

The pathogenesis of endometriosis : Sampson was right

Citation for published version (APA):

Nap, A. W. (2004). The pathogenesis of endometriosis : Sampson was right. Maastricht: Universiteit Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/2004

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Endometriosis, the presence of endometrium outside the uterus, is one of the most frequently encountered benign problems in gynaecology. Pathologists and gynaecologists have been puzzled about the phenomenon of ectopic endometrium since its first description, and until now the pathogenesis is still poorly understood. This thesis aims to shed light on different aspects of early endometriotic lesion formation.

In Chapter 1 the prevailing theories regarding the pathogenesis of endometriosis are summarized. Events in early endometriotic lesion formation are described in detail, focussing on invasion, on the role of matrix metalloproteinases (MMPs) and on angiogenesis. In addition, the hypothesis and aims of this thesis are formulated.

In Chapter 2 the influence of tissue integrity on the success of infiltration and endometriosis-like lesion formation in the chicken chorioallantoic membrane (CAM) model is described. Endometriosis-like lesion formation was evaluated after transplantation of endometrium of the menstrual and non-menstrual phase of the cycle. Biopsied endometrial fragments and fragments of shed menstrual endometrium that were larger than 1 mm³ in size infiltrated the CAM and formed endometriosis-like lesions 72 hours after transplantation. Transplantation of single menstrual endometrial cells did not result in endometriosis-like lesion formation. This study suggests that an intact tissue architecture of endometrium, which consists of organized glandular epithelium and stroma, is crucial for the ability of endometrium to form lesions.

In Chapter 3 the suitability of the CAM model for evaluating expression and function of MMPs during early endometriotic lesion formation is described. The expression of MMPs in menstrual endometrium, in human endometriosis, and in endometriosis-like lesions in the CAM model was investigated using immunohistochemical staining. Almost all MMPs investigated were expressed in endometrium as well as in human endometriosis and in endometriosis-like lesions in the CAM. No significant differences were present in the expression of the majority of the MMPs investigated when comparing human endometriosis and endometriosis-like lesions in the CAM. This indicates that the MMP expression profile of human endometriosis reflects that of experimentally induced endometriosis in the CAM. Thereafter, MMP function in early lesion formation was studied by application of an inhibitor of MMP activity after transplantation of endometrium onto the CAM. The application of the MMP-inhibitor resulted in significant impaired endometriosis-like lesion formation. This study

demonstrates that the CAM model can be used to evaluate the involvement of MMPs in the development of lesions, and that MMPs are important in the pathogenesis of endometriosis.

In Chapter 4 the effect of the angiostatic agents TNP-470, anti-human VEGF, endostatin and anginex on endometriosis-like lesion development in the CAM model is described. The angiostatic agents were applied onto the CAM after transplantation of human endometrial fragments. Vascularisation of the CAMs, endometriosis-like lesion formation in CAMs and morphology of the endometriosis-like lesions were assessed 72 hours after transplantation of the tissue onto the CAM. The vascularisation of the CAMs was significantly impaired as a result of administration of angiostatic agents, as was endometriosis-like lesion formation. The percentage of necrosis in endometriosis-like lesions was significantly higher in CAMs onto which angiostatic agents were applied. This study strengthens the concept that angiogenesis is a prerequisite for the development of endometriosis lesions.

In Chapter 5 a study is presented using angiostatic agents to investigate the importance of angiogenesis in endometriotic lesions which already have developed, referred to as established endometriosis. To this end, human endometrial fragments were transplanted subcutaneously and intra-abdominally in nude mice and allowed to develop into endometriosis lesions for 3 weeks. Then the angiostatic agents were administered for a period of 2 weeks. The number of endometriotic lesions was significantly lower in mice treated with angiostatic agents. In these mice, a significantly lower number of newly formed vessels was present in the lesions compared to control mice to which no angiostatic agents had been administered. The number of mature, smooth muscle cell protected vessels did not differ between the groups, indicating that the vessels that regressed were the newly developed ones. These results suggest that angiogenesis is pivotal for the maintenance of endometriotic lesions, and that angiostatic therapy may be promising as a future treatment option for women with endometriosis.

In Chapter 6 characteristics of endometrium exposed to oral contraceptives (OC) were compared to those of menstrual endometrium. Human OC exposed endometrium and menstrual endometrial fragments were transplanted onto the CAM, and endometriosis-like lesion formation was evaluated. Exposure to OC caused an impaired capacity to develop endometriosis-like lesions in the CAM. In order to find an explanation for the different behaviour of OC exposed endometrium and menstrual endometrium after transplantation onto the CAM, microarray gene expression profiling was performed to identify differentially expressed genes. This analysis revealed a marked decrease in the expression of genes encoding for

Summary

various matrix metalloproteinases, members of the TGF- β superfamily and regulators of angiogenesis in OC exposed endometrium as compared to the expression of genes in menstrual endometrium. Conceivably, the progesterone component in OC is responsible for the effect on the endometrium, rendering it less suitable for implantation in ectopic locations.

In Chapter 7 the results of this thesis are discussed. Perspectives for future studies are given.

Samenvatting

Endometriose, gedefinieerd als de aanwezigheid van endometrium buiten de uterus, is een van de meest voorkomende goedaardige afwijkingen in de gynaecologie. Pathologen en gynaecologen hebben zich het hoofd gebroken over het fenomeen van ectopisch endometrium sinds de eerste beschrijving ervan, maar de pathogenese van endometriose is nog niet volledig achterhaald. In dit proefschrift worden verschillende aspecten van deze pathogenese belicht.

In Hoofdstuk 1 worden de gangbare theorieën omtrent de pathogenese van endometriose samengevat. De stappen in het ontstaan van de endometrioselaesie worden in detail beschreven, waarbij de nadruk wordt gelegd op de rol van invasie, van matrix metalloproteinases (MMPs) en op die van angiogenese. Tevens worden de hypothese en doelstellingen van dit proefschrift geformuleerd.

In Hoofdstuk 2 wordt de invloed van een intacte weefselstructuur van het endometrium op het succes van infiltratie en het ontstaan van endometriose beschreven in het chorioallantoïes membraan (CAM) model van de kip. Het ontstaan van endometriose-achtige laesies werd geëvalueerd na transplantatie van endometrium van de menstruele fase en van de niet-menstruele fase van de cyclus. Gebiopteerde stukjes endometrium en fragmenten van afgescheiden menstrueel endometrium die groter waren dan 1 mm³ infiltrerden het CAM en vormden endometriose-achtige laesies 72 uur na het opbrengen van het endometrium. Opbrengen van individuele cellen van menstrueel endometrium resulteerde niet in vorming van endometriose-achtige laesies. Deze studie maakt aannemelijk dat een intacte weefselstructuur van het endometrium, dat bestaat uit georganiseerd klierbuisepitheel en stroma, cruciaal is voor het vermogen van endometrium om laesies te vormen.

In Hoofdstuk 3 wordt beschreven dat het CAM model geschikt is om de expressie en functie van MMPs bij het ontstaan van endometriose te evalueren. De immunohistochemische expressie van MMPs in menstrueel endometrium, in humane endometriose en in endometriose-achtige laesies in het CAM model werd onderzocht. Bijna alle onderzochte MMPs kwamen tot expressie in endometrium, in humane endometriose en in endometriose-achtige laesies. Er waren geen significante verschillen wanneer de expressie van MMPs in humane endometriose vergeleken werd met die in endometriose-achtige laesies in het CAM. Dit wijst erop dat het MMP expressiepatroon van humane endometriose bij benadering gelijk is aan dat van experimentele endometriose. De functie van MMPs in de vroege

ontwikkeling van endometrioselaesies werd onderzocht door een MMP remmer toe te dienen na transplantatie van humaan endometrium op het CAM. De toediening van een MMP remmer resulteerde in een significante vermindering van de vorming van endometriose-achtige laesies.

Deze studie toont aan dat het CAM model geschikt is voor de evaluatie van de betrokkenheid van MMPs in de ontwikkeling van endometriose en dat MMPs van belang zijn in het ontstaan van endometriose.

In Hoofdstuk 4 wordt het effect beschreven van de angiostatische middelen TNP-470, anti-humaan VEGF, endostatine en anginex op de ontwikkeling van endometriose-achtige laesies in het CAM model. De angiostatische middelen werden toegediend na transplantatie van humane endometriumfragmenten op het CAM. De vascularisatie van de CAMs, de vorming van endometriose-achtige laesies en de morfologie van de laesies werden beoordeeld 72 uur na transplantatie van het weefsel op het CAM. De vascularisatie van de CAMs en de vorming van endometriose-achtige laesies in de CAMs was significant verminderd als gevolg van de toediening van angiostatische middelen. Necrose in de endometriose-achtige laesies was significant hoger in CAMs waaraan angiostatische middelen waren toegediend. Deze studie versterkt de eerder gevonden aanwijzingen dat angiogenese een voorwaarde is voor de ontwikkeling van endometrioselaesies.

In Hoofdstuk 5 wordt een studie gepresenteerd waarin gebruik gemaakt wordt van angiostatische middelen om het belang van angiogenese te onderzoeken in al langer bestaande endometriose. Daartoe werden humane endometrium fragmenten getransplanteerd onderhuids en in de buikholte van immunodeficiënte (naakte) muizen. Na 3 weken ontstonden endometrioselaesies. Vervolgens werden gedurende 2 weken angiostatische middelen toegediend. Het aantal endometrioselaesies was significant lager in muizen die behandeld werden met angiostatische middelen. In deze endometrioselaesies was een significant lager aantal nieuw ontwikkelde bloedvaten aanwezig vergeleken met de endometrioselaesies in muizen in de controlegroep die geen angiostatische middelen toegediend hadden gekregen. Het aantal mature, door pericyten beschermde bloedvaten was niet verschillend in de endometrioselaesies van beide groepen. Dit wijst erop dat de vaten die verdwenen de nieuw ontwikkelde vaten waren. Deze resultaten suggereren dat angiogenese essentieel is voor het voortbestaan van endometriose, en dat angiostatische therapie veelbelovend zou kunnen zijn als behandeling van endometriose.

In Hoofdstuk 6 worden eigenschappen van endometrium dat is blootgesteld aan orale anticonceptiva (pil endometrium) vergeleken met die van menstrueel endometrium. Pil endometrium en menstrueel endometrium werd getransplanteerd

op het CAM, en het ontstaan van endometriose-achtige laesies werd onderzocht. Wanneer endometrium dat is blootgesteld aan de pil werd opgebracht op het CAM, kwamen minder endometriose-achtige laesies tot ontwikkeling. Om een verklaring te vinden voor het verschillende gedrag van pil endometrium en menstrueel endometrium na transplantatie op het CAM werd microarray genexpressie analyse uitgevoerd om genen te identificeren die op verschillende wijze tot expressie komen. Deze analyse toonde aan dat er in pil endometrium een belangrijke vermindering is in de expressie van een aantal genen coderend voor verscheidene MMPs, leden van de transforming growth factor (TGF)- β familie en regulatoren van angiogenese vergeleken met menstrueel endometrium. Het is aannemelijk dat de progesteroncomponent in de pil verantwoordelijk is voor dit effect op het endometrium, waardoor het minder goed in staat is om op een ectopische plaats te implanteren.

In Hoofdstuk 7 worden de resultaten van deze thesis bediscussieerd en worden perspectieven voor toekomstige studies gegeven.