



Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και  
Χειρουργική Ερεΐνης “Ν.Σ. Χρηστέας”

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ:

**«ΔΙΕΡΕΨΝΗΣΗ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ  
ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΣΕ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟ  
ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ»**

**Διδακτορικός φοιτητής:** ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΖΑΡΚΑΔΟΥΛΑΣ, Νοσηλευτής RN,  
MSc.

ΑΘΗΝΑ, 2023

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ:**  
**«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ**  
**ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΣΕ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟ**  
**ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ»**

**ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

Κωνσταντίνος Κόντζογλου, Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής (Επιβλέπον μέλος).

Χρήστος Βερύκοκος, Επίκουρος Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής.

Δημήτριος Δημητρούλης, Καθηγητής Χειρουργικής και Μεταμόσχευσης.

**ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Αίτηση Εκπόνησης Διατριβής	17.01.2018
Ορισμός Τριμελούς Επιτροπής	15.03.2018
Ορισμός Θέματος Διατριβής	25.04.2018
Κατάθεση Πρώτης Προόδου	27.09.2019
Κατάθεση Δεύτερης Προόδου	01.09.2022
Κατάθεση Τρίτης Προόδου	10.11.2022
Ορισμός επταμελούς	15.12.2022

ΑΘΗΝΑ, 2023

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

---

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Περγιαλιώτη Βασίλειο και την Καθηγήτρια Περρέα Δέσποινα οι οποίοι με βοήθησαν τόσο στην επιλογή του θέματος της παρούσας διατριβής, όσο και στην εκπόνηση της. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπον καθηγητή μου Κύριο Κωνσταντίνο Κόντζογλου Καθηγητή Γενικής Χειρουργικής, Διευθυντή Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρ/κης κ' Χειρουργικής Ερευνάς ΕΚΠΑ που ήταν δίπλα μου καθ'όλη την διάρκεια. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένειά μου, περιλαμβανομένου και του νεότερου μέλους της, το οποίο σε λίγους μήνες θα είναι κοντά μας και θα μας προσφέρει χαρά, αισιοδοξία και δημιουργικότητα.

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

---

### ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ:

Επώνυμο: Ζαρκαδούλας  
Όνομα: Νικόλαος  
Ημερομηνία γέννησης: 20 Φεβρουαρίου 1988  
Τόπος γέννησης: Αγρίνιο

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

07/06/2005 -Απόφοιτος 3ο Ενιαίο Λύκειο Αγρινίου.

30/06/2012 -Πτυχίο Α.Τ.Ε.Ι. Πατρών. Σχολή: Επαγγελματιών Υγείας & Πρόνοιας Τμήμα: Νοσηλευτική. **Βαθμός: “7,17 Λίαν Καλώς”**

03/01/2017 -Απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ «ΔΙΕΘΝΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗ - ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΚΡΙΣΕΩΝ ΥΓΕΙΑΣ». **Βαθμός: “6,98 Λίαν Καλώς”**

10/01/2018 -Διδακτορικού Διπλώματος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών ΕΚΠΑ. Τίτλος Διατριβής: «ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ

ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΣΕ  
ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟ ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ».

- 14\10\21 -Επί Νοσηλευτικής ειδικότητας:  
«Νοσηλευτικής Δημόσιας Υγείας- Κοινωνικής  
Νοσηλευτικής».
- 26/10/22 -Απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος της  
Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ «ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ  
ΥΓΕΙΑ. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ  
ΘΕΜΑΤΩΝ ΜΕ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ»  
**Βαθμός: "7,71 Λίαν Καλώς"**

**ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ**

**ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΕΙΣ**

- 2022 -Πιστοποιητικό παρακολούθησης του του 22<sup>ου</sup> Πανελλήνιο  
Νοσηλευτικού Συνεδρίου της ΠΑΣΥΝΟ-ΕΣΥ.
- 2016 -Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 9<sup>ου</sup> Πανελλήνιου  
Συνεδρίου Ελέγχου Λοιμώξεων με θέμα "Ο έλεγχος των  
λοιμώξεων είναι η μόνη δυνατή λύση".  
-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 6<sup>ου</sup> Advanced  
Seminar με θέμα "Mountain medicine".  
-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 6<sup>η</sup> Επιστημονικής  
Δημερίδας Ναυτικής Ταξιδιωτικής Ιατρικής με θέμα  
"Ιατρική Στη Θάλασσα και Ιατρική των Καταδύσεων".
- 2015 -Εκπαιδευτική Ημερίδα για τον Έλεγχο της Διασποράς των  
Πολυανθεκτικών Μικροοργανισμών στα Ελληνικά  
Νοσοκομεία.  
-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 5<sup>ου</sup> Εντατικού  
Σεμιναρίου με θέμα "Διαχείριση Θυμάτων Καταστροφών".  
-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 8ου Πανελλήνιου  
Συνεδρίου Ελέγχου Λοιμώξεων με θέμα "Πολεμάμε τις  
Λοιμώξεις Βελτιώνοντας τη Συμμόρφωση".

2014	-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του Σεμιναρίου EPILS PROVIDER COURSE (Άμεση Υποστήριξη της Ζωής στα Παιδιά).
2011	-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του Σεμιναρίου BLS/AED PROVIDER COURSE (Βασική Υποστήριξη της Ζωής & Αυτόματο Εξωτερικό Απινιδισμό).
2009	-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 10 <sup>ου</sup> Πανελλήνιο Νοσηλευτικού Συνεδρίου της ΠΑΣΥΝΟ-ΕΣΥ.
2008	-Πιστοποιητικό παρακολούθησης του 35 <sup>ου</sup> Πανελλήνιου Νοσηλευτικού Συνεδρίου με θέμα "Νοσηλευτική: Ασφάλεια και Ποιότητα στο Εργασιακό Περιβάλλον".

### **ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

- «Διερεύνηση του αγγειογενετικού δυναμικού ενδομητριωσικών βλαβών σε διαγονιδιακό ζωικό πρότυπο», Ζαρκαδούλας Ν. 22ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο της ΠΑΣΥΝΟ – ΕΣΥ, 8-11 Δεκεμβρίου 2022.

- «Στρατηγικός Σχεδιασμός-Επιτήρηση Λοιμώξεων για το Παιδιατρικό Κέντρο Αθηνών», Ζαρκαδούλας Ν. 1<sup>ο</sup> Συμπόσιο Παιδιατρικού, Τομέα 2-3 Δεκεμβρίου 2016.

### **ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ**

10/10/2019- Έως τώρα	-Νοσηλεύτης στο Γενικό Νοσοκομείο Αγρινίου στο Καρδιολογικό τμήμα.
20/04/2018 –10/10/2019	-Προϊστάμενος-Νοσηλεύτης στο Κρατικό Θεραπευτήριο- Κέντρο Υγείας Λέρου στο τμήμα Οξέων Ψυχιατρικών περιστατικών.
14/01/2012 έως 28/02/2018	-Νοσηλεύτης στο Παιδιατρικό Τμήμα του "Ιατρικού Κέντρου Αθηνών" του Ομίλου Ιατρικού με έδρα το Μαρούσι.

20/09/2011 έως 14/01/2012	-“Νοσηλεύτης Αγώνων Ποδοσφαίρου” για την Ένωση Ποδοσφαιρικών Σωματείων Νομού Αιτωλ/νίας.
01/04/2010 έως 07/10/2010	-Εξάμηνη πρακτική άσκηση στο Νοσοκομείο «ΕΡΡΙΚΟΣ ΝΤΥΝΑΝ».
03/07/2008 έως 25/07/2008	-Ώς κοινοτάρχης-ομαδάρχης σε παιδική κατασκήνωση “ΧΡΥΣΗ ΑΜΜΟΣ” της κ. Αδαμοπούλου με έδρα την Μεσσήνη.

### **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ**

Αγγλικά (άριστα) ΤΟΕΙC: C1

### **ΓΝΩΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ**

- Microsoft Word, Excel, PowerPoint, Access και πλοήγηση στο Internet
- Στατιστική ανάλυση στο πρόγραμμα SPSS

### **ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ**

-Εκπλήρωσα τις στρατιωτικές μου υποχρεώσεις στις 16/08/2011 με τον βαθμό του ΔΝΕΑ ΣΤΡΑΤΟΝΟΜΙΑΣ με την ειδικότητα: Τροχονόμος Δικυκλιστής-Οδηγός Αυτοκινήτου.

### **Οργανωτικές/διαχειριστικές δεξιότητες**

2019-2023 -Εκλεγμένος Σύμβουλος Κοινότητας Δήμου Αγρινίου.

### **Δημοσιεύσεις- Άρθρα σε Διεθνή Περιοδικά**

- "A potential role of cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21/WAF1) in the pathogenesis of endometriosis." ,Nikolaos Zarkadoulas, Vasilios Pergialiotis, Dimitrios Dimitroulis, Konstantinos Stefanidis, Christos Verikokos, Despina Perrea, Konstantinos Kontzoglou Submitted: (September 30, 2019).
- "Angiogenic and Inflammatory Alterations of Endometriotic Lesions in a Transgenic Animal Experimental Model With Loss of Expression of PPAR-Alpha." ,Pergialiotis V, Zarkadoulas N, Goula K, Frountzas M, Antoniadou F, Dimitroulis D, Vlachos D, Papapanagiotou A, Verikokos C, N.Perrea D, Kontzoglou K. Submitted:(October 14, 2022).



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

---

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	14
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ.....	18
1.1 Ορισμός ενδομητρίωσης.....	18
1.2 Επιδημιολογία .....	18
1.3 Κλινική εικόνα.....	19
1.4 Παθογένεια .....	20
1.5. Παθοφυσιολογία.....	25
1.6. Διάγνωση και σταδιοποίηση.....	27
1.7. Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα.....	32
1.8. Θεραπεία της ενδομητρίωσης.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗΣ....	38
2.1. Φλεγμονώδες υπόβαθρο ενδομητρίωσης.....	38
2.2. Φλεγμονή, γενετικές και επιγενετικές αλλαγές.....	40
2.3. Ο ρόλος των επιγενετικών αλλαγών του γονιδίου της αρωματάσης	42
2.4. Ο ρόλος των μακροφάγων της περιτοναϊκής κοιλότητας .....	46
2.5. Φλεγμονή και αγγειογένεση.....	49
2.6. Στάδια αγγειογένεσης στην ενδομητρίωση .....	52
2.7. Ο ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών MMPs.....	55
2.8. Ο ρόλος των πρωτεϊνικών υποδοχέων PPARs.....	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ PPAR	58
3.1. Εισαγωγή στην σχέση των PPARs με την φλεγμονή.....	58
3.2. Οι πρωτεΐνες PPARs-α.....	59

3.3. Μεταβολική δραστηριότητα των PPARs-α .....	61
3.4. Ο ρόλος των PPARs-α στη φλεγμονή .....	63
3.5. Αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα των PPARs-α σε αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα.....	66
3.6. Λειτουργίες των PPARs-α και νοσήματα .....	67
3.7. Λειτουργίες των PPARs-α και καρκίνος.....	69
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	77
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	78
4.1. Ερευνητική υπόθεση της μελέτης .....	78
4.2. Σκοπός της μελέτης.....	79
4.3. Υλικό και Μεθοδολογία .....	80
4.3.1. Χρησιμοποιούμενα ζώα εργαστηρίου .....	80
4.3.2. Ηθική και Δεοντολογία της έρευνας.....	80
4.3.3. Δείγμα μελέτης.....	81
4.3.4. Χειρουργική Τεχνική.....	81
4.3.5. Μετεγχειρητική πορεία .....	82
4.3.6. Ιστολογική ανάλυση .....	83
4.4. Στατιστική Ανάλυση.....	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	85
5.1 Χαρακτηριστικά των ζώων της μελέτης .....	85
5.1.1 Περιεγχειρητικά αποτελέσματα.....	85
5.1.2 Χαρακτηριστικά των ζώων κατά την μετεγχειρητική ανάρρωση .....	85
5.2 Παθολογοανατομική εξέταση των έκτοπων ενδομητριωμάτων..	86
5.3 Σύνοψη αποτελεσμάτων .....	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	96
6.1 Εκτίμηση των ευρημάτων της μελέτης.....	96

6.2 Σύγκριση ευρημάτων με διεθνή βιβλιογραφία.....	96
6.3 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί.....	98
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	100
ABSTRACT.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	102
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	128
Πίνακας Παθολογοανατομικής έκθεσης:.....	128
Εικόνες Παθολογοανατομικής έκθεσης:.....	129

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

---

- Εικόνα 1.1: Ενδομητρίωση ανατομικών δομών της πυέλου λόγω παλινδρόμησης εμμήνου ρύσεως.
- Εικόνα 1.2: Παράγοντες που σχετίζονται με το μονοπάτι της παθογένειας της ενδομητρίωσης.
- Εικόνα 1.3: Σύστημα σταδιοποίησης ενδομητρίωσης κατά την λαπαροσκόπηση.
- Εικόνα 1.4: Διαφορετικές βλάβες της ενδομητρίωσης αναλόγως του σταδίου.
- Εικόνα 1.5: Αξιολόγηση του κινδύνου υπογονιμότητας μετά από λαπροσκοπική επέμβαση για αντιμετώπιση ενδομητρίωσης.
- Εικόνα 2.1: Απεικόνιση μοριακών οδών στην ανάπτυξη ενδομητρίωσης και ο ρόλος της φλεγμονώδους διεργασίας.
- Εικόνα 2.2: Προέλευση και ανάπτυξη της ενδομητρίωσης: συνδυασμός συμβάντων GE, με περαιτέρω ανάπτυξη, ανοσοαπόκριση, φλεγμονή και ίνωση.
- Εικόνα 2.3: Επισκόπηση των πολύπλοκων ρόλων της ανάδρομης εμμήνου ρύσεως, των επιγενετικά ελαττωματικών στρωματικών κυττάρων του ενδομητρίου, των επιθηλιακών κυττάρων που φέρουν μεταλλάξεις, της μεθυλίωσης του DNA, των πυρηνικών υποδοχέων και της φλεγμονής στην ενδομητρίωση.
- Εικόνα 2.4: Αγγειογένεση μέσω εκβλάστησης.
- Εικόνα 3.1: Σχηματική αναπαράσταση των κύριων τομέων των PPAR.
- Εικόνα 3.2: Αναστολή γονιδιακής μεταγραφής του PPAR-α.
- Εικόνα 3.3: Μοριακά μονοπάτια του PPAR-α στα καρκινικά κύτταρα.
- Εικόνα 5.1: Σε χρώση H&E 20x μεγέθυνση, παρατηρείται άφθονη αγγείωση σε ποντίκια C57BL/6.
- Εικόνα 5.2: Η ανοσοϊστοχημεία CD34 20x απεικονίζει σημαντική νεο-αγγειογένεση στην ομάδα ελέγχου
- Εικόνα 5.3: Η H&E 10x απεικονίζει σημαντική αγγείωση.
- Εικόνα 5.4: Η ανοσοϊστοχημεία CD34 10x υποδεικνύει τα χαρακτηριστικά αρκετών μικροβεδιών (καφέ χρώση).

- Εικόνα 5.5: Α) Η&Ε, 20x παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J (στρογγυλεμένος κύκλος), Β) Η ανοσοϊστοχημεία CD31 10x απεικονίζει σημαντική φλεγμονή στην περικυκλωμένη περιοχή σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J, Γ) 10x και D) 40x άφθονο σχηματισμό κρύπτης σε ποντίκια C57BL/6. Το μυϊκό στρώμα του προσαρημένου κέρατος της μήτρας απεικονίζεται στην απομονωμένη περιοχή στην εικόνα Γ.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

Η ενδομητρίωση συνιστά μία αυτοάνοσης αρχής, ορμονοεξαρτώμενη νόσο στην οποία κύτταρα που ομοιάζουν με τα κύτταρα του ενδομητρίου αναπτύσσονται εκτός της ενδομητρικής κοιλότητας. Η νόσος εντοπίζεται κυρίως στην περιτοναϊκή κοιλότητα, ωστόσο έχουν παρατηρηθεί και εξωπεριτοναϊκές εστίες, όπως στον πνεύμονα και τον εγκέφαλο.

Η νόσος τυπικά εμφανίζεται σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, με επίπτωση στον γενικό γυναικείο πληθυσμό της τάξης του 4-10%. Τα συμπτώματά της είναι ποικίλα, και κυμαίνονται μεταξύ της ασυμπτωματικής μορφής, και των βαρέων συμπτωμάτων, τα οποία εξαρτώνται από τα προσβεβλημένα όργανα (π.χ. ειλεός, δυσπαρεούνια, υπογονιμότητα, αιματηρές κενώσεις, τεινεσμός κ.α.).

Στην διεθνή βιβλιογραφία έχουν μελετηθεί κατά καιρούς διάφοροι μηχανισμοί που πιθανά πυροδοτούν την έναρξη της νόσου, περιλαμβανομένων ανοσολογικών, γενετικών, ενδοκρινικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Πάραυτα, οι ακριβείς μηχανισμοί που πυροδοτούν την παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης δεν είναι ακόμη πλήρως διευκρινισμένοι.

Πρόσφατες ερευνητικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι φλεγμονώδεις διεργασίες έχουν κυρίαρχο ρόλο στα παθοφυσιολογικά μονοπάτια της νόσου, καθώς σχετίζονται τεκμηριωμένα με την αγγειογένεση, την απόπτωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ενδομητρίου σε έκτοπες θέσεις.

Πιο αναλυτικά, η «προ-φλεγμονώδης υπόθεση» έχει διατυπωθεί σε πολλαπλές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας, καθώς έχει φανεί ότι το περιτοναϊκό υγρό ασθενών με ενδομητρίωση έχει υψηλά επίπεδα ενεργοποιημένων μακροφάγων, αγγειογενετικών δεικτών, και αυξητικών παραγόντων. Τα φλεγμονώδη αυτά κύτταρα φαίνεται να συνιστούν το αναρκτήριο λάκτισμα της ενδομητρίωσης με ένα μηχανισμό δράσης, που δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

Η αντιμετώπιση της νόσου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τη βαρύτητα της ενδομητρίωσης, η οποία σταδιοποιείται βάσει της ταξινόμησης που έχει προταθεί από την American Society of Reproductive Medicine. Η θεραπεία περιλαμβάνει την ορμονοθεραπεία, τη χειρουργική εκτομή των ενδομητριωμάτων, την χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, αναστολέων της αρωματάσης, προγεστίνης, συνδυασμένης οιστρογονικής θεραπείας με προγεστίνη, και εκλεκτικούς ρυθμιστές των υποδοχέων προγεστερόνης.

Ωστόσο, όσο παραμένουν αδιευκρίνιστοι οι ακριβείς παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της νόσου, η θεραπεία της ενδομητρίωσης θα παραμένει μερικώς αποτελεσματική, γεγονός το οποίο αντικατοπτρίζεται στα υψηλά ποσοστά επανεμφάνισης της νόσου.

Η εισαγωγή στην θεραπευτική φαρέτρα της ενδομητρίωσης νέων παραγόντων, όπως των PPAR αγωνιστών, αν και όχι πλήρως μελετημένη, φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη για τις ασθενείς. Οι PPARs (ενεργοποιημένοι υποδοχείς πολλαπλασιαστών υπεροξεισωματίου) ανήκουν σε μια υπερ-οικογένεια ορμονικών υποδοχέων που ελέγχονται από πολλαπλασιαστές υπεροξεισωματίου. Οι PPARs ταξινομούνται στους PPAR-α, PPAR-β, και PPAR-γ, που εκφράζονται σε διαφορετικούς ιστούς.

Η πλειονότητα των ερευνών για την θεραπεία της ενδομητρίωσης, έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στην δράση των PPAR-γ αγωνιστών, οι οποίοι δρώντας ως ρυθμιστές της IL-6 και των μεταβολικών μονοπατιών της φλεγμονής, αναστέλλουν την αγγειογένεση, την προσκόλληση των κυττάρων του ενδομητρίου στα παραμήτρια, και την απόπτωση των κυττάρων.

Εντούτοις, υπάρχουν έμμεσες ενδείξεις ότι το μόριο PPAR-α επίσης έχει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της αγγειακής τροφοδότησης των ενδομητριωσικών βλαβών, καθώς αφενός επηρεάζουν την πορεία της φλεγμονής [21, 22] και αφετέρου εκφράζεται στον ενδομήτριο ιστό.

Πιο συγκεκριμένα, οι PPAR-α αγωνιστές φαίνεται να περιορίζουν την διεργασία της φλεγμονής, αυξάνοντας την έκφραση αντι-αγγειογενετικών μορίων, όπως η θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1), η γυπενοσίδη 140 (gp140), αλλά

και παραγόντων που συμμετέχουν στον καταρράκτη πρωτεϊνικών κινασών, που πυροδοτεί μιτωτικές διαιρέσεις των καρκινικών κυττάρων.

Αν και τα παραπάνω ευρήματα, αφορούν στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας με PPAR-α αγωνιστές σε ασθενείς με κακοήθεις νόσους, η κοινή αγγειογενετική πορεία τους με την ενδομητρίωση, υποστηρίζει την αναγκαιότητα της διερεύνησης της σχέσης του PPAR-α με τους παθογενετικούς μηχανισμούς της ενδομητρίωσης, αλλά και της πιθανής ωφελιμότητας της φαρμακευτικής χρήσης των PPAR-α αγωνιστών σε ασθενείς με ενδομητρίωση.



## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ

---

### 1.1 Ορισμός ενδομητρίωσης

Η ενδομητρίωση είναι μια κλινική οντότητα η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδομήτριου ιστού σε διάφορες ανατομικές περιοχές, εκτός της ενδομητρικής κοιλότητας, και η οποία οδηγεί στην ανάπτυξη χρόνιας φλεγμονώδους αντίδρασης (1). Η νόσος, περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1860 από τον Karl von Rokitansky, ο οποίος και διατύπωσε τα κλινικά της χαρακτηριστικά (2).

Στην ενδομητρίωση, ο έκτοπος ενδομήτριος ιστός, οι αδένες και το στρώμα της ενδομήτριας κοιλότητας μπορούν να ανευρεθούν σε διάφορες εστίες εντός της πυέλου, όπως στις ωθήκες, στο περιτόναιο, στον δουγλάσσειο χώρο, στον κολεό αλλά και στην ουροδόχο κύστη και στο ορθό και το σιγμοειδές του παχέος εντέρου της ασθενούς. Επιπλέον, αρκετά σπάνια, έκτοπος ενδομήτριος ιστός μπορεί να εντοπισθεί στους πνεύμονες, στην θωρακική κοιλότητα, στα οστά αλλά και σε νευρικό ιστό (3).

Καθώς η ενδομητρίωση αποτελεί μια ετερογενή νόσο, μπορούν να παρατηρηθούν με ακτινοσκοπικές μεθόδους τόσο τυπικές όσο και άτυπες περιτοναϊκές εντοπίσεις, που μπορεί να είναι μονήρεις εστίες μεγέθους από 1 cm έως και ογκώδη ενδομητρίωματα διαμέτρου 10 cm (4). Οι έκτοποι ιστοί στην πλειονότητα των περιπτώσεων εντοπίζονται στις ωθήκες, σε ποσοστό 20-40%, αλλά όπως προαναφέρθηκε εντοπίζονται και σε άλλες ανατομικές περιοχές του ανθρωπίνου σώματος, όπως ο κερατοειδής χιτώνας των οφθαλμών (5-6).

### 1.2 Επιδημιολογία

Η ενδομητρίωση συνιστά μια γυναικολογική πάθηση που αφορά κυρίως άτομα αναπαραγωγικής ηλικίας, όλων των εθνικών και κοινωνικών ομάδων. Βάσει μελετών της διεθνούς βιβλιογραφίας, ανευρίσκεται στο 4-10% του γενικού πληθυσμού των θήλεων ατόμων με επίπτωση 38% σε υπογόνιμες γυναίκες και 71 - 87% σε γυναίκες που αναφέρουν χρόνιο πυελικό άλγος (7).

Τα ποσοστά αυτά δεν είναι διόλου ευκαταφρόνητα, καθώς αντιστοιχούν σε συνολικά 176 εκατομμύρια γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως (8). Ως προς τους παράγοντες κινδύνου της ενδομητρίωσης, αξίζει να αναφερθεί ότι ο επιπολασμός της νόσου είναι μεγαλύτερος σε γυναίκες Καυκάσιας φυλής από ότι σε Αφρό-Αμερικανές. Επιπλέον, ως σημαντικοί παράγοντες κινδύνου έχουν αναγνωριστεί ο χαμηλός δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, αλλά και το κάπνισμα (9).

### **1.3 Κλινική εικόνα**

Η ενδομητρίωση αποτελεί μια νόσο που εμφανίζει μεγάλη ετερογένεια ως προς την κλινική της εικόνα. Το παρόν σημαίνει ότι η ενδομητρίωση σε ορισμένες ασθενείς μπορεί να είναι εντελώς ασυμπτωματική ή να εμφανίζεται με πληθώρα σημείων και συμπτωμάτων (8).

Τα κύρια σημεία και συμπτώματα που παρουσιάζουν ασθενείς με ενδομητρίωση είναι η δυσμηνόρροια, η δυσπαρεύνια κατά την σεξουαλική επαφή, το χρόνια πυελικό άλγος, η ακανόνιστη κοιλιακή αιμόρροια ή/και η υπογονιμότητα (1). Επίσης, σε σχετικά μικρότερη συχνότητα, αναφέρονται από τις ασθενείς και μηνορραγίες ή συμπτώματα όπως δυσχεσία, δυσουρία, αλλά και χρόνια κόπωση (6, 10).

Δεδομένων των παραπάνω, συμπτώματα όπως το χρόνια πυελικό άλγος, η δυσμηνόρροια, η δυσπαρεύνια αλλά και κλινικά ευρήματα όπως η εντόπιση καθηλωμένης και με οπίσθια κλήση μήτρας, ψηλαφητές μάζες εξαρτημάτων οζώδους σύστασης, πάχυνση και ευαισθησία του ιερομητρικού συνδέσμου θέτουν την υπόνοια ενδομητρίωσης και χρήζουν περεταίρω διερεύνησης από τον κλινικό, προκειμένου να τεθεί έγκαιρα και με ασφάλεια η οριστική διάγνωση της ενδομητρίωσης (11) .

#### 1.4 Παθογένεια

Η ενδομητρίωση αποτελεί μια νόσο πολυπαραγοντικής αιτιολογίας (11). Στην διεθνή βιβλιογραφία, κατά καιρούς έχουν προταθεί πολλοί πιθανοί μηχανισμοί για την προέλευση και την παθογένεια της νόσου, περιλαμβανομένων τόσο γενετικών παραγόντων όσο και επιγενετικών μηχανισμών (1).

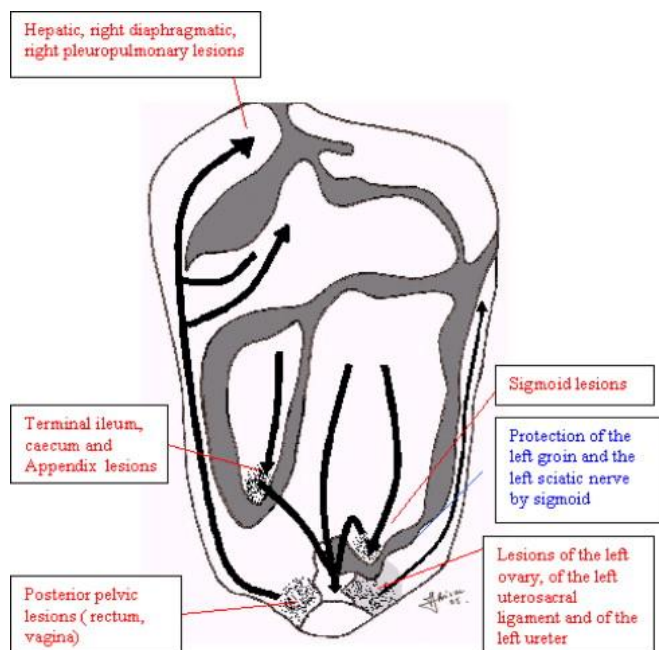
Οι υπάρχουσες θεωρίες αναφορικά στην παθογένεια της ενδομητρίωσης περιλαμβάνουν τα εξής: α) παλινδρόμηση κυττάρων του ενδομήτριου κατά την περίοδο της εμμήνου ρύσεως, β) μετατόπιση κυττάρων του ενδομήτριου μέσω του λεμφικού και αγγειακού συστήματος, γ) στα πλαίσια ανεπαρκούς κάθαρσης των εκτοπικών ενδομητρικών κυττάρων, και δ) στα πλαίσια της μεταπλασίας του επιθηλίου (12). Με εξαίρεση την θεωρία της μεταπλασίας, όλες οι παραπάνω θεωρίες εξαρτώνται από την παρουσία στην ασθενή μήτρας και ενδομήτριου ιστού (1).

Μέχρι το 2022, η επικρατέστερη θεωρία ήταν εκείνη της εμφύτευσης, η οποία περιεγράφηκε για πρώτη φορά από τον Sampson τη δεκαετία του 1920, και είναι η θεωρία της εμφυτεύσεως, η οποία και βασίζεται στην ανάστροφη ροή αίματος κατά την περίοδο της εμμήνου ρύσεως (12-13). Σύμφωνα με τη θεωρία του Sampson, ενδομήτριος ιστός που κατά φύση πρέπει να εξέλθει από τον τράχηλο κατά την φάση της εμμήνου ρύσεως της γυναίκας, παλινδρομεί μέσω των σαλπίνγων στην περιτοναϊκή κοιλότητα και τελικά εμφυτεύεται στην σπλαχνική επιφάνεια του περιτοναίου αλλά και στην επιφάνεια πυελικών οργάνων (13).

Η θεωρία αυτή υποστηρίχτηκε από αρκετές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας, οι οποίες συνηγορούν υπέρ της παρουσίας εμμηνορρυσιακού αίματος στο περιτοναϊκό υγρό σε ποσοστό 90% υγείων γυναικών, με καλή βατότητα σαλπίνγων οι οποίες υποβάλλονται σε λαπαροσκόπηση κατά την περιεμμηνορρυσιακή φάση του κύκλου τους (14-16).

Ωστόσο, η υπόθεση του Sampson δεν είναι πλέον αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα ως η κύρια αιτία της ενδομητρίωσης (1). Ο λόγος είναι ότι η θεωρία της εμφύτευσης αδυνατεί να εξηγήσει τους διαφορετικούς τύπους

αλλοιώσεων που εντοπίζονται σε μια γυναίκα επί ενδομητρίωσης, την κληρονομική πτυχή της νόσου, και το ασύνηθες μιν, υπαρκτό δε σενάριο της έναρξης της ενδομητρίωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, σε γυναίκες χωρίς μήτρα, αλλά και σε άνδρες (1). Επιπλέον, δεδομένου ότι σχεδόν όλες οι γυναίκες έχουν παλινδρόμηση αίματος κατά την έμμηνο ρύση, η εμφύτευση και η ενδομητρίωση θα ήταν αναμενόμενη στις περισσότερες, αν όχι σε όλες, γυναίκες, κάτι το οποίο στην πράξη, δεν γίνεται (1).



**Εικ. 1.1.** Ενδομητρίωση ανατομικών δομών της πυέλου λόγω παλινδρόμησης εμμήνου ρύσεως (16).

Από την άλλη, αναφορικά στην κατηγορία των θεωριών που προτείνουν εξωμητρική προέλευση της νόσου, φαίνεται να είναι κυρίαρχη η θεωρία της μεταπλασίας του σπλαχνικού επιθηλίου (12). Σύμφωνα με την θεωρία της μεταπλασίας του επιθηλίου, δηλαδή της μετατροπής ενός καλά διαφοροποιημένου ιστού σε κάποιον διαφορετικό ώριμο και διαφοροποιημένο ιστό, οι εστίες ενδομητρίωσης είναι αποτέλεσμα μεταπλασίας επιθηλιακών κυττάρων του πυελικού περιτοναίου σε ενδομήτριο ιστό (17). Αν και η θεωρία αυτή έχει γίνει γενικά αποδεκτή από την επιστημονική κοινότητα, τα ακριβή αίτια της μεταπλασίας του επιθηλίου παραμένουν άγνωστα (12).

Πάραυτα, αναφορικά σε μια υποκατηγορία αυτής της θεωρίας η οποία είναι γνωστή ως θεωρία της προσκόλλησης, η μεταπλασία των κυττάρων του περιτοναίου σε ενδομήτριο φαίνεται να προκύπτει από την δράση ορμονικών και ανοσολογικών παραγόντων του εκφυλισμένου ενδομητρίου (18-19). Τέτοιες ουσίες είναι ευρύτερα γνωστές ως EDCs (endocrine disrupting chemicals) και φαίνεται να ενοχοποιούνται για την μεταπλασία του επιθηλίου, όπως υποστηρίζεται από αρκετούς ερευνητές (20).

Επιπλέον, η θεωρία των εμβρυικών υπολειμμάτων υποστηρίζει πως κυτταρικά υπολείμματα των εμβρυικών πόρων του Muller ενεργοποιούνται και εν συνεχεία σχηματίζουν λειτουργικό ενδομήτριο υπό την επίδραση των οιστρογόνων στην αρχή της εφηβικής ζωής (21). Η θεωρία αυτή τείνει να επιβεβαιώνεται από επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες αναφέρονται σε αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης ενδομητρίωσης σε γυναίκες μετά από ενδομήτρια έκθεση σε διαιθυλσυλβεστρόλη, έναν ορμονικό παράγοντα που επάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ενδομητρίου (22).

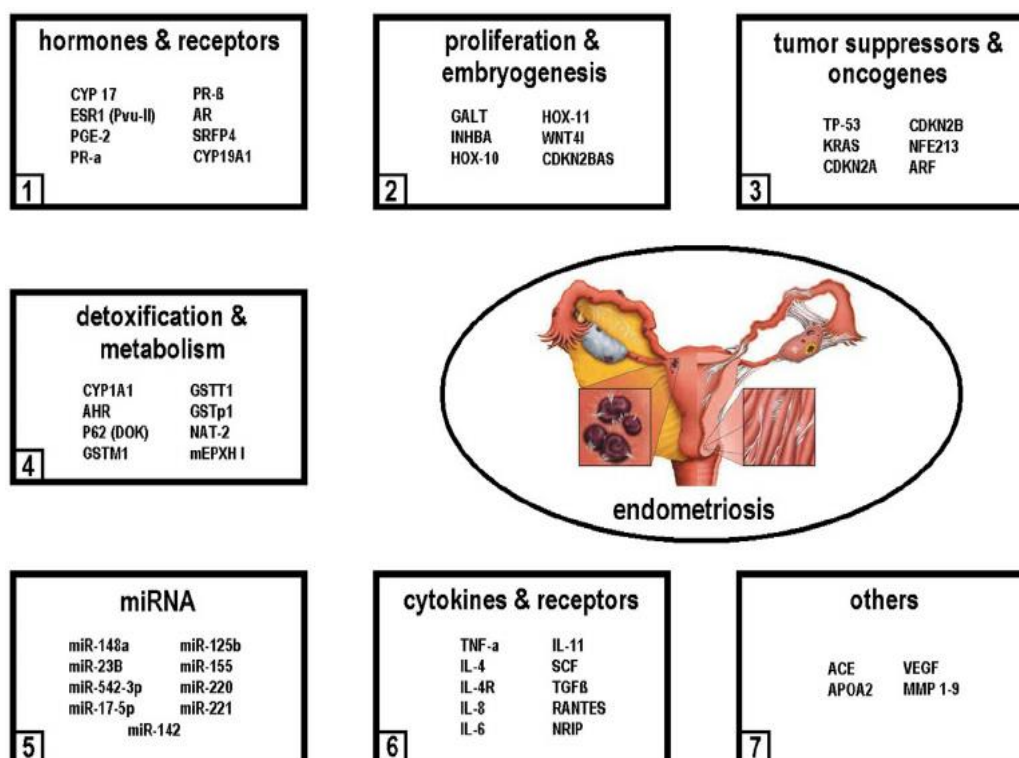
Επιπρόσθετα, αναφορικά στην εξωμητρική προέλευση της ενδομητρίωσης, πρέπει να υπογραμμιστεί ότι στην διεθνή βιβλιογραφία ανευρίσκεται έρευνα που υποστηρίζει την πιθανότητα διαφοροποίησης αρχέγονων βλαστικών κυττάρων του μυελού των οστών σε ενδομήτριο ιστό (23).

Ακόμη, στην ίδια κατηγορία θεωριών για την παθογένεια της ενδομητρίωσης, συγκαταλέγεται και η θεωρία της λεμφικής και αγγειακής μετάστασης (24). Η τρέχουσα θεωρία, βασίζεται στην ιδέα της προέλευσης του έκτοπου ενδομητρίου ιστού από λεμφική ή αιματογενή διασπορά (με αρτηρίες ή φλέβες) ενδομήτριων κυττάρων σε απομακρυσμένες από την πύελο ανατομικές περιοχές (24-25). Πράγματι, η πιο ισχυρή απόδειξη της θεωρίας αυτής προέρχεται από ιστολογικά τεκμηριωμένες περιπτώσεις εστιών ενδομητρίωσης σε απομακρυσμένα όργανα, μεταξύ των οποίων είναι τα οστά, οι πνεύμονες και ο εγκέφαλος (3, 26-29).

Συμπερασματικά, οι θεωρίες της εξωμητρικής προέλευσης και ακριβέστερα αυτή της μεταπλασίας, φαίνεται να συνιστούν την επιστημονική

βάση της αιτιοπαθογένειας πολλαπλών περιπτώσεων ενδομητρίωσης, περιλαμβανομένης και της εμφάνισης της νόσου σε άτομα χωρίς φυσιολογικό ενδομήτριο ιστό, όπως σε γυναίκες με σύνδρομο Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser, οι οποίες δεν φέρουν καθόλου μήτρα στα πλαίσια ανατομικής ανωμαλίας γενετικής αιτιολογίας (30-32).

Τέλος, ανεξάρτητα από τον ακριβή μηχανισμό που οδηγεί στην ενδομητρίωση, είναι γεγονός ότι, παρουσιάζεται συμμετοχή διαφόρων παραγόντων, όπως είναι ορμόνες, κυτταροκίνες, μικρά μόρια νουκλεϊκών οξέων αλλά και ποικίλα γονίδια όπως το KRAS αλλά και της πρωτεΐνης p53 (33).



**Εικ 1.2.** Παράγοντες που σχετίζονται με το μονοπάτι της παθογένειας της ενδομητρίωσης (33).

Κλείνοντας, η πρόσφατα προτεινόμενη θεωρία GE (γενετικών και επιγενετικών αλλαγών) φαίνεται να αποτελεί την πλέον επικρατή πλέον θεωρία παθογένεσης της ενδομητρίωσης (1). Η θεωρία αυτή υποστηρίζει ότι απαιτείται μια σειρά αθροιστικών περιστατικών GE πριν αρχίσει να αναπτύσσεται η ενδομητρίωση. Κάθε κυτταρική διαίρεση ενέχει κίνδυνο λαθών και ο κίνδυνος

πιθανώς αυξάνεται με την έκθεση σε φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως η ρύπανση, η ιονίζουσα ακτινοβολία ή το οξειδωτικό στρες. Το ενδομήτριο, ως ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος ιστός του σώματός έχει επομένως αυξημένο κίνδυνο μεταλλάξεων, ικανών να οδηγήσουν στην εμφάνιση ενδομητρίωσης (1).

Παράλληλα, η θεωρία GE εξηγεί ότι η ενδομητρίωση μπορεί να προκύψει από οποιοδήποτε κακώς διαφοροποιημένο κύτταρο, όπως βλαστοκύτταρα ή κύτταρα μυελού των οστών. Ωστόσο, η πιθανότητα ανάπτυξης από το ενδομήτριο ή τα εμβρυολογικά εξαρτήματα, που έχουν ήδη αναπτυχθεί προς αυτή την κατεύθυνση, είναι μεγαλύτερη (1).



## 1.5. Παθοφυσιολογία

Στην διεθνή βιβλιογραφία, έχουν ήδη προταθεί διάφοροι μηχανισμοί αναφορικά στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την δράση ορισμένων γονιδίων, την οιστρογόνο-εξαρτώμενη φύση της νόσου, την αντίσταση των υποδοχέων στην προγεστερόνη, φλεγμονώδεις διαδικασίες που σχετίζονται με την δράση ιντερλευκινών αλλά και επιγενετικές ρυθμίσεις (33).

Στο σύνολο τους, αυτοί οι μηχανισμοί εξηγούν την μη υποβολή των μηχανισμών παθογένειας στον αυστηρό έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος, την προσκόλληση και εισχώρηση των κυτταρικών στοιχείων του ενδομήτριου ιστού στο περιτοναϊκό επιθήλιο, την εγκατάσταση έκτοπης νευροαγγείωσης, και τον συνεχή πολλαπλασιασμό, την αύξηση και επιβίωση των κυττάρων του έκτοπου ενδομήτριου ιστού (34).

Πιο αναλυτικά, έχει αποδειχτεί πως η επιβίωση των κυττάρων των ενδομητριωσικών εστιών ευνοείται από την υπερέκφραση στα κύτταρά του, του γονιδίου BCL-2, υπεύθυνου για την παραγωγή της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2 (33, 35).

Επίσης, στις χρωμοσωματικές περιοχές 10q26 και 7p15 ανευρίσκονται γονιδιακοί τόποι οι οποίοι ενοχοποιούνται για γενετικές μεταβολές που υποβοηθούν την εμφύτευση των κυττάρων του ενδομήτριου σε έκτοπες εστίες και συνηγορούν υπέρ του κληρονομικού χαρακτήρα της ενδομητρίωσης (36-37).

Τέλος, γονίδια φαίνεται να εμπλέκονται για άλλη μια φορά και στην διαταραχή της δράσης των στεροειδών ορμονών στο ενδομήτριο γυναικών με ενδομητρίωση (38). Ακριβέστερα, ορμονικές μεταβολές που έχει φανεί από μελέτης της διεθνούς βιβλιογραφίας ότι συντελούν α) στην επιβίωση των κυττάρων του ενδομήτριου, β) στην διεισδυτική τους ικανότητα αλλά και στην γ) ανοσοαντοχή είναι: 1) η αυξημένη έκφραση της αρωματάσης και 2) η μειωμένη έκφραση της 17-β υδροξυστεροειδικής δευδρογονάσης (39).

Οι ορμονικές αυτές μεταβολές ωθούν την αύξηση της τοπικής συγκέντρωσης της οιστραδιόλης, η οποία με τη σειρά της διεγείρει την παραγωγή προσταγλανδίνης E2, γεγονός που ενισχύει περαιτέρω της δράσης της αρωματάσης (33, 40).

Εκτός όμως από την οιστρογόνο-εξαρτώμενη αυτή κατάσταση φαίνεται πως στην παθοφυσιολογία της νόσου εμπλέκεται και η αντίσταση στην προγεστερόνη, μέσω της μείωσης της έκφρασης των υποδοχέων της προγεστερόνης στις έκτοπες εστίες ενδομητρίωσης (41).

Ακόμη, σε ασθενείς με ενδομητρίωση συχνά παρατηρείται αντίσταση στα φυσικά-κύτταρα φονείς (NK-cells), διαταραχή της λειτουργίας των μακροφάγων, υπερέκφραση μεταλλοπρωτεασών 3 (MMP-3) καθώς και -στην ωχρινική φάση του κύκλου- διαταραχή των παραγόντων ICAM-1, TGF- $\beta$ , αλλά και-κατά την έμμηνο ρύση- της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) (42).

Όλες αυτές οι αποκλίσεις από τις φυσιολογικές παραμέτρους, έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μικροπεριβάλλοντος που ευνοεί την εμφύτευση των κυττάρων του ενδομητρίου σε έκτοπες ανατομικές περιοχές, και που προστατεύει τις εστίες ενδομητρίωσης από την αντίδραση του ανοσοποιητικού μηχανισμού, ο οποίος φυσιολογικά θα πρέπει να τις εξαλείψει (42).

Επίσης, σε μελέτες όπου διερευνήθηκε το περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση, βρέθηκαν τιμές αυξημένης συγκέντρωσης ορισμένων αυξητικών παραγόντων όπως ο αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), αλλά και των insulin-like growth factors (IGF) και του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα (PDGF) (25, 43).

Όλοι οι παραπάνω αυξητικοί παράγοντες συντελούν στην νευροαγγείωση και αύξηση των εστιών ενδομητρίωσης, ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του έκτοπου ιστού (33, 43).

Τέλος, στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης φαίνεται να εμπλέκεται και το μονοπάτι της φλεγμονής (33). Για την ακρίβεια, σε ασθενείς με ενδομητρίωση, παρατηρείται αύξηση του αριθμού των φαγοκυττάρων στην

περιτοναϊκή κοιλότητα και αυξημένη απελευθέρωση κυτταροκινών, όπως ο TNF-a , η IL-1b, η IL-6 , IL-8 αλλά και προσταγλανδινών, που υποδηλώνουν την φλεγμονώδη φύση της ενδομητρίωσης (1, 33, 44-46).

## 1.6. Διάγνωση και σταδιοποίηση

Η έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση της ενδομητρίωσης αποτελεί και τον ακρογωνιαίο λίθο στην θεραπεία της νόσου και στην αποφυγή των επιπλοκών της, όπως είναι η υπογονιμότητα, οι αιμορραγίες και το χρόνια πυελικό άλγος (1). Ένα πλήρες ιατρικό ιστορικό σε συνδυασμό με προσεκτική κλινική εξέταση είναι βασικά εργαλεία στη διαγνωστική προσέγγιση, ενώ ο χρυσός κανόνας της διαγνωστικής προσέγγισης περιλαμβάνει το διακολεϊκό υπερηχογράφημα, καθώς μπορεί να βοηθήσει στην απεικόνιση συγκριμένης εντοπίσεως ενδομητριομάτων με μη επεμβατικό τρόπο (47).

Ο κλινικός θα πρέπει να υποψιάζεται το ενδεχόμενο ενδομητρίωσης όταν μια γυναίκα του αναφέρει συμπτώματα που τυπικά σχετίζονται με ενδομητρίωση. Τα συμπτώματα αυτά περιλαμβάνουν: α) Σοβαρή δυσμηνόρροια, β) εν τω βάθει δυσπαρευνία, γ) χρόνια πυελικό άλγος, δ) άλγος στην ωοθυλακιορρηξία, ε) κυκλικά ή περιεμμηνορυσιακά συμπτώματα, όπως απώλεια αίματος από το έντερο ή την ουροδόχο κύστη, στ) υπογονιμότητα, ζ) χρόνια αίσθημα κόπωσης και τέλος η) τεινεσμός (3, 6, 10, 53).

Ωστόσο, η διαγνωστική αξία των παραπάνω συμπτωμάτων παραμένει αβέβαιη, δεδομένου ότι κάθε ένα από αυτά μπορεί να οφείλεται σε άλλη αιτία, ενώ επίσης πολλές ασθενείς με ενδομητρίωση ενδέχεται να παραμένουν και ασυμπτωματικές (6). Η διάγνωση της ενδομητρίωσης μόνο με το ιστορικό και την κλινική εικόνα είναι δύσκολη, διότι τα συμπτώματα μπορεί να οφείλονται σε άλλες νοσολογικές οντότητες, όπως σε σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου ή σε πυελική φλεγμονώδη νόσο (10).

Επιπλέον για την επίτευξη της οριστικής διάγνωσης, κατά την διάρκεια της γυναικολογικής κλινικής εξέτασης, θα πρέπει ο κλινικός να δίνει έμφαση όταν υποψιάζεται ενδομητρίωση σε ευρήματα όπως είναι: α) η πυελική

ευαισθησία, β) η καθλωμένη σε οπίσθια θέση μήτρα, γ) η ευαισθησία των ιερομητρικών συνδέσμων και τέλος δ) ψηλαφητά και με οζώδη σύσταση εξαρτήματα (53). Τα ευρήματα αυτά μεν συνηγορούν, αλλά δεν αποδεικνύουν την ύπαρξη ενδομητρίωσης. Πιο πιθανή θεωρείται η διάγνωση της ενδομητρίωσης όταν ψηλαφούνται οζίδια στην περιοχή των ιερομητρικών συνδέσμων ή στο δουγλάσειο χώρο, ή όταν ανευρίσκονται ορατές βλάβες στον κολεό και/ή στον τράχηλο της ασθενούς κατά την κολποσκόπηση και σοκολατοειδείς κύστες στις ωοθήκες (6, 10).

Εξαιρετικά σημαντική στην διάγνωση είναι η χρήση των απεικονιστικών και εργαστηριακών μεθόδων. Αν και από έρευνες αρχικά προτάθηκαν η MRI και η ανίχνευση του CEA125, η χρησιμότητά τους φαίνεται περιορισμένη (12). Πιο συγκεκριμένα, ο ρόλος της μαγνητικής τομογραφίας περιορίζεται στην απεικόνιση ενδομητριομάτων διαμέτρου μεγαλύτερων των 4 χιλιοστών, ενώ η μέτρηση στον ορό του καρκινικού δείκτη CEA125, (συνήθως αυξημένη σε ορό ασθενών με ενδομητρίωση) δε θεωρείται διαγνωστική εξέταση, αφού έχει ευαισθησία μόλις 28% (12, 48). Σαφώς, το κλειδί στην αρχική διάγνωση είναι το διακολεϊκό υπερηχογράφημα, που ως μη επεμβατική μέθοδος υποβοηθά στην εντόπιση των ενδομητριοσικών αλλοιώσεων σε ανατομικές δομές της πυέλου (47-49).

Η τελική διάγνωση τίθεται μόνο με τη λαπαροσκόπηση κατά την οποία ανευρίσκονται σαφείς ενδομητριοσικές εστίες (1, 49) και στην συνέχεια την ιστολογική επιβεβαίωση της προελεύσεως τους (10). Το παρόν βήμα κρίνεται απαραίτητο αφού σε περιπτώσεις ενδομητριομάτων των ωοθηκών (μεγαλύτερων των 3 εκατοστών) αλλά και σε εν τω βάθει βλάβες, θα πρέπει να γίνεται ιστολογικός έλεγχος για την επιβεβαίωση της διάγνωσης της ενδομητρίωσης και τον αποκλεισμό του ενδεχομένου σπάνιων περιπτώσεων κακοήθειας (49).

Οι εστίες ενδομητρίωσης μπορεί να απεικονίζονται ως ερυθρές ή λευκές βλάβες ή και ως κυανές κηλίδες (50). Με την λαπαροσκόπηση, εκτός από την άμεση επισκόπηση της πυελικής κοιλότητας, χρήσιμη είναι και η κινητοποίηση με graspers των παρακείμενων πυελικών οργάνων καθώς και η εκτίμηση της σύστασης των ενδομητριοσικών βλαβών (50).

Τέλος, αν και το υπερηχογράφημα είναι το πλέον αξιόλογο όπλο της διαγνωστικής μας φαρέτρας, η λαπαροσκόπηση είναι που παρέχει τη δυνατότητα σταδιοποίησης της νόσου σύμφωνα με σύστημα σταδιοποίησης της Αμερικάνικης Εταιρίας Αναπαραγωγικής Ιατρικής (American Society for Reproductive Medicine) (51).

Με βάση την πλέον πρόσφατη σταδιοποίηση της Αμερικάνικης Εταιρίας Αναπαραγωγικής Ιατρικής, η ενδομητρίωση, και η κλινική βλάβη που προκαλεί μπορεί να χαρακτηριστεί ως: ελάχιστη (στάδιο I), ήπια (στάδιο II), μέτρια (στάδιο III) και τέλος σοβαρή, συνοδευόμενη από απώλεια λειτουργικότητας της ανατομικής δομής (στάδιο IV). Έχει φανεί ότι το στάδιο και η έκταση της νόσου δε σχετίζονται με την συμπτωματολογία, το άλγος ή την πιθανότητα υποτροπής της νόσου μετά από χειρουργική αφαίρεση των εστιών της βλάβης (51).

Η σταδιοποίηση αυτή της νόσου μπορεί να γίνει μέσω της αξιολόγησης της ενδομητριοσικής βλάβης και της συνεπακόλουθης πιθανής μείωσης της λειτουργικότητας των ανατομικών δομών: ωαγωγοί, κροσσοί του κώδωνα και ωθήκες, από τους χειρουργούς κατά την διενέργεια λαπαροσκόπησης (51). Σε κάθε μια από τις προαναφερθείσες ανατομικές περιοχές, η βλάβη μπορεί να χαρακτηριστεί ως α) ήπια (όταν εντοπίζεται ελάχιστη αλλοίωση), β) μέτρια (μέτρια διαταραχή της αρχιτεκτονικής του ιστού), γ) σοβαρή (σημαντική μείωση λειτουργικότητας) ή δ) μη λειτουργική δομή (όταν η ενδομητριοσική βλάβη καταστρέφει πλήρως την λειτουργικότητα της εξεταζόμενης ανατομικής δομής του έσω γεννητικού συστήματος του θήλεος) (εικ 1.3.) (8, 51).

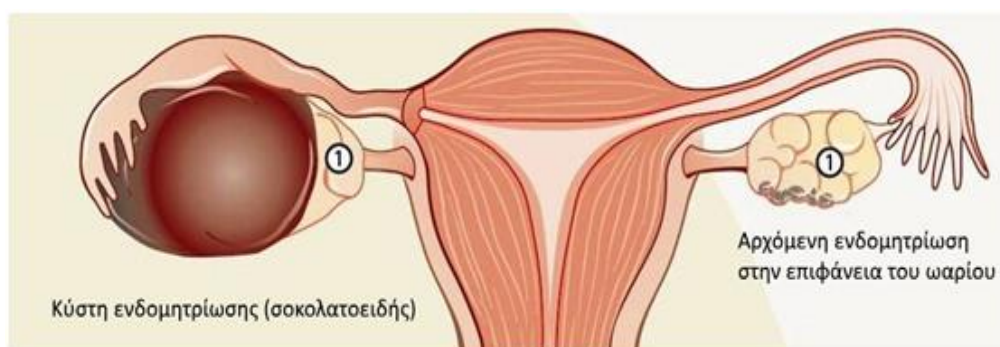
Στα στάδια I, II παρατηρούνται συνηθέστερα επιφανειακές συμφύσεις καθώς και επιφανειακές βλάβες με εστιακή εντόπιση. Αντίθετα, στα στάδια III και IV, η μακροσκοπική εικόνα της βλάβης είναι βαρύτερη και συχνά ανιχνεύονται σοκολατοειδείς κύστες και εντονότερες συμφύσεις (51, 52). Κατά γενικό κανόνα, η ενδομητρίωση εμφανίζεται μακροσκοπικά ως επιφανειακές μαύρες (δίκην εγκαυμάτων πυρίτιδας) αλλοιώσεις στις ωθήκες, στους ορογόνους χιτώνες και στο περιτόναιο. Οι αλλοιώσεις είναι τυπικά μαύρες, σκούρες καφέ ή κυανές βλάβες, οζίδια ή μικρές κύστες οι οποίες περιέχουν παλιό αίμα εμμήνου ρύσεως που περιβάλλεται από ίνωση ποικίλης έκτασης (συμφύσεις). Εξίσου συνήθης είναι η ανίχνευση άτυπων ή λεπτών αλλοιώσεων,

όπως ερυθρές κηλίδες (πετεχειώδεις, κυστικές, πολυποειδείς, ή και αιμορραγικές) αλλά και ορώδεις κύστες. Άλλοι πιθανοί τύποι βλάβης περιλαμβάνουν την εντόπιση λευκών πλακών ή ουλών αλλά και ωχροκίτρινες δυσχρωμίες του προσβεβλημένου περιτοναίου (8, 51-53).

TABLE 1		
Descriptions of least function terms.		
Structure	Dysfunction	Description
Tube	Mild	Slight injury to serosa of the fallopian tube
	Moderate	Moderate injury to serosa or muscularis of the fallopian tube; moderate limitation in mobility
	Severe	Fallopian tube fibrosis or mild/moderate salpingitis isthmica nodosa; severe limitation in mobility
	Nonfunctional	Complete tubal obstruction, extensive fibrosis or salpingitis isthmica nodosa
Fimbria	Mild	Slight injury to fimbria with minimal scarring
	Moderate	Moderate injury to fimbria, with moderate scarring, moderate loss of fimbrial architecture and minimal intrafimbrial fibrosis
	Severe	Severe injury to fimbria, with severe scarring, severe loss of fimbrial architecture and moderate intrafimbrial fibrosis
	Nonfunctional	Severe injury to fimbria, with extensive scarring, complete loss of fimbrial architecture, complete tubal occlusion or hydrosalpinx
Ovary	Mild	Normal or almost normal ovarian size; minimal or mild injury to ovarian serosa
	Moderate	Ovarian size reduced by one-third or more; moderate injury to ovarian surface
	Severe	Ovarian size reduced by two-thirds or more; severe injury to ovarian surface
	Nonfunctional	Ovary absent or completely encased in adhesions

*Adamsen. Endometriosis fertility index. Fertil Steril 2010.*

**Εικ. 1.3.** Σύστημα σταδιοποίησης ενδομητρίωσης κατά την λαπαροσκόπηση.



**Εικ. 1.4.** Διαφορετικές βλάβες της ενδομητρίωσης αναλόγως του σταδίου (53).

Αν και η ανίχνευση λαπαροσκοπικά των βλαβών της ενδομητρίωσης συμβάλλει στον καθορισμό του σταδίου της νόσου της εκάστοτε ασθενούς,

εντούτοις δεν είναι αυτή που καθορίζει τον σχετιζόμενο με την νόσο κίνδυνο υπογονιμότητας (51). Πράγματι, ο κίνδυνος υπογονιμότητας μιας ασθενούς με ενδομητρίωση, εκτιμάται με την κλίμακα EFI (εικ. 1.5.) κατόπιν χειρουργικής αντιμετώπισης των βλαβών της ενδομητρίωσης, κατά την ολοκλήρωση δηλαδή της λαπαροσκοπικής χειρουργικής επέμβασης (53).

	Points
<b>Historical factors</b>	
Age	
≤35 years	2
36-39 years	1
≥40 years	0
Years infertile	
≤3 years	2
>3 years	0
Prior pregnancy	
Yes	1
No	0
<b>Surgical factors</b>	
Least function score	
7-8	3
4-6	2
1-3	0
r-ASRM endometriosis score	
<16	1
≥16	0
r-ASRM total score	
<71	1
≥71	0
<b>Total</b>	<b>EFI score</b>

**Least function (LF) score**  
*at conclusion of surgery*

	Left	Right
Fallopian tube	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Fimbria	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ovary	<input type="text"/>	<input type="text"/>

---

Lowest score  +  = LF score

Score	Description
4	= Normal
3	= Mild dysfunction
2	= Moderate dysfunction
1	= Severe dysfunction
0	= Absent or nonfunctional

**Εικ. 1.5.** Αξιολόγηση του κινδύνου υπογονιμότητας μετά από λαπαροσκοπική επέμβαση για αντιμετώπιση ενδομητρίωσης (51, 53).

Πιο αναλυτικά, βάσει της κλίμακας αξιολόγησης EFI οι παράγοντες που πρέπει να αξιολογούνται από τους κλινικούς περιλαμβάνουν την ηλικία της ασθενούς, το ιστορικό κυήσεων και φυσικά παραμέτρους αναφορικά στο χειρουργείο αντιμετώπισης της ενδομητρίωσης. Το σκορ υπολογίζεται για το ζεύγος των ωαγωγών, των κωδώνων τους και φυσικά των ωοθηκών. Αν η ασθενής κατόπιν της ολοκλήρωσης της επέμβασης έχει σκορ=4, δεν φέρει κίνδυνο υπογονιμότητας λόγω της ενδομητρίωσης. Αντίθετα, σκορ=3 ισοδυναμεί με ήπια βλάβη και μικρό κίνδυνο υπογονιμότητας, σκορ=2 ισοδυναμεί με μέτριο και υπολογίσιμο κίνδυνο υπογονιμότητας, σκορ= 1 ισοδυναμεί με υψηλό κίνδυνο, ενώ τέλος σκορ=0 αντιστοιχεί σε πλήρη απώλεια

της λειτουργικότητας της ανατομικής δομής και αδυναμία αυτής να συμμετέχει στην φυσιολογική διαδικασία της γονιμοποίησης (51, 53).

Ακόμη και αν η διαδικασία της σταδιοποίησης λαπαροσκοπικά αποτελεί μια αξιόπιστη μέθοδο, όταν δεν συνοδεύεται από ιστολογική εξέταση επιβεβαίωσης της διάγνωσης της ενδομητρίωσης, το ποσοστό των ψευδώς-θετικών αποτελεσμάτων της λαπαροσκοπικής απεικόνισης των αλλοιώσεων είναι αρκετά υψηλό και συγκεκριμένα αγγίζει το 50% και κυρίως όταν αφορά σε ήπιες και σε μέτριες μορφές ενδομητρίωσης (54).

### **1.7. Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα**

Η υπογονιμότητα είναι ένα από τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά της ενδομητρίωσης (2). Προσεγγιστικά το 30-50% των γυναικών με ενδομητρίωση παρουσιάζει και υπογονιμότητα, ενώ ο επιπολασμός της ενδομητρίωσης στις ασυμπτωματικές γυναίκες που υποβάλλονται σε λαπαροσκόπηση για διερεύνηση της υπογονιμότητας που παρουσιάζουν εν τέλει υπολογίζεται στο 9-50% (55).

Η υπόθεση ότι η ενδομητρίωση προκαλεί υπογονιμότητα ή τουλάχιστον μειωμένη γονιμοποιητική ικανότητα αποδεικνύεται από δεδομένα που συνδέουν στενά τις δυο αυτές κλινικές έννοιες. Πάραυτα μέχρι και σήμερα δεν έχει προταθεί κάποια σαφής αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ των. Ιστορικά η σχετιζόμενη με την ενδομητρίωση υπογονιμότητα έχει ερμηνευτεί ποικιλοτρόπως (56-57). Πολλοί μηχανισμοί ενοχοποιούνται για την υπογονιμότητα στην ενδομητρίωση και αυτό είναι: α) μηχανικοί, β) μοριακοί, γ) ορμονικοί αλλά και δ) ανοσολογικοί (33).

Αναφορικά στους μηχανικούς παράγοντες, καθίσταται σαφές ότι η διαταραχή της ανατομικής των δομών της πυέλου λόγω των ινωτικών συμφύσεων που προκαλούνται από την ενδομητρίωση και τις εστίες ενδομητρίωσης παρεμποδίζουν την απελευθέρωση και την μετακίνηση των ωοκυττάρων από την ωοθήκη στους ωαγωγούς με τη βοήθεια των κροσσών των κωδώνων και άρα παρακωλύουν την γονιμοποίηση (33). Πράγματι, οι ανατομικές δομές αυτές του έσω γεννητικού συστήματος του θήλεος συχνά ανευρίσκονται καθηλωμένες μεταξύ των συμφύσεων σε γυναίκες με



ενδομητρίωση και υπογονιμότητα (58). Η ανώμαλη σαλπιγγομητρική μετακίνηση, έχει επιβεβαιωθεί με υστεροσαλπιγγιγραφία (58).

Επιπλέον, τα επίπεδα των ορμονών του γυναικείου φύλου σε ασθενείς με ενδομητρίωση εδώ και πολλά χρόνια έχει φανεί ότι έχουν εξίσου καθοριστικό ρόλο στην υπογονιμότητα (59). Οι ορμονικές μεταβολές που παρατηρούνται σε ασθενείς με ενδομητρίωση αποδίδονται σε διαταραχή της λειτουργίας του άξονα του νευροενδοκρινικού συστήματος «υπόφυσης-ωοθηκών» και περιλαμβάνουν διαταραχές στην ωοθυλακιογένεση, στην ωοθυλακιορρηξία και τέλος στην έκλυση των ορμονών της ωχρινική φάσης του κύκλου (33).

Πιο αναλυτικά, υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που συνηγορούν υπέρ ανώμαλης ωοθυλακικής ανάπτυξης, πρόωρων και πολλαπλών αιχμών της LH και ανεπάρκειας ωχρινικής φάσης (59-60). Χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ενδομητρίωση, μπορεί να παρατηρηθούν επιμήκυνση της ωοθυλακικής φάσης και καθυστέρηση της αιχμής της LH, με αποτέλεσμα χαμηλά επίπεδα οιστραδιόλης ορού και της LH-εξαρτώμενης έκκρισης προγεστερόνης στην ωχρινική φάση του κύκλου (61).

Δεδομένης της διαταραχής της φυσιολογικής ωοθυλακιογένεσης που παρατηρείται σε ασθενείς με ενδομητρίωση, ο αριθμός των προωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων, η ωοθυλακική ανάπτυξη, το μέγεθος του επικρατούντος ωοθυλακίου, και τέλος η παραγόμενη από τα ωοθυλάκια οιστραδιόλη φαίνεται να είναι μειωμένα (62-63). Επιπλέον, το ωοθυλακικό υγρό των γυναικών με ενδομητρίωση έχει γενικά χαμηλά επίπεδα, ανδρογόνων, προγεστερόνης και υψηλή ακτιβίνη (57). Ακόμη, οι αυξητικοί παράγοντες και οι κυτταροκίνες που επίσης εμπεριέχονται στο ωοθυλακικό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση ευνοούν την δημιουργία και την διατήρηση ενός μικροπεριβάλλοντος στις ωοθήκες που είναι ευνοϊκό για τον σχηματισμό και την ανάπτυξη των ενδομητριωμάτων (64-65).

Ένας επιπρόσθετος παράγοντας που φαίνεται να ενοχοποιείται για τα αυξημένα ποσοστά υπογονιμότητας στις ασθενείς με ενδομητρίωση φαίνεται να είναι η κακή ποιότητα των ωαρίων που μπορεί να συσχετισθεί με καθυστέρηση στην ανάπτυξη των εμβρύων που προκύπτουν από αυτά τα

γονιμοποιημένα ωάρια (33). Χαρακτηριστικά, σε ερευνητική μελέτη παρατηρήθηκε αυξημένη απόπτωση των κυττάρων του ωοφόρου δίσκου που περιβάλλουν το ωοκύτταρο (66). Αυτό το αυξημένο ποσοστό προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου συνδέεται με κακή ποιότητα ωαρίων και παρεμπόδιση της φυσιολογικής τους ωρίμανσης, λόγω της απώλειας της απαραίτητης για το ωοκύτταρο υποστήριξης από τα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου καθώς και της στέρησης του από απαραίτητες ορμόνες και αυξητικούς παράγοντες (66-67). Οι ερευνητικές μελέτες αυτές σχετικά με την ποιότητα των ωαρίων σε ασθενείς με ενδομητρίωση, επιβεβαιώνονται μέσα από την μελέτη των αποτελεσμάτων σε προγράμματα δωρεάς ωαρίων. Με άλλα λόγια, έχει παρατηρηθεί ότι υπογόνιμες γυναίκες με μέτρια ή με σοβαρή ενδομητρίωση που λαμβάνουν ωάρια από δωρεά τείνουν να έχουν φυσιολογική υποδεκτικότητα ενδομητρίου και υψηλά ποσοστά κύησης. Αντίθετα όταν γυναίκες με ενδομητρίωση δωρίζουν ωάρια σε υγιείς γυναίκες τα ποσοστά κύησης είναι πολύ χαμηλά (68-69).

Επιπλέον, το περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση φαίνεται να είναι αφιλόξενο και στα γεννητικά κύτταρα των αρρένων. Πιο αναλυτικά, έχει παρατηρηθεί αυξημένη φαγοκυττάρωση των σπερματοζωαρίων λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης μακροφάγων (70), αλλά και δυσχερής μετακίνηση των σπερματοζωαρίων κατά μήκος της πορείας του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος (71-73), αρνητική επίδραση του περιτοναϊκού υγρού στην ικανότητα πρόσδεσης των σπερματοζωαρίων στη διάφανη ζώνη των ωαρίων κι άρα στην ικανότητα γονιμοποίησης του ωαρίου (74), βλάβες στο DNA των σπερματοζωαρίων (75), μειωμένη κινητικότητα λόγω αυξημένης IL-6 στο περιτοναϊκό υγρό (76-77) και ελαττωμένη ικανότητα πρόσδεσης στο σαλπιγγικό επιθήλιο (77).

Ακόμη, δεδομένα από ερευνητικές μελέτες αναφορικά στην εξωσωματική γονιμοποίηση δείχνουν πως τα έμβρυα που σχηματίζονται από τα ωάρια γυναικών με ενδομητρίωση είναι ποιοτικά υποβαθμισμένα. Πιο συγκεκριμένα, συνοδεύονται από αυξημένο ποσοστό κυτταροπλασματικών κατατμήσεων, από σκουρόχρωμο κυτταρόπλασμα (78), μειωμένο αριθμό

κυττάρων και αυξημένα ποσοστά μη κυτταρικής διαίρεσης (68), με αποτέλεσμα μικρότερο αριθμό μεταφερόμενων εμβρύων (68).

Μια ακόμη παράμετρος που φαίνεται να σχετίζεται με την υπογονιμότητα των ασθενών με ενδομητρίωση είναι τα αυξημένα επίπεδα IgG και IgA, των λεμφοκυττάρων αλλά και η παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι αντιγόνων του ενδομητρίου (33). Στο σύνολο τους αυτές οι παράμετροι μπορεί να μεταβάλλουν την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου και την ικανότητα εμφύτευσης της βλαστοκύστης (79). Η μειωμένη υποδεκτικότητα του ενδομητρίου στην ενδομητρίωση μπορεί επίσης να οφείλεται σε ελαττωμένη έκφραση της ανβ3-ιντεγκρίνης, η οποία συμμετέχει σε συνδέσεις επιθηλιακών κυττάρων στο ενδομήτριο που είναι αναγκαίες κατά την εμφύτευση αλλά και σε χαμηλά επίπεδα του ενζύμου που βοηθάει στη σύνδεση των ιντεγκρινών μεταξύ τους, της L-σελεκτίνης (55, 68). Επίσης, σε γυναίκες με ενδομητρίωση, κατά το στάδιο της εμφύτευσης, παρατηρείται διαταραχή της λειτουργίας των υποδοχέων οιστρογόνων (80), όπως και υπερέκφραση της αρωματάσης (81-82), με αποτέλεσμα την αύξηση της τοπικής οιστραδιόλης.

Αντίθετα, η δράση της απαραίτητης για την εμφύτευση προγεστερόνης, είναι ελαττωμένη (80). Επιπλέον, αντίσταση στην προγεστερόνη εξαιτίας της δυσλειτουργίας των προγεστερικών υποδοχέων, ανευρίσκεται στο ενδομήτριο αλλά και στον έκτοπο ενδομήτριο ιστό στις ασθενείς αυτές, γεγονός που δεν ευνοεί την εμφύτευση (84).

Συμπερασματικά, η υπογονιμότητα στην ενδομητρίωση μπορεί να οφείλεται σε ανατομική βλάβη, σε μεταβολή των φυσιολογικών επιπέδων των ορμονών, σε παρακώλυση της εμφύτευσης, σε βλάβες των ωαρίων και σε αδυναμία γονιμοποίησης από αναστολή της λειτουργίας των σπερματοζωαρίων του συντρόφου της ασθενούς.

### **1.8. Θεραπεία της ενδομητρίωσης**

Η θεραπεία της ενδομητρίωσης περιλαμβάνει τόσο συντηρητικά μέτρα, όσο και την χειρουργική αντιμετώπιση (8, 85). Κεντρικός στόχος τόσο της συντηρητικής, όσο και της χειρουργικής θεραπείας είναι: α) η αντιμετώπιση του

πόνου, β) ο περιορισμός της εξάπλωσης των ενδομητριωσικών εστιών, και γ) η διαφύλαξη της γυναικείας γονιμότητας (83, 85).

Η φαρμακευτική θεραπεία της ενδομητρίωσης περιλαμβάνει την χορήγηση των προγεσταγόνων, συνδυασμό προγεσταγόνου με οιστρογόνα, τους GnRH αγωνιστές και ανταγωνιστές, την νταναζόλη αλλά και τους αναστολείς της αρωματάσης (84-88).

Στο σύνολό τους, τα αντισυλληπτικά μειώνουν την ένταση του πόνου κατά την περίοδο της εμμήνου ρύσεως ή τον χρόνιο πόνο της ενδομητρίωσης που βιώνουν πολλές ασθενείς (10). Η χορήγηση των αντισυλληπτικών αυτών δεν εμποδίζει την ανάπτυξη της ενδομητρίωσης και τον πολλαπλασιασμό των έκτοπων κυττάρων, αλλά πιθανώς να μειώνει τις υποτροπές της νόσου (85, 87-88).

Πάραυτα, η φαρμακευτική αγωγή δεν φαίνεται να βελτιώνει σημαντικά το πρόβλημα υπογονιμότητας σε ασθενείς με ενδομητρίωση (84, 86). Αντίθετα, η χειρουργική θεραπεία της ενδομητρίωσης έχει φανεί ότι βελτιώνει την γονιμότητα σε ενδομητρίωση σταδίου I και II (85) και κυρίως όταν συνυπάρχει χρόνιο άλγος κι επιτυγχάνεται η αποτελεσματική εξαίρεση των ενδομητριωσικών βλαβών (89). Όσον αφορά τα στάδια III και IV οι μελέτες είναι ελλιπείς (85).

Η λεπτομερής και προσεκτική χειρουργική αφαίρεση των εστιών της ενδομητρίωσης, των πυελικών συμφύσεων αλλά και των κυστών στις ωοθήκες και στην ευρύτερη περιοχή της πυέλου είναι απαραίτητη όταν η νόσος βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο. Με αυτό τον τρόπο διασφαλίζεται σε σημαντικό ποσοστό η δυνατότητα της γυναίκας για εγκυμοσύνη, η αποφυγή σημαντικής αιμορραγίας κατά την έμμηνο ρύση και φυσικά το χρόνιο πυελικό άλγος (83, 90-91). Μετά από μια τέτοια χειρουργική επέμβαση ο πόνος βελτιώνεται στο 60 με 80% των γυναικών (91).

Παρά την αποτελεσματικότητα της χειρουργικής θεραπείας της ενδομητρίωσης, στο 40 με 80% των ασθενών, η ενδομητρίωση επανεμφανίζεται μέσα σε 2 χρόνια από την επέμβαση, γι' αυτό και απαιτείται η συ χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής (83, 91). Μετά από 6 μήνες αγωγής, στο

50% των γυναικών η ενδομητρίωση θα επανεμφανιστεί μέσα σε 5 με 10 χρόνια (86, 90).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗΣ

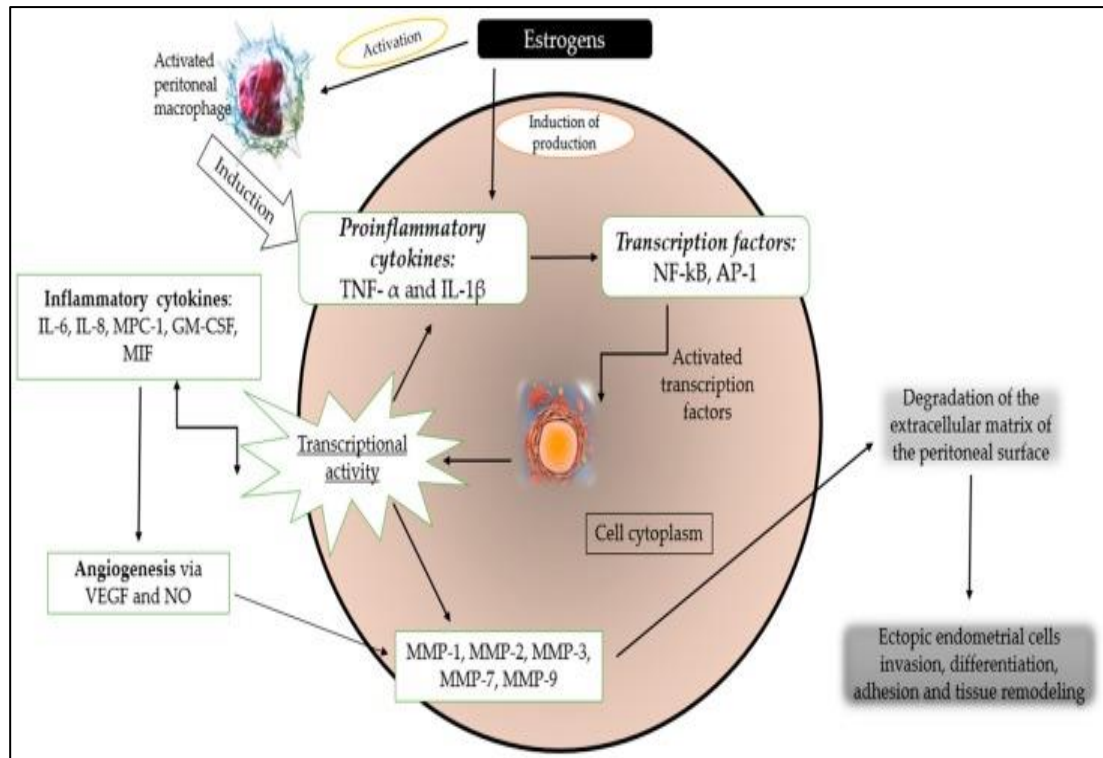
---

### 2.1. Φλεγμονώδεις υπόβαθρο ενδομητρίωσης

Η ενδομητρίωση είναι μια γυναικολογική νόσος η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία και την εμφύτευση ενδομητριοειδών στρωματικών κυττάρων σε ανατομικές θέσεις εκτός της κοιλότητας της μήτρας (2). Τα κύρια συμπτώματα της ενδομητρίωσης είναι το χρόνιο κοιλιακό και πυελικό άλγος, η δυσμηνόρροια, η υπογονιμότητα, το άγχος και η κατάθλιψη που σχετίζεται με τη σοβαρότητα του χρόνιου πόνου (92, 93, 94).

Αν και η παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη και κατανοητή, φαίνεται ότι η νόσος συνιστά μια κλινική κατάσταση με ανοσολογική, γενετική και ορμονική συμβολή, που χαρακτηρίζεται από ανώμαλη έκφραση φλεγμονωδών παραγόντων (1, 7, 8, 32, 95).

Η φλεγμονή συνιστά μια κομβική διαδικασία στην ενδομητρίωση, καθώς φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με την παθογένεια και με την κλινική εκδήλωσή της νόσου, στην αναδιαμόρφωση γειτονικών ιστών, στην ίνωση, στην εμφύτευση των έκτοπων βλαβών και τελικά την υπογονιμότητα (1, 97). Τα γεγονότα αυτά σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή κυτοκινών και προσταγλανδινών από τα κύτταρα του ενδομητρίου, την προσπάθεια των μακροφάγων να αφαιρέσουν τις χρωστικές του αίματος της εμμήνου ρύσεως, καθώς και τη διήθηση των ιστών από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (96, 97).



**Εικ. 2.1:** Απεικόνιση μοριακών οδών στην ανάπτυξη ενδομητρίωσης και ο ρόλος της φλεγμονώδους διεργασίας (97).

Στο σύνολό τους, οι φλεγμονώδεις διεργασίες στην ενδομητρίωση, πιστεύεται ότι προκαλούνται από την οιστραδιόλη και διαμεσολαβούνται από το ER-β στην ενδομητρίωση (98, 99), καθώς χρησιμοποιώντας ένα ανάλογο GnRH και/ή έναν αναστολέα αρωματάσης που περιορίζουν την παραγωγή των ωθηκικών οιστρογόνων, σταματά ή μειώνεται ο πυελικός πόνος και η εξάπλωση των βλαβών (100). Με άλλα λόγια, τα φλεγμονώδη μονοπάτια που σχετίζονται με την αρωματάση, τις MMPs, τις προσταγλαδίνες, και άλλα μόρια φαίνεται να έχουν καταλυτική δράση στην εξάπλωση των ενδομητριωσικών εστιών (96).

## 2.2. Φλεγμονή, γενετικές και επιγενετικές αλλαγές

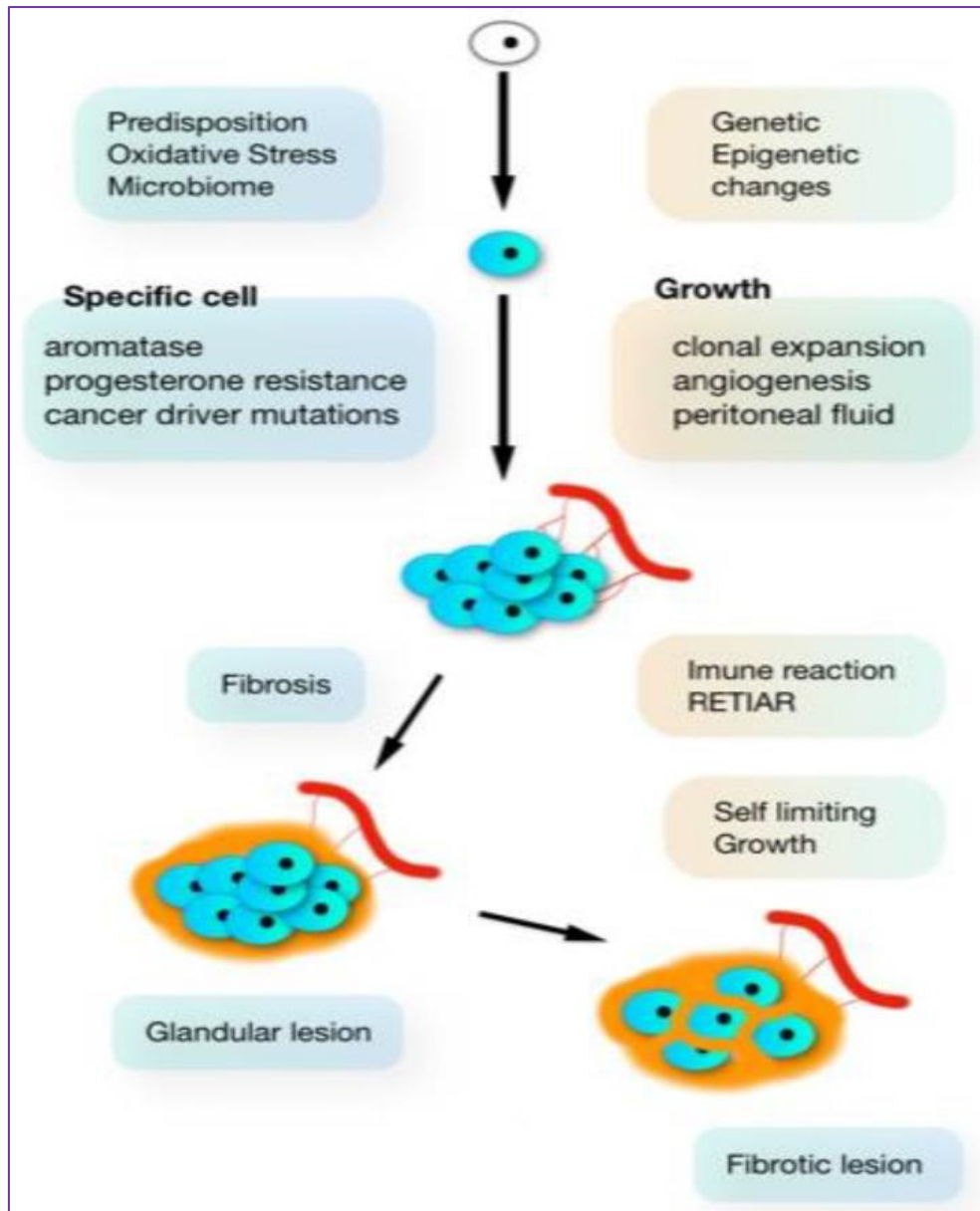
Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, η φλεγμονή είναι βασικό αίτιο εμφάνισης γενετικών και επιγενετικών αλλαγών, ικανών, με βάση την θεωρία GE να οδηγήσουν στην εμφάνιση ενδομητρίωσης και στην εξάπλωση ενδομητριωσικών βλαβών (1).

Πιο αναλυτικά, έχει φανεί ότι η περιτοναϊκή κοιλότητα στην ενδομητρίωση παρουσιάζει φλεγμονή χαμηλού βαθμού, με αυξημένο αριθμό ενεργοποιημένων μακροφάγων και των προϊόντων έκκρισής τους. Το παρόν διαφέρει από την αντίστοιχη «εργαστηριακή εικόνα» του περιτοναϊκού υγρού σε υγιείς γυναίκες (1).

Επιπλέον αυτού, είναι γνωστό ότι η ανάπτυξη της ενδομητρίωσης και η επέκταση των βλαβών εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας συνδέεται με την α) ανοσολογία της ασθενούς, και την β) την ίνωση που προκαλείται από την χρόνια φλεγμονή σε αυτές τις γυναίκες (101).

Στην πράξη, το μοντέλο παθογένειας της ενδομητρίωσης που έχει διατυπωθεί με βάση την θεωρία GE, είναι το εξής (εικόνα 2.2): Η έκθεση σε φλεγμονώδεις παράγοντες με συνέπεια τις μεταβολές του μικροβιώματος της περιτοναϊκής κοιλότητας και το οξειδωτικό στρες, επάγουν την εμφάνιση γενετικών και επιγενετικών αλλαγών στα κύτταρα. Ειδικά, στα κύτταρα του ενδομητρίου παρατηρούνται μεταβολές στο γονίδιο της αρωματάσης, αντίσταση στην προγεστερόνη αλλά και δυνητικά καρκινογόνες μεταλλάξεις. Σε επίπεδο κλωνικού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, οι αλλαγές αυτές, σε συνδυασμό με την χρόνια φλεγμονή και τις συνεπακόλουθές της: α) ίνωση, και β) αγγειογένεση, πυροδοτούν την εμφάνιση και την διασπορά των ενδομητριωμάτων (1).





**Εικ. 2.2:** Προέλευση και ανάπτυξη της ενδομητρίωσης: συνδυασμός συμβάντων GE, με περαιτέρω ανάπτυξη, ανοσοαπόκριση, φλεγμονή και ίνωση (1).

Η ενδομητρίωση ανταποκρίνεται στις διακυμάνσεις των οιστρογόνων και της προγεστερόνης με ανάπτυξη και φλεγμονή, που οδηγεί σε πόνο που επιδεινώνεται από την έμμηνο ρύση (1). Στην διεθνή βιβλιογραφία, έχει διατυπωθεί ότι η πυελική ενδομητρίωση προέρχεται από την παραμονή ενός κρίσιμου αριθμού ευτοπικών ενδομητρικών κυττάρων με βλαστικά χαρακτηριστικά στην πυελική κοιλότητα. Αυτό το αξίωμα υποστηρίζεται από τα

μοριακά ελαττώματα που εντοπίζονται στον έκτοπο ενδομητριοειδή ιστό (96, 97).

Υπάρχουν διαφορές σε ολόκληρο το γονιδίωμα στη μεθυλίωση CpG μεταξύ ευτοπικών ενδομήτριων και ενδομητριοειδών στρωματικών κυττάρων. Η ελαττωματική μεθυλίωση του CpG επηρεάζει αρκετά γονίδια που κωδικοποιούν βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο GATA6, ο στεροειδογόνος παράγοντας-1, και ο υποδοχέας οιστρογόνου-β, με συνέπεια την υπερπαραγωγή τοπικών οιστρογόνων και προσταγλανδινών και την καταστολή του υποδοχέα προγεστερόνης που παρατηρείται στην ενδομητρίωση (1, 97).

Τέλος, η έλλειψη υποδοχέα προγεστερόνης οδηγεί σε αντίσταση στην προγεστερόνη, με αποτέλεσμα μειωμένη πρόσληψη ρετινόλης και παραγωγή ρετινοϊκού οξέος με αλλοιωμένη δράση. Αυτά τα μοριακά ελαττώματα συλλογικά προκαλούν κακή κυτταρική διαφοροποίηση, αυξημένη επιβίωση και αυξημένη φλεγμονή, που είναι τα βιολογικά χαρακτηριστικά του ενδομητριοειδούς ιστού (97).

### **2.3. Ο ρόλος των επιγενετικών αλλαγών του γονιδίου της αρωματάσης**

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, η ενδομητρίωση είναι μια φλεγμονώδης νόσος που εξαρτάται από τα οιστρογόνα. Στους ενδομητριοειδείς ιστούς, έχει τεκμηριωθεί η παρουσία ενός μικροπεριβάλλοντος υψηλότερης συγκέντρωσης οιστρογόνων, που σχετίζεται με τη ρύθμιση «προς τα πάνω» του γονιδίου της αρωματάσης (1, 96, 97, 102). Η αρωματάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει την μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα, και συνιστά ένα μόριο κλειδί για την παραγωγή οιστρογόνων (96, 102). Η αρωματάση κωδικοποιείται από ένα μόνο γονίδιο, το CYP19 στο χρωμόσωμα 15q21 (102).

Η ενδομητρίωση εμφανίζεται συνήθως σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας και σπάνια σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (1). Η ανάπτυξη ενδομητριοειδών ιστών έχει τεκμηριωθεί ότι εξαρτάται από τα στεροειδή των ωοθηκών και για αυτό το λόγο, οι ιατρικές θεραπείες στοχεύουν στη μείωση της στεροειδογένεσης των ωοθηκών (83, 90, 102).

Πράγματι, η συνεχής έκθεση σε GnRH αγωνιστή οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα γοναδοτροπινών στον ορό και μειωμένη παραγωγή ωθηκικών ορμονών, και τελικά μειώνει τόσο τον αριθμό των παρατηρήσιμων ενδομητριωτικών εμφυτευμάτων, όσο και τη συχνότητα και τη σοβαρότητα του σχετιζόμενου με την νόσο, πυελικού πόνου (90, 102).

Επίσης, είναι τεκμηριωμένο ότι η αναστολή της παραγωγής οιστρογόνων από προγεσταγόνα ή αναστολείς αρωματάσης μειώνει τις ενδομητριωτικές αλλοιώσεις και τα κλινικά συμπτώματα (102). Οι παρατηρήσεις αυτές υποστηρίζουν την θεώρηση ότι η ενδομητρίωση είναι μια φλεγμονώδης νόσος, εξαρτώμενη από τα οιστρογόνα (1, 85, 102).

Στις γυναίκες με ενδομητρίωση αναγνωρίζονται τρεις σημαντικές τοποθεσίες για την παραγωγή οιστρογόνων: (α) de novo σύνθεση στην ωθήκη, (β) ένα εγγενές σύστημα που εξαρτάται από την αρωματάση, η οποία μετατρέπει την κυκλοφορούσα ανδροστενδιόνη σε οιστραδιόλη στο δέρμα και στον λιπώδη ιστό και γ) de novo στους φυσιολογικούς ενδομητριωτικούς ιστούς (97, 102, 103)

Επιπλέον των παραπάνω, η τοπική παραγωγή οιστρογόνων, η οποία εξαρτάται απόλυτα από την ετερότοπα εκφρασμένη αρωματάση σε ενδομητριωτικά εμφυτεύματα, παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης (1, 102). Η τοπική αυτή παραγωγή οιστρογόνων από αυτά τα ενδομητριωτικά εμφυτεύματα μπορεί να συμβάλει στην εξέλιξη της ενδομητρίωσης, ακόμη και σε συνθήκες υποοιστρογονικού περιβάλλοντος, δηλαδή υπό χορήγησης αγωνιστή της GnRH (102, 103).

Είναι γεγονός ότι ένα ουσιαστικό σκέλος του παθογενετικού μηχανισμού της ενδομητρίωσης, αλλά και της εξάπλωσής της, αντιπροσωπεύεται από τη σύνδεση μεταξύ της φλεγμονής και της υπέρμετρης ενεργοποίησης του γονιδίου της αρωματάσης στο ενδομήτριο, αλλά και σε έκτοπα ενδομητριώματα, ακολουθούμενης από την τοπική παραγωγή οιστρογόνων (101-105).

Σε υγιείς ασθενείς, η ενεργοποίηση του γονιδίου της αρωματάσης αναστέλλεται, αλλά στις προσβεβλημένες γυναίκες, ο υποκινητής αυτού του

γονιδίου ενεργοποιείται από την έκθεση σε προφλεγμονώδεις προσταγλανδίνες (PGE<sub>2</sub>) (96). Με αυτόν τον μηχανισμό, στις γυναίκες με ενδομητρίωση, δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος μεταξύ παραγωγής οιστρογόνων και χρόνιας φλεγμονής, και μέσω αυτού του κύκλου διατηρείται η επιβίωση των ετεροτοπικών ενδομητρικών κυττάρων (96, 102, 105).

Το μόριο NF-κB είναι ο σύνδεσμος μεταξύ της έκφρασης της αρωματάσης και της κλινικά αντιληπτής φλεγμονής στην ενδομητρίωση (96). Για την ακρίβεια, η ενεργοποίηση και η μετατόπιση του NF-κB από το κυτταρόπλασμα στους κυτταρικούς πυρήνες είναι το πρώτο βήμα για την πρόκληση της διαδικασίας φλεγμονής (106). Το παρόν επιβεβαιώνεται καθώς, στις ασθενείς με ενδομητρίωση, αλλά και αδενομύωση, η υπομονάδα πυρηνικού παράγοντα-κB ανευρίσκεται σε υψηλότερες τιμές από ό,τι σε περιπτώσεις ελέγχου (105).

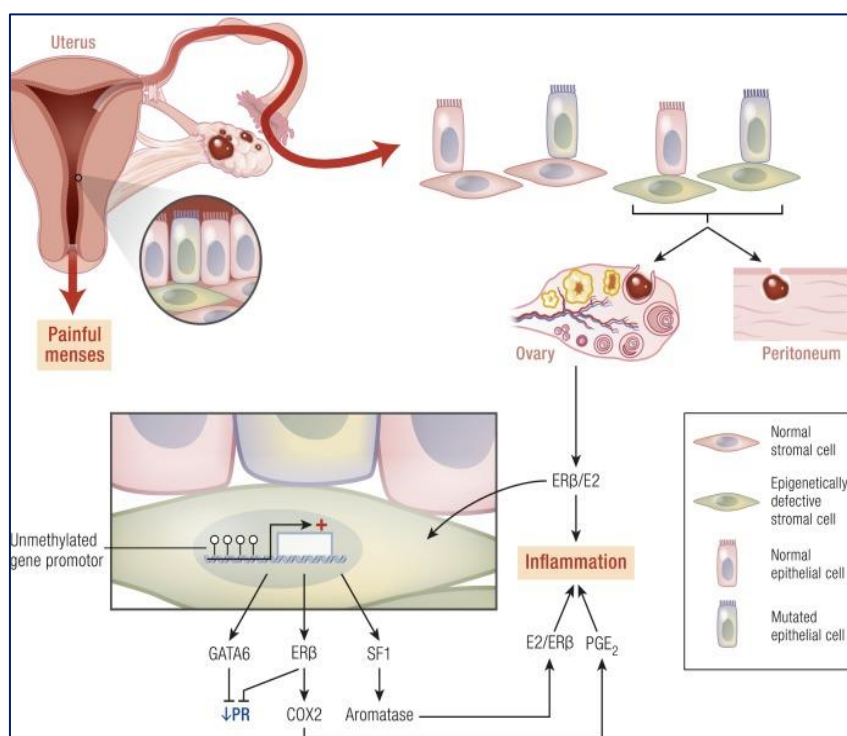
Στο φλεγμονώδες παθογενετικό πρότυπο της ενδομητρίωσης, ο παράγοντας NF-κB φαίνεται να έχει κρίσιμο ρόλο στην εξέλιξη της νόσου (96, 97). Αυτός ο παράγοντας ενεργοποιείται από διάφορες προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF-α), η ιντερλευκίνη 1β (96). Οι παράγοντες αυτές, συνδυαστικά και με τον NF-κB ενεργοποιούν πολλαπλούς φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως η IL-8 (97).

Η ήπια φλεγμονή που αναπτύσσεται εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας, οδηγεί σε επιγενετικές μεταβολές στα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα του ενδομητρίου, και πιο συγκεκριμένα, διεγείρει την υπερέκφραση του γονιδίου της αρωματάσης (97). Η υπερέκφραση του γονιδίου συμβάλλει στην αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων, η οποία με την σειρά της προάγει την εξάπλωση εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας των επιμέρους ενδομητριωτικών αλλοιώσεων (97, 102). Παράλληλα, η αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων με την σειρά της αυξάνει την παραγωγή προσταγλανδινών μέσω της ενεργοποίησης NF-κB και COX-2, ενισχύοντας έτσι τον φαύλο κύκλο της φλεγμονής (97, 106).

Στο πλαίσιο της χρόνιας φλεγμονής, η οποία συνιστά τον θεμέλιο λίθο στην παθογένεση της ενδομητρίωσης, στο περιτοναϊκό υγρό ασθενών με ενδομητρίωση ανευρίσκονται υψηλά επίπεδα ιστικών μακροφάγων, τα οποία

και εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη -1, ιντερλευκίνη -6, ιντερλευκίνη -12 και ο TNF-α (1, 96, 97, 102).

Η υψηλή συγκέντρωση των ουσιών αυτών, προάγει την επέκταση της φλεγμονής στις σάλπιγγες και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ίνωση, η οποία με την σειρά της βλάπτει την αναπαραγωγή, αφού σχετίζεται με διαβατότητα των σαλπίγγων και δυσμενή ποιότητα των ωαρίων (97).



**Εικ. 2.3:** Επισκόπηση των πολύπλοκων ρόλων της ανάδρομης εμμήνου ρύσεως, των επιγενετικά ελαττωματικών στρωματικών κυττάρων του ενδομητρίου, των επιθηλιακών κυττάρων που φέρουν μεταλλάξεις, της μεθυλίωσης του DNA, των πυρηνικών υποδοχέων και της φλεγμονής στην ενδομητρίωση. Θραύσματα ενδομητρικού ιστού μπορεί να εμφυτευθούν σε επιφάνειες πυελικού περιτοναϊκού ιστού ή μπορεί να παγιδευτούν σε μια κύστη έγκλεισης ωοθηκών, όπως μια αιμορραγική κύστη ωχρού σωματίου.

Συνοπτικά, οι επιγενετικές αλλαγές που προξενούνται από την φλεγμονή στα κύτταρα του στρώματος του ενδομητρίου, διεγείρουν την παραγωγή αρωματάσης και την έκκριση οιστρογόνων, με συνέπεια αφενός την εξάπλωση έκτοπου ενδομητρίου ιστού εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας, και αφετέρου την ενίσχυση της φλεγμονής, μέσω της μειωμένης έκκρισης προγεστερόνης,

της ενίσχυσης της παραγωγής COX2 και προσταγλαδινών, αλλά και της επιστράτευσης μακροφάγων που εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (1, 96).

#### **2.4. Ο ρόλος των μακροφάγων της περιτοναϊκής κοιλότητας**

Η συσσώρευση οξειδωτικών ριζών, η ακτινοβολία, και οι μεταβολές του μικροβιώματος πυροδοτούν την ήπια φλεγμονή της περιτοναϊκής κοιλότητας, η οποία με την σειρά της επάγει την επιστράτευση μακροφάγων, τα οποία εκκρίνοντας κυτταροκίνες, διατηρούν το φλεγμονώδες περιβάλλον και ενισχύουν την επέκταση των ενδομητρίωτικων αλλοιώσεων (1, 97, 102, 107).

Στο φυσιολογικό ενδομήτριο (εικόνα 2.4A), η πλειονότητα των μακροφάγων είναι CD163 και CD14, τα οποία αντιστοιχούν σε αντιφλεγμονώδους φαινότυπου ενεργοποιημένα μακροφάγα (MΦ2) (108, 109). Το MΦ2 μπορεί περαιτέρω να ταξινομηθεί ανάλογα με τους επιφανειακούς δείκτες, και την κατάσταση ενεργοποίησής του σε: MΦ2a, MΦ2b και MΦ2c (109). Όλοι αυτοί οι φαινότυποι εκκρίνουν την αντιφλεγμονώδη ιντερλευκίνη IL-10 (107).

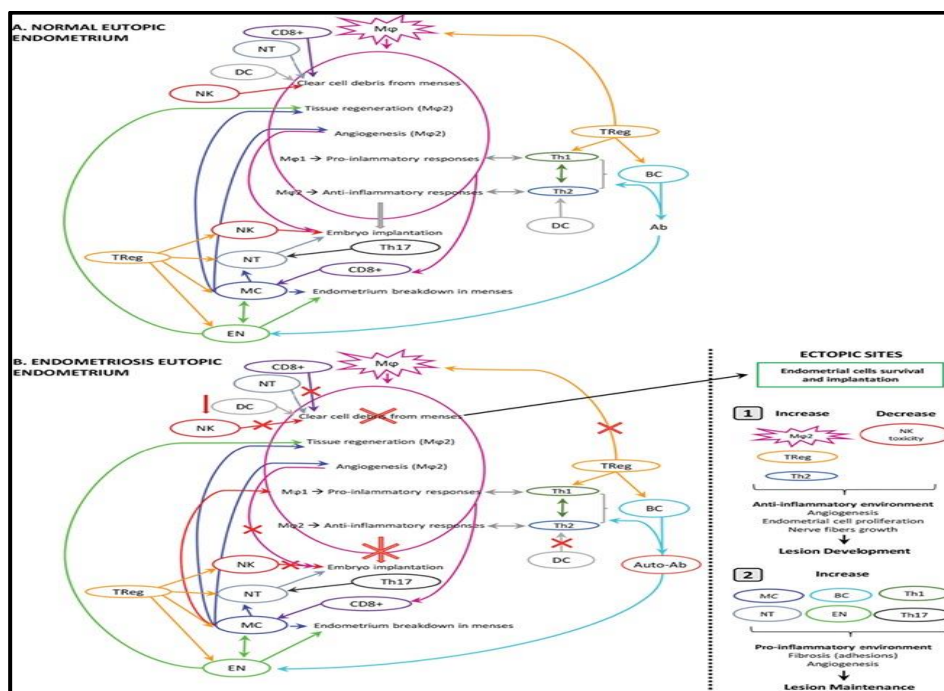
Σε κανονικές συνθήκες, τα μακροφάγα εμπλέκονται στην απομάκρυνση των κυτταρικών υπολειμμάτων κατά την έμμηνο ρύση, στην αναγέννηση των ιστών και στην αγγειογένεση, με επικρατή τον πληθυσμό των MΦ2 στην περιτοναϊκή κοιλότητα (107).

Στην ενδομητρίωση, έχει προταθεί ότι ο κύριος πληθυσμός των ιστικών μακροφάγων είναι τα MΦ1, υποδεικνύοντας ότι το περιβάλλον είναι φλεγμονώδες και επηρεάζει δυσμενώς την εμφύτευση του εμβρύου (107, 109). Ενώ τα MΦ2a και MΦ2c εκκρίνουν χαμηλά επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών, το MΦ2b παράγει υψηλά επίπεδα φλεγμονωδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων των IL-1, TNFα και IL-6 (102, 107).

Στις γυναίκες με ενδομητρίωση, ο ενδομήτριος πληθυσμός MΦ2 είναι χαμηλότερος σε όλες τις φάσεις του κύκλου σε σύγκριση με υγιείς γυναίκες (111). Το παρόν υποδεικνύει την προφλεγμονώδη υπεροχή στον ενδομήτριο ιστό των γυναικών με ενδομητρίωση, καθώς η ενεργοποίηση του MΦ μπορεί

να οδηγήσει σε έκκριση πολυάριθμων προφλεγμονωδών κυτοκινών και αγγειογενετικών και αυξητικών παραγόντων, που στο σύνολό τους είναι δυσμενείς για την εμβρυονιδίωση (112).

Επιπρόσθετα, στην ενδομητρίωση, η επιστράτευση ΜΦ2b εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την έκθεση σε αγωνιστές TLR ή IL-1R και χαρακτηρίζεται από την παραγωγή του μοτίβου CC συνδέτη 1 (CCL1). Η συνέπεια αυτής της ενεργοποίησης είναι η στρατολόγηση του Treg και η ανοσορύθμιση (110).



**Εικ. 2.4:** Σχηματική αλληλεπιδράσεις ανοσοπληθυσμών σε φυσιολογικό (A) και ενδομητρίωση ευτοπικό ενδομήτριο με πιθανές επιδράσεις σε έκτοπες θέσεις (B).

Πράγματι, στην διεθνή βιβλιογραφία, η ενδομητρίωση έχει αναφερθεί ως «ασθένεια των μακροφάγων», καθώς τα ιστικά μακροφάγα είναι άφθονα στις ενδομητριωτικές βλάβες, στις οποίες επιστρατεύονται διαμέσων της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος (113). Πιο αναλυτικά, στον έκτοπο ενδομήτριο ιστό, κυριαρχεί ο πληθυσμός των ΜΦ2, σε αντίθεση με τα ΜΦ1 που επικρατούν εντός της περιτοναϊκής κοιλότητας (114).

Το ιδιαίτερο μικροπεριβάλλον που είναι πλούσιο σε ΜΦ1 στα ενδομητριώματα συνιστά την πλέον ευνοϊκή συνθήκη για την εξάπλωση και για

τον σχηματισμό νέων βλαβών, καθώς δρα ενεργοποιώντας τα σηματοδοτικά μονοπάτια στα οποία μεσολαβούν τα T-ρυθμιστικά κύτταρα και προάγοντας την αγγειογένεση (113).

Τα μακροφάγα του περιτοναϊκού υγρού διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο και στην εκδήλωση χρόνιου πνευλικού άλγους, αλλά και στην υπογονιμότητα (102, 107, 115). Ο λόγος είναι ότι τα μακροφάγα αυτά εκκρίνουν συγκεκριμένες κυτοκίνες που σχετίζονται με μειωμένη γονιμότητα, καθώς θέτουν σε κίνδυνο τη λειτουργία των ωοθηκών, μειώνουν την ποιότητα των ωαρίων, και διαταράσσουν την πρώιμη ανάπτυξη του εμβρύου (115).

Αντίστοιχα, ο χρόνιος πνευλικός πόνος που βασανίζει πολλές ασθενείς με ενδομητρίωση, σχετίζεται με την υπερτροφία των πνευλικών νεύρων εξαιτίας της επίδρασης των ιστικών μακροφάγων, και φλεγμονή των τελευταίων από τις ενδοπνευλικές βλάβες (107, 116, 117).

Πράγματι, τα ιστικά μακροφάγα (ΜΦ1) εκκρίνουν φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως η IL-1 και ο TNF-α) που διεγείρουν τον αυξητικό παράγοντα των νεύρων (117). Με αυτόν τον μηχανισμό, τα μακροφάγα έμμεσα προάγουν την ανάπτυξη και το οίδημα των νευρικών ινών και ως εκ τούτου συμβάλλουν στο αίσθημα του χρόνιου νευροπαθητικού πόνου (107, 117).

Από την άλλη, οι κλώνοι των ΜΦ2 προάγουν με την σειρά τους την ανάπτυξη των ενδομητριωτικών αλλοιώσεων (107, 110). Η δράση των τελευταίων ομοιάζει κατά πολύ με την δραστηριότητα των μακροφάγων κατά την ογκογένεση, και ως εκ τούτου, παρόλο που η ενδομητρίωση είναι μια καλοήθης νόσος, έχει κοινά χαρακτηριστικά όχι μόνο με φλεγμονώδη διηθητικά νοσήματα, αλλά και με τις κακοήθεις νεοπλασματικές διεργασίες (118).

Ακόμη, αν και ο ακριβής μηχανισμός δράσης των ΜΦ1 στην ενδομητρίωση παραμένει ασαφής, μια σημαντική πτυχή που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι ότι τα μακροφάγα αυτά επιδεινώνουν την βαρύτητα της νόσου, επιστρατεύοντας ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα Th1 και Th17, που με την σειρά τους επιτρέπουν τη διατήρηση και την επιβίωση της ενδομητριωτικής βλάβης προάγοντας την αγγειογένεση, τις ινωτικές συμφύσεις και διατηρώντας ένα



«φιλόξενο φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον» που εμποδίζει άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού να καθαρίσουν τις έκτοπες βλάβες (107).

Τέλος, είναι ενδιαφέρον να δοθεί έμφαση ερευνητικά, όχι μόνο στην δραστηριότητα των ιστικών μακροφάγων, αλλά και στην σχέση τους με το μικροβίωμα του γυναικείου γεννητικού συστήματος (1, 102, 107). Εξάλλου, έχει προταθεί ότι η μόλυνση του ενδομητρίου μπορεί να συμβάλει στην εμφάνιση του αλλοιωμένου φαινότυπου των μακροφάγων, καθώς το βακτήριο *Escherichia coli* και η ενδοτοξίνη που παράγει έχουν αναφερθεί σε εμμηνορροϊκό και περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση σε αντίθεση με τον υγιή πληθυσμό (1, 119).

## **2.5. Φλεγμονή και αγγειογένεση**

Με βάση ερευνητικές μελέτες τις διεθνούς βιβλιογραφίας, τα μακροφάγα στο περιτοναϊκό υγρό αλλά και στους έκτοπους ενδομήτριους ιστούς, παράγουν και απελευθερώνουν τις κυτταροκίνες IL-1 και IL-8 (107). Η IL-8 έχει εντοπιστεί σε υψηλά επίπεδα στο περιτοναϊκό υγρό των ασθενών με ενδομητρίωση και προάγει την προσκόλληση των κυττάρων και την κυτταρική ανάπτυξη (1, 102, 107). Αντίστοιχα, η IL-1 μπορεί να προάγει την αγγειογένεση σε ενδομήτριες βλάβες και να παρεμβαίνει στην περιτοναϊκή ανοσολογική επιτήρηση (97).

Πολλαπλές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας υποδηλώνουν επίσης ότι μια βασική αιτία ανάπτυξης της ενδομητρίωσης, σε έδαφος φλεγμονής είναι η αγγειογένεση (96, 97). Η αγγειογένεση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων που περιλαμβάνει την εξαγγείωση αυξητικών παραγόντων, την αποικοδόμηση της εξωκυτταρικής μήτρας και το σχηματισμό νέου αυλού από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (120).

Η ενδομητρίωση εξαρτάται από την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων που προκύπτουν από την δραστηριότητα αγγειογενετικών παραγόντων, όπως ο VEGFR, ο VEGF, τα μονοπάτια σήματος τύπου Delta 4 (DII4)-Notch και η αγγειοποιητίνη (97, 120, 121).

Ο VEGF και ο VEGFR είναι παράγοντες που σχετίζονται με την αγγειογένεση και επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διαπερατότητα των κυττάρων. Μια μελέτη των Gagne et al. (2013) έδειξε ότι το επίπεδο του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα στο περιτοναϊκό υγρό ασθενών με ενδομητρίωση σταδίου IV είναι σημαντικά υψηλότερο σε σύγκριση με την ενδομητρίωση σταδίου I/II (121).

Ο VEGFC είναι ένας παράγοντας αγγειογένεσης που δρα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει τις αγγειογενετικές αποκρίσεις μέσω των οδών που μεσολαβούν από τον VEGFR2, για τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αγγειακής διαπερατότητας στην ενδομητρίωση (122). Στην ενδομητρίωση, η διεργασία της αγγειογένεσης μπορεί να επιτευχθεί μέσω ενός εκ των δύο διαφορετικών μηχανισμών, στα πλαίσια φλεγμονώδους υπόβαθρου: α) είτε μέσω της διάσπασης (ή εγκολεασμού), β) είτε τέλος μέσω της εκβλάστησης των ήδη υπάρχοντων αγγείων (123).

Πιο αναλυτικά, αναφορικά στον μηχανισμό της διάσπασης (splitting) ισχύει ότι προηγείται ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων εντός κάποιου αγγείου και άρα ο σχηματισμός αγγειακού αυλού. Έπειτα συντελείται σύντηξη του αυλού με κάποιον προϋπάρχοντα και έπειτα διάσπαση εξωκυτταρικού υλικού και των διατριχοειδικών στηλών για τον σχηματισμό καινούριων τριχοειδών αγγείων (123, 124). Η παρούσα διαδικασία αγγειογένεσης πρώτη φορά μελετήθηκε στα αγγεία του πνεύμονα, όπου και πρωτοπαρατηρήθηκε σε νεογνά αρουραίων (124).

Σε αυτή τη μορφή αγγειακού σχηματισμού, το τριχοειδικό τοίχωμα εκτείνεται μέσα στον αυλό προκειμένου να αποσχιστεί ένα απλό αγγείο σε δύο νέα αγγεία. Αυτή η διαδικασία χωρίζεται σε τέσσερις επιμέρους φάσεις αγγειογένεσης. Στην αρχή τα δύο αντιτιθέμενα τριχοειδικά τοιχώματα εγκαθιστούν μία ζώνη σύνδεσης μεταξύ τους μέσω μορίων ιντεγκρίνης (102, 123, 124).

Δεύτερον, οι κόμβοι των ενδοθηλιακών κυττάρων αναγνωρίζονται και η αγγειακή διπλοστιβάδα διαπερνάται από τους αυξητικούς παράγοντες και έτσι τα κύτταρα μπορούν να διεισδύσουν μέσα στον αυλό. Έπειτα, ένας πυρήνας δημιουργείται μεταξύ των δύο νέων αγγείων στη ζώνη σύνδεσης η οποία

συμπληρώνεται από περικύτταρα και μυοϊνοβλάστες. Τα κύτταρα αυτά αρχίζουν να σχηματίζουν ίνες κολλαγόνου IV μέσα στον πυρήνα προκειμένου να διεγείρουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία να αναπτύξει τον αγγειακό αυλό πλήρως. Τέλος, ο πυρήνας μετασχηματίζεται (102, 123, 124).

Ο μηχανισμός αυτός αγγειογένεσης είναι βασικός επειδή αναδιοργανώνει τα ήδη υπάρχοντα κύτταρα. Επίσης, οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των τριχοειδών αγγείων χωρίς να πραγματοποιεί αύξηση στον αριθμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το παρόν είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην εμβρυϊκή ανάπτυξη όπου δεν υπάρχουν αρκετές πηγές στο να δημιουργήσουν ένα πλούσιο μικροαγγειακό δίκτυο με νέα ενδοθηλιακά κύτταρα (125).

Από την άλλη, η αγγειογένεση μέσω της διαδικασίας της εκβλάστησης (sprouting) φαίνεται να διεγείρεται από την υποξία και τις καταστάσεις στρες (104). Πράγματι, οι συνθήκες υποξίας ευνοούν την έκφραση γονιδίων τα οποία συμμετέχουν τόσο στην δημιουργία, όσο και στην ωρίμανση των αγγείων, όπως αυτό της συνθάσης του NO, της αγγειοποιητίνης-2 αλλά και του αυξητικού παράγοντα VEGF (123, 125). Επιπλέον, ακόμη και σε καταστάσεις χαμηλού pH, χαμηλής υδροστατικής πίεσης και έντονου στρες, τα γονίδια αυτά εκφράζονται ενεργά επάγοντας την διαφοροποίηση μικρών και μεγάλων αγγείων, τον σχηματισμό και την ωρίμανσή τους (125).

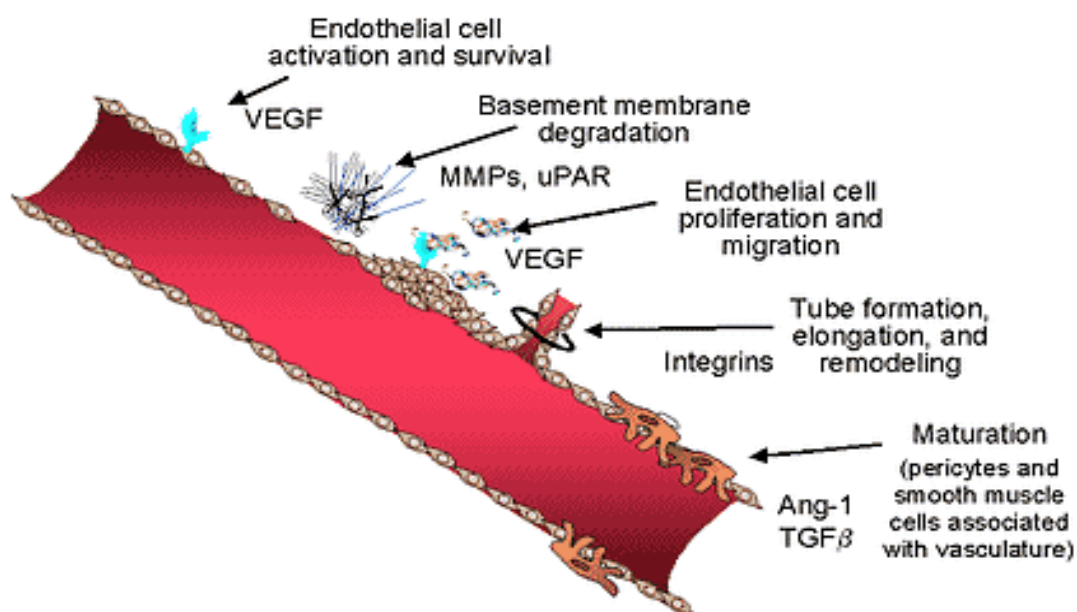
Η αγγειογένεση με εκβλάστηση αποτέλεσε την πρώτη αναγνωρισμένη μορφή αγγειογένεσης που επέρχεται σε αρκετά καλά αναγνωρισμένα και διατυπωμένα στάδια. Πρώτα, βιολογικά σήματα-γνωστά ως αγγειογενετικοί αυξητικοί παράγοντες ενεργοποιούν υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Στη συνέχεια, τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν ένζυμα που ονομάζονται πρωτεάσες και τα οποία επιτρέπουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα να διαφύγουν από το υπάρχον ενδοθηλιακό τοίχωμα (125).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στη συνέχεια πολλαπλασιάζονται στην περιβάλλουσα τους θεμέλια ουσία και δημιουργούν στέρες εκβλαστήσεις οι οποίες τελικά συνδέονται με γειτονικά αγγεία. Όσο μεγαλώνουν οι εκβλαστήσεις προς τη πηγή του αγγειογενετικού διεγέρτη, τα ενδοθηλιακά κύτταρα

μεταναστεύουν το ένα μετά το άλλο χρησιμοποιώντας μόρια προσκόλλησης, τις ιντεγκρίνες (125, 126).

Αυτές οι εκβλαστήσεις στη πορεία σχηματίζουν θηλιές προκειμένου να φτιάξουν έναν πλήρες αυλό αγγείου όσο τα κύτταρα μεταναστεύουν στη περιοχή της αγγειογένεσης (102). Η εκβλάστηση πραγματοποιείται σε ένα ποσοστό αρκετών χιλιοστών την ημέρα και επιτρέπει στα νέα αγγεία να μεγαλώνουν κατά μήκος του αγγειακού δικτύου. Είναι σημαντικά διαφοροποιημένες από την διαδικασία της διαχωριστικής αγγειογένεσης (125).

## The Angiogenic Process



Εικ. 2.4: Αγγειογένεση μέσω εκβλάστησης (126)

### 2.6. Στάδια αγγειογένεσης στην ενδομητρίωση

Η αγγειογένεση είναι μια πολύπλοκη διεργασία που επιτελείται μέσα από επιμέρους απαραίτητα και διακλαδιζόμενα μεταξύ τους στάδια. Με άλλα λόγια, η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων από κάποιο αγγειογενετικό ερέθισμα συνεπάγεται μια σειρά από μορφολογικά γεγονότα και βιοχημικά μονοπάτια που οδηγούν στο τέλος την ανάπτυξη και τον σχηματισμό νέων αγγείων (107, 123).

Η αγγειογένεση ελέγχεται από έναν αριθμό αυξητικών παραγόντων και από έναν αντίστοιχο αριθμό αναστολέων της παρούσας διεργασίας. Στους γνωστούς παράγοντες αγγειογένεσης περιλαμβάνονται ο βασικός συντελεστής ανάπτυξης των ινοβλαστών (bFGF), ο παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων (G-CSF), η ιντερλευκίνη 8 (IL-8), οι μετασχηματιστικοί παράγοντες ανάπτυξης  $\alpha$  και  $\beta$  (TGF- $\alpha$  και TGF- $\beta$ ) και φυσικά ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF). Οι αγγειογόνοι αναστολείς περιλαμβάνουν την αγγειοστατίνη, τις ιντερφερόνες  $\alpha$ ,  $\beta$  και  $\gamma$ , την ενδοστατίνη, την ιντερλευκίνη-12 ( IL-12 ) αλλά και τα ρετινοειδή (126).

Τα στάδια της αγγειογένεσης έχουν ως εξής (127):

1) **Στάδιο πρώτο:** Εδώ λαμβάνει χώρα η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε απόκριση στην δράση αγγειογενετικών παραγόντων. Σε αυτό το στάδιο καθοριστικής σημασίας είναι ο βασικός αυξητικός παράγοντας της ινοβλάστης (bFGF). Ο bFGF είναι ένας ισχυρός διεγερτικός παράγοντας για τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε αυτό το στάδιο επίσης σημασία έχει ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ο οποίος διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη μετανάστευση. Εδώ, θα πρέπει ακόμη να υπογραμμίσουμε ότι παρατηρείται αγγειοδιαστολή του ήδη υπάρχοντος αγγείου, γεγονός που εκτείνει τα ενδοθηλιακά κύτταρα και φαίνεται να αυξάνει την ευαισθησία τους στους διάφορους αυξητικούς παράγοντες.

2) **Στάδιο δεύτερο:** Σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται η αποδόμηση του τριχοειδούς τοιχώματος από εξωκυτταρικές πρωτεϊνάσες. Σε αυτό το στάδιο παίζουν ρόλο οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μήτρας (MMP): Οι MMP1 (κολλαγενάση) και MMP2 εκφράζονται κατά την αγγειογένεση και δρουν για την αποικοδόμηση των συστατικών της εξωκυτταρικής μήτρας. Σε αυτό το στάδιο δρουν όχι μόνο αυξητικοί παράγοντες αλλά και κυτταροκίνες που δεσμεύονται σε ειδικούς υποδοχείς της επιφάνειας

των ενδοθηλιακών κυττάρων. Μετά από την πρόσδεση στους υποδοχείς αυτών των ουσιών, τα ενδοθηλιακά κύτταρα αρχίζουν την αυξημένη έκκριση ενεργοποιητή του πλασμινογόνου αλλά και κολλαγενασών. Με την έκκριση των ουσιών αυτών αφενός αναστέλλεται η θρόμβωση και η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη ενώ ταυτόχρονα αποδομείται η βασική μεμβράνη των τριχοειδών αγγείων. Το τελευταίο βήμα είναι κρίσιμο για την αγγειογένεση, αφού σε αυτήν συμμετέχουν και τα προϊόντα αποδόμησης των βασικών μεμβρανών και του ινώδους πλέγματος.

3) **Τρίτο στάδιο:** Η αγγειογένεση συνεχεται με την μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε αυτό το στάδιο οι MMPs και η ουροκινάση βοηθούν τη μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων στην περιβάλλουσα εξωκυττάρια ουσία. Πράγματι, τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπό την επίδραση των διαφόρων αγγειογενετικών παραγόντων αυξάνουν στο κυτταρόπλασμα τους τα μεμβρανικά τους οργανίδια και ταυτόχρονα αναδιοργανώνουν τον κυτταροσκελετό της ακτίνης τους προκειμένου να σχηματίσουν προσεκβολές της κυτταρικής τους μεμβράνης. Οι προσεκβολές αυτές ονομάζονται ψευδοπόδια και είναι απαραίτητες για την μετανάστευση των κυττάρων και άρα την αγγειογένεση. Ο κυτταροσκελετός από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλληλεπιδρά με τα μόρια βινκουλίνη, ινονεκτίνη και με το κολλαγόνο προκειμένου να μεταναστεύσει ακολουθώντας πορεία προς το αγγειογενετικό ερέθισμα πάντα.

4) **Τέταρτο στάδιο:** Στο τρέχον στάδιο παρατηρείται πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το στάδιο του πολλαπλασιασμού ακολουθεί το στάδιο της μετανάστευσης των κυττάρων για τις επόμενες 24 ώρες και είναι κρίσιμο για την συνέχεια της πορείας-αυλού του νεοσυσταθέντος αιμοφόρου αγγείου. Ωστόσο, αξίζει να τονιστεί ότι όλα τα τριχοειδή διατηρούν την ικανότητα ανάπτυξης και επιμήκυνσης τους ακόμη και αν με ακτινοβολήση αναστείλουμε πλήρως την ικανότητα

πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων του αγγειακού τους τοιχώματος.

- 5) Πέμπτο στάδιο:** Στο στάδιο αυτό παρατηρείται αναδιοργάνωση των ενδοθηλιακών κυττάρων για τον σχηματισμό αγγειακών σωληνάρων με κεντρικό αυλό. Σε αυτό το στάδιο καθοριστική είναι η δράση της αγγειοποιητίνης (Ang 1). Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται από περιβάλλοντα στρωματικά κύτταρα και διευκολύνει την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά και τη σταθεροποίηση των νέων τριχοειδών αγγείων.

## **2.7. Ο ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών MMPs**

Η ενδομητρίωση αποτελεί μια φλεγμονώδη γυναικολογική νόσο, με πολλαπλά φλεγμονώδη μονοπάτια (102). Πέρα από τα μακροφάγα της περιτοναϊκής κοιλότητας, τις επιμέρους φλεγμονώδεις κυτταροκίνες: IL-1, IL-8, και τον TNF $\alpha$ , υπάρχουν και άλλα συστατικά που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την εξέλιξη αυτής της χρόνιας νόσου (1, 102).

Πιο συγκεκριμένα, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μήτρας (MMPs), είναι μόρια που επίσης εκλύονται στα πλαίσια φλεγμονής του περιτοναϊκού υγρού, και τα οποία εμπλέκονται στην προσκόλληση και την αγγειογένεση του ενδομητρίου (97, 102, 128). Ακριβέστερα, οι πρωτεΐνες MMPs συμμετέχουν στην υποβάθμιση των πρωτεϊνών που συγκρατούν τα τοιχώματα των αγγείων στερεά, μέσω πρωτεολυτικής διάσπασης. Αυτή η πρωτεόλυση επιτρέπει στα ενδοθηλιακά κύτταρα να διαφύγουν στο διάμεσο χώρο, όπως φαίνεται στη βλάστηση της αγγειογένεσης (128).

Η αναστολή της δράσης των πρωτεϊνών MMPs εμποδίζει το σχηματισμό νέων τριχοειδών αγγείων (114). Τα πρωτεολυτικά αυτά ένζυμα είναι αυστηρά ρυθμισμένα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της διαμόρφωσης των αγγείων, γιατί υπέρμετρη καταστροφή του εξωκυττάρου χώρου θα μείωνε άμεσα την ακεραιότητα της μικροκυκλοφορίας (114).

Τα έκτοπα εμφυτεύματα του ενδομητρικού κυττάρου έχουν δείξει αυξημένη έκφραση της κυκλο-οξυγενάσης-2, ενώ οι αναστολείς της κυκλο-

οξυγενάσης-2 έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό στη θεραπεία του κοιλιακού πόνου που σχετίζεται με την ενδομητρίωση (128). Η δραστηριότητα της MMP-2 στα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνεται σημαντικά από την PGE2 και καταστέλλεται από την αναστολή της COX-2 και όλοι αυτοί οι παράγοντες, είτε άμεσα είτε έμμεσα, μπορούν να επηρεάσουν την αγγειογένεση που σχετίζεται με την ενδομητρίωση (129).

Το παρόν υποδεικνύει ότι η βάση της παθογένεσης της ενδομητρίωσης αντιπροσωπεύεται από τον άξονα των προφλεγμονωδών κυτοκινών, ο οποίος ονομάστηκε από τους Soares et al. (2012) «το σταυροδρόμι των μοριακών μονοπατιών» (102, 129). Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τις κυτοκίνες TNF-α, ιντερλευκίνη-6, ιντερλευκίνη-8, την χημειοελκυστική πρωτεΐνη μονοκυττάρων, τον ανασταλτικό παράγοντα μακροφάγων και τον παράγοντα διέγερσης αποικίας μακροφάγων-κοκκιοκυττάρων), και τα μόρια MMP-1/-2/-3/-7/-9 και τον VEGF που εμπλέκονται στη νεοαγγειογένεση (130, 131, 132).

## **2.8. Ο ρόλος των πρωτεϊνικών υποδοχέων PPARs**

Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή υπεροξεισωμάτων (PPARs) είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων πυρηνικής ορμόνης των παραγόντων μεταγραφής που ενεργοποιούνται από συνδέτη (133). Η μεταγραφική δραστηριότητα των μορίων PPAR προκαλείται από ετεροδιμερή των PPAR με υποδοχέα ρετινοειδούς X (RXR), που στη συνέχεια συνδέονται με στοιχεία αλληλουχίας DNA (PPREs) σε ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων-στόχων (134).

Έχουν αναγνωρισθεί τρεις υποτύποι PPAR (PPAR-α, PPAR-δ (επίσης γνωστοί ως PPAR-β) και PPAR-γ (135). Μέσω των αλληλεπιδράσεών τους με ενδογενή λιπίδια και μεταβολίτες λιπιδίων, οι PPARs έχουν αναφερθεί ότι ρυθμίζουν πολλές μεταβολικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ομοιόστασης των λιπιδίων και της γλυκόζης, του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και της φλεγμονής (136).

Κάθε υποτύπος PPAR έχει αποδοθεί σε διαφορετικά επίπεδα έκφρασης και επιτελεί ξεχωριστές λειτουργίες, ειδικές για τον κάθε ιστό. Για παράδειγμα,



το PPAR-α εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε τύπους ιστών που υφίστανται σημαντικό καταβολισμό λιπαρών οξέων, όπως ο καφές λιπώδης ιστός, η καρδιά, το ήπαρ αλλά και το ενδομήτριο (137).

Δεδομένης της συσχέτισης της φλεγμονής με την παθογένεια της ενδομητρίωσης, οι ερευνητές έχουν στραφεί στην έρευνα της φαρμακευτικής θεραπείας της ενδομητρίωσης με PPAR-αγωνιστές (1, 138). Για την ακρίβεια, η πλειονότητα των ερευνών για την θεραπεία της ενδομητρίωσης, έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στην δράση των PPAR-γ αγωνιστών, οι οποίοι δρώντας ως ρυθμιστές της IL-6 και των μεταβολικών μονοπατιών της φλεγμονής, αναστέλλουν την αγγειογένεση, την προσκόλληση των κυττάρων του ενδομητρίου στα παραμήτρια, και την απόπτωση των κυττάρων (138-144).

Εντούτοις, υπάρχουν έμμεσες ενδείξεις ότι το μόριο PPAR-α επίσης έχει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της αγγειακής τροφοδότησης των ενδομητριωσικών βλαβών, καθώς αφενός επηρεάζουν την πορεία της αγγειογένεσης (143, 144) και αφετέρου εκφράζεται στον ενδομήτριο ιστό (145).

Πιο συγκεκριμένα, οι PPAR-α αγωνιστές φαίνεται να περιορίζουν την διεργασία της αγγειογένεσης, αυξάνοντας την έκφραση αντι-αγγειογενετικών μορίων, όπως η θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1), η γυπτενοσίδη 140 (gp140), αλλά και παραγόντων που συμμετέχουν στον καταρράκτη πρωτεϊνικών κινασών που πυροδοτεί μιτωτικές διαιρέσεις των καρκινικών κυττάρων (144-147).

Αν και τα παραπάνω ευρήματα, αφορούν στην αποτελεσματικότητα της θεραπείας με PPAR-α αγωνιστές σε ασθενείς με κακοήθεις νόσους, η κοινή αγγειογενετική πορεία τους με την ενδομητρίωση υποστηρίζει την αναγκαιότητα της διερεύνησης της σχέσης του PPAR-α με τους παθογενετικούς μηχανισμούς της ενδομητρίωσης, αλλά και της πιθανής ωφελιμότητας της φαρμακευτικής χρήσης των PPAR-α αγωνιστών σε ασθενείς με ενδομητρίωση (154, 147).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ PPAR

---

### 3.1. Εισαγωγή στην σχέση των PPARs με την φλεγμονή

Οι PPARs (ενεργοποιημένοι υποδοχείς πολλαπλασιαστών υπεροξεισωματίου) ανήκουν σε μια υπερ-οικογένεια ορμονικών υποδοχέων που ελέγχονται από πολλαπλασιαστές υπεροξεισωματίου (133-137). Ανακαλύφθηκαν περίπου πριν από μια δεκαετία και ταξινομήθηκαν ως ορφανά μέλη της υπερ-οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων (134).

Μέχρι σήμερα, έχουν ανακαλυφθεί και χαρακτηριστεί τρεις υποτύποι PPAR: PPAR-α, PPAR-β/δ, και PPAR-γ, οι οποίοι εκφράζονται σε διαφορετικούς ιστούς. Διαφορετικοί υποτύποι PPAR έχει αποδειχθεί ότι παίζουν κρίσιμο ρόλο σε σημαντικές ασθένειες και καταστάσεις όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, η αθηροσκλήρωση, ο καρκίνος, η γονιμότητα και πρωτίστως η φλεγμονώδης διεργασία ή πιο απλά, η φλεγμονή (136, 137, 148, 149).

Μεταξύ των πιο μελετημένων ρόλων των PPARs είναι εκείνος της εμπλοκής τους σε φλεγμονώδεις διεργασίες του οργανισμού (148). Πολυάριθμες μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας έχουν αποκαλύψει ότι οι αγωνιστές των PPAR-α και PPAR-γ ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (150, 151). Ωστόσο, δεν υπάρχουν δημοσιευμένες αναφορές σχετικά με τη συμμετοχή του PPAR-δ στον έλεγχο της φλεγμονής (149).

Οι πρωτεϊνικοί υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή υπεροξισώματος (PPARs) είναι μια υποοικογένεια πυρηνικών υποδοχέων/παραγόντων μεταγραφής που ενεργοποιούνται από συνδέτη που ανήκουν στην υπεροικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων (152). Αυτή η υπεροικογένεια αντιπροσωπεύεται από 48 μέλη στους ανθρώπους και 49 μέλη στα ποντίκια (153). Η υποοικογένεια PPAR αποτελείται από τρεις ισότυπους: PPAR-α (NR1C1), PPARβ/δ (NR1C2) και PPARγ (NR1C3), οι οποίοι κωδικοποιούνται από ξεχωριστά γονίδια (152) και παρουσιάζουν

επικαλυπτόμενη αλλά μοναδική κατανομή στους ιστούς (136) και ρυθμίζουν ειδικές μεταβολικές διεργασίες (154, 155, 156).

Οι PPAR ρυθμίζουν γονίδια που ρυθμίζουν το ενεργειακό ισοζύγιο, την ομοιόσταση της γλυκόζης, το μεταβολισμό TG και λιποπρωτεϊνών, τη σύνθεση λιπαρών οξέων, την οξειδωση, την αποθήκευση και εξαγωγή, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη φλεγμονή και τη λειτουργία του αγγειακού ιστού (156-161).

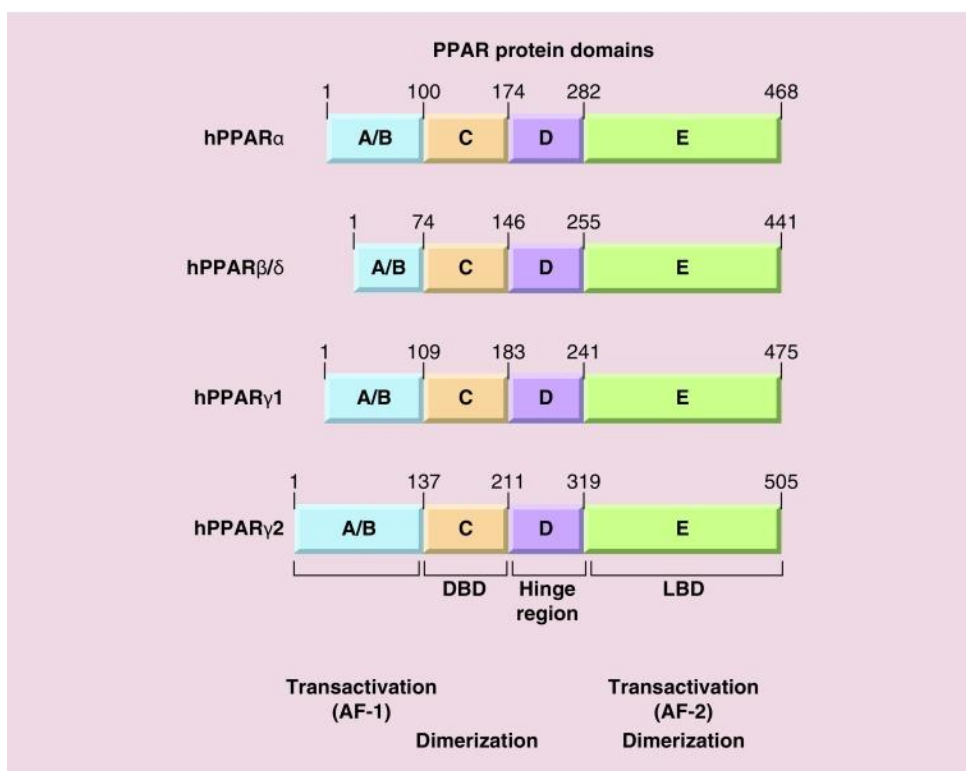
Η απορρύθμιση αυτών των μεταβολικών διεργασιών συμβάλλει στην παθογένεση φλεγμονωδών μεταβολικών ασθενειών όπως η παχυσαρκία, το Μεταβολικό Σύνδρομο, ο Σακχαρώδης διαβήτης, η NAFLD (μη αλκοολική κίρρωση του ήπατος) και η αθηροσκλήρωση (160, 162).

Λόγω της επίδρασης της φλεγμονής (οξείας ή χρόνιας), στην ποιότητα ζωής, η έρευνα κατευθύνεται προς την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών παραγόντων για την πρόληψη ή/και αναστροφή αυτών των διεργασιών. Μεταξύ των πιο υποσχόμενων ενώσεων που ερευνώνται επί του παρόντος για την επίτευξη αυτού του στόχου είναι οι αγωνιστές PPARs (149).

### **3.2. Οι πρωτεΐνες PPARs-α**

Ο ισότυπος PPAR-α μεταγράφεται από το ανθρώπινο γονίδιο PPARA, το οποίο αποτελείται από οκτώ εξόνια και βρίσκεται στη χρωμοσωμική περιοχή 22q12-q13.1 (163). Παρόμοια με άλλα μέλη της οικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων, ο PPAR-α περιέχει πέντε κύριους τομείς] που φαίνονται στην εικόνα 3.1 (162). Οι πέντε τομείς είναι: 1) το NH 2-τερματικό άκρο, περιοχή μετενεργοποίησης ανεξάρτητη από συνδετήρα (ή περιοχή A/B), 2) η περιοχή δέσμευσης DNA PPAR μήκους 70 αμινοξέων (DBD) ή η περιοχή C, η οποία περιέχει δύο εξαιρετικά συντηρημένα μοτίβα δακτύλων ψευδαργύρου και προάγει τη σύνδεση του υποδοχέα σε μια αλληλουχία DNA στην περιοχή προαγωγέα των γονιδίων-στόχων που είναι γνωστή ως πολλαπλασιαστής υπεροξισώματος στοιχείο απόκρισης (PPRE), 3) η περιοχή άρθρωσης ή ο τομέας D, που δρα ως θέση σύνδεσης για συμπαραγόντες και επίσης συνδέει το DBD με τον τομέα δέσμευσης συνδέτη (LBD), 4) το C-τερματικό, ή περιοχή E/F ή η LBD, η οποία είναι υπεύθυνη για την εξειδίκευση του προσδέματος και

την ενεργοποίηση της σύνδεσης PPAR στο PPRE που οδηγεί σε αυξημένη έκφραση των γονιδίων-στόχων, συμβάλλει στον διμερισμό του υποδοχέα με υποδοχείς ρετινοειδούς X (RXRs) και, 5) είναι μια τοποθεσία σύνδεσης συνενεργοποιητών και συν-κατασταλτών. και δύο τομείς ενεργοποίησης: ένα στο αμινοτελικό άκρο (AF-1) και ένα στο καρβοξυλικό άκρο (AF-2) (162).

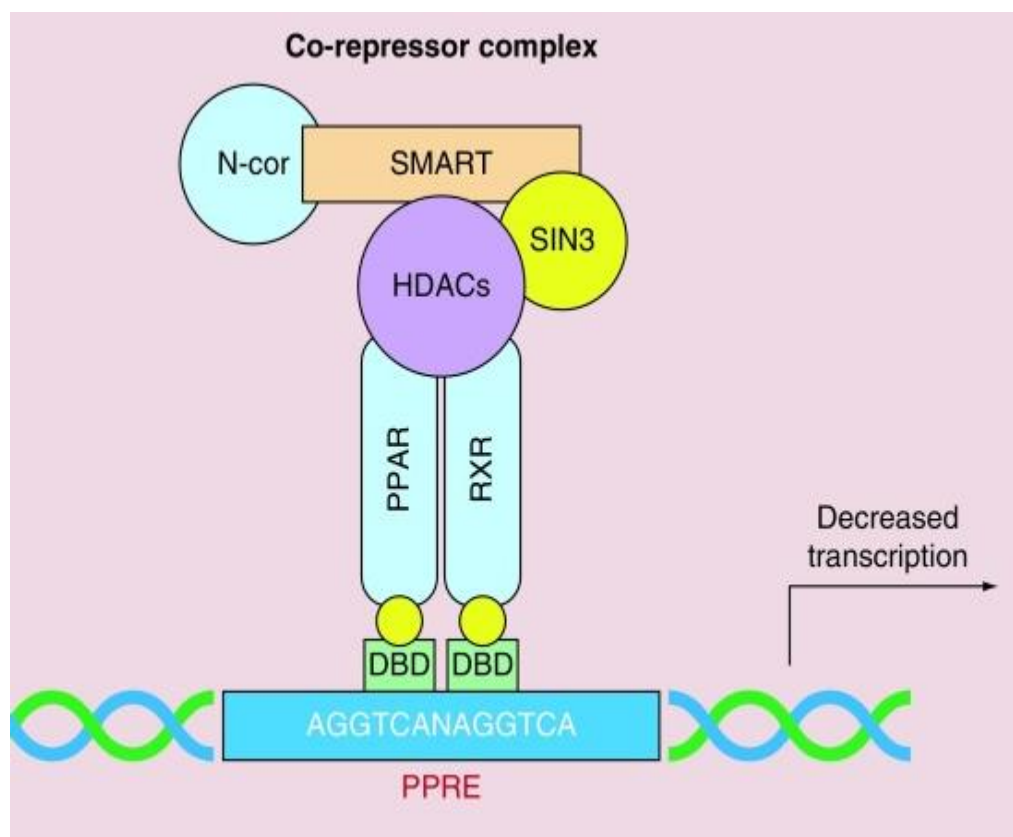


**Εικ. 3.1:** Σχηματική αναπαράσταση των κύριων τομέων των PPAR (162).

Η ενεργοποίηση AF-1 μόνη της είναι γενικά αδύναμη, αλλά συνεργάζεται με την AF-2 κατά τη δέσμευση συνδέτη, οδηγώντας σε αυξημένη μεταγραφή και έκφραση γονιδίου (162). Ο PPAR- $\alpha$ , όπως και άλλοι δύο PPAR, σχηματίζει ετεροδιμερή με RXRs ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) και συνδέεται με ένα συναινετικό *cis*-στοιχείο, το PPRE, στα DNA-στόχους, το οποίο αποτελείται από ένα δύο εξανουκλεοτίδιο, AGGTCA (ή σχετική αλληλουχία), που χωρίζονται από ένα ζεύγος βάσεων (AGGTCA<sub>n</sub>AGGTCA), που ονομάζεται άμεση επανάληψη 1 (162, 163).

Υπό τη μη δεσμευμένη κατάσταση, τα ετεροδιμερή PPAR/RXR συνδέονται με πολυσυστατικούς κατασταλείς που περιέχουν δράση αποακετυλάσης ιστόνης, όπως ο πυρηνικός υποδοχέας και ο μεσολαβητής

σιγής για τον υποδοχέα ρετινοειδών και θυρεοειδικών ορμονών, αναστέλλοντας έτσι τη γονιδιακή μεταγραφή (Εικόνα 3.2) (164).



**Εικ. 3.2:** Υπό μη δεσμευμένη κατάσταση, τα ετεροδιμερή PPAR/RXR δεσμεύονται σε πολυσυστατικούς καταστολείς που περιέχουν δραστικότητα αποακετυλάσης ιστόνης, όπως NcoR και SMART, αναστέλλοντας έτσι τη γονιδιακή μεταγραφή (162).

Αντίθετα, μετά από διέγερση από ενεργοποιητές PPAR- $\alpha$ , τα ετεροδιμερή PPAR- $\alpha$ /RXR διαχωρίζονται από τους συν-κατασταλτές και προσλαμβάνουν συν-ενεργοποιητές όπως ο συνενεργοποιητής υποδοχέα στεροειδών-1 και η πρωτεΐνη που δεσμεύει PPAR με δραστηριότητα ακετυλάσης ιστόνης και στη συνέχεια συνδέονται με το PPRE γονίδια στόχου για τη ρύθμιση της γονιδιακής μεταγραφής (162, 164).

### 3.3. Μεταβολική δραστηριότητα των PPARs- $\alpha$

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, ο πρωτεϊνικός υποδοχέας PPAR- $\alpha$  εκφράζεται κυρίως σε ιστούς του σώματος που απαιτούν υψηλή ενέργεια

όπως οι σκελετικοί μύες, η καρδιά, το ήπαρ και ο καφέ λιπώδης ιστός (165). Σημαντική έκφραση του PPAR-α εμφανίζεται επίσης στα εγγύς σωληνάρια του νεφρού, στον εντερικό βλεννογόνο, στα επινεφρίδια και στους περισσότερους τύπους κυττάρων που υπάρχουν στα αγγεία, συμπεριλαμβανομένων των ενδοθηλιακών κυττάρων (ECs), των λείων μυϊκών κυττάρων και των μονοκυττάρων/μακροφάγων (166, 167, 168).

Επιπλέον, έχει τεκμηριωθεί ότι στους ανθρώπους, η ενεργοποίηση της φιμπράτης του PPAR-α αυξάνει τα κυκλοφορόντα επίπεδα της αθηροπροστατευτικής HDL-χοληστερόλης, επάγει χαμηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, καθώς και ελεύθερων λιπαρών οξέων και απολιποπρωτεΐνης CIII (apo-CIII) και βελτιώνει το συνολικό αθηρογόνο λιπιδικό προφίλ πλάσματος (165) ασκώντας παράλληλα ευεργετικά αποτελέσματα στη φλεγμονή, την αντίσταση στην ινσουλίνη και το Μεταβολικό Σύνδρομο (162, 166, 169, 170).

Επιπρόσθετα, ο υποδοχέας PPAR-α παίζει κρίσιμο ρυθμιστικό ρόλο στις μεταβολικές λειτουργίες του ήπατος, των σκελετικών και καρδιακών μυών, αλλά και του αγγειακού συστήματος (162). Πράγματι, ο PPAR-α ελέγχει την έκφραση ενός ευρέος φάσματος ηπατικών γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα/πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην πρόσληψη λιπαρών οξέων και την ενδοκυτταρική μεταφορά, την ενεργοποίηση λιπαρών οξέων (σχηματισμός ακυλίου-CoA), την οξειδωση λιπαρών οξέων, τη λιπογένεση, την κετογένεση και τον μεταβολισμό λιποπρωτεϊνών/χοληστερόλης (162).

Ακόμη, εξαιρετικά ενδιαφέρουσα είναι η μεταβολική δραστηριότητα της πρωτεΐνης PPAR-α στους σκελετικούς μύες και στο μυοκάρδιο (162). Οι σκελετικοί και το μυοκάρδιο είναι επίσης κύριες θέσεις οξειδωσης λιπαρών οξέων (162). Σε διαφοροποιημένους καλλιεργημένους ανθρώπινους μυοσωληνίσκους, η μεσολαβούμενη από αγωνιστή (GW7647) ενεργοποίηση του PPAR-α οδηγεί σε αυξημένη οξειδωση λιπαρών οξέων, μειωμένη συσσώρευση τριγλυκεριδίων, και ρύθμιση προς τα πάνω του PDK4 (171, 172).

### 3.4. Ο ρόλος των PPARs-α στη φλεγμονή

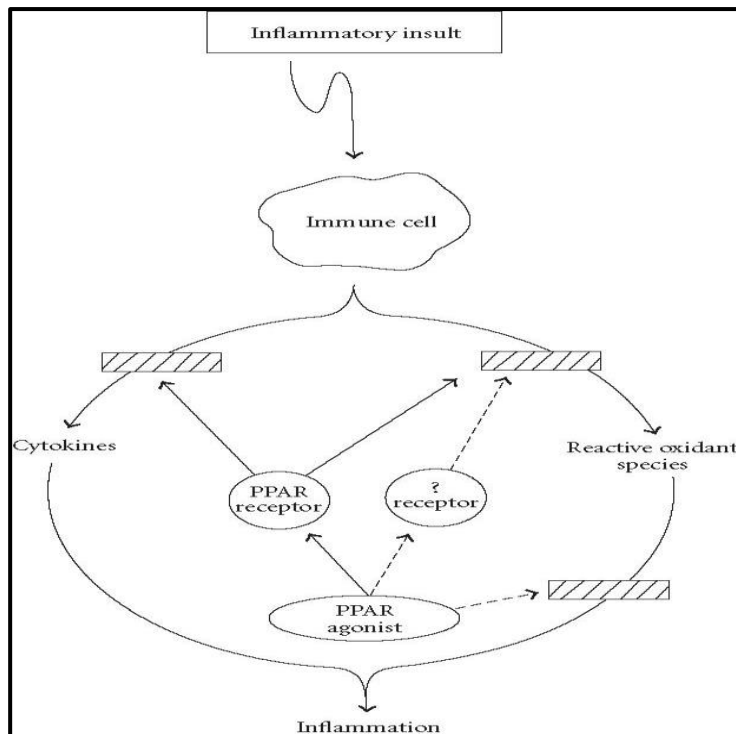
Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία οι αγωνιστές των PPAR-α ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*, γεγονός το οποίο υποδεικνύει άμεσα τον ρόλο των μορίων PPARs-α στην φλεγμονή (150, 151). Για την ακρίβεια, σε πρόσφατα δημοσιευμένη ερευνητική μελέτη σε αρουραίους, χρησιμοποιώντας το μοντέλο φλεγμονής οίδηματώδους ποδιού που προκαλείται από την καραγενάνη, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι αγωνιστές PPARs-α εμποδίζουν τη φάση έναρξης, αλλά όχι την όψιμη φάση της φλεγμονώδους διαδικασίας (173).

Το παραπάνω εύρημα υποστηρίζει ότι, παρά το γεγονός ότι δεν φαίνεται να υπάρχει αποκλειστική εξάρτηση της φλεγμονής από τους PPARs-α, οι τελευταίες παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των φλεγμονωδών αποκρίσεων και στην πυροδότηση της φλεγμονώδους διεργασίας (173). Συγκεκριμένα, η PPAR-α φαίνεται να περιορίζει την έκφραση φλεγμονωδών γονιδίων που ρυθμίζουν την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, όπως διαφόρων κυτοκινών της φλεγμονής (174).

Η πρώτη ένδειξη του ρόλου του PPAR-α στη ρύθμιση της φλεγμονής φάνηκε από τις έρευνες που κατέδειξαν ότι το λευκοτριένιο B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), ένα ισχυρό χημειοτακτικό φλεγμονώδες εικοσανοειδές, συνδέεται με το PPAR-α και επάγει τη μεταγραφή των γονιδίων των οδών ω- και β- οξειδωσης που μπορεί να καταβολίσει το ίδιο το LTB<sub>4</sub> (162).

Η ενεργοποίηση του μορίου PPAR-α από μη στεροειδείς αντιφλεγμονώδεις παράγοντες συμβάλλει στις αντιφλεγμονώδεις, αντιπυρετικές και αναλγητικές ιδιότητες αυτών των φαρμάκων μέσω της διέγερσης των οξειδωτικών οδών που εμπλέκονται στον καταβολισμό των εικοσανοειδών (162, 175).

Η αναστολή της σύνθεσης προφλεγμονωδών μορίων, όπως η IL-6 και οι προσταγλανδίνες, φαίνεται επίσης να συμμετέχει στον έλεγχο της φλεγμονής με τη μεσολάβηση της PPAR-α, μέσω της μειωμένης δραστηριότητας του παράγοντα φλεγμονής NF-κB (176).



**Εικόνα 3.3:** Ένα σχήμα που απεικονίζει πιθανούς μηχανισμούς μέσω των οποίων ασκούνται αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα από αγωνιστές PPAR-α. Οι συνεχείς γραμμές αντιπροσωπεύουν πιθανές επιδράσεις που προκαλούνται από PPAR-α. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν προτεινόμενους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι αγωνιστές PPAR-α μπορούν να δράσουν μέσω μηχανισμών ανεξάρτητων από PPAR για τη μείωση της φλεγμονής (173).

Εκτός του ρόλου τους στη μείωση της φλεγμονής, αρκετές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας υποστηρίζουν ότι οι αντιφλεγμονώδεις και οι αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες των αγωνιστών PPAR-α τους προσδίδουν και επιπρόσθετες αντικαρκινικές ιδιότητες (162).

Αυτό υποστηρίζεται καθώς έχει δείχθει από ερευνητικές μελέτες ότι οι αγωνιστές PPAR-α έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν τη σηματοδότηση μέσω VEGF, μέσω της καταστολής της δέσμευσης με το DNA στην θέση Sp1, καθώς επίσης και μέσω του μεταβολισμού των εποξυμεικοσατριοϊκών οξέων (EETs) σε προ-αγγειογενή λιπίδια (176, 177, 178).



Ο PPAR-α εκφράζεται σε μεταβλητά επίπεδα σε διάφορα φλεγμονώδη κύτταρα συμπεριλαμβανομένων ανθρώπινων μονοκυττάρων, λεμφοκυττάρων, μακροφάγων, αλλά και ιστικών περιοχών πλούσιων σε μακροφάγα, όπως επί των ανθρώπινων αθηροσκληρωτικών αγγείων (162).

Το PPAR-α είναι η κυρίαρχη ισομορφή που εκφράζεται στα λεμφοκύτταρα αλλά η έκφρασή του καταστέλλεται μετά την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων (162, 175, 179, 180). Επιπλέον, τα προ/προ-B-κύτταρα μειώνονται σημαντικά στον μυελό των οστών ποντικών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με PPAR-α πρόσδεμα WY-14643, υποδεικνύοντας ότι ο PPAR-α εμπλέκεται στην ανάπτυξη των B-κυττάρων (162).

Η ενεργοποίηση συνδέτη του PPAR-α στα μακροφάγα αναστέλλει την ενεργοποίηση των επαγωγίμων NOS, τη σύνθεση του ιστικού παράγοντα, της μεταλλοπεπτιδάσης-9 μήτρας (ονομάζεται επίσης ζελατινάση Β) και την έκκριση TNF- α (162, 175, 179-183). Η ενεργοποίηση αγωνιστών του PPAR-α έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνει την έκφραση του υποδοχέα που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια σε μονοκύτταρα και μακροφάγα, την έκφραση της προφλεγμονώδους κυτοκίνης IFN $\gamma$  και IL-2 σε ανθρώπινα T κύτταρα και αναστέλλει την έκφραση της οστεοποντίνης σε ανθρώπινα μακροφάγα μέσω καταστολής της AP- 1 δραστηριότητα (162).

Ομοίως, οι ενεργοποιητές PPAR-α προκαλούν επιταχυνόμενη αποικοδόμηση της ισχυρής προφλεγμονώδους έκφρασης LTB<sub>4</sub> του χημειοελκυστικού ουδετερόφιλων σε κοκκιοκύτταρα και μακροφάγα και προάγουν την απόπτωση και την κάθαρση των παλαιών μονοκυττάρων/μακροφάγων (162).

Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι το LTB<sub>4</sub> είναι ένας φυσικός συνδέτης του PPAR-α και, επομένως, το LTB<sub>4</sub> παίζει πιθανότατα διπλό ρόλο, καθώς, μπορεί αρχικά να ενισχύσει τη φλεγμονώδη απόκριση, αλλά στη συνέχεια να προκαλέσει ένα γενετικό πρόγραμμα που τελικά εξασθενεί τη φλεγμονή (162).

### 3.5. Αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα των PPARs-α σε αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, ο πρωτεϊνικός υποδοχέας PPAR-εκφράζεται σε αξιόλογες ποσότητες στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (VSMCs) και παίζει αντιφλεγμονώδη ρόλο (162). Οι αγωνιστές PPAR-α αναστέλλουν τη σύνθεση προφλεγμονωδών μεσολαβητών όπως η μεσολαβούμενη από την IL-1 ενεργοποίηση της παραγωγής IL-6 (δείκτης για την ενεργοποίηση SMC) και της προσταγλανδίνης μαζί με την κυκλοοξυγενάση-2 μέσω της καταστολής της σηματοδότησης NF-κΒ στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα-VSMCs (162, 175, 179-183).

Η θεραπεία των VSMCs με συνδέτες PPAR-α (WY-14643, φαινοφιμπράτη) και PPAR $\gamma$  (ροσιγλιταζόνη, τρογλιταζόνη) οδηγεί σε ενισχυμένη έκφραση του HO-1, ενός μεσολαβητή των αντιφλεγμονωδών και αντιπολλαπλασιαστικών δράσεων του PPAR-α/ $\gamma$  (162).

Οι συνθετικοί συνδέτες PPAR-α, οι φιμπράτες, αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των VSMC στοχεύοντας τις οδούς NF-κΒ, TGF- $\beta$ /Smad και MAPK και τον εξαρτώμενο από κυκλίνη αναστολέα κινάσης και ογκοκατασταλτικό CDKN2A/p16INK4a, οδηγώντας σε αναστολή της πρωτεϊνικής φώσεως της φωσφορεΐας, μειωμένη μετάβαση G1 στη φάση S και λιγότερη υπερπλασία έσω χιτώνια *in vivo* (162, 175, 179-183).

Ακόμα, ο ειδικός για PPAR-α προσδέτης, το εικοσιδυαεξανοϊκό οξύ, αποδείχθηκε ότι ασκεί προαποπτωτικές επιδράσεις σε VSMCs *in vitro* με τη μεσολάβηση του καταρράκτη σηματοδότησης p38 MAPK (182, 183).

Εντός των αγγείων, ο υποδοχέας PPAR-α ρυθμίζει επίσης τη διαδικασία της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης, προάγοντας την εκροή χοληστερόλης από τα φορτωμένα με χοληστερόλη μακροφάγα σε δέκτες ApoA-I/HDL (162). Επιπλέον, η ενεργοποίηση του PPAR-α έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση της συσσώρευσης τριγλυκεριδίων και την αυξημένη μετατόπιση της ενδοκυτταρικής χοληστερόλης στη μεμβράνη του πλάσματος για την εκροή της (162).

Στα πλαίσια των παραπάνω παρατηρήσεων, βρέθηκε ότι οι αγωνιστές PPAR-α ρυθμίζουν προς τα πάνω την έκφραση του mRNA και της πρωτεΐνης, αλλά μειώνουν την έκκριση του ενζύμου λιποπρωτεϊνικής λιπάσης που υδρολύει τα τριγλυκερίδια και μειώνουν τη δραστηριότητα του ACAT-1 (162). Παρομοίως, η θεραπεία με αγωνιστή PPAR-α έχει ευεργετική δράση στα αγγειακά μακροφάγα, καθώς ρυθμίζει προς τα κάτω την έκφραση του υποδοχέα υπολειμματικού τύπου apoB-48 και μειώνει την πρόσληψη γλυκοζυλιωμένης LDL και πλούσιων σε TG υπολειπόμενων σωματιδίων λιποπρωτεΐνης (162).

Επιπρόσθετα, έχει φανεί ότι, η θεραπεία ανθρώπινων μακροφάγων με αγωνιστές PPAR-α αυξάνει την έκφραση των πρωτεϊνών εκροής χοληστερόλης, του μεταφορέα κασέτας-1 που δεσμεύει το ATP (κασέτα-1, υποοικογένεια A, μέλος 1), CLA-1/SR-B1 (ένας υποδοχέας HDL ο οποίος, εκτός από τον μεταφορέα κασέτας-1 που δεσμεύει το ATP, μεσολαβεί στην κυτταρική εκροή χοληστερόλης) και στις πρωτεΐνες NPC1 και NPC2, που με την σειρά τους, διευκολύνουν τη μεταφορά της ελεύθερης χοληστερόλης έξω από το λυσόσωμα μετά από ενδοκυττάρωση της LDL που προκαλείται από υποδοχείς και συμμετέχουν στην κυτταρική διακίνηση χοληστερόλης συμπεριλαμβανομένης της μεταφοράς χοληστερόλης στις μεμβράνες πλάσματος για εκροή (162, 182).

Με άλλα λόγια, το μόριο υποδοχέας PPAR-α έχει καθοριστικό ρόλο στην μεταβολική και στην συνέχεια φλεγμονώδη διεργασία της αθηρωμάτωσης των αγγείων στον άνθρωπο (162). Μάλιστα, ο ρόλος του PPAR-α στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης έχει μελετηθεί εκτενώς και για αυτό το λόγο φάρμακα που βασίζονται στον έλεγχο της ρύθμισής του χορηγούνται για τον έλεγχο των επιπέδων των λιποπρωτεϊνών ασθενών με στεφανιαία νόσο (162).

### **3.6. Λειτουργίες των PPARs-α και νοσήματα**

Σύμφωνα με τα τρέχοντα ερευνητικά δεδομένα, το γονίδιο της πρωτεΐνης PPAR-α εκφράζεται «καθολικά» στον ανθρώπινο οργανισμό, και κυρίως σε ιστούς που απαιτούν οξειδωση λιπαρών οξέων ως πηγή ενέργειας, κυρίως σε μεταβολικούς ιστούς όπως ο φαιός λιπώδης ιστός, το ήπαρ, η καρδιά και οι

νεφροί (134). Οι ιδιότητες του μορίου PPAR-α που σχετίζονται με τα παθογενετικά μονοπάτια νοσημάτων, όπως για παράδειγμα το μεταβολικό σύνδρομο και ορισμένες μορφές καρκίνου, είναι περίπλοκα αλληλένδετες στον τομέα του μεταβολισμού των λιπιδίων, της γλυκόζης και των αμινοξέων, καθώς και της φλεγμονής, του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και της απόπτωσης (184).

**Πίνακας 1:** Σύνοψη λειτουργιών και μηχανισμών του PPAR-α.

Λειτουργίες	Μηχανισμοί
Μεταβολισμός και ρύθμιση των λιπιδίων (185, 186-188 )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Προαγωγή της β-οξειδωσης</li> <li>2. Κάθαρση τριγλυκεριδίων ορού και αύξηση HDL</li> <li>3. Επαγωγή ηπατικής λιπογένεσης</li> </ol>
Ρύθμιση γλυκόζης (189)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Μείωση της απόρριψης γλυκόζης (στους σκελετικούς μυς)</li> <li>2. Βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη</li> <li>3. Αναστολή της αερόβιας γλυκόλυσης (στα καρκινικά κύτταρα)</li> </ol>
Ρύθμιση αμινοξέων (188)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Μείωση του ρυθμού μεταβολισμού αμινοξέων ως μέρος της απόκρισης της πείνας</li> </ol>
Ρύθμιση της φλεγμονής (162, 185, 190)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Μείωση της γονιδιακής έκφρασης των φλεγμονωδών κυτοκινών, π.χ., IκB, IL-6, TNFα</li> <li>2. Μείωση των οδών AP-1 και NF-κB</li> <li>3. Αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών α ή τον υποδοχέα οιστρογόνου</li> </ol>
Καρδιαγγειακό όφελος (191)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ενεργοποίηση ενδοθηλιακής συνθάσης μονοξειδίου του αζώτου (eNOS)</li> </ol>
Επίδραση κατά του όγκου (185, 186, 189, 192-205)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Αναστολή της αγγειογένεσης</li> <li>2. Προτεραιότητα του FAO στη γλυκόλυση και διαταραχή της ισορροπίας του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων για την αναστολή της παραγωγής ATP . ενδοκανναβινοειδών . _</li> </ol>

Επίδραση υπέρ της ογκογένεσης

1. Μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα και έκφραση του προτύπου CPT1A
2. Προώθηση του CYP1B1, το οποίο εμπλέκεται στη βιοενεργοποίηση των προκαρκινογόνων

### 3.7. Λειτουργίες των PPARs-α και καρκίνος

Τα πρωτεϊνικά μόρια PPARs-α μέσω των πολλαπλών βιοχημικών και μοριακών μονοπατιών στα οποία συμμετέχουν, φαίνεται να έχουν άμεση βιολογική σύνδεση με ορισμένες μορφές κακοήθειας, όπως ο καρκίνος του πνεύμονα (184).

#### **Ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων:**

Το μόριο PPAR-α διατηρεί τον μεταβολισμό των λιπιδίων και την ομοιόσταση μέσω της τροποποίησης των γονιδίων της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, της απολιποπρωτεΐνης (π.χ. APOA1, APOA2, APOA5 και APOC3), καθώς και εκείνων που εμπλέκονται στη μεταφορά και την οξείδωση λιπαρών οξέων (π.χ. FABP1, FABP3, ACS, ACO, CPT1 και CPT2), μεταβολισμό λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL) (π.χ. PLTP) και σύνθεση κετόνης (π.χ. HMGCS2), που λαμβάνουν χώρα σε μιτοχόνδρια, υπεροξισώματα και μικροσώματα (184, 185, 186).

Με την ενεργοποίηση του υποδοχέα PPAR-α, προκύπτει από κοινού η επίδραση της σημαντικής κάθαρσης των τριγλυκεριδίων ορού και της αύξησης της HDL χοληστερόλης, καθώς και η παραγωγή ενέργειας (162, 184). Επιπλέον, η πρωτεΐνη PPAR-α παίζει επίσης βασικό ρόλο στην απόκριση της πείνας, η οποία υποστηρίζεται από αυξανόμενα στοιχεία σχετικά με τη ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων και των αμινοξέων (184).

Η καταβολική δράση του PPAR-α στα λιπαρά οξέα προκαλεί αυξημένη ροή λιπαρών οξέων από τους περιφερικούς ιστούς (π.χ. σκελετικούς μύες και λιπώδη ιστό), εκ των οποίων η υψηλή περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια σχετίζεται σημαντικά με την αντίσταση στην ινσουλίνη, στο ήπαρ (162, 184). Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί επίσης να ανακουφίσει τη μεσολαβούμενη από FA αναστολή της διεγερόμενης από την ινσουλίνη οξειδωτικής και μη οξειδωτικής διάθεσης γλυκόζης στους σκελετικούς μύες, βελτιώνοντας έτσι την αντίσταση στην ινσουλίνη (184).

Επιπλέον, η επαγωγή της ηπατικής λιπογένεσης του PPAR-α συνεργάζεται με την ινσουλίνη μέσω της ρύθμισης της εξαρτώμενης από την πρωτεΐνη-1c (SREBP1c) οδού που δεσμεύει το ρυθμιστικό στοιχείο της στερόλης, ενός μεταγραφικού παράγοντα που ρυθμίζει την έκφραση λιπογενούς ενζύμου και τη δράση της ινσουλίνης τόσο στους υδατάνθρακες όσο και στα λιπίδια (186) .

### **Αναστολή της Γλυκόλυσης:**

Τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από το μοναδικό μεταβολικό τους μονοπάτι, δηλαδή το φαινόμενο Warburg, το οποίο στην ουσία είναι η γλυκόλυση σε μικροπεριβάλλον επαρκές σε οξυγόνο (184). Κάτω από υψηλή ενεργειακή ζήτηση και υπερβολικό οξειδωτικό στρες, ορισμένα καρκινικά κύτταρα υιοθετούν ακόμη και μια υβριδική μεταβολική μέθοδο, που χρησιμοποιεί τόσο τη γλυκόλυση όσο και την οξειδωτική φωσφορυλίωση (OXPHOS) για την παροχή ενέργειας (184). Κατά την ενεργοποίηση, ο PPAR-α περιορίζει τα μιτοχονδριακά OXPHOS, από τα οποία δεν επηρεάζονται τα μη καρκινικά κύτταρα, και αυξάνει την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), προκαλώντας τη συσσώρευση και την έξαρση του οξειδωτικού στρες στα μιτοχόνδρια των καρκινικών κυττάρων (184, 190, 194).

Υπάρχει επίσης μια προώθηση της οδού σηματοδότησης της ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης (AMPK) παράλληλα με την ενεργοποίηση του PPAR-α (194), το οποίο αυξάνει την οξείδωση των λιπαρών οξέων ενώ αναστέλλει δυναμικά τη γλυκόλυση, περιορίζοντας περαιτέρω την παραγωγή ATP (184, 190).

Συνεργικά, τα μιτοχόνδρια είναι εξασθενημένα τόσο δομικά όσο και λειτουργικά. Έτσι, η ανεπαρκής παραγωγή ενέργειας αποτυγχάνει να καλύψει την εντατική ενεργειακή ζήτηση των υψηλά πολλαπλασιαστικών καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η βιωσιμότητα και ακόμη και να προκαλείται διακοπή του κυτταρικού κύκλου, ανταγωνίζοντας την ανάπτυξη και τη μετάσταση του καρκίνου (218).

### **Πρώθηση της Κέτωσης:**

Στην διεθνή βιβλιογραφία έχει διευκρινιστεί η ιεράρχηση της β-οξειδωσης από τον PPAR-α ως απόκριση ασιτίας (184). Κατά τη δέσμευση του αγωνιστή, μια μείωση στη συγκέντρωση της ουρίας, ένας δείκτης του ρυθμού μεταβολισμού των αμινοξέων, συνοδεύεται από αύξηση της συγκέντρωσης του σώματος κετόνης (184, 186). Τα κετονοσώματα δεν είναι χρήσιμα για την παροχή ενέργειας για τα περισσότερα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, για το μελάνωμα, η έκφραση του κετογονικού γονιδίου είναι προ-ογκογονική, η οποία χαρακτηρίζεται από ενδοκυτταρική συσσώρευση ακετοξικού οξέος (184).

Είναι ενδιαφέρον ότι το ακετοξικό μετατρέπεται αρκετά γρήγορα σε β-υδροξυβουτυρικό στο κυκλοφορικό σύστημα και στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος, και το τελευταίο καταστέλλει τη φλεγμονή, από το χαμηλόβαθμο της οποίας χαρακτηρίζεται πάντα το μικροπεριβάλλον του καρκίνου, παρά η ανοσοκαταστολή (186). Ως ο κύριος ρυθμιστής της φυσιολογικής απόκρισης στη βιοσύνθεση του σώματος νηστείας και κετονών, ο PPAR-α έχει πολλά υποσχόμενες δυνατότητες στην εφαρμογή σε θεραπείες μελανώματος (184).

### **Ρύθμιση της Φλεγμονής και eNOS:**

Οι ιστοί που εμπλέκονται σε μεγάλο βαθμό στον παγκόσμιο μεταβολισμό (π.χ. λιπώδης ιστός, ήπαρ, σκελετικοί μύες και αγγειακά τοιχώματα) είναι επιρρεπείς σε φλεγμονή όταν υπάρχει μεταβολική διαταραχή (219). Χρόνια χαμηλού βαθμού φλεγμονή και μεταβολικές διαταραχές στην ομοιόσταση των λιπιδίων και της γλυκόζης συχνά συνυπάρχουν, γεγονός που καθιστά τον PPAR, τον πλειοτροπικό ρυθμιστή του μεταβολισμού, ισχυρό υποψήφιο στη ρύθμιση της έμφυτης ανοσίας σε διάφορες μεταβολικές ασθένειες (184).

Ο PPAR-α ασκεί άμεσα ή έμμεσα ένα αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα: η ενεργοποίηση από το λευκοτριένιο B<sub>4</sub> περιορίζει τη δική του δράση και εξασθενεί τη φλεγμονώδη απόκριση μέσω αρνητικής ανάδρασης. διεγείρεται από τον PPAR-α, η αυξημένη γονιδιακή έκφραση του IκB, ενός αναστολέα NF-κB, μαζί με την αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης του PPAR-α με το p65 και το c-Jun, ρυθμίζει προς τα κάτω την πρωτεΐνη ενεργοποιητή-1 (AP-1) και τον NF-κB μονοπάτι και επομένως παρεμβαίνει στην προφλεγμονώδη δραστηριότητα (190) και η αλληλεπίδραση του PPAR-α με τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών α ή τον υποδοχέα οιστρογόνου επίσης δια-καταστέλλει άλλους προφλεγμονώδεις μεταγραφικούς παράγοντες (185).

Επιπλέον, κατά την ενεργοποίηση, ο PPAR-α παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συνθάσης του ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου (eNOS) με μη μεταβολικό τρόπο (191). Η βιωσιμότητα του eNOS μεταφράζεται σε σταθερή παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, ενός αγγειοδιασταλτικού και αντιθρομβωτικού προστατευτικού επιθηλίου, του οποίου η δραστηριότητα διακυβεύεται σοβαρά σε ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις και αρθροσκλήρωση (184).

### **Καταστολή Αγγειογένεσης:**

Δεδομένου ότι η άφθονη παροχή αίματος είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη του όγκου, η αγγειογένεση είναι καθοριστική για την εξέλιξη του όγκου, που περιλαμβάνει την αποικοδόμηση της περιβάλλουσας μήτρας, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, τη μετανάστευση, τη διαφοροποίηση και το σχηματισμό σωλήνων (184). Στην οικογένεια οξειδάσης NADPH (NOX), καθώς τα NOX2, NOX4 και NOX1 εκφράζονται όλα σε ενδοθηλιακά κύτταρα, τα NOX2 και NOX4 εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ενώ το NOX1 μεσολαβεί στη μετανάστευση και τη βλάστηση των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά όχι στον πολλαπλασιασμό (192).

Ο PPAR-α ρυθμίζει προς τα πάνω τη γονιδιακή έκφραση της ενδοστατίνης και της θρομβοσπονδίνης 1, που είναι αγγειογόνοι αναστολείς. και ρυθμίζει προς τα κάτω τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF). και το κυτόχρωμα P450-2C (CYP-2C), η νεοαγγείωση που



προκαλείται από το πρώτο *in vivo* και *in vitro* αναφέρεται ότι εξαρτάται από το NOX2 (185, 192). Είναι ενδιαφέρον ότι ο PPAR-α έχει επίσης βρεθεί ως ένας κατάντη ρυθμιστής στην αγγειογένεση που προκαλείται από NOX1, της οποίας η δραστηριότητα καταστέλλεται από την παρουσία του NOX1 και σε κύτταρα με έλλειψη NOX1, η ρυθμισμένη προς τα πάνω έκφραση του PPAR-α μπλοκάρει την αγγειογενετική σηματοδότηση που απαιτείται στη μετανάστευση, τη βλάστηση και την αγγειογένεση των ενδοθηλιακών κυττάρων (192).

### **Διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος:**

Η ανοσοθεραπεία έχει αποκτήσει σημαντική ώθηση στη θεραπεία του καρκίνου, χρησιμοποιώντας εμβόλια, αντισώματα, T κύτταρα και κυτοκίνες για να στοχεύσει το ανοσοποιητικό σύστημα για να περιορίσει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων (184). Το πολύτιμο πλεονέκτημα της ρύθμισης του μεταβολισμού του PPAR-α έχει δημιουργήσει στενή σύνδεση με τη δημιουργία, την επιμονή, τη μετατροπή και την απόπτωση των T-κυττάρων, των οποίων οι μεταβολικές οδοί διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη λειτουργία και την επιβίωση των οποίων, επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό την αποτελεσματικότητα και την έκβαση του η εφαρμογή (206).

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα κύτταρα T-eff χρησιμοποιούν τον κλασικό μεταβολικό τρόπο—αερόβια γλυκόλυση—για να διατηρήσουν και να ανακτήσουν τη λειτουργία τελεστή, η οποία είναι η μετατροπή από κύτταρα μνήμης που επιβιώνουν μακράς διάρκειας σε τελεστές ενώ τα κύτταρα μνήμης T εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την οξειδωση λιπαρών οξέων (FAO) και το OXPHOS των μιτοχονδρίων για ενέργεια (193).

Σύμφωνα με μελέτες, ωστόσο, αποδεικνύεται ότι στο μικροπεριβάλλον του όγκου, με τους μεταβολικούς περιορισμούς της υπογλυκαιμίας και της υποξίας, λόγω της μείωσης της γλυκόζης που προκαλείται από τα καρκινικά κύτταρα, τα οποία υιοθετούν τη γλυκόλυση για παραγωγή ενέργειας (220), τα κύτταρα T-ενεργών αποδίδουν καλύτερα ογκοκτόνα επίδραση με αυξημένο μιτοχονδριακό μεταβολισμό, συμπεριλαμβανομένων των OXPHOS και FAO (221).

Έχει προταθεί ότι κατά τη δέσμευση του συνδέτη, ο PPAR-α, είτε εργάζεται προς τα κάτω στην ενεργοποίηση του PPAR-δ από έναν ειδικό για PPAR-δ πρόσδεμα, GW501516 (222), είτε ενεργοποιείται απευθείας από συν-ενεργοποιητές (223), βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της θετικής κυτταρικής θεραπείας ενισχύοντας την έκφραση της καρνιτίνης παλμιτοϋλ τρανσφεράσης 1α, του ενζύμου περιορισμού του ρυθμού του FAO, εμπλουτίζοντας έτσι την πρόσληψη και την οξείδωση των λιπαρών οξέων (184).

Κατά τη διάρκεια του οποίου η έκφραση του λεμφώματος Β-κυττάρων-2 (Bcl2) ρυθμίζεται επίσης προς τα πάνω, και το δίδυμο των δύο παραπάνω πρωτεϊνών μπορεί να σχηματίσει ένα σύμπλοκο με τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTL) για να ασκήσει μια δράση πρόληψης της απόπτωσης (223).

Η ενεργοποίηση του PPAR-α βελτιώνει επίσης την αντικαρκινική ανοσία στην ανοσοθεραπεία αποκλεισμού του καρκίνου του PD-1, επαναπρογραμματίζοντας τον μεταβολισμό των Τ-κυττάρων CD8+ από τη γλυκόλυση σε αυξημένα μιτοχονδριακά OXPHOS και FAO, υποστηρίζοντας τις επιπλέον ενεργειακές απαιτήσεις των τελεστών CTL, επιμηκύνοντας έτσι την επιβίωση και ενισχύοντας δραστηριότητα (222, 223). Εν τω μεταξύ, αυξάνει επίσης την έκφραση κυτοκίνης (π.χ. IFN $\gamma$ ) (221).

### **Προαγωγή της Ογκογένεσης:**

Ωστόσο, η δράση του PPAR-α στην προ-ογκογένεση έχει επίσης αντιμετωπιστεί με ορισμένα αδιάσειστα στοιχεία (184). Όσον αφορά την ισχυρή οξειδωτική του ιδιότητα, σε αντίθεση με την προαναφερθείσα δράση κατά της ογκογένεσης με υπερβολικό οξειδωτικό στρες στα μιτοχόνδρια των καρκινικών κυττάρων, άλλοι επιστήμονες υποστήριξαν ότι η αναστολή του PPAR-α έχει αποδώσει αντιπολλαπλασιαστική δράση στα καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου *in vitro*, με μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα και έκφραση προτύπων καρνιτίνης παλμιτοϋλ τρανσφεράσης-1<sup>A</sup> (206-210).

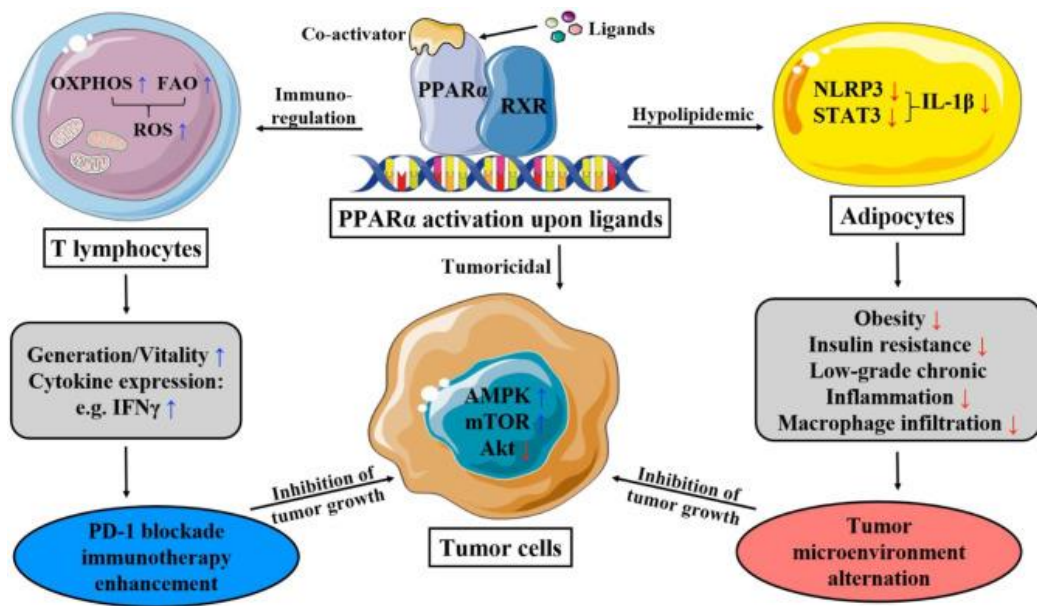
Όπως προτάθηκε προηγουμένως, υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ του PPAR-α και του μεταβολισμού της ορμόνης. Κατά την ενεργοποίηση, το

PPAR-α αυξάνει την έκφραση και τη δραστηριότητα του CYP1B1, ενός υποτύπου του κυτοχρώματος P450. Μέσω του βιομετασχηματισμού των ενδογενών οιστρογόνων και των περιβαλλοντικών καρκινογόνων ουσιών, είναι ζωτικής σημασίας για την έναρξη και την εξέλιξη διαφόρων ορμονοεξαρτώμενων όγκων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (211).

Υπό μακροχρόνια χορήγηση, η ενεργοποίηση του PPAR-α βρέθηκε ότι είναι ηπατοκαρκινογόνος στα τρωκτικά, ένας μηχανισμός που σχετίζεται με την μείωση της έκφρασης του let-7c micro RNA, που σταθεροποιεί το mRNA του MYC, συμβάλλοντας στην αυξημένη μιτογόνο σηματοδότηση και τον επακόλουθο πολλαπλασιασμό ηπατοκυττάρων (184, 212).

Αυτό είναι μια επίδραση τόσο μέσω της εξαρτώμενης από PPAR-α όσο και της ανεξάρτητης οδού, η οποία έχει μαρτυρηθεί ότι απουσιάζει στους ανθρώπους (213, 214). Τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSC) είναι ένα υποσύνολο πληθυσμού καρκινικών κυττάρων που διαθέτει ικανότητα αυτο-ανανέωσης και ο ρυθμός σχηματισμού σφαιρών του συσχετίζεται θετικά με την πρόοδο της κακοήθειας (184).

Όσο μεγαλύτερος είναι ο πληθυσμός των CSCs, τόσο μεγαλύτερη είναι η δυνατότητα ανάπτυξης του όγκου. Έχει βρεθεί ότι η διατήρηση των ιδιοτήτων CSC των κυττάρων ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος ρυθμίζεται προς τα πάνω από την ενεργοποίηση της οδού PPAR-α, μέσω της ενεργοποίησης του άξονα PPAR-α-στεαροϋλ-CoA δεσαστουράσης-1 (213).



Εικ.3.3: Μοριακά μονοπάτια του PPAR-α στα καρκινικά κύτταρα (184).

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

---

### 4.1. Ερευνητική υπόθεση της μελέτης

Η ενδομητρίωση είναι μια φλεγμονώδης νόσος η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία και την εμφύτευση ενδομητριωσικών στρωματικών κυττάρων σε ανατομικές θέσεις εκτός της κοιλότητας της μήτρας (2). Αν και η παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη, φαίνεται ότι παρουσιάζει ανοσολογική, γενετική και ορμονική συμβολή και χαρακτηρίζεται από ανώμαλη έκφραση φλεγμονωδών παραγόντων (1, 7, 8, 32, 95).

Οι PPARs είναι πρωτεΐνες (ενεργοποιημένοι υποδοχείς πολλαπλασιαστών υπεροξεισωματίου) που ανήκουν σε μια υπερ-οικογένεια ορμονικών υποδοχέων, οι οποίες ελέγχονται από πολλαπλασιαστές υπεροξεισωματίου (133-137) και η λειτουργία τους σχετίζεται άμεσα με την φλεγμονώδη διεργασία στον ανθρώπινο οργανισμό (150).

Η επίδραση των μορίων PPARs στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης, έχει περιγραφεί στο παρελθόν σε διάφορες ερευνητικές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων PPAR-γ δύναται να αναστείλει την ανάπτυξη και την επιβίωση ανθρώπινων κυττάρων του ενδομητρίου μέσω βιοχημικών μονοπατιών τα οποία σχετίζονται με την καταστολή της παραγωγής των οιστρογόνων (224, 225).

Ακόμη, πρόσφατες μελέτες που δημοσιεύονται στη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι η συνδυαστική ενεργοποίηση των μορίων PPAR-α και PPAR-γ μαζί με την ρεσβερατρόλη, δύναται να μειώσει σημαντικά το μέγεθος των ενδομητριωσικών αλλοιώσεων, όπως φάνηκε σε πειραματικά μοντέλα in vivo (226). Το παρόν φαίνεται να οφείλεται σε ελλειπείς δομικές αλλοιώσεις, όπως υποστηρίζεται και από προηγούμενες μελέτες που υποδεικνύουν την ύπαρξη αλλοιωμένου προφίλ λιπιδίων στις εστίες της ενδομητρίωσης (227, 228).

Με βάση λοιπόν τα προαναφερθέντα ευρήματα της διεθνούς βιβλιογραφίας, τέθηκε η ερευνητική υπόθεση, σύμφωνα με την οποία είναι

πιθανόν τα μόρια-υποδοχείς PPAR-α να λειτουργούν πιθανά ως ρυθμιστές της νόσου της ενδομητρίωσης. Αν και τα γονίδια των PPAR-α εκφράζονται κυρίως σε ιστούς όπως είναι το ήπαρ, η παρουσία τους ελέγχεται επίσης σε ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων, σε κύτταρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος όπως είναι τα μακροφάγα και τα μονοκύτταρα, αλλά και στο ενδομήτριο (229, 230).

Επιπλέον, η έρευνα στον τομέα της ογκολογίας έχει δείξει ότι η χορήγηση αγωνιστών PPAR-α, παρεμβαίνοντας στη διεργασία της φλεγμονής, περιορίζει την νεο-αγγειογένεση, μέσω της αύξησης της έκφρασης αντι-αγγειογενετικών μορίων, όπως είναι: η θρομβοσπονδίνη-1 (TSP-1), η γυναικοσίδη 140 (gp140), αλλά και μόρια του καταρράκτη των κινασών που πυροδοτούν μιτωτικές διαιρέσεις των καρκινικών κυττάρων (231, 232).

Πράγματι, έχει φανεί σε ζωικά πειραματικά μοντέλα, ότι η ανεπάρκεια του μορίου PPAR-α σχετίζεται άμεσα με μειωμένη ανάπτυξη του όγκου, μια επίδραση η οποία προκύπτει εξαιτίας της τροποποιημένης έκφρασης της εποξυγενάσης του κυτοχρώματος CYP2C9, η οποία είναι υπεύθυνη για την διεργασία της νέο-αγγείωσης (230, 232).

Δεδομένου λοιπόν του κοινού προφίλ νέο-αγγειογένεσης το οποίο παρατηρείται σε διάφορες μορφές καρκίνου, αλλά και στην καλοήγη νόσο της ενδομητρίωσης, η παρούσα διδακτορική έρευνα, επιδιώκει μέσω πειραμάτων *in vivo* σε θηλυκούς επιμύες, να προσδιορίσει την πιθανή σχέση των μορίων με την παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης.

#### **4.2. Σκοπός της μελέτης**

Τα τελευταία χρόνια, πολλαπλές ερευνητικές μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας υποστηρίζουν ότι τα μόρια PPARs αποτελούν τις πιθανές εναλλακτικές θεραπευτικές επιλογές της ενδομητρίωσης (232). Πολυάριθμες πειραματικές μελέτες καθώς και κλινικές δοκιμές, υποδεικνύουν ότι η δράση των μορίων στην παθοφυσιολογία και τη θεραπεία αντίστοιχα της νόσου διαμεσολαβείται μέσω άμεσης επίδρασης στην διεργασία της νεοαγγείωσης των ενδομητριωσικών αλλοιώσεων (226, 230, 232).

Σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης, ήταν η αξιολόγηση της επίδρασης των μορίων PPAR-α στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης. Συγκεκριμένα επιλέχθηκε η διεξαγωγή έρευνας σε πληθυσμό ποντικών με ανεπάρκεια του γονιδίου PPAR-α, με στόχο την αξιολόγηση της επίδρασης αυτής της ανεπάρκειας στην ιστολογική και παθολογοανατομική ανάλυση των χειρουργικά εξαχθέντων ενδομητριωσικών αλλοιώσεων.

### **4.3. Υλικό και Μεθοδολογία**

#### **4.3.1. Χρησιμοποιούμενα ζώα εργαστηρίου**

Δύο ποντικοί B6;129S4-PPARatm1Gonz/J (The Jackson Laboratory) παραδόθηκαν στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στο εργαστήριο, τα ποντίκια αναπαράχθηκαν κατά τις συνήθεις διαδικασίες, μέχρις ότου να επιτευχθεί ένας ελάχιστος αριθμός 12 θηλυκών ποντικών αναπαραγωγικής ηλικίας.

Παράλληλα, δώδεκα θηλυκά ποντίκια C57BL/6 χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη ως «μάρτυρες». Παραδόθηκαν με ασφάλεια στο καινούργιο τους εργαστήριο, του Ινστιτούτου Παστέρ (Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Τμήμα Ζωικών Μοντέλων Βιοϊατρικής Έρευνας, Ελλάδα), και παρέμειναν για 7 μέρες μέχρις ότου να προσαρμοστούν, σε θαλάμους ελεγχόμενης ατμόσφαιρας (θερμοκρασία  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , υγρασία  $55 \pm 5\%$ ) και φωτός (12 ώρες την ημέρα).

Η σίτιση των πειραματικών ζώων εργαστηρίου διενεργήθηκε με σφαιρίδια ELVIZ 510, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πλήρη συμπληρώματα διατροφής για όλα τα εμπλεκόμενα ζώα της μελέτης. Το βράδυ πριν από την χειρουργική επέμβαση για την πρόκληση της ενδομητρίωσης, δεν χορηγήθηκε τροφή.

#### **4.3.2. Ηθική και Δεοντολογία της έρευνας**

Η φροντίδα των ζώων, οι χειρουργικές επεμβάσεις που διενεργήθηκαν, καθώς και η μετεγχειρητική ανάρρωση ακολουθούν κατά γράμμα τις κατευθυντήριες οδηγίες της διενέργειας ερευνών σε ζώα στα



πλαίσια in vivo πειραμάτων (ARRIVE- Animal Research Reporting of In Vivo Experiments) και έχουν εγκριθεί από την Επιτροπή ηθικής και Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, και από την Κτηνιατρική Διεύθυνση του Υπουργείου Γεωργίας σε συμφωνία με την Οδηγία 2010/63/ΕΕ της Ευρωπαϊκής Ένωσης για πειράματα σε ζώα.

#### **4.3.3. Δείγμα μελέτης**

Συνολικά, είκοσι τέσσερα θηλυκά ποντίκια εντάχθηκαν στην παρούσα μελέτη, 12 C57Bl/6 και 12 B6;129S4-PPARatm1Gonz/J. Το μέσο βάρος τους κατά την έναρξη του πειράματος ήταν 214 (204-221) και 208 (202-222) αντίστοιχα ( $p=.280$ ). Ο μέσος όρος ηλικίας τους ήταν επίσης συγκρίσιμος. Όλα τα ζώα υποβλήθηκαν στην προκαθορισμένη διαδικασία την ίδια ημέρα και υποβλήθηκαν σε ευθανασία 15 ημέρες αργότερα.

#### **4.3.4. Χειρουργική Τεχνική**

Η ενδομητρίωση προκλήθηκε στα ζώα εργαστηρίου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα κλινική δοκιμή μέσω χειρουργικής επέμβασης. Η διαδικασία που διενεργήθηκε σε αυτούς τους κωδικούς, περιλαμβάνει τα εξής βήματα.

Αρχικά χορηγήθηκε αναισθησία υπό την μορφή ενδοπεριτοναϊκής ένεσης υδροχλωρικής ξυλαζίνης 5 mg/kg , καθώς και χορήγηση 60 mg/kg κεταμίνης. Η ξυλαζίνη είναι ένα ανάλογο της κλονιδίνης, και δρα ως αγωνιστής των  $\alpha$ -2 αδρενεργικών, ενώ η κεταμίνη χρησιμοποιείται για την πρόκληση και τη διατήρηση της αναισθησίας, προσφέροντας αναλγησία, καταστολή και απώλεια μνήμης (233).

Αμέσως μετά ακολούθησε ο καθαρισμός της πρόσθιας κοιλιακής επιφάνειας με διάλυμα ιωδιούχου ποβιδόνης, εναλλάξ με αλκοόλη, υπό την χρήση αποστειρωμένων γαντιών μιας χρήσεως. Έπειτα ξεκίνησε η χειρουργική επέμβαση, με τη διενέργεια κάθετης κοιλιακής τομής μήκους περίπου 3 εκατοστών, αρχόμενης από το επίπεδο της ηβικής σύμφυσης και με κατεύθυνση προς τα πάνω.

Αφού ολοκληρώθηκε η είσοδος στην περιτοναϊκή κοιλότητα του ποντικού, πραγματοποιήθηκε ανατομική εντόπιση της μήτρας, και ακολούθησε η ανατομική παρασκευή και η χειρουργική εξαίρεση ενός εκ των κεράτων της μήτρας. Στο κέρασ το οποίο εξήχθη πραγματοποιήθηκε επιμήκης τομή με στόχο την εξωτερίκευση του ενδομητρίου ιστού, όπως έχει περιγραφεί και παλαιότερα σε μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας (234).

Ένα ιστοτεμάχιο ενδομητρίου με μήκος περίπου 1 cm και πλάτος 0,5 cm εξαιρέθηκε χειρουργικά και στη συνέχεια εμφυτεύθηκε εντός της πυελικής κοιλότητας του ποντικού. Για να εξασφαλιστεί η μεταμόσχευση του ενδομητρίου ιστού εντός της πυελικής κοιλότητας, και η άμεση επαφή του με τη σπλαχνική επιφάνεια του περιτοναίου, χρησιμοποιήθηκε συρραφή με απλό ράμμα.

Μετά την ολοκλήρωση της συρραφής, που ακολούθησε πλύση της πυελικής και περιτοναϊκής κοιλότητας με 2 ml φυσιολογικού ορού προκειμένου να περιοριστεί ο σχηματισμός συμφύσεων και η ξήρανση του εμφυτεύματος. Τέλος πραγματοποιήθηκε συρραφή της κοιλιακής τομής με συνεχόμενη ραφή με Vicryl 3-0 (90% glycolide, 10% L-lactide) και το δέρμα συρράφθηκε με 4-0 μονόκλωνα μη απορροφήσιμα, νάιλον συνεχή ράμματα.

#### **4.3.5. Μετεγχειρητική πορεία**

Εξασφαλίστηκαν μετεγχειρητικά κατάλληλα επίπεδα αναλγησίας με τη χρήση υποδόριας χορήγησης τραμαδόλης, σε δόση 0,01 mg/kg. Η πρόσβαση σε τροφή και νερό παρασχέθηκε ελεύθερα 8 ώρες μετά την επέμβαση με την υιοθέτηση πρωτοκόλλων ενισχυμένης ανάρρωσης μετά από χειρουργική επέμβαση (ERAS) (235).

Τα ζώα θυσιάστηκαν την μετεγχειρητική ημέρα 15 λαμβάνοντας υπόψη προηγούμενες παρατηρήσεις που υποστηρίζουν αυτό το διάστημα ως το βέλτιστο (236). Πραγματοποιήθηκε μια συνολική εκτομή του πυελικού εμφυτεύματος μαζί με ένα περιθώριο 1 εκατοστού του προσαρτημένου πυελικού περιτοναίου για να εξασφαλιστεί επαρκές δείγμα για ιστολογική και παθολογοανατομική διερεύνηση. Τα δείγματα σταθεροποιήθηκαν σε διάλυμα φορμαλδεΰδης 10% και ακολούθησε ιστοπαθολογική ανάλυση.

#### **4.3.6. Ιστολογική ανάλυση**

Τα ιστοτεμάχια τα οποία λήφθηκαν μετά από την παρασκευή των ποντικών, σταθεροποιήθηκαν και διατηρήθηκαν σε διάλυμα φορμαλδεΐδης 10%, και στη συνέχεια ενσωματώθηκαν σε μπλοκ παραφίνης και κόπηκαν σε τμήματα 4μm χρησιμοποιώντας μικροτόμο.

Η ιστοπαθολογική εξέταση διεξήχθη τυφλά από δύο παθολογοανατόμους σε διαφορετικό εργαστήριο. Εφαρμόστηκε τυπική χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (H&E). Επιπλέον, εφαρμόστηκε ανοσοϊστοχημεία CD-31 και CD-34 για την αξιολόγηση της ποσότητας νέο-αγγείωσης στοχεύοντας στην ανίχνευση ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα δείγματα αξιολογήθηκαν ως προς την αφθονία των ενδοθηλιακών αλλοιώσεων, την περιεκτικότητα σε κολλαγόνο, τη δραστηριότητα των ινοβλαστών, την παρουσία κοκκιοκυττάρων και μονοπύρηνων κυττάρων και φωτογραφήθηκαν.

Η αξιολόγηση των παραμέτρων που αναφέρθηκαν προηγουμένως βασίστηκε σε τρία νέα συστήματα βαθμολόγησης που προήλθαν από ήδη περιγραφείσες παθολογικές βαθμολογίες καθώς και από τροποποιήσεις του μοντέλου Ehrlich-Hunt (237-241).

#### **4.4. Στατιστική Ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση όλων των ευρημάτων διενεργήθηκε με την χρήση του ειδικού λογισμικού SPSS (έκδοση 25.0, Macintosh SPSS Inc.) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση πρόθεσης για θεραπεία. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάστηκαν ως μέσες και τυπικές αποκλίσεις ( $\pm$ SD) και ως διάμεσες τιμές (εύρος).

Η κανονικότητα των κατανομών αξιολογήθηκε με τις μεθόδους δοκιμής και γραφικών κατά Kolmogorov-Smirnov. Οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάστηκαν με απόλυτες και σχετικές συχνότητες. Το student t-Test ή το μη παραμετρικό τεστ Mann-Whitney χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση των μέσων μεταξύ των ομάδων. Οι συγκρίσεις των αναλογιών πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τον έλεγχο chi-square και τις ακριβείς δοκιμές του Fisher.

Όλες οι αναφερόμενες τιμές  $p$  είναι δίπλευρες. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε σε επίπεδο σημασίας  $p < 0.05$ .

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

---

### 5.1 Χαρακτηριστικά των ζώων της μελέτης

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή συνολικά επιστρατεύτηκαν 24 θηλυκά ποντίκια στα οποία προκλήθηκε χειρουργικά ενδομητρίωση, εκ των οποίων: 12 C57Bl/6 και 12 B6;129S4-PPARatm1Gonz/J. Το μέσο βάρος τους κατά την έναρξη του πειράματος ήταν 214 g (204-221) και 208 g (202-222), αντίστοιχα ( $p=0,280$ ). Ο μέσος όρος ηλικίας τους ήταν επίσης συγκρίσιμος. Όλα τα ζώα υποβλήθηκαν στην προκαθορισμένη διαδικασία την ίδια ημέρα και υποβλήθηκαν σε ευθανασία 15 ημέρες αργότερα.

#### 5.1.1 Περιεγχειρητικά αποτελέσματα

Διεγχειρητικά, παρατηρήθηκε ένα μεμονωμένο αιμορραγικό επεισόδιο από το κέρασ της μήτρας σε ένα ζώο C57Bl/6, το οποίο και διορθώθηκε με τοποθέτηση ράμματος και απολίνωση. Ωστόσο, το ζώο υπέκυψε μέσα στα επόμενα λεπτά. Ένα άλλο ζώο είχε υποπλαστικά κέρατα της μήτρας και η διαδικασία εγκαταλείφθηκε λόγω του ανεπαρκούς μεγέθους του δείγματος που δεν μπορούσε να εξασφαλίσει το σχηματισμό ενός σωστού ενδομητριωσικού εμφυτεύματος. Τέλος, στους ποντικούς B6;129S4-PPARatm1Gonz/J, παρατηρήθηκαν δύο διεγχειρητικοί θάνατοι που αποδόθηκαν σε υπερβολική δόση κεταμίνης, η οποία οδήγησε σε καρδιοπνευμονική ανακοπή.

#### 5.1.2 Χαρακτηριστικά των ζώων κατά την μετεγχειρητική ανάρρωση

Το βάρος των ζώων δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων κατά την περίοδο της μετεγχειρητικής ανάρρωσης. Συγκεκριμένα, το μέσο βάρος των ποντικών με ανεπάρκεια PPAR-άλφα ήταν 240 g (231-246) και των μαρτύρων 243 g (232-254), ( $p=0,389$ ). Η μακροσκοπική αξιολόγηση του πυελικού περιτοναίου αποκάλυψε την παρουσία ενός κυστικού εξογκώματος στη θέση των χειρουργικά εμφυτευμένων τμημάτων των κεράτων της μήτρας σε όλες τις περιπτώσεις στην ομάδα C57BL/6 και σε οκτώ περιπτώσεις στην ομάδα B6;129S4-PPARatm1Gonz/J.

Το μέσο συνολικό μέγεθος στην ομάδα με ανεπάρκεια PPAR-άλφα ήταν 1,2 (0,8, 1,5) και στην ομάδα ελέγχου 1,3 εκατοστά (0,8-1,7), η οποία δεν ήταν στατιστικά διαφορετική ( $p=0,149$ ). Σε δύο ζώα της ομάδας ελέγχου, παρατηρήθηκε ένας πυκνός ιστός που οφειλόταν στον εκτεταμένο σχηματισμό συμφύσεων στην περιοχή. Αυτός ο ιστός αφαιρέθηκε και στάλθηκε για παθολογοανατομική ανάλυση

## 5.2 Παθολογοανατομική εξέταση των έκτοπων ενδομητρίωμάτων

Το επιθήλιο που κάλυπτε την περιτοναϊκή κοιλότητα μετεγχειρητικά ήταν μονόστιβο, υποδεικνύοντας την επιτυχή εμφύτευση ενδομητριοσικών αλλοιώσεων και στις δύο ομάδες ζώων (παρέμβαση-μάρτυρες). Το στρώμα του ενδομητρίου δεν ανιχνεύθηκε. Ωστόσο, αυτό είναι φυσιολογικό για πειραματικά μοντέλα ενδομητρίωσης, καθώς η μήτρα μικρών τρωκτικών αποτελείται κυρίως από χαλαρό ινώδη ιστό, που είναι πολύ διαφορετικός από αυτόν του φυσιολογικού ανθρώπινου ενδομητρίου, το οποίο είναι τυπικά υπερκυτταρικό (242).

Συνολικά, η εξέταση από τον παθολογοανατόμο αξιολογήσέ τόσο στην ομάδα παρέμβασης, όσο και στην ομάδα ελέγχου πέντε κομβικής σημασίας μεταβλητές, που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης. Πιο αναλυτικά, οι ερευνητές αξιολόγησαν: την νεοαγγείωση, την παρουσία ενδομητριοσικών κρυπτών, την περιεκτικότητα σε κολλαγόνο των ενδομητριοσικών αλλοιώσεων, την ινοβλαστική δραστηριότητα, και τέλος τον βαθμό της φλεγμονής.

Η πρώτη μεταβλητή που αξιολογήθηκε στην ιστολόγοπαθολογοανατομική μελέτη, ήταν η **νεοαγγείωση**. Η βαθμολόγηση της παρατηρούμενης νεοαγγείωσης επί της περιτοναϊκής κοιλότητας βαθμολογήθηκε σε κλίμακα από 0 μέχρι 4. Στην ομάδα ελέγχου παρατηρήθηκαν: σκορ 2 σε 2 ποντικούς, σκορ 3 σε 5 ποντικούς και σκορ 4 σε 3 ποντικούς. Αντίθετα, στην ομάδα παρέμβασης των διαγονιδιακών ζώων, παρατηρήθηκε σκορ 0 σε 3 ποντικούς, σκορ 1 σε 2 ποντικούς, σκορ 2 σε 3 ποντικούς, και τέλος σκορ 3 σε 2 ποντικούς. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε  $p=0,034$ .

ΝΕΟΑΓΓΕΙΩΣΗ	ΟΜ. ΕΛΕΓΧΟΥ	ΟΜ. ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	
0	0	3	
+1	0	2	
+2	2	3	<b>P=0,034</b>
+3	5	2	
+4	3	0	

Η δεύτερη μεταβλητή που αξιολογήθηκε από τους ερευνητές και στις 2 ομάδες πειραματικών ζώων, πάλι σε κλίμακα βαθμολογίας από 0 έως 4, η **παρουσία ενδομητριωσικών κρυπτών-αλλοιώσεων**. Στην ομάδα ελέγχου παρατηρήθηκε ότι ένας ποντικός είχε σκορ 1, 2 ποντίκι σκορ 2, 4 ποντικοί σκορ 3, και τελικά 3 ποντικοί σκορ 4. Αντίθετα, στην ομάδα παρέμβασης 4 ποντικοί είχαν σκορ 1, 3 είχαν σκορ 2, 2 ποντικοί είχαν σκορ 3 και μόνο ένας ποντικός είχε σκορ 4. Η σταθερά p-value ορίστηκε σε επίπεδο 0,059.

ΕΝΔΟΜ. ΚΡΥΠΤΕΣ	ΟΜ. ΕΛΕΓΧΟΥ	ΟΜ. ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	
0	0	0	
+1	1	4	
+2	2	3	<b>P=0,059</b>
+3	4	2	
+4	3	1	

Η επόμενη μεταβλητή που τέθηκε υπό αξιολόγηση ήταν η **περιεκτικότητα σε κολλαγόνο**. Στην ομάδα ελέγχου: 2 ποντικοί είχαν σκορ 1, 3 ποντικοί σκορ 2, ένας ποντικός σκορ 3, και 4 είχαν σκορ 4. Από την άλλη, στην ομάδα των ποντικών με ανεπάρκεια του γονιδίου PPAR-α, 3 ποντικοί

είχαν σκορ 0, 3 ποντικοί είχαν σκορ 1, 3 ποντικοί είχαν σκορ 2, και μόνο ένας είχε σκορ ίσο με 3. Το επίπεδο στατιστικής σημασίας ήταν  $p=0,136$ .

ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ	ΟΜ. ΕΛΕΓΧΟΥ	ΟΜ. ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	
0	0	3	
+1	2	3	
+2	3	3	<b>P=0,136</b>
+3	1	1	
+4	4	0	

Η τέταρτη μεταβλητή που εκτιμήθηκε από τους ερευνητές ήταν ο **βαθμός της ινοβλαστικής δραστηριότητας**. Στην ομάδα ελέγχου: 2 ποντικοί έλαβαν σκορ 0, 4 ποντικοί σκορ 1, και 4 ποντικοί σκορ 2. Αντίθετα, στην ομάδα παρέμβασης, 2 ποντικοί έλαβαν σκορ 0, 3 ποντικοί έλαβαν σκορ 2, 4 ποντικοί σκορ 3 και ένας σκορ 4. Η σταθερά p-value ήταν 0,022.

ΙΝΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ	ΟΜ. ΕΛΕΓΧΟΥ	ΟΜ. ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	
0	2	2	
+1	4	0	
+2	4	3	<b>P=0,022</b>
+3	0	4	
+4	0	1	

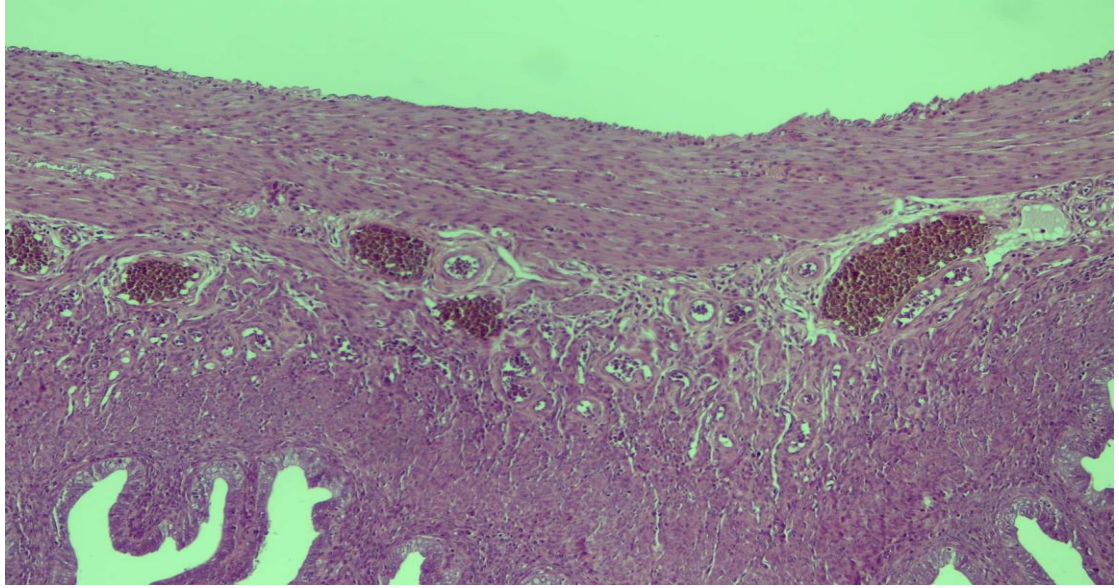


Τέλος, οι ερευνητές αξιολόγησαν το **βαθμό της φλεγμονής** και στις δύο ομάδες πειραματικών ζώων. Στην ομάδα ελέγχου, 2 ποντικοί έλαβαν μηδενικό σκορ, 4 ποντικοί έλαβαν σκορ 1, και άλλοι 4 σκορ 2. Αντίθετα, το επίπεδο φλεγμονής φάνηκε εντονότερο στην ομάδα ζώων με ανεπάρκεια του γονιδίου PPAR-α, όπου 2 ποντικοί έλαβαν σκορ 1, 3 ποντικοί σκορ 2, 3 ποντικοί σκορ 3 και 2 σκορ 4. Η σταθερά p-value ορίστηκε 0,101.

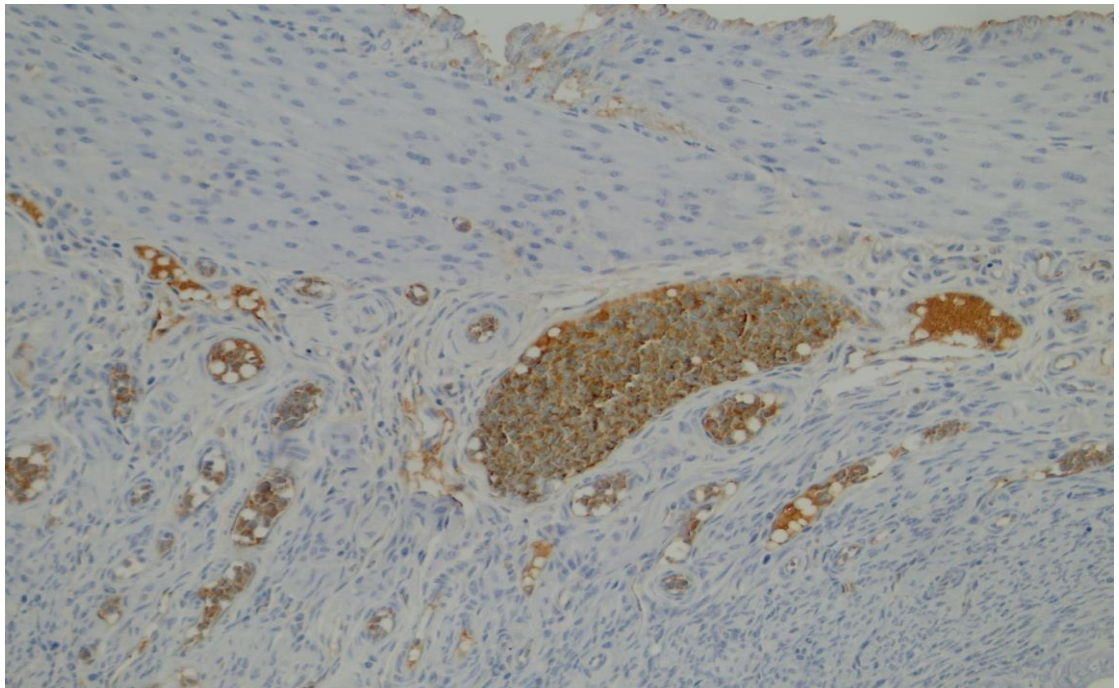
ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΜ. ΕΛΕΓΧΟΥ	ΟΜ. ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	
0	2	0	
+1	4	2	
+2	4	3	<b>P=0,101</b>
+3	0	3	
+4	0	2	

### 5.3 Σύνοψη αποτελεσμάτων

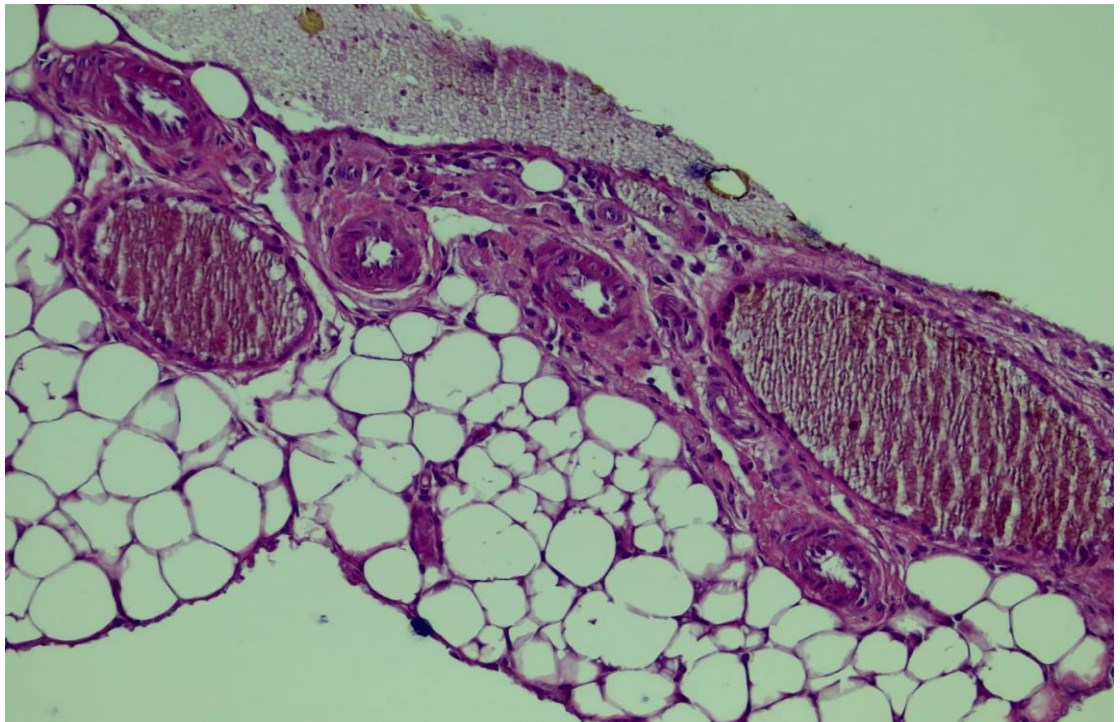
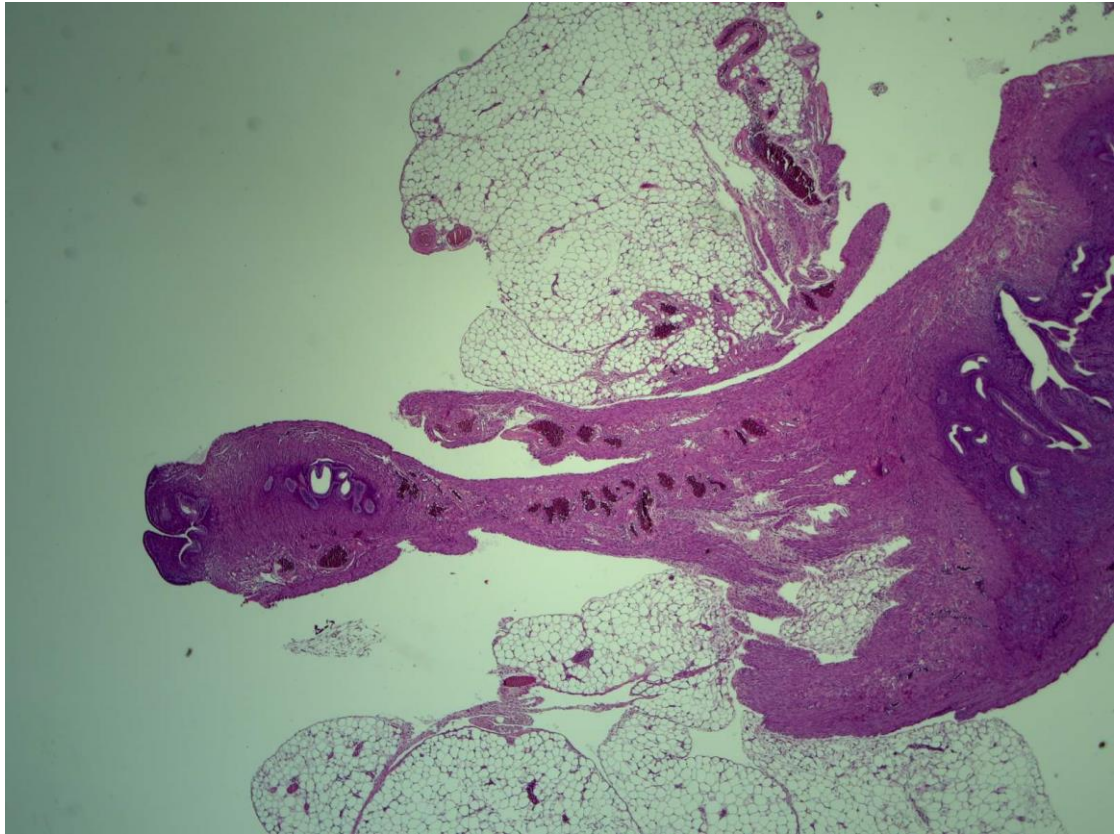
Ο αριθμός των ενδομητριωσικών αλλοιώσεων ήταν σημαντικά πιο διαδεδομένος στην ομάδα ελέγχου, υποδεικνύοντας ότι οι υποδοχείς PPAR-άλφα μπορεί να είναι ένας καθοριστικός παράγοντας που συμβάλλει στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης, όπως φαίνεται στις εικόνες και τον **Πίνακα 2** που ακολουθούν.



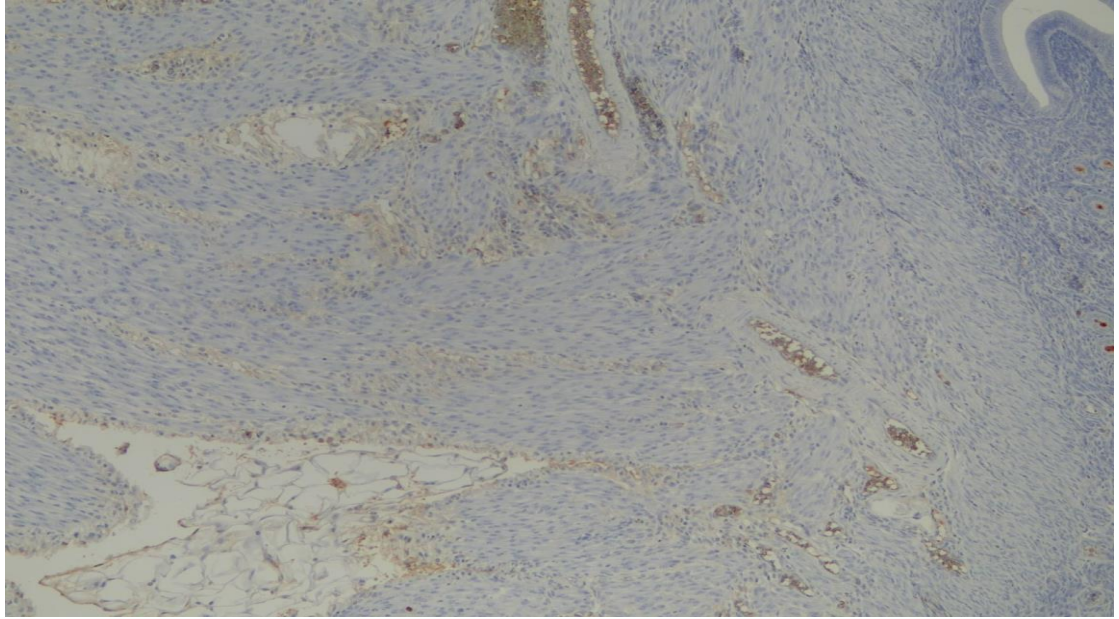
**Εικ. 5.1:** Σε χρώση H&E 20x μεγέθυνση, παρατηρείται άφθονη αγγείωση σε ποντίκια C57BL/6.



**Εικ. 5.2:** Η ανοσοϊστοχημεία CD34 20x απεικονίζει σημαντική νεο-αγγειογένεση στην ομάδα ελέγχου.



**Εικ. 5.3 α και β:** Η χρώση H&E 10x απεικονίζει σημαντική αγγείωση (καφέ χρώση).



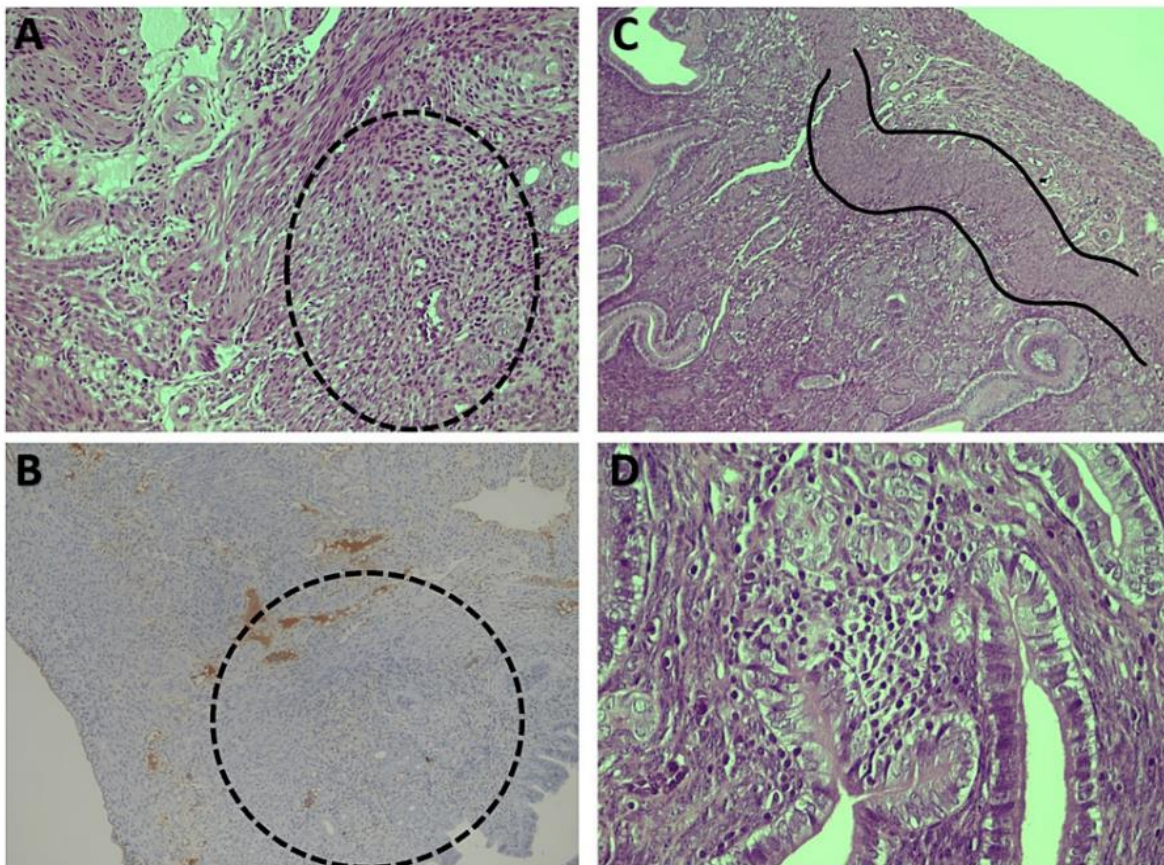
**Εικ. 5.4:** Η ανοσοϊστοχημεία CD34 με μεγέθυνση 10x υποδεικνύει τα χαρακτηριστικά αρκετών μικροαγγείων (καφέ χρώση).

**Πίνακας 2:** Παθολογοανατομική ανάλυση ενδομητριωσικών αλλοιώσεων μεταξύ των δύο ομάδων.

	C57BL/6	129S4-PPAR <sup>tm1Gonz/J</sup>	p-Value
<b>Neovascularization</b>			
0	0	3	
+1	0	2	
+2	2	3	0.034
+3	5	2	
+4	3	0	
<b>Endometriotic crypts</b>			
0	0	0	
+1	1	4	
+2	2	3	0.059
+3	4	2	
+4	3	1	
<b>Collagen content</b>			
0	0	3	
+1	2	3	
+2	3	3	0.136
+3	1	1	
+4	4	0	
<b>Fibroblast activity</b>			
0	2	2	
+1	4	0	
+2	4	3	0.022
+3	0	4	
+4	0	1	
<b>Inflammation</b>			
0	2	0	
+1	4	2	
+2	4	3	0.101
+3	0	3	
+4	0	2	

Όπως διατυπώνεται στον παραπάνω πίνακα, κάθε μεταβλητή βαθμολογείται σε κλίμακα από 0-4, και ο αριθμός των ζώων που αποδίδονται σε κάθε βαθμολογία ανά ομάδα απεικονίζεται σε κάθε κελί. Οι μεταβλητές που αξιολογήθηκαν ήταν: α) νεοαγγείωση, β) ενδομητριωσικές αλλοιώσεις, γ) περιεκτικότητα σε κολλαγόνο, δ) ινοβλαστική δραστηριότητα και ε) φλεγμονή.

Άφθονες ενδομητριωσικές αλλοιώσεις παρατηρήθηκαν σε πέντε ζώα (50%) της ομάδας ελέγχου (Εικόνα 5.5) και μόνο σε ένα (10%) από την ομάδα 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J. Αυτή η επίδραση συνοδεύτηκε από σημαντικές διαφορές στη νεοαγγείωση ( $p=0,034$ ), η οποία ήταν ελάχιστη στα μισά PPAR0-άλφα μηδενικά ζώα σε σύγκριση με τους μάρτυρες που παρουσίασαν αυξημένη διαδικασία στο 80% του πληθυσμού τους.



**Εικ. 5.5:** Ενδομητριωσικές αλλοιώσεις – φλεγμονή.

A) H&E, 20x παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J (στρογγυλεμένος κύκλος), B) Η ανοσοϊστοχημεία CD31 10x απεικονίζει σημαντική φλεγμονή στην περικυκλωμένη περιοχή σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J, C) 10x και D) 40x άφθονο σχηματισμό κρύπτης σε ποντίκια C57BL/6. Το μυϊκό στρώμα του προσαρτημένου κέρατος της μήτρας απεικονίζεται στην απομονωμένη περιοχή στην εικόνα C.

Το σύστημα βαθμολόγησης της φλεγμονής βασίστηκε στην αξιολόγηση της πυκνότητας των λευκοκυττάρων των ενδομητριωτικών εμφυτευμάτων και

στην επέκταση της διήθησης των λευκοκυττάρων. Παρατηρήσαμε ότι η διάμεση βαθμολογία φλεγμονής ήταν 2,5 (1-4) στην ομάδα 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J C57BL/6 (Πίνακας 2, Εικόνα 5.5), ενώ η βαθμολογία φλεγμονής ήταν 1 (0-2) στην ομάδα C57BL/6. Ωστόσο, οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές, με βάση το επίπεδο  $p=0,101$ .

Για να αξιολογηθεί ο βαθμός της ίνωσης των ιστών πραγματοποιήθηκε σύγκριση της έκτασης της διαταραχής του κολλαγόνου και της επίπτωσης της νέκρωσης των ιστών συγκριτικά με το ποσοστό των ινοβλαστών στον ινωτικό ιστό. Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στη δραστηριότητα των ινοβλαστών, η οποία ήταν ελάχιστη στο μοντέλο PPAR- $\alpha$ -ανεπάρκειας και ενδιάμεσης σοβαρότητας στην ομάδα ελέγχου ( $p=0,022$ ). Η περιεκτικότητα σε κολλαγόνο διέφερε επίσης μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο, οι διαφορές δεν έφθασαν στο επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ( $p=0,136$ ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

---

### 6.1 Εκτίμηση των ευρημάτων της μελέτης

Τα ευρήματα της παρούσας διδακτορικής μελέτης υποδηλώνουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποντικών με ανεπάρκεια PPAR-άλφα και των ποντικών της ομάδας ελέγχου, οι οποίοι είχαν φυσιολογική λειτουργία του γονιδίου της πρωτεΐνης PPAR-άλφα στην παθολογική ανάλυση ενδομητριωσικών εμφυτευμάτων.

Συγκεκριμένα, τα ποντίκια με ανεπάρκεια PPAR-άλφα φαίνεται να μην έχουν την ικανότητα να παράγουν επαρκή και κατάλληλη αγγείωση για να διατηρήσουν την ίδια ποσότητα ενδομητριωσικών αλλοιώσεων στο σημείο εμφύτευσης, με τους ποντικούς της ομάδας ελέγχου.

Ταυτόχρονα, παρατηρήθηκε ότι η βαρύτητα της φλεγμονής στο σημείο εμφύτευσης των ενδομητριωσικών αλλοιώσεων στους ποντικούς με ανεπάρκεια PPAR-άλφα, είναι σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τα ζώα ελέγχου. Η αυξημένη αυτή φλεγμονή ωστόσο, μπορεί να είναι αποτέλεσμα νέκρωσης ιστών λόγω της απουσίας κατάλληλης ποσότητας αγγείωσης.

Επιπλέον, η ποσότητα της ινοβλαστικής δραστηριότητας ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα ελέγχου και παρόλο που η περιεκτικότητα σε κολλαγόνο δεν έφτασε στο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας, θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο διάστημα που επιλέχθηκε μεταξύ της αρχικής αυτοεμφύτευσης των κέρατων της μήτρας και της επανεγχείρησης, η οποία μπορεί να μην είναι αρκετή για να ολοκληρωθεί η διαδικασία σχηματισμού κολλαγόνου.

### 6.2 Σύγκριση ευρημάτων με διεθνή βιβλιογραφία

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η ακριβής επίδραση των πρωτεϊνικών υποδοχέων PPAR-άλφα στη διεργασία της αγγειογένεσης φαίνεται να έχει διττή φύση (242). Πιο αναλυτικά, ενώ ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις των πρωτεϊνικών μορίων PPAR-άλφα είναι ικανές για καταστολή της αγγειογένεσης σε νεοπλάσματα, υπάρχουν



ευρήματα τα οποία υποστηρίζουν ότι και οι πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις των ίδιων πρωτεϊνικών μορίων συμβάλλουν στην καταστολή της νεοαγγειογένεσης σε κακοήθεις όγκους (242, 243).

Συγκεκριμένα, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων PPAR-άλφα με τη χρήση φαρμακευτικών αγωνιστών διεγείρει την διαδικασία της αγγειογένεσης, μέσω της σταδιακής ενεργοποίησης της δραστηριότητας των ενδοθηλιακών πρόδρομων κυττάρων (244). Η διαδικασία φαίνεται να διαμεσολαβείται από την αναστολή της πρωτεΐνης 3 του υποδοχέα τύπου Nod (NLRP3) (242, 244).

Το μόριο NLRP3, δεν φαίνεται να σχετίζεται απλά με τη διαδικασία της αγγειογένεσης, αλλά σε πολλές ανασκόπησεις της διεθνούς βιβλιογραφίας έχει γίνει λόγος για την πιθανή του συσχέτιση και με την παθοφυσιολογία της νόσου της ενδομητρίωσης (242, 244-246). Εξάλλου, αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο φαρμακευτικά μπορούν να χορηγηθούν αναστολείς του μορίου NLRP3 σε ασθενείς με ενδομητρίωση, ως μη-ορμονικές θεραπείες που στοχεύουν στην μείωση των επιπέδων των οιστρογόνων και την βελτίωση της ωοθηκικής λειτουργίας που συμβάλλει στην καταστολή της επέκτασης των ενδομητριωμάτων (247).

Από την άλλη, η αναστολή των υποδοχέων PPAR-άλφα φαίνεται επίσης να μειώνει την αγγειογένεση και την ογκογένεση σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών (248). Η διαδικασία φαίνεται να ασκείται από τη μείωση της δραστηριότητας της έκφρασης του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Το παρόν ερμηνεύει και το γιατί σε πειραματικό περιβάλλον, οι αναστολείς PPAR-άλφα έχουν προταθεί ως αποτελεσματική θεραπεία για την περιτοναϊκή διάδοση του καρκίνου των ωοθηκών (249).

Επιπλέον των παραπάνω, και η μελέτη του Kairainen et al. (2007) έδειξε ότι η ανεπάρκεια PPAR-άλφα μπορεί να καταστείλει την ανάπτυξη του όγκου σε πειραματικό μοντέλο ποντικού (250). Η διαδικασία φαίνεται να διαμεσολαβείται από μια αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση η οποία γίνεται εμφανής στον εντελώς ανεπαρκή ιστό. Αυτή η φλεγμονώδης απόκριση έχει διερευνηθεί τα τελευταία χρόνια και οι ερευνητές φαίνεται να συμφωνούν ότι η

ανεπάρκεια PPAR-άλφα μπορεί να επηρεάσει τη φυσιολογική λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων, προκαλώντας την έκφραση ενός υψηλού προφλεγμονώδους φαινοτύπου Th1 και μειώνοντας τα ρυθμιστικά T-κύτταρα, οδηγώντας τελικά σε μείωση της ανάπτυξης του όγκου (251).

Στο κλινικό περιβάλλον, η ρεσβερατρόλη, η οποία έχει προταθεί να δρα ως πιθανός ανταγωνιστής PPAR, έχει συνδεθεί ως πιθανός καταστολέας της ενδομητρίωσης, μια επίδραση που προκαλείται μέσω της ενεργοποίησης της οδού TRAIL (συνδέτης που προκαλεί απόπτωση που προκαλεί από τον TNF) (252, 253).

Συμπερασματικά, τα ευρήματα της διδακτορικής αυτής μελέτης υποστηρίζουν την άμεση συμβολή των PPAR-άλφα υποδοχέων στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης, δεδομένου ότι, το πειραματικό μοντέλο που παρουσιάζεται είναι απαλλαγμένο από πιθανές ιατρικές αλληλεπιδράσεις με έμμεσους μηχανισμούς που μπορεί να συνδέουν τους PPAR-άλφα ανταγωνιστές με την ενδομητρίωση.

Μέχρι σήμερα, η κλινική έρευνα σε αυτόν τον τομέα παραμένει εξαιρετικά περιορισμένη και η παρούσα πειραματική μελέτη μπορεί να χρησιμεύσει ως πιλότος για μελλοντικές τυχαίοποιημένες κλινικές δοκιμές που θα πρέπει να αξιολογήσουν και να αναδείξουν νέους φαρμακολογικούς παράγοντες που μπορεί να βοηθήσουν στην αποφυγή των τρεχουσών θεραπευτικών (χειρουργικών και ορμονικών) μεθόδων που σχετίζονται με σημαντικές παρενέργειες.

### **6.3 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί**

Η παρούσα διδακτορική μελέτη, δείχνει για πρώτη φορά ότι η γενετικά επαγόμενη ανεπάρκεια υποδοχέων PPAR-α ασκεί επιζήμια επίδραση στο σχηματισμό και τη διατήρηση ενδομητριωτικών εμφυτευμάτων. Ενώ τα ευρήματά της παρούσας διατριβής υποστηρίζουν τα ευρήματα προηγούμενων μελετών που έδειξαν την πιθανή επίδραση των ανταγωνιστών PPAR-άλφα στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης, είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς υποδεικνύουν την άμεση επίδραση της ανεπάρκειας PPAR-άλφα (και όχι της μείωσης της ρύθμισης) στην πορεία της νόσου.

Ωστόσο, στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης τίθεται ο σχετικά μικρός αριθμός πειραματικών ζώων, ο οποίος, ωστόσο, ήταν επαρκής για να επιτρέψει την αξιολόγηση των διαφορών που έφτασαν σε στατιστικά σημαντικά επίπεδα, ώστε να διεξαχθεί ομαλά η έρευνα και τα ευρήματα να είναι αξιόπιστα.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

---

**Εισαγωγή:** Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή υπεροξεισωματίων (PPARs) έχουν προταθεί ως ιατρική θεραπεία κατά της ενδομητρίωσης σε προκλινικές και κλινικές μελέτες. Η επίδρασή τους φαίνεται να πυροδοτείται μέσω της καταστολής της αγγειογένεσης. Στην παρούσα διδακτορική μελέτη χρησιμοποιήθηκε ένα διαγονιδιακό ζωικό μοντέλο με απώλεια έκφρασης των υποδοχέων PPAR-άλφα, για να μελετηθεί η επίδρασή τους στην πορεία των χειρουργικά επαγόμενων ενδομητριωσικών βλαβών.

**Μέθοδοι:** Δέκα θηλυκά ποντίκια C57BL/6 που χρησίμευαν ως μάρτυρες και 10 B6;129S4-PPARatm1Γονζ/Ι διαγονιδιακά ποντίκια που χαρακτηρίζονται από απόλυτη απώλεια έκφρασης υποδοχέων PPAR-άλφα χρησιμοποιήθηκαν για επαγωγή ενδομητρίωσης χειρουργικά.

**Αποτελέσματα:** Πέντε ζώα (50%) στην ομάδα ελέγχου παρουσίασαν άφθονες ενδομητριωσικές αλλοιώσεις, ενώ μόνο ένα ζώο (10%) στη διαγονιδιακή πειραματική ομάδα είχε παρόμοια παθολογική εικόνα. Η νεοαγγείωση διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ( $p=0,034$ ) ευνοώντας την ομάδα ελέγχου, καθώς ήταν εξαιρετικά περιορισμένη στα μισά PPAR-άλφα μηδενικά ζώα. Η διάμεση βαθμολογία φλεγμονής ήταν 2,5 (1-4) στην P B6;129S4-PPARatm1Γονζ/Ι ομάδα, ενώ ήταν ελάχιστη, 1 (0-2), στην ομάδα C57BL/6. Ωστόσο, αυτές οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ( $p=0,101$ ). Η ινοβλαστική δραστηριότητα ήταν επίσης πολύ περιορισμένη στο μοντέλο PPAR-α-ανεπάρκειας, ενώ τα ζώα που ανήκαν στην ομάδα ελέγχου παρουσίασαν ενδιάμεση αύξηση αυτού του δείκτη ( $p=0,022$ ).

**Συμπεράσματα:** Τα χειρουργικά επαγόμενα ενδομητριωσικά εμφυτεύματα σε ζώα με απώλεια έκφρασης των υποδοχέων PPAR-άλφα παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην παθολογία τους σε σύγκριση με βλάβες που προκαλούνται σε ζώα μάρτυρες. Αυτές οι πληροφορίες υποδηλώνουν ότι οι υποδοχείς PPAR-άλφα έχουν σημαντική επίδραση στην πορεία της νόσου, υποδεικνύοντας ότι μπορεί να χρησιμεύσουν ως πιθανοί στόχοι για μελλοντικές ιατρικές θεραπείες.

Λέξεις κλειδιά : ενδομητρίωση, πολλαπλασιαστής υπεροξεισωματίου , ποντίκια, αγγειογένεση, ppar-alpha.

## ABSTRACT

---

**Introduction:** Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) have been proposed as a medical treatment against endometriosis in preclinical and clinical studies. Their effect seems to be triggered through the suppression of angiogenesis. In the present study, we used a transgenic animal model with a loss of expression of PPAR-alpha receptors to examine their effect on the course of surgically induced endometriotic lesions.

**Methods:** Ten C57BL/6 mice that served as controls and 10 B6;129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J transgenic mice characterized by absolute loss of expression of PPAR-alpha receptors were used for induction of endometriosis with a previously described surgical technique.

**Results:** Five animals (50%) exhibited abundant endometriotic crypts in the control group whereas only one (10%) animal in the transgenic experimental group had a similar pathological image. Neo-vascularization significantly differed among the two groups ( $p=0.034$ ) favoring the control group as it was extremely limited in half of the PPAR-alpha null animals. The median inflammation score was 2.5 (1-4) in the P B6;129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J group, whereas it was minimal, 1 (0-2), in the C57BL/6 group. However, these differences were not statistically significant ( $p=0.101$ ). The fibroblastic activity was also very limited in the PPAR-alpha-deficient model, whereas animals belonging to the control group exhibited an intermediate increase of this index ( $p=0.022$ ).

**Conclusion:** Surgically induced endometriotic implants in animals with loss of expression of PPAR-alpha receptors exhibit significant differences in their pathology compared to lesions induced in control animals. This information suggests that PPAR-alpha receptors have a significant impact on the course of the disease, indicating that they may serve as potential targets for future medical therapies.

**Keywords:** 129s4-pparatm1gonz/j, angiogenesis, mice, peroxisome proliferator, ppar-alpha, endometriosis

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

1. Amro B, Ramirez Aristondo ME, Alsuwaidi S, Almaamari B, Hakim Z, Tahlak M, Wattiez A, Koninckx PR. New Understanding of Diagnosis, Treatment and Prevention of Endometriosis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 May 31;19(11):6725.
2. As-Sanie, S.; Black, R.; Giudice, L.C.; Gray Valbrun, T.; Gupta, J.; Jones, B.; Laufer, M.R.; Milspaw, A.T.; Missmer, S.A.; Norman A.; et al. Assessing Research Gaps and Unmet Needs in Endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2019, 221, 86–94.
3. Falcone T, Flyckt R. Clinical Management of Endometriosis. *Obstet Gynecol.* 2018 Mar;131(3):557-571.
4. Rolla E. Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *F1000Res*. 2019 Apr 23;8:F1000 Faculty Rev-529.
5. Wykes, C. B., Clark, T. J. & Khan, K. S. (2004a) Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *Bjog*, 111, 1204-12.
6. Wang Y, Nicholes K, Shih IM. The Origin and Pathogenesis of Endometriosis. *Annu Rev Pathol.* 2020 Jan 24;15:71-95. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032654.
7. Guerriero S, Condous G, van den Bosch T, Valentin L, Leone FP, Van Schoubroeck D, Exacoustos C, Installé AJ, Martins WP, Abrao MS, Hudelist G, Bazot M, Alcazar JL, Gonçalves MO, Pascual MA, Ajossa S, Savelli L, Dunham R, Reid S, Menakaya U, Bourne T, Ferrero S, Leon M, Bignardi T, Holland T, Jurkovic D, Benacerraf B, Osuga Y, Somigliana E, Timmerman D. Systematic approach to sonographic evaluation of the pelvis in women with suspected endometriosis, including terms, definitions and measurements: a consensus opinion from the International Deep Endometriosis Analysis (IDEA) group. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Sep;48(3):318-32.

8. Smolarz B, Szyłło K, Romanowicz H. Endometriosis: Epidemiology, Classification, Pathogenesis, Treatment and Genetics (Review of Literature). *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 29;22(19):10554.
9. Husby GK, Haugen RS and Moen MH. Diagnostic delay in women with pain and endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003;82: 649-653.
10. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d'Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril* 2011;96: 366–73.
11. Ferrero S, Arena E, Morando A, Remorgida V. Prevalence of newly diagnosed endometriosis in women attending the general practitioner. *Int J Gynaecol Obstet* 2010; 110: 203–207.
12. Richard O. Burney, Linda C. Giudice. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2012;98: 511–9.
13. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14: 442–69.
14. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984;64:151–4.
15. Nisolle M, Paindaveine B, Bourdon A. Histologic study of peritoneal endometriosis in infertile women. *Fertil Steril*. 1990;53: 98-988.
16. Alexandre Bricou, Ronald E. Batt, Charles Chapron. Peritoneal fluid flow influences anatomical distribution of endometriotic lesions: Why Sampson seems to be right. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2008;138: 127–134.
17. Iwanoff N. Dusiges cystenhaltiges uterusfibromyom compliciert durch sarcom und carcinom. (Adenofibromyoma cysticum sarcomatodes carcinomatosum). *Monatsch Geburtshilfe Gynakol* 1898;7: 295–300.
18. Levander G, Normann P. The pathogenesis of endometriosis; an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1955;34: 366–98.
19. Merrill JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 1966;94: 780–90.

20. Crain DA, Janssen SJ, Edwards TM, Heindel J, Ho SM, Hunt P, et al. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. *Fertil Steril* 2008;90: 911–40.
21. Russell W. Aberrant portions of the mullerian duct found in an ovary. Ovarian cysts of mullerian origin. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1899;10: 8.
22. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Michels KB, Hunter DJ. In utero exposures and the incidence of endometriosis. *Fertil Steril* 2004;82: 1501–8.
23. Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1127: 106–15.
24. Sampson JA. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *Am J Pathol* 1927;3: 93–110.
25. Jubanyik KJ, Comite F. Extrapelvic endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24: 411–40.
26. Sanada T, Park J, Hagiwara M, Ikeda N, Nagai T, Matsubayashi J, Saito K. CT and MRI findings of bronchopulmonary endometriosis: a case presentation. *Acta Radiol Open*. 2018 Oct 1;7(10):2058460118801164.
27. Dongxu Z, Fei Y, Xing X, Bo-Yin Z, Qingsan Z. Low back pain tied to spinal endometriosis. *Eur Spine J*. 2014 May;23 Suppl 2:214-7.
28. Steinberg JA, Gonda DD, Muller K, Ciacci JD. Endometriosis of the conus medullaris causing cyclic radiculopathy. *J Neurosurg Spine*. 2014 Nov;21(5):799-804.
29. Yu J, Francisco AMC, Patel BG, Cline JM, Zou E, Berga SL, Taylor RN. IL-1 $\beta$  Stimulates Brain-Derived Neurotrophic Factor Production in Eutopic Endometriosis Stromal Cell Cultures: A Model for Cytokine Regulation of Neuroangiogenesis. *Am J Pathol*. 2018 Oct;188(10):2281-2292.
30. Troncon JK, Zani AC, Vieira AD, Poli-Neto OB, Nogueira AA, Rosa-E-Silva JC. Endometriosis in a patient with mayer-rokitansky-küster-hauser syndrome. *Case Rep Obstet Gynecol*. 2014;2014: 376231.
31. Elliott JE, Abduljabar H, Morris M. Presurgical management of dysmenorrhea and endometriosis in a patient with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2): 86-9.



32. Gruber TM, Mechsner S. Pathogenesis of Endometriosis: The Origin of Pain and Subfertility. *Cells*. 2021 Jun 3;10(6):1381. doi: 10.3390/cells10061381.
33. Baranov VS, Ivaschenko TE, Liehr T, Yarmolinskaya MI. Systems genetics view of endometriosis: a common complex disorder. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Feb;185: 59-65.
34. Koninckx PR, Fernandes R, Ussia A, Schindler L, Wattiez A, Al-Suwaidi S, Amro B, Al-Maamari B, Hakim Z, Tahlak M. Pathogenesis Based Diagnosis and Treatment of Endometriosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Nov 25;12:745548.
35. Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod* 1998;13: 3496–502.
36. Treloar SA, Wicks J, Nyholt DR, Montgomery GW, Bahlo M, Smith V, et al. Genome-wide 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.
37. Painter JN, Anderson CA, Nyholt DR, Macgregor S, Lin J, Lee SH, et al. Genome-wide association study identifies a locus at 7p15.2 associated with endometriosis. *Nat Genet* 2011;43: 51–4.
38. Wu Y, Strawn E, Basir Z, Wang Y, Halverson G, Jailwala P, et al. Genomic alterations in ectopic and eutopic endometria of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2006;62: 148–59.
39. Zeitoun K, Takayama K, Sasano H, Suzuki T, Moghrabi N, Andersson S, et al. Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83: 4474–80.
40. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM, Putman JM, Johns DA, Hinshelwood MM, et al. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82: 600–6.
41. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, et al. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol* 2006;248: 94–103.

42. Lucidi RS, Witz CA, Chrisco M, Binkley PA, Shain SA, Schenken RS. A novel in vitro model of the early endometriotic lesion demonstrates that attachment of endometrial cells to mesothelial cells is dependent on the source of endometrial cells. *Fertil Steril* 2005;84: 16–21.
43. Halme J, White C, Kauma S, Estes J, Haskill S. Peritoneal macrophages from patients with endometriosis release growth factor activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66: 1044–9.
44. Eisermann J, Gast MJ, Pineda J, Odem RR, Collins JL. Tumor necrosis factor in peritoneal fluid of women undergoing laparoscopic surgery. *Fertil Steril* 1988;50: 573–9.
45. Harada T, Yoshioka H, Yoshida S, Iwabe T, Onohara Y, Tanikawa M, et al. Increased interleukin-6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176: 593–7.
46. WuMH, Sun HS, Lin CC, Hsiao KY, Chuang PC, Pan HA, et al. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis. *MolHumReprod* 2002;8: 1103–10.
47. Villanacci R, Bandini V, Ottolina J, Pagliardini L, Candiani M, Viganò P. The pathogenesis of endometriosis: clues from the immunological evidence. *Minerva Obstet Gynecol.* 2021 Jun;73(3):275-282.
48. Guerriero S, Saba L, Ajossa S, Peddes C, Angiolucci M, Perniciano M, Melis GB, Alcazar JL. Three-dimensional ultrasonography in the diagnosis of deep endometriosis. *Hum Reprod* 2014;29: 1189–1198.
49. Chapron C, Barakat H, Fritel X, Dubuisson JB, Breart G, Fauconnier A. Presurgical diagnosis of posterior deep infiltrating endometriosis based on a standardized questionnaire. *Hum Reprod* 2005;20: 507–513.
50. Holland TK, Cutner A, Saridogan E, Mavrelos D, Pateman K, Jurkovic D. Ultrasound mapping of pelvic endometriosis: does the location and number of lesions affect the diagnostic accuracy? A multicentre diagnostic accuracy study. *BMC Womens Health* 2013;13: 43.
51. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril* 2010;94: 1609–15.
52. Saunders PTK, Horne AW. Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects. *Cell.* 2021 May 27;184(11):2807-2824.

53. Baranov VS, Ivashenko TE, Liehr T, Yarmolinskaya MI. Systems genetics view of endometriosis: a common complex disorder. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2015; 185: 59–6.
54. Wykes, C. B., Clark, T. J. & Khan, K. S. Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *Bjog*. 2004;111: 1204-12.
55. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27:441–447.
56. Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 67–74.
57. Cahill DJ, Hull MG. Pituitary-ovarian dysfunction and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 56–66.
58. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Gatje R, Muller A, Rody A, Dobert N, Menzel C, Grunwald F, Siebzehrubl E. Diminished pregnancy rates in endometriosis due to impaired uterotubal transport assessed by hysterosalpingoscintigraphy. *BJOG*. 2005;112: 1391–1396.
59. Schenken RS. Treatment of human infertility: the special case of endometriosis. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, editors. *Reproductive endocrinology, surgery and technology*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1996: 2122–39.
60. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002;17: 426–31.
61. 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. In: *Gynecol Ob*
62. Cunha-Filho JS, Gross JL, Bastos de Souza CA, Lemos NA, Giugliani C, Freitas F, et al. Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2003;20: 117–21.

63. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98: 591–598.
64. Bahtiyar MO, Seli E, Oral E, Senturk LM, Zreik TG, Arici A. Follicular fluid of women with endometriosis stimulates the proliferation of endometrial stromal cells. *Hum Reprod* 1998; 13:3492–3495.
65. Pellicer A, Albert C, Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J Reprod Fertil Suppl* 2000; 55:109–119.
66. Díaz-Fontdevila M, Pommer R, Smith R. Cumulus cell apoptosis changes with exposure to spermatozoa and pathologies involved in infertility. *Fertil Steril* 2009; 91:2061–2068.
67. Russell DL, Robker RL. Molecular mechanisms of ovulation: coordination through the cumulus complex. *Hum Reprod Update* 2007;13: 289–312.
68. Garrido N, Navarro J, Garcia-Velasco J, Remoh J, Pellice A, Simon C. The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Hum Reprod Update* 2000; 8: 95–103.
69. Cunha-Filho JS, Gross JL, Lemos NA, Brandelli A, Castillos M, Passos EP. Hyperprolactinemia and luteal insufficiency in infertile patients with mild and minimal endometriosis. *Horm Metab Res* 2000; 33: 216–220.
70. Muscato JJ, Haney AF, Weinberg JB. Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: a possible cause of infertility in endometriosis. *Obstet Gynecol Surv* 1983; 38: 177–178.
71. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Gatje R, Muller A, Rody A, Dobert N, Menzel C, Grunwald F, Siebzehrubl E. Diminished pregnancy rates in 36 endometriosis due to impaired uterotubal transport assessed by hysterosalpingoscintigraphy. *BJOG* 2005;112: 1391–1396.
72. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Wiegratz I, Schlichter S, Menzel C, Doebert N, Gruenwald F, Vogl TJ, Gaetje R. Uterotubal transport disorder in adenomyosis and endometriosis—a cause for infertility. *BJOG* 2006;113: 902–908.

73. Kissler S, Zangos S, Wiegratz I, Kohl J, Rody A, Gaetje R, Doeberl N, Wildt L, Kunz G, Leyendecker G, et al. Utero-tubal sperm transport and its impairment in endometriosis and adenomyosis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1101: 38–48.
74. Coddington CC, Oehninger S, Cunningham DS, Hansen K, Sueldo CE, Hodgen GD. Peritoneal fluid from patients with endometriosis decreases sperm binding to the zona pellucida in the hemizona assay: a preliminary report. *Fertil Steril* 1992; 57: 783–786.
75. Mansour G, Abdelrazik H, Sharma RK, Radwan E, Falcone T, Agarwal A. L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2009; 91: 2079–2086.
76. Iwabe T, Harada T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53:19–25.
77. Yoshida S, Harada T, Iwabe T, Taniguchi F, Mitsunari M, Yamauchi N, Deura I, Horie S, Terakawa N. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod* 2004; 19: 1821–1825.
78. Brizek CL, Schlaff S, Pellegrini VA, Frank JB, Worrilow KC. Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis— an association with endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 106–112.
79. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75: 1–10.
80. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS Jr (1988) Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 334–340.
81. Attar E, Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update* 2006; 12: 49–56.

82. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 248: 94–103.
83. Kapoor R, Stratopoulou CA, Dolmans MM. Pathogenesis of Endometriosis: New Insights into Prospective Therapies. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 28;22(21):11700.
84. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67: 817–21.
85. Findekle S, Radosa JC, Hamza A, Haj Hamoud B, Iordache I, Sklavounos P, Takacs ZF, Solomayer EF, Radosa M. Treatment algorithm for women with endometriosis in a certified Endometriosis Unit. *Minerva Ginecol.* 2020 Feb;72(1):43-49.
86. Asano R, Nakazawa T, Hirahara F, Sakakibara H. Dienogest was effective in treating hemorrhagic ascites caused by endometriosis: a case report. *J Minim Invasive Gynecol.* 2014;21(6): 1110-1112.
87. Yamaguti EM, Brito MB, Ferriani RA, Garcia AA, Rosa ESJC, Vieira CS (2014) Comparison of the hemostatic effects of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and leuprolide acetate in women with endometriosis: A randomized clinical trial. *Thromb Res.* 2014;134(6): 1193-1197.
88. Szubert M, Suzin J, Duechler M, Szulawska A, Czyz M, Kowalczyk-Amico K. Evaluation of selected angiogenic and inflammatory markers in endometriosis before and after danazol treatment. *Reprod Fertil.* 2014; Dev 26 (3):414-420.
89. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67: 817–21.
90. Koninckx PR, Fernandes R, Ussia A, Schindler L, Wattiez A, Al-Suwaidi S, Amro B, Al-Maamari B, Hakim Z, Tahlak M. Pathogenesis Based Diagnosis and Treatment of Endometriosis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Nov 25;12:745548.

91. Rolla E. Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *F1000Res*. 2019 Apr 23;8:F1000 Faculty Rev-529.
92. Berkley K.J., Rapkin A.J., Papka R.E. The pains of endometriosis. *Science*. 2005;308:1587–1589.
93. Marki G., Bokor A., Rigo J., Rigo A. Physical pain and emotion regulation as the main predictive factors of health-related quality of life in women living with endometriosis. *Hum. Reprod*. 2017;32:1432–1438.
94. Lagana A.S., La Rosa V.L., Rapisarda A.M.C. Anxiety and depression in patients with endometriosis: Impact and management challenges. *Int. J. Women Health*. 2017:323–330.
95. Zheng W., Cao L., Zheng X., Yuanyuan M., Liang X. Anti-Angiogenic Alternative and Complementary Medicines for the Treatment of Endometriosis: A Review of Potential Molecular Mechanisms. *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2018;4128984:1–28.
96. Dull AM, Moga MA, Dimienescu OG, Sechel G, Burtea V, Anastasiu CV. Therapeutic Approaches of Resveratrol on Endometriosis via Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Pathways. *Molecules*. 2019 Feb 13;24(4):667.
97. Zarkadoulas N, Pergialiotis V, Dimitroulis D, Stefanidis K, Verikokos C, Perrea DN, Kontzoglou K. A potential role of cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21/WAF1) in the pathogenesis of endometriosis: Directions for future research. *Med Hypotheses*. 2019 Dec;133:109414.
98. Monsivais D, Dyson MT, Yin P, Navarro A, Coon JS, Pavone ME, Bulun SE. Estrogen receptor  $\beta$  regulates endometriotic cell survival through serum and glucocorticoid-regulated kinase activation. *Fertil Steril*. 2016;105(5):1266–1273.
99. Monsivais D, Dyson MT, Yin P, Coon JS, Navarro A, Feng G, Malpani SS, Ono M, Ercan CM, Wei JJ, Pavone ME, Su E, Bulun SE. ER $\beta$ - and prostaglandin E2-regulated pathways integrate cell proliferation via Ras-like and estrogen-regulated growth inhibitor in endometriosis. *Mol Endocrinol*. 2014;28(8):1304–1315.
100. Chandler RL, Damrauer JS, Raab JR, Schisler JC, Wilkerson MD, Didion JP, Starmer J, Serber D, Yee D, Xiong J, Darr DB, Pardo-Manuel

- de Villena F, Kim WY, Magnuson T. Coexistent ARID1A–PIK3CA mutations promote ovarian clear-cell tumorigenesis through pro-tumorigenic inflammatory cytokine signalling. *Nat Commun.* 2015;6(1):6118.
101. Koninckx P.R., Ussia A., Adamyan L., Wattiez A., Gomel V., Martin D.C. Pathogenesis of endometriosis: The genetic/epigenetic theory. *Fertil. Steril.* 2019;111:327–339.
102. Izawa M, Taniguchi F, Terakawa N, Harada T. Epigenetic aberration of gene expression in endometriosis. *Front Biosci (Elite Ed).* 2013 Jun 1;5(3):900-10.
103. Grimstad FW, Decherney A. A Review of the Epigenetic Contributions to Endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.* 2017 Sep;60(3):467-476.
104. Attar E. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis. *Translational aspects. Hum. Reprod. Update.* 2006;12:49–56.
105. Casoy M.H., Valente J., Filho J. Is aromatase expression in the endometrium the cause of endometriosis and its related infertility? *Gynecol. Endocrinol.* 2009;25:253–257.
106. Guo S.W. Nuclear factor-kappa B (NF-kappaB): An unsuspected major culprit in the pathogenesis of endometriosis that is still at large? *Gynecol. Obstet. Invest.* 2007;63:71–97.
107. Vallvé-Juanico J, Houshdaran S, Giudice LC. The endometrial immune environment of women with endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2019 Sep 11;25(5):564-591.
108. Cominelli A, Gaide Chevronnay HP, Lemoine P, Courtoy PJ, Marbaix E, Henriët P. Matrix metalloproteinase-27 is expressed in CD163+/CD206+M2 macrophages in the cycling human endometrium and in superficial endometriotic lesions. *Mol Hum Reprod* 2014;20:767–775.
109. Jensen AL, Collins J, Shipman EP, Wira CR, Guyre PM, Pioli PA. A subset of human uterine endometrial macrophages is alternatively activated. *Am J Reprod Immunol* 2012;68:374–386.



110. Mantovani A, Sica A, Locati M. Macrophage polarization comes of age. *Immunity* 2005;23:344–346.
111. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, Ishida M, Takahashi A, Yamanaka A, Wu D, Zheng L, Takahashi K, Suginami H et al.. Subpopulations of macrophages within eutopic endometrium of endometriosis patients. *Am J Reprod Immunol* 2015;73:221–231.
112. Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1221:80–87.
113. Capobianco A, Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front Immunol* 2013;4:1–14.
114. Bacci M, Capobianco A, Monno A, Cottone L, Di Puppo F, Camisa B, Mariani M, Brignole C, Ponzoni M, Ferrari S et al.. Macrophages are alternatively activated in patients with endometriosis and required for growth and vascularization of lesions in a mouse model of disease. *Am J Pathol* 2009;175:547–556.
115. Beste MT, Pfaffle-Doyle N, Prentice EA, Morris SN, Lauffenburger DA, Isaacson KB, Griffith LG. Molecular network analysis of endometriosis reveals a role for c-uun-regulated macrophage activation. *Sci Transl Med* 2014;6:222ra16.
116. Wu J, Xie H, Yao S, Liang Y. Macrophage and nerve interaction in endometriosis. *J Neuroinflamm* 2017;14:53–59.
117. Morotti M, Vincent K, Brawn J, Zondervan KT, Christian M. Peripheral changes in endometriosis-associated pain. *Hum Reprod Update* 2015;20:717–736.
118. Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A, Nazeran TM, Noë M, Horlings HM, Lum A, Jones S, Senz J, Seckin T et al.. Cancer-associated mutations in endometriosis without cancer. *N Engl J Med* 2017;376:1835–1848.
119. Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, Yamaguchi N, Katamine S, Matsuyama T, Nakashima M, Fujishita A, Ishimaru T, Masuzaki H. *Escherichia coli* contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis. *Fertil Steril* 2010;94:2860–2863.

120. Hey-Cunningham A.J., Peters K.M., Zevallos H.B.V., Berbic M., Markham R., Fraser I. Angiogenesis, lymphangiogenesis and neurogenesis in endometriosis. *Front. Biosci. Elite.* 2013;5:1033–1056.
121. Gagne D., Page M., Robitaille G., Hugo P., Gosselin D. Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum. Reprod.* 2003;18:1674–1680.
122. Song W.W., Lu H., Hou W.J., Guang-Xu X., Ji-Hong Z., Sheng Y.H., Cheng M.J., Zhang R. Expression of vascular endothelial growth factor C and anti-angiogenesis therapy in endometriosis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014;7:7752–7759.
123. Helisch A, Schaper W. Arteriogenesis - the development and growth of collateral arteries. *Microcirculation* 2003; 10: 83–97.
124. Xu L, Fukumura D, Jain RK. Acidic extracellular pH induces vascular endothelial growth factor (VEGF) in human glioblastoma cells via ERK1/2 MAPK signaling pathway: mechanism of low pH-induced VEGF. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 11368– 11374.
125. Burri, PH; Hlushchuk, R; Djonov, V. Intussusceptive angiogenesis: its emergence, its characteristics, and its significance. *Dev Dyn.* 2004;231(3): 474–88.
126. Semenza GL. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2001; 13: 167–171.
127. C Sundberg, M Kowanetz, LF Brown, M Detmar, HF Dvorak. Stable Expression of Angiopoietin-1 and Other Markers by Cultured Pericytes: Phenotypic Similarities to a Subpopulation of Cells in Maturing Vessels During Later Stages of Angiogenesis In Vivo. *Laboratory Investigation.* 2002;82: 387–401.
128. Jana S., Chatterjee K., Ray A.K., Das Mahapatra P., Swarnakar S., Ramchandran R. Regulation of Matrix Metalloproteinase 2 Activity by COX-2-PGE2-pAKT Axis Promotes Angiogenesis in Endometriosis. *PLoS ONE.* 2016;11:0163540.
129. Soares S.R., Martinez-Varea A., Hidalgo-Mora J.J., Pellicer A. Pharmacologic therapies in endometriosis: A systematic review. *Fertil. Steril.* 2012;98:529–555. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1120.

130. Grund E.M., Kagan D., Tran C.A., Zeitvogel A., Strazinski-Powitz A., Nataraja S. Tumor necrosis factor- $\alpha$  regulates inflammatory and mesenchymal responses via mitogen-activated protein kinase, p38, and nuclear factor-kB in human endometriotic epithelial cells. *Mol. Pharm.* 2008;73:1394–1404. doi: 10.1124/mol.107.042176. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
131. Zhang H., Li M., Wang F., Liu S., Li J., Wen Z. Endometriotic epithelial cells induce MMPs expression in endometrial stromal cells via NF-kB-dependent pathway. *Gynecol. Endocrinol.* 2010;26:456–467. doi: 10.3109/09513590903366988. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
132. Donnez J., Binda M.M., Donnez O., Dolmans M.M. Oxidative stress in the pelvic cavity and its role in the pathogenesis of endometriosis. *Fertil. Steril.* 2016;106:1011–1017.
133. Crossland H, Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL. The Regulatory Roles of PPARs in Skeletal Muscle Fuel Metabolism and Inflammation: Impact of PPAR Agonism on Muscle in Chronic Disease, Contraction and Sepsis. *Int J Mol Sci.* 2021 Sep 10;22(18):9775.
134. Varga T., Czimmerer Z., Nagy L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Mol. Basis Dis.* 2011;1812:1007–1022.
135. Lee C.-H., Olson P., Evans R.M. Minireview: Lipid Metabolism, Metabolic Diseases, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Endocrinology.* 2003;144:2201–2207.
136. Berger J., Wagner J.A. Physiological and Therapeutic Roles of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Diabetes Technol. Ther.* 2002;4:163–174.
137. Abbott B.D. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR $\alpha$ ), beta (PPAR $\beta$ ), and gamma (PPAR $\gamma$ ) in rodent and human development. *Reprod. Toxicol.* 2009;27:246–257.
138. Vallée, A.; Lecarpentier, Y.; Guillevin, R.; Vallée, J.-N. Interactions between TGF-B1, Canonical WNT/ $\beta$ -Catenin Pathway and PPAR  $\gamma$  in Radiation-Induced Fibrosis. *Oncotarget* 2017, 8, 90579–90604.

139. Vallée, A.; Vallée, J.-N.; Lecarpentier, Y. PPAR $\gamma$  Agonists: Potential Treatment for Autism Spectrum Disorder by Inhibiting the Canonical WNT/ $\beta$ -Catenin Pathway. *Mol. Psychiatry* 2018.
140. Vallée, A.; Lecarpentier, Y. Crosstalk Between Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma and the Canonical WNT/ $\beta$ Catenin Pathway in Chronic Inflammation and Oxidative Stress During Carcinogenesis. *Front. Immunol.* 2018, 9, 745. *Pharmaceuticals* 2021.
141. Rocha, A.L.L.; Reis, F.M.; Petraglia, F. New Trends for the Medical Treatment of Endometriosis. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2012, 21: 905–919. [
142. Braileanu, G.T.; Simasko, S.M.; Speth, R.C.; Daubert, D.; Hu, J.; Mirando, M.A. Angiotensin II Increases Intracellular Calcium Concentration in Pig Endometrial Stromal Cells through Type 1 Angiotensin Receptors, but Does Not Stimulate Phospholipase C Activity or Prostaglandin F $2\alpha$  Secretion. *Reprod. Fertil. Dev.* 2002, 14, 199–205.
143. Wang, N.; Verna, L.; Chen, N.-G.; Chen, J.; Li, H.; Forman, B.M.; Stemerman, M.B. Constitutive Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Suppresses pro-Inflammatory Adhesion Molecules in Human Vascular Endothelial Cells. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 34176–34181.
144. Lebovic, D.I.; Kavoussi, S.K.; Lee, J.; Banu, S.K.; Arosh, J.A. PPAR $\gamma$  Activation Inhibits Growth and Survival of Human Endometriotic Cells by Suppressing Estrogen Biosynthesis and PGE $2$  Signaling. *Endocrinology* 2013;154: 4803–4813.
145. Nickkho-Amiry M, McVey R, Holland C. Peroxisome Proliferator–Activated Receptors Modulate Proliferation and Angiogenesis in Human Endometrial Carcinoma. *Molecular Cancer Research* 2012;10(3):441-53.
146. Urbanska K, Pannizzo P, Grabacka M, Croul S, Del Valle L, Khalili K, et al. Activation of PPAR $\alpha$  inhibits IGF-I-mediated growth and survival responses in medulloblastoma cell lines. *International journal of cancer* 2008;123(5):1015-24.

147. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, Butterfield C, Bielenberg D, Mostoslavsky G, et al. PPAR $\alpha$  deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. *PLoS One* 2007;2(2):e260-e.
148. Azab A, Kaplanski J. A reduction of tumor necrosis factor- $\alpha$  in paw exudate of lipopolysaccharide treated rats by nimesulide. *Life Sci.* 2001;68(14):1667–1675.
149. Berger J, Moller D. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med.* 2002;53:409–935.
150. Delerive P, Fruchart J.C, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol.* 2001;169(3):453–459.
151. The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  is a negative regulator of macrophage activation. *Nature.* 1998;391(6662):79–82.
152. Michalik L, Auwerx J, Berger JP, et al. International Union of Pharmacology. LXI. peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* 2006;58(4):726–741
153. Bookout AL, Jeong Y, Downes M, et al. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network. *Cell.* 2006;126(4):789–799.
154. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu. Rev. Med.* 2002;53:409–435.
155. Chen YE, Fu M, Zhong J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and the cardiovascular system. *Vitam. Horm.* 2003;66:157–188.
156. Wang Y-X. PPARs: diverse regulators in energy metabolism and metabolic diseases. *Cell Res.* 2010;20(2):124–137.
157. Pyper SR, Viswakarma N, Yu S, Reddy JK. PPAR- $\alpha$ : energy combustion, hypolipidemia, inflammation and cancer. *Nucl. Recept. Signal.* 2010;8:e002.
158. Bojic LA, Huff MW. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$ : a multifaceted metabolic player. *Curr. Opin. Lipidol.* 2013;24(12):171–177.

159. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, et al. PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat. Med.* 2013;19(5):557–566
160. Kersten S. Integrated physiology and systems biology of PPAR- $\alpha$  *Mol. Metab.* 2014;3(4):354–371.
161. Tan NS, Vázquez-Carrera M, Montagner A, Sng MK, Guillou H, Wahli W. Transcriptional control of physiological and pathological processes by the nuclear receptor PPAR $\beta/\delta$  *Prog. Lipid Res.* 2016;64:98–122.
162. Han L, Shen WJ, Bittner S, Kraemer FB, Azhar S. PPARs: regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR- $\alpha$ . *Future Cardiol.* 2017 May;13(3):259-278.
163. Sher T, Yi HF, McBride OW, Gonzalez FJ. CDNA cloning, chromosomal mapping, and functional characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor. *Biochemistry.* 1993;32(21):5598–5604.
164. Viswakarma N, Jia Y, Bai L, et al. Coactivators in PPAR-regulated gene expression. *PPAR Res.* 2010;2010:250126.
165. Abbott BD. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR- $\alpha$ ), beta (PPAR $\beta$ ), and gamma (PPAR $\gamma$ ) in rodent and human development. *Reprod. Toxicol.* 2009;27(3–4):246–257.
166. Gouni-Berhold I, Krone W. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) and atherosclerosis. *Curr. Drug targets Cardiovasc. Hematol. Disord.* 2005;5(6):513–523.
167. Touyz RM, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascul. Pharmacol.* 2006;45(1):19–28.
168. Chen YE, Fu M, Zhhang J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and the cardiovascular system. *Vitam. Horm.* 2003;66:157–188.
169. Zandbergen F, Plutzky J. PPAR- $\alpha$  in atherosclerosis and inflammation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007;1771(8):972–982

170. Shipman KE, Strange RC, Ramachandran S. Use of fibrates in the metabolic syndrome: a review. *World J. Diabetes.* 2016;7(5):74–88.
171. Djouadi F, Aubey F, Schlemmer D, Bastin J. Peroxisome proliferator activated receptor  $\delta$  (PPAR $\delta$ ) agonist but not PPAR- $\alpha$  corrects carnitine palmitoyl transferase 2 deficiency in human muscle cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005;90(3):1791–1797.
172. Abbot EL, McCormack JG, Reynet C, Hassall DG, Buchan KW, Yeaman SJ. Diverging regulation of pyruvate dehydrogenase kinase isoform gene expression in cultured human muscle cells. *FEBS J.* 2005;272(12):3004–3014.
173. Youssef J, Badr M. Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Inflammation Control. *J Biomed Biotechnol* 2004;2004(3):156-66.
174. Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998;391(6662):82-6.
175. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev.* 1999;20(5):649–688.
176. Pozzi A, Macias-Perez I, Abair T, Wei S, Su Y, Zent R, et al. Characterization of 5,6- and 8,9-epoxyeicosatrienoic acids (5,6- and 8,9-EET) as potent in vivo angiogenic lipids. *The Journal of biological chemistry* 2005;280(29):27138-46.
177. Meissner M, Stein M, Urbich C, Reisinger K, Suske G, Staels B, et al. PPAR $\alpha$  activators inhibit vascular endothelial growth factor receptor-2 expression by repressing Sp1-dependent DNA binding and transactivation. *Circulation research* 2004;94(3):324-32.
178. Medhora M, Daniels J, Munday K, Fisslthaler B, Busse R, Jacobs ER, et al. Epoxygenase-driven angiogenesis in human lung microvascular endothelial cells. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2003;284(1):H215-24.
179. Berrabah W, Aumercier P, Lefebvre P, Staels B. Control of nuclear receptor activities in metabolism by post-translational modifications. *FEBS Lett.* 2011;585(11):1649–1650.

180. Lazennec G, Canaple L, Saugy D, Wahli W. Activation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) by their ligands and protein kinase A activators. *Mol. Endocrinol.* 2000;14(12):1962–1975.
181. Diradourian C, Le May C, Caüzac M, Girard J, Burnol A, Pégurier J. Involvement of ZIP/p62 in the regulation of PPAR- $\alpha$  transcriptional activity by p38 MAPK. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008;1781(5):239–244.
182. Israelian-konaraki Z, Reaven PD. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and atherosclerosis: from basic mechanisms to clinical implications. *Cardiol. Rev.* 2005;103(1):1–9.
183. Francis GA, Annicotte JS, Auwerx J. PPAR- $\alpha$  effects on the heart and other vascular tissues. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003;285(1):H1–H9.
184. Tan Y, Wang M, Yang K, Chi T, Liao Z, Wei P. PPAR- $\alpha$  Modulators as Current and Potential Cancer Treatments. *Front Oncol.* 2021 Mar 23;11:599995
185. Cheng HS, Tan WR, Low ZS, Marvalim C, Lee JYH, Tan NS. Exploration and development of PPAR modulators in health and disease: an update of clinical evidence. *Int J Mol Sci.* (2019) 20:5055.
186. Auwerx J, Schoonjans K, Fruchart JC, Staels B. Regulation of triglyceride metabolism by PPARs: fibrates and thiazolidinediones have distinct effects. *J Atheroscler Thromb.* (1996) 3:81–9. 10.5551/jat1994.3.81 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
187. Pyper SR, Viswakarma N, Yu S, Reddy JK. PPAR $\alpha$ : energy combustion, hypolipidemia, inflammation and cancer. *Nucl Recept Signal.* (2010) 8:e002–2.
188. Grabacka M, Plonka PM, Reiss K. Melanoma—time to fast or time to feast? An interplay between PPARs, metabolism and immunity. *Exp Dermatol.* (2020) 29:436–45.
189. Chen L, Peng J, Wang Y, Jiang H, Wang W, Dai J, et al.. Fenofibrate-induced mitochondrial dysfunction and metabolic reprogramming reversal: the anti-tumor effects in gastric carcinoma cells mediated by the PPAR pathway. *Am J Transl Res.* (2020) 12:428–46.



190. Contreras AV, Torres N, Tovar AR. PPAR- $\alpha$  as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. *Adv Nutr.* (2013) 4:439–52. 10.3945/an.113.003798
191. Maccallini C, Mollica A, Amoroso R. The positive regulation of eNOS signaling by PPAR agonists in cardiovascular diseases. *Am J Cardiovascular Drugs.* (2017) 17:273–81.
192. Garrido-Urbani S, Jemelin S, Deffert C, Carnesecchi S, Basset O, Szyndralewicz C, et al.. Targeting vascular NADPH oxidase 1 blocks tumor angiogenesis through a PPAR $\alpha$  mediated mechanism. *PLoS ONE.* (2011) 6:e14665.
193. Patsoukis N, Bardhan K, Chatterjee P, Sari D, Liu B, Bell LN, et al.. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nat Commun.* (2015)
194. Chang N-W, Huang Y-P. The RNA degradation pathway is involved in PPAR $\alpha$ -modulated anti-oral tumorigenesis. *BioMedicine.* (2019) 9:27.
195. Gou Q, Dong C, Jin J, Liu Q, Lu W, Shi J, et al.. PPAR $\alpha$  agonist alleviates tumor growth and chemo-resistance associated with the inhibition of glucose metabolic pathway. *Eur J Pharmacol.* (2019) 863:172664
196. Luo Y, Xie C, Brocker CN, Fan J, Wu X, Feng L, et al.. Intestinal PPAR $\alpha$  protects against colon carcinogenesis via regulation of methyltransferases DNMT1 and PRMT6. *Gastroenterology.* (2019) 157:744–59.e4.
197. Mou Y, Wang J, Wu J, He D, Zhang C, Duan C, et al.. Ferroptosis, a new form of cell death:opportunities and challenges in cancer. *J Hematol Oncol.* (2019)
198. Li J, Cao F, Yin H-l, Huang Z-j, Lin Z-t, Mao N, et al.. Ferroptosis:past, present and future. *Cell Death Dis.* (2020) 11:88.
199. Venkatesh D, O'Brien N, Zandkarimi F, Tong D, Stokes M, Dunn D, et al.. MDM2 and MDMX promote ferroptosis by PPAR $\alpha$ -mediated lipid remodeling. *Genes Dev.* (2020) 34:526–43.
200. Xu L, Xia H, Ni D, Hu Y, Liu J, Qin Y, et al.. High-dose dexamethasone manipulates the tumor microenvironment and internal

- metabolic pathways in anti-tumor progression. *Int J Mol Sci.* (2020) 21:E1846.
201. Kwong S, Jamil A, Rhodes A, Mohd Taib NA, Chung I. Metabolic role of fatty acid binding protein 7 in mediating triple negative breast cancer cell death via PPAR- $\alpha$  signalling. *J Lipid Res.* (2019) 60:jlrm092379.
202. Hentze JL, Høgdall CK, Høgdall EV. Methylation and ovarian cancer: can DNA methylation be of diagnostic use? *Mol Clin Oncol.* (2019) 10:323–30.
203. Koch A, Joosten SC, Feng Z, de Ruijter TC, Draht MX, Melotte V, et al.. Analysis of DNA methylation in cancer: location revisited. *Nat Rev Clin Oncol.* (2018) 15:459–66.
204. Mahmoud AM, Ali MM. Methyl donor micronutrients that modify DNA methylation and cancer outcome. *Nutrients.* (2019) 11:608.
205. Brunetti L, Loiodice F, Piemontese L, Tortorella P, Laghezza A. New approaches to cancer therapy: combining fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition with peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) activation. *J Med Chem.* (2019) 62:10995–1003.
206. Ammazalorso A, De Lellis L, Florio R, Laghezza A, De Filippis B, Fantacuzzi M, et al.. Synthesis of novel benzothiazole amides: Evaluation of PPAR activity and anti-proliferative effects in paraganglioma, pancreatic and
207. Ammazalorso A, Giancristofaro A, D'Angelo A, Filippis BD, Fantacuzzi M, Giampietro L, et al.. Benzothiazole-based N-(phenylsulfonyl)amides as a novel family of PPAR $\alpha$  antagonists. *Bioorganic Med Chem Lett.* (2011) 21:4869–72.
208. Uremis N, Uremis MM, Tolun FI, Ceylan M, Doganer A, Kurt AH. Synthesis of 2-substituted benzothiazole derivatives and their in vitro anticancer effects and antioxidant activities against pancreatic cancer cells. *Anticancer Res.* (2017) 37:6381–9.
209. Ammazalorso A, De Lellis L, Florio R, Bruno I, De Filippis B, Fantacuzzi M, et al.. Cytotoxic effect of a family of peroxisome proliferator-activated receptor antagonists in colorectal and pancreatic cancer cell lines. *Chem Biol Drug Design.* (2017) 90:1029–35.

210. Hwang YP, Won SS, Jin SW, Lee GH, Pham TH, Choi JH, et al.. WY-14643 Regulates CYP1B1 expression through peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ -mediated signaling in human breast cancer cells. *Int J Mol Sci.* (2019) 20:5928.
211. Pauley CJ, Ledwith BJ, Kaplanski C. Peroxisome proliferators activate growth regulatory pathways largely via peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent mechanisms. *Cell Signal.* (2002) 14:351–8.
212. Peters JM, Shah YM, Gonzalez FJ. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nat Rev Cancer.* (2012)
213. Ma X-L, Sun Y-F, Wang B-L, Shen M-N, Zhou Y, Chen J-W, et al.. Sphere-forming culture enriches liver cancer stem cells and reveals Stearoyl-CoA desaturase 1 as a potential therapeutic target. *BMC Cancer.* (2019) 19:760. 10.1186/s12885-019-5963-z
214. Brown ZJ, Fu Q, Ma C, Kruhlak M, Zhang H, Luo J, et al.. Carnitine palmitoyltransferase gene upregulation by linoleic acid induces CD4(+) T cell apoptosis promoting HCC development. *Cell Death Dis.* (2018) 9:620. 10.1038/s41419-018-0687-6
215. Hichami A, Yessoufou A, Ghiringhelli F, Salvadori F, Moutairou K, Zwetyenga N, et al.. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha deficiency impairs regulatory T cell functions: possible application in the inhibition of melanoma tumor growth in mice. *Biochimie.* (2016) 131:1–10.
216. Morse E, Selim E, Cunard R. PPAR $\alpha$  ligands cause lymphocyte depletion and cell cycle block and this is associated with augmented TRB3 and reduced Cyclin B1 expression. *Mol Immunol.* (2009) 46:3454–61.
217. Selim E, Frkanec JT, Cunard R. Fibrates upregulate TRB3 in lymphocytes independent of PPAR $\alpha$  by augmenting CCAAT/enhancer-binding protein $\beta$  (C/EBP $\beta$ ) expression. *Mol Immunol.* (2007) 44:1218–29.
218. Chen L, Peng J, Wang Y, Jiang H, Wang W, Dai J, et al.. Fenofibrate-induced mitochondrial dysfunction and metabolic

- reprogramming reversal:the anti-tumor effects in gastric carcinoma cells mediated by the PPAR pathway. *Am J Transl Res.* (2020) 12:428–46.
219. Wahli W, Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. *Trends Endocrinol Metabol.* 2012, 23:351–63.
220. Zhang Y, Kurupati R, Liu L, Zhou XY, Zhang G, Hudaihed A, et al.. Enhancing CD8(+) T cell fatty acid catabolism within a metabolically challenging tumor microenvironment increases the efficacy of melanoma immunotherapy. *Cancer Cell.* (2017) 32:377–91.e9.
221. Saibil SD, St Paul M, Laister RC, Garcia-Batres CR, Israni-Winger K, Elford AR, et al.. Activation of peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\delta$  synergizes with inflammatory signals to enhance adoptive cell therapy. *Cancer Res.* (2019) 79:445–51. 10.1158/0008-5472.CAN-17-3053 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
222. Garbacz WG, Huang JTJ, Higgins LG, Wahli W, Palmer CNA. PPAR $\alpha$  is required for PPAR $\delta$  action in regulation of body weight and hepatic steatosis in mice. *PPAR Res.* (2015) 2015:927057.
223. Chowdhury PS, Chamoto K, Kumar A, Honjo T. PPAR-induced fatty acid oxidation in t cells increases the number of tumor-reactive CD8 T cells and facilitates anti-PD-1 therapy. *Cancer Immunol Res.* (2018) 6:1375.
224. Lebovic DI, Kavoussi SK, Lee J, Banu SK, Arosh JA. PPAR $\gamma$  activation inhibits growth and survival of human endometriotic cells by suppressing estrogen biosynthesis and PGE2 signaling. *Endocrinology.* 2013;154:4803-13.
225. Vallée A, Vallée JN, Le Blanche A, Lecarpentier Y. PPAR $\gamma$  Agonists: Emergent Therapy in Endometriosis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14.
226. Chen Z, Wang C, Lin C, Zhang L, Zheng H, Zhou Y, et al. Lipidomic Alterations and PPAR $\alpha$  Activation Induced by Resveratrol Lead to Reduction in Lesion Size in Endometriosis Models. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:9979953.
227. Chagovets VV, Wang Z, Kononikhin AS, Starodubtseva NL, Borisova A, Salimova D, et al. Endometriosis foci differentiation by rapid

- lipid profiling using tissue spray ionization and high resolution mass spectrometry. *Sci Rep.* 2017;7:2546.
228. Tyagi S, Gupta P, Saini AS, Kaushal C, Sharma S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011;2:236-40.
229. Vouk K, Hevir N, Ribić-Pucelj M, Haarpaintner G, Scherb H, Osredkar J, et al. Discovery of phosphatidylcholines and sphingomyelins as biomarkers for ovarian endometriosis. *Hum Reprod.* 2012;27:2955-65.
230. Pergialiotis V, Frountzas M, Fasoulakis Z, Daskalakis G, Chrisochoidi M, Kontzoglou K, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPAR- $\alpha$ ) as a Regulator of the Angiogenic Profile of Endometriotic Lesions. *Cureus.* 2022;14:e22616.
231. Zhou J, Zhang S, Xue J, Avery J, Wu J, Lind SE, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) suppresses hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) signaling in cancer cells. *J Biol Chem.* 2012;287:35161-9.
232. Pergialiotis V, Zarkadoulas N, Goula K, Frountzas M, Antoniadou F, Dimitroulis D, Vlachos DE, Verikokos C, Perrea N, Kontzoglou K. Loss of expression of PPAR-alpha receptors results in significant angiogenic and inflammatory alterations of endometriotic lesions: and experimental study. *Cureus*, 2022.
233. Tsukamoto A, Niino N, Sakamoto M, Ohtani R, Inomata T. The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. *Exp Anim.* 2018;67:329-36.
234. Prodromidou A, Pergialiotis V, Pavlakis K, Korou LM, Frountzas M, Dimitroulis D, et al. A Novel Experimental Model of Colorectal Endometriosis. *J Invest Surg.* 2018;31:275-81.
235. Huibers CJ, de Roos MA, Ong KH. The effect of the introduction of the ERAS protocol in laparoscopic total mesorectal excision for rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27:751-7.
236. Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril.* 1985;44:684-94.

237. Dieleman LA, Palmen MJ, Akol H, Bloemena E, Peña AS, Meuwissen SG, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clin Exp Immunol.* 1998;114:385-91.
238. Erben U, Loddenkemper C, Doerfel K, Spieckermann S, Haller D, Heimesaat MM, et al. A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7:4557-76.
239. Greenhalgh DG, Sprugel KH, Murray MJ, Ross R. PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse. *Am J Pathol.* 1990;136:1235-46.
240. Frountzas M, Pergialiotis V, Stergios K, Nikolaou C, Katafygiotis P, Lazaris AC, et al. The Effect of TISSEELTM on Confined Bowel Perforation: An Experimental Study. *Eur Surg Res.* 2021;62:151-60.
241. Stergios K, Frountzas M, Pergialiotis V, Korou LM, Kontzoglou K, Stefanidis K, et al. The Effect of TISSEEL® on Colorectal Anastomosis Healing Process in a Diabetic Animal Experimental Model. *In Vivo.* 2020;34:659-65.
242. Pergialiotis V, Zarkadoulas N, Goula K, et al. (October 14, 2022) Angiogenic and Inflammatory Alterations of Endometriotic Lesions in a Transgenic Animal Experimental Model With Loss of Expression of PPAR-Alpha Receptors. *Cureus* 14(10): e30290.
243. Panigrahy D, Kaipainen A, Huang S, et al.: PPARalpha agonist fenofibrate suppresses tumor growth through direct and indirect angiogenesis inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008, 105:985-90.
244. Deng Y, Han X, Yao Z, et al.: PPAR $\alpha$  agonist stimulated angiogenesis by improving endothelial precursor cell function via a NLRP3 inflammasome pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2017, 42:2255-66.
245. Bullon P, Navarro JM: Inflammasome as a key pathogenic mechanism in endometriosis. *Curr Drug Targets.* 2017, 18:997-1002.
246. Mezzasoma L, Antognelli C, Talesa VN: A novel role for brain natriuretic peptide: inhibition of IL-1 $\beta$  secretion via downregulation of NF-

- kB/Erk 1/2 and NALP3/ASC/Caspase-1 activation in human THP-1 monocyte. *Mediators Inflamm.* 2017, 2017:5858315.
247. Murakami M, Osuka S, Muraoka A, Hayashi S, Bayasula, Kasahara Y, Sonehara R, Hariyama Y, Shinjo K, Tanaka H, Miyake N, Yoshita S, Nakanishi N, Nakamura T, Goto M, Kajiyama H. Effectiveness of NLRP3 Inhibitor as a Non-Hormonal Treatment for ovarian endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022 Mar 29;20(1):58.
248. Yokoyama Y, Xin B, Shigeto T, et al.: Clofibric acid, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha ligand, inhibits growth of human ovarian cancer. *Mol Cancer Ther.* 2007, 6:1379-86.
249. Yokoyama Y, Shigeto T, Miura R, et al.: A strategy using photodynamic therapy and clofibric acid to treat peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016, 17:775-9.
250. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, et al.: PPARalpha deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. *PLoS One.* 2007, 2:e260.
251. Hichami A, Yessoufou A, Ghiringhelli F, Salvadori F, Moutairou K, Zwetyenga N, Khan NA: Peroxisome proliferator-activated receptor alpha deficiency impairs regulatory T cell functions: possible application in the inhibition of melanoma tumor growth in mice. *Biochimie.* 2016, 131:1-10.
252. Calleri E, Pochetti G, Dossou KS, et al.: Resveratrol and its metabolites bind to PPARs. *Chembiochem.* 2014, 15:1154-60.
253. Taguchi A, Koga K, Kawana K, et al.: Resveratrol enhances apoptosis in endometriotic stromal cells. *Am J Reprod Immunol.* 2016, 75:486-92.
254. Yavuz S, Aydin NE, Celik O, Yilmaz E, Ozerol E, Tanbek K: Resveratrol successfully treats experimental endometriosis through modulation of oxidative stress and lipid peroxidation. *J Cancer Res Ther.* 2014, 10:324-9.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Πίνακας Παθολογοανατομικής έκθεσης:

	C57BL/6	129S4-PPAR $\alpha$ <sup>tm1Gonz/J</sup>	p-Value
Neovascularization			
0	0	3	
+1	0	2	
+2	2	3	0.034
+3	5	2	
+4	3	0	
Endometriotic crypts			
0	0	0	
+1	1	4	
+2	2	3	0.059
+3	4	2	
+4	3	1	
Collagen content			
0	0	3	
+1	2	3	
+2	3	3	0.136
+3	1	1	
+4	4	0	
Fibroblast activity			
0	2	2	
+1	4	0	
+2	4	3	0.022
+3	0	4	
+4	0	1	
Inflammation			
0	2	0	
+1	4	2	
+2	4	3	0.101
+3	0	3	
+4	0	2	

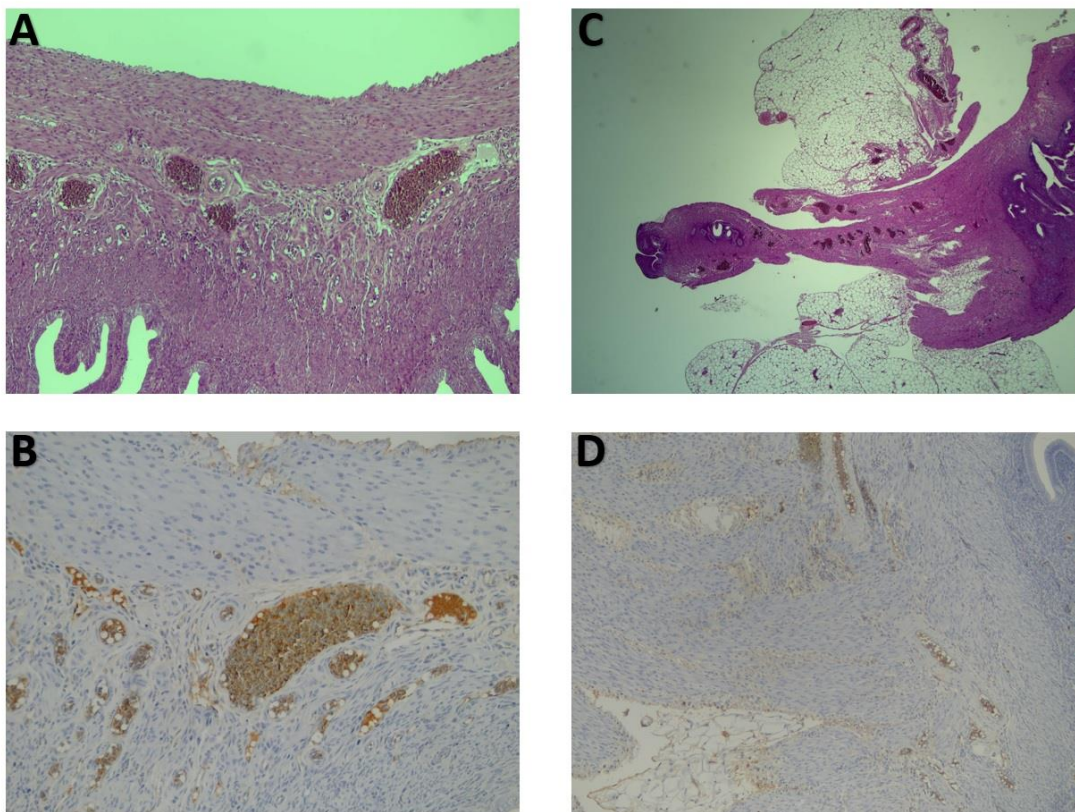
Όπως διατυπώνεται στον παραπάνω πίνακα, κάθε μεταβλητή βαθμολογείται σε κλίμακα από 0-4, και ο αριθμός των ζώων που αποδίδονται



σε κάθε βαθμολογία ανά ομάδα απεικονίζεται σε κάθε κελί. Οι μεταβλητές που αξιολογήθηκαν ήταν: α) νεοαγγείωση, β) ενδομητριωσικές αλλοιώσεις, γ) περιεκτικότητα σε κολλαγόνο, δ) ινοβλαστική δραστηριότητα και ε) φλεγμονή.

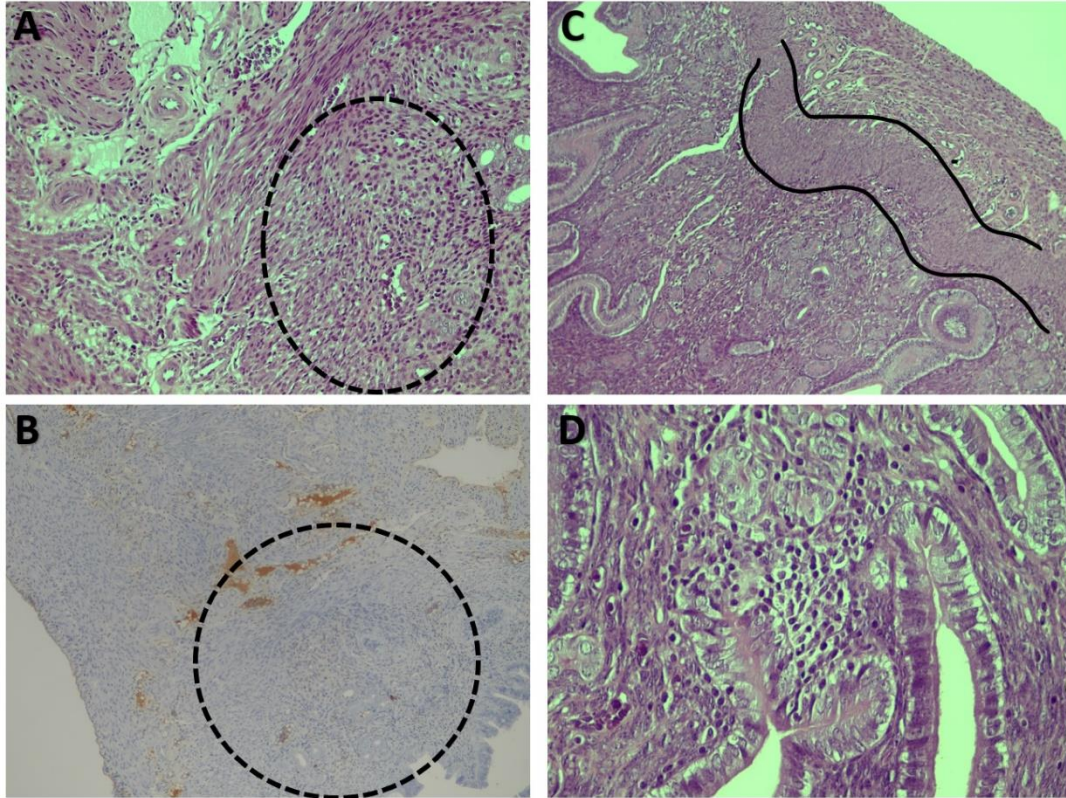
### Εικόνες Παθολογοανατομικής έκθεσης:

---



### Ενδομητριωσικές αλλοιώσεις:

A) H&E 20x άφθονη αγγείωση σε ποντίκια C57BL/6, B) Η ανοσοϊστοχημεία CD34 20x απεικονίζει σημαντική νεο-αγγειογένεση στην ομάδα ελέγχου, Γ) Το H&E 10x απεικονίζει σημαντική αγγείωση (καφέ χρώση), Δ) Η ανοσοϊστοχημεία CD34 10x υποδεικνύει τα χαρακτηριστικά αρκετών μικροβεδιών (καφέ χρώση).



### Ενδομητριωσικές αλλοιώσεις – φλεγμονή:

A) H&E, 20x παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J (στρογγυλεμένος κύκλος), B) Η ανοσοϊστοχημεία CD31 10x απεικονίζει σημαντική φλεγμονή στην περικυκλωμένη περιοχή σε ποντίκια 129S4-PPAR $\alpha$ tm1Gonz/J, Γ) 10x και D) 40x άφθονο σχηματισμό κρύπτης σε ποντίκια C57BL/6. Το μυϊκό στρώμα του προσαρτημένου κέρατος της μήτρας απεικονίζεται στην απομονωμένη περιοχή στην εικόνα Γ.

