoteni kot statistično značilni, če je bila vrednost  $p$  manjša od 0,05.

## Rezultati

### Pojavljanje različnih avtoimunskih bolezni v adolescenci in reproduktivnem obdobju

S ciljano družinsko, osebno in reproduktivno anamnezo smo dobili podatke o morebitnih pridruženih avtoimunskih boleznih, ki kažejo, da med študijsko in kontrolno skupino bolnic ni statistično značilnih razlik. Bolnice z endometriozo so imele pogosteje pridružene alergije ( $p = 0,039$ ).



**Tabela 2:** Določanje deležev regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25+ in CD3+ CD25++).

		CD3+ CD25+ (%)	CD3+ CD25++ (%)
<b>Študijska sk.</b>	M	3,78	2,00
	n	59	59
	SD	2,547	1,604
	Min	1	0
	Max	11	6
<b>Kontrolna sk.</b>	M	2,00	2,00
	n	49	49
	SD	2,709	2,395
	Min	1	0
	Max	11	6
	p	0,197	0,025

Legenda: M – povprečna vrednost, SD – standardni odklon, p – statistična značilnost, Min – najmanjša vrednost, Max – največja vrednost, sk. – skupina

### Določanje protiovarijskih, protiendometrijskih in protiendotelih protiteles

Z indirektno imunofluorescenco na kriostatskih rezinah jajčnika, endometrija in ledvic smo v serumu bolnic ugotovili protitelesa proti jajčniku, endometriju in endotelu žilja. Pri protiendotelih protitelesih smo značilno pozitivni odziv ugotovili samo na tkivu endometrija. Ko smo preiskavo s serumom istih bolnic ponovili na tkivu ledvice in jajčnika, je bila reakcija prepričljivo negativna. Rezultat kaže na morebitno specifičnost protiendotelih protiteles izključno proti endotelu žilja v endometriju. Prisotnost posameznih protiteles pri obeh skupinah prikazuje Tabela 1.

### Analiza limfocitnih populacij

Limfocitne populacije smo analizirali s pomočjo pretočne citometrije iz serumov bolnic, ki so bile vključene v kontrolno in študijsko skupino. Določali smo koncentracije limfocitnih populacij: limfocitov T (CD3+), celic T pomagalk (CD4+), celic T ubijalk (CD8+), celic NK (CD56+ / CD16+), regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25+), aktiviranih limfocitov T (HLA-DR+) in limfocitov B (CD19+). Določili smo tudi deleže regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25+ in

CD3+ CD25++). Dobljene vrednosti smo primerjali med kontrolno in študijsko skupino. Statistično značilne razlike smo našli pri deležih regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25++) pri vrednosti  $p = 0,025$ . Rezultate prikazujemo v Tabeli 2.

### Razpravljanje

V naši raziskavi sicer nismo uspeli natančno opredeliti vrste imunske nepravilnosti, se pa nakazujejo spremembe v limfocitni populaciji regulatornih limfocitov T. Na humoralni ravni smo dokazali prisotnost protiendotelih protiteles, ki so usmerjena proti žilju endometrija.

Znano je, da bolniki z avtoimunsko boleznijo razvijejo specifična avtoprotitelesa na določen tarčni organ ali tarčno sestavino tkiva oz. celic. Objavljene so bile raziskave, v katerih so skušali odkriti protiendometrijska protitelesa.<sup>16-19</sup> Večina raziskav je bila posvečena samo dokazovanju protiendometrijskih protiteles razreda IgG. Gajbhiye s sodelavci<sup>20</sup> je v svoji raziskavi leta 2008 pri 60 % bolnic z endometrio v serumu dokazal prisotnost protiendometrijskih protiteles razreda IgG in IgM s pozitivno reakcijo z žlezim epitelom in s stromo. Z laparoskopijo in s histološkimi preiskavami je predhodno potrdil diagnozo endometri-

oze. Protiendometrijska protitelesa so lahko delno odgovorna za neplodnost in spontano prekinitev nosečnosti, ker vplivajo na oploditev in predimplantacijsko embriogenezo. V začetku implantacije pride do ugnezdjenja blastociste v endometriju. Celice blastociste prehajajo v bazalno membrano epitela in do spodaj ležeče strome ter povzročijo decidualizacijo strome. Če je moten proces prehoda celic blastociste, pride do neplodnosti.<sup>21</sup> Sklepamo lahko, da so protiendometrijska protitelesa usmerjena proti različnim beljakovinam strome in s tem povzročijo motnjo v procesu ugnezdjenja blastociste ter posledično neplodnost. V naši raziskavi smo ugotovili prisotnost protiendometrijskih protiteles IgG le pri eni bolnici z endometriozo. Možen vzrok negativne reakcije je lahko neprimerna izbira metode dela ali neustrezen vzorec tkiva endometrija.

Endotelne celice tvorijo notranjo plast žilne stene in so na eni strani v stiku s krožečo krvjo, na drugi strani pa s tkivom žilne stene. So v stiku s krvnimi celicami in vnetnimi celicami. Protiendotelna protitelesa so usmerjena proti antigenom endotelnih celic. Prisotna so pri ljudeh s sistemskimi boleznimi veziva in z vaskulitisi.<sup>22</sup> Njihova patogenetska vloga ni jasno dokazana. Povzročijo poškodbo žilnega endotela, nekateri raziskovalci pa domnevajo, da bi lahko imela vlogo v patogenezi nastanka žilnih patoloških sprememb.<sup>23</sup> Ko pridejo protitelesa v stik z endotelnimi celicami, sprožijo apoptozo.<sup>24</sup> Fernandez-Shaw s sodelavci<sup>18</sup> je leta 1993 v svoji raziskavi z imunohistokemijskimi metodami pri bolnicah z endometriozo jasno dokazal prisotnost protiendotelnih protiteles, ki se vežejo na žilje endometrija in endometrioze spremembe. Protiendotelna protitelesa niso bila specifična za endometriju, kar nakazuje večorganško vpletenost. Protitelesa so določali pred zdravljenjem in po 6 mesecih zdravljenja z danazolom, ki deluje kot imunosupresiv. Pojavljanje protiendotelnih protiteles po končanem zdravljenju je bilo manjše, verjetno zaradi zaviranja nastanka avtoproteles. V naši raziskavi smo dokazali prisotnost protiendotelnih protiteles pri 5 (9 %) bolnicah z endometriozo. Reakcija je bila prepričljivo pozitivna izključno na rezinah endome-

trija in negativna na rezinah jajčnika ter na kontrolnih rezinah ledvic. Sklepamo lahko, da gre za tvorbo značilnih protiendotelnih protiteles, ki so usmerjena proti žilju endometrija. Protitelesa proti žilnem endotelu so še ena izmed različnih avtoproteles, ki se pojavijo pri bolnicah z endometriozo in podpirajo hipotezo o avtoimunski etiopatogenezi endometrioze.

Jajčnik je lahko prizadet v sklopu številnih avtoimunskih bolezni. Protiovarijska protitelesa so tesno povezana s prezgodnjo menopavzo in z neplodnostjo zaradi neznanega vzroka.<sup>25</sup> Mnenja o prisotnosti teh protiteles pri endometriozi so si nasprotujoča. Mathur s sodelavci<sup>26</sup> je v raziskavi leta 1982 eden izmed prvih potrdil prisotnost protiovarijskih protiteles pri 62 % bolnic z endometriomom jajčnika. V naslednjih raziskavah so ugotovili znatno nižji delež,<sup>27</sup> Switchenko s sodelavci<sup>28</sup> pa sploh ni uspel dokazati prisotnosti protiovarijskih protiteles v serumu. Razlog za tako nasprotujoče si rezultate je verjetno uporaba različnih metod dela. V naši raziskavi smo protiovarijska protitelesa dokazovali z indirektno imunofluorescenco na kriostatskih rezinah jajčnika in jih ugotovili le pri eni bolnici z endometriozo.

Rezultati raziskav, s katerimi so preučevali limfocitne populacije, so si nasprotujoči. Avtorji navajajo znižane in normalne koncentracije perifernih limfocitov, spremenjena razmerja med celicami T pomagalkami in celicami T ubijalkami ter povečane koncentracije slednjih v peritonealni tekočini.<sup>29</sup>

Antisferova<sup>30</sup> je v svoji raziskavi leta 2005 dokazala, da je razvoj endometrioze povezan z aktivacijo podtipa Th2 celic T pomagalk, ki spodbujajo humoralni imunski odgovor in s tem povečano tvorbo protiteles. Tak odgovor naj bi ustvarjalo povečano izločanje IL-4 in IL-10. Podgaec s sodelavci<sup>31</sup> je v raziskavi leta 2007 preučeval podtip Th2 celic T pomagalk in prišel do podobnih zaključkov kot Antisferova, da je pri endometriozi spremenjen imunski odziv s pomikom v smer limfocitov B. Pri preiskavah peritonealne tekočine in periferne krvi s pretočno citometrijo je opazil višje koncentracije interferona (IFN)- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 in IL-10 in dodatno potrdil hipotezo o udeležnosti podtipa Th2 celic T v patogenezi bolezni.

IFN- $\gamma$  in TNF- $\alpha$  izločajo celice T pomagalke podtipa Th1, iz česar lahko sklepamo, da so v patogenezi endometriozе pomembne celice T pomagalke podtipov Th1 in Th2. Podtip Th2 celic T pomagalke so hkrati tudi celice, ki jih mnogi avtorji opisujejo kot ene ključnih pri nastanku alergij, kar bi lahko pojasnilo pogostejše pojavljanje različnih alergij pri bolnicah z endometriozo v adolescenci. Če predpostavljamo, da imajo bolnice z endometriozo povišane vrednosti IL-10, kar je posledica aktiviranja podtipa Th2 celic T pomagalke, se zdi teorija povsem verjetna.<sup>32</sup>

V naši raziskavi smo preučevali podtipe limfocitov T (CD3), katerih del tvori CD25, ki je receptor za IL-2. Opredelili smo dva podtipa limfocitov T: CD3+ CD25+ (z majhnim številom receptorjev CD25 na površini celice) in CD3+ CD25++ (z velikim številom receptorjev CD25 na površini celice). Vpletenost podtipov limfocitov T, ki izražajo na svoji površini CD25, v patogenezo avtoimunskih bolezni je že nekaj časa predmet proučevanja številnih imunologov. Leta 1995 je Ho s sodelavci<sup>33</sup> opazil zmanjšane deleže limfocitov T CD3+ CD25+ v peritonealni tekočini bolnic s hujšo obliko endometriozе in nakazal njihovo potencialno vlogo v patogenezi. V naši raziskavi smo opazili statistično značilne razlike med kontrolno in študijsko skupino v deležu CD3+ CD25++ v periferni krvi. Delež je povišan pri študijski skupini, zato bi bil lahko vzrok okvara mehanizmov tolerance na tkivo endometrija in kompenzatorno višja koncentracija regulatornih limfocitov T.

V naši raziskavi smo se osredotočili na določanje koncentracij različnih podtipov perifernih limfocitov. Razlika v deležu regulatornih limfocitov T (CD3+ CD25++) med študijsko in kontrolno skupino kaže na funkcionalne razlike med limfociti. Razlike v koncentraciji perifernih limfocitov med bolnicami z endometriozo in ženskami v kontrolni skupini nismo ugotovili.

## Zaključek

Z raziskavo nismo uspeli v celoti potrditi hipoteze, da gre pri ženskah z endometriozo za spremenjen imunski odziv, se pa naša raziskava pridružuje tistim stališčem, ki v ospredje etiopatogeneze endometriozе postavljajo spremenjen imunski odziv, in pripeva pomembne informacije.

## Literatura

1. Hornung D, Dohrn K, Sotlar K. Localization in tissues and secretion of eotaxin by cells from normal endometrium and endometriosis. *J Clin Endocrinol Metabolism* 2000; 85: 2604–8.
2. Feroze RM. Endometriosis. *Postgrad Med J* 1956; 32: 532–6.
3. Mantagni P, Booth M. Epidemiology of endometriosis. *J Epidemiol Community Health* 1993; 47: 84–8.
4. Meden-Vrtovec H, Šinkovec J. Endometriozа. *Med Razgl* 1993; 32: 253–69.
5. 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.
6. Treloar S, Wicks J, Nyholt DR, Montgomery GW, Bahlo M, Smith V, et al. Genomewide Linkage Study in 1,176 Affected Sister Pair Families Identifies a Significant Susceptibility Locus for Endometriosis on Chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 365–76.
7. Robins SL, Kumar V, Cotran R. Robbins basic pathology. Philadelphia: Saunders; 2003. p. 690.
8. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001; 76: 223–31.
9. Popoutchi P, Lemos CRDR, Silva JCR, Nogueira AA, Feres O, Rocha JJRD. Postmenopausal intestinal obstructive endometriosis: case report and review of the literature. *Sao Paulo Med J* 2008; 126: 190–3.
10. Kyama MC, Debrock S, Mwenda JM, D'Hooghe TM. Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 123–31.
11. Bokor A, Debrock S, Drijkoningen M, Goossens W, Fülöp V, D'Hooghe T. Quantity and quality of retrograde menstruation: a case control study. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 123.
12. Gazvani R, Templeton A. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 76: 117–26.
13. Barrier BF. Immunology of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol*. 2010; 53: 397–402.



14. Matarese G, De Placido G, Nikas Y, Alviggi C. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease?. *Trends Mol Med* 2003; 9: 223–8.
15. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 75: 1–10.
16. Odukoya OA, Wheatcroft N, Wetman AP, Cook ID. The prevalence of endometrial immunoglobulin G antibodies in patients with endometriosis. *Hum Reprod* 1995; 10: 1214–19.
17. Phillai S, Zhou GX, Arnaud P, Jiang H, Butler WJ, Zhang H. Antibodies to endometrial transferrin and alpha 2 Heremans Schmidt (HS) glycoprotein in patients with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1996; 35: 483–94.
18. Fernandez-Shaw S, Kennedy SH, Hicks BR, Edmonds K, Starkey PM, Barlow DH. Antiendometrial antibodies in women measured by enzyme linked immunoabsorbent assay. *Hum Reprod* 1996; 18: 1180–4.
19. Sarapik A, Haller-Kikkatalo K, Utt M, Teesalu K, Salumets A, Uibo R. Serum anti-endometrial antibodies in infertile women—potential risk factor for implantation failure. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63: 349–57.
20. Gajbhiye R, Suryawanashi A, Khan S, Meherji P, Warty N, Raut V, et al. Multiple endometrial antigens are targeted in autoimmune endometriosis. *Reprod Biomed Online* 2008; 16: 817–24.
21. Sharky A, Smith S. The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17: 289–307.
22. Matalliotakis IM, Cakmak H, Ziogos MD, Kalogeraki A, Kappou D, Arici A. Endometriosis-associated Lyme disease. *J Obstet Gynaecol*. 2010; 30: 184–6.
23. Adler Y. Anti-Endothelial Cell Antibodies: a Need for Standardization. *Lupus* 1994; 3: 77–84.
24. Admou B, Essaadouni L, Amal S. Autoantibodies in Systemic Sclerosis: clinical interest and diagnosis approach. *Ann Biol Clin (Paris)* 2009; 67: 273–81.
25. Forges T, Monnier-Barbarino P, Faure GC, Bene MC. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 163–75.
26. Mathur S, Peress MR, Williamson HO, Youmans CD, Maney SA, Garvin AJ, et al. Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin Exp Immunol* 1982; 50: 259–66.
27. Halme J, Mathur S. Local autoimmunity in mild endometriosis. *Int J Fertil* 1987; 32: 309–11.
28. Switchencko AC, Kauffman RS, Becker M. Are there antiendometrial antibodies in sera of women with endometriosis?. *Fertil Steril* 1991; 56: 235–41.
29. Berkkanoglu M, Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50: 48–59.
30. Antisferova YS, Sotnikova NY, Posiseeva LV, Shor AL. 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: 1705–11.
31. 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 Reprod* 2007; 22: 1372–9.
32. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002; 296: 490–4.
33. Ho HN, Chao KH, Chen HF, Wu MY, Yang YS, Lee TY. Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25+ CD3+ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis. *Hum Reprod* 1995; 10: 2671–5.