

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Kateřina Pražáková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Kateřina Pražáková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

**ENDOMETRIÓZA A SUBPOPULACE IMUNITNÍCH
BUNĚK**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Miroslava Čedíková, Ph.D.

PLZEŇ 2021

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina PRAŽÁKOVÁ**
Osobní číslo: **Z18B0140P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Endometrióza a subpopulace imunitních buněk**
Zadávací katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- CZYZYK, Adam, Agnieszka PODFIGURNA, Anna SZELIGA a Blazej MECZEKALSKI, 2017. Update on endometriosis pathogenesis. Minerva Ginecologica [online]. 69(5), 447?461. ISSN 1827-1650. Dostupné z: doi:10.23736/S0026-4784.17.04048-5
- HRUŠKOVÁ, Hana, 2011. Endometrióza: výrazný dopad na kvalitu života ženy. Interní medicína pro praxi. 13(10), 394?396. ISSN 12127299, 18035256.
- KLÉZL, Petr, Jan DRAHOŇOVSKÝ, Michael HALAŠKA, Alexandra GREGUŠOVÁ, Věra MAŠKOVÁ, Petr NENCKA a Robert GRILL, 2018. Hluboká infiltrující endometrióza postihující uropoetický trakt. Urologie pro praxi. 19(3), 116?120. ISSN 12131768, 18035299.
- MEHEDINTU, C., M. N. PLOTOGEA, S. IONESCU a M. ANTONOVICI, 2014. Endometriosis still a challenge. Journal of Medicine and Life. 7(3), 349?357. ISSN 1844-3117.
- MERIČKO, Lukáš a Tomáš TICHÝ, 2016. Kožní endometrióza. Dermatologie pro praxi. 10(3), 141?143. ISSN 18022960, 18035337

Vedoucí bakalářské práce:

MUDr. Miroslava Čedíková, Ph.D.

Katedra záchranářství, diagnostických oborů
a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **1. června 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2021**

PhDr. Lukáš Štich, MBA
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 29.03.2021.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Kateřina Pražáková

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Změny v krevním obraze u pacientek s endometriózou

Vedoucí práce: MUDr. Miroslava Čedíková Ph.D.

Počet stran – číslované: 39

Počet stran – nečíslované: 21

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 53

Klíčová slova: endometrióza, diagnostické markery, patogeneze, imunitní systém, NK buňky

Souhrn:

Tato bakalářská práce se zabývá tématem endometriózy. Jedná se o estrogen-dependentní, zánětlivé, systémové a chronické onemocnění, jehož charakteristickým znakem je přítomnost ektopicky uložených endometriálních žlázek a stromatu mimo dutinu děložní. Patofyziologie vzniku tohoto onemocnění je stále neznámá. Existuje však stále více důkazů o propojenosti endometriózy s přítomnými odchylkami místní a systémové imunitní odpovědi. Cílem této bakalářské práce bylo shromáždit vzorky mononukleárních lymfocytů od pacientek s endometriózou a zdravých dárek a provést základní charakteristiku souboru. Získané mononukleární lymfocyty byly zamrazeny a připraveny pro navazující analýzy. Parametry pacientek a zdravých kontrolních dárek byly vyhodnoceny a statisticky zpracovány.

Abstract

Surname and name: Kateřina Pražáková

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Endometriosis and subpopulation of immune cells

Consultant: MUDr. Miroslava Čedíková, Ph. D.

Number of pages – numbered: 39

Number of pages – unnumbered: 21

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 53

Keywords: endometriosis, diagnostic markers, pathogenesis, immune system, NK cells

Summary:

This bachelor thesis deals with the topic of endometriosis. It is an estrogen-dependent, inflammatory, systemic and chronic disease, characterized by the presence of ectopically deposited endometrial glands and stroma outside the uterine cavity. The pathophysiology of this disease is still unknown. However, there is growing evidence that endometriosis is associated with local and systemic immune response abnormalities. The aim of this bachelor thesis was to collect samples of mononuclear lymphocytes from patients with endometriosis and healthy donors and to perform the basic characteristics of the group. The obtained mononuclear lymphocytes were frozen and prepared for subsequent analyzes. The parameters of patients and donors would be evaluated and statistically processed.

Předmluva

Dlouho jsem přemýšlela, které téma si zvolit, nakonec jsem si zvolila téma týkající se endometriózy. Toto téma mě na první pohled zaujalo díky vysokému počtu žen, které tímto onemocněním trpí a také díky tomu, že i když se o něm už dlouho ví, stále není jasné, co je důvodem jeho vzniku.

Poděkování

Nejvíce bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce MUDr. Miroslavě Čedíkové, Ph.D. za podnětné rady a odbornou pomoc, kterou mi poskytovala při zpracování mé bakalářské práce a také za veškerý čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat za možnost využití laboratoří v Biomedicínském centru v Plzni, kde jsme všechny vzorky zpracovávali. Děkuji také MUDr. Lukášovi Prajkovi za poskytnutí fotografií z gynekologického sálu. Poděkování patří i všem ženám, které nám poskytly biologický materiál pro výzkumné účely.

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM TABULEK	13
SEZNAM ZKRATEK	14
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST	18
1 ENDOMETRIÓZA	18
1.1 Definice.....	18
1.2 Historie.....	18
1.3 Epidemiologie	19
1.4 Etiopatogeneze.....	19
1.4.1 Sampsonova teorie neboli implantační teorie.....	19
1.4.2 Dysfunkce imunitního systému	20
1.4.3 Metaplastická teorie.....	22
1.4.4 Hormonální teorie.....	23
1.4.5 Genetická teorie	23
1.4.6 Oxidativní stres a zánětlivé změny	24
1.4.7 Teorie potlačené apoptózy.....	24
1.4.8 Kmenové buňky.....	25
1.5 Klasifikace	26
1.5.1 Základní dělení	26
1.5.2 Podle rozsahu onemocnění	26
1.5.3 Podle příznaků	28
1.5.4 Z klinického hlediska	28
1.6 Klinický obraz.....	31
1.7 Diagnostika	32
1.7.1 Gynekologické vyšetření	32

1.7.2	Laboratorní markery	32
1.7.3	Sonografie.....	33
1.7.4	Nukleární magnetická rezonance	34
1.7.5	Laparoskopie	34
1.7.6	Další diagnostické metody	34
1.8	Terapie	35
1.8.1	Medikamentózní terapie	35
1.8.2	Inhibitory aromatázy.....	35
1.8.3	Chirurgická terapie	36
1.8.4	Kombinovaná léčba	36
1.8.5	Doplňková alternativní terapie	36
1.9	Rizikové faktory	37
PRAKTICKÁ ČÁST		38
2	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	38
2.1	Hlavní cíl.....	38
2.2	Dílčí cíle.....	38
3	METODIKA PRÁCE.....	39
3.1	Charakteristika studovaného souboru	39
3.2	Izolace mononukleárních buněk	39
3.3	Zamrazení mononukleárních buněk.....	43
3.4	Laboratorní analýza	44
3.4.1	Statistické vyhodnocení.....	46
4	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	47
4.1	Charakteristika sledovaného souboru	47
4.2	Přehled sledovaných laboratorních parametrů.....	49
4.2.1	Krevní obraz	49
4.2.2	Diferenciální počet leukocytů.....	50

4.2.3	Buněčná imunita	51
4.3	Izolace a zamrazení mononukleárních lymfocytů	52
5	DISKUZE	53
6	ZÁVĚR.....	55
7	SEZNAM LITERATURY.....	56

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Klasifikace dle ENZIAN z roku 2012.....	27
Obrázek 2 Endometriom vlevo – pohled před začátkem výkonu.....	28
Obrázek 3 Endometriom vlevo po ruptuře, vytéká typický „čokoládový obsah“	29
Obrázek 4 Peritoneální endometrióza – shluky endometriálních buněk	29
Obrázek 5 Peritoneální endometrióza.....	30
Obrázek 6 Výsledný vzhled připraveného vzorku	40
Obrázek 7 Sedimentující červené krvinky.....	41
Obrázek 8 Vzorek po centrifugaci.....	41
Obrázek 9 Peleta buněk na dně zkumavky	42
Obrázek 10 Počítání buněk v Bürkerově komůrce	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Mutace v genech, které mohou způsobit endometriózu	23
Tabulka 2 Shrnutí teorií vzniku endometriózy	25
Tabulka 3 Potenciální diagnostické biomarkery pro diagnostiku endometriózy	33
Tabulka 4 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – krevní obraz	44
Tabulka 5 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – diferenciální rozpočet leukocytů	45
Tabulka 6 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – buněčná imunita.....	45
Tabulka 7 Charakteristika souboru.....	48
Tabulka 8 Vyhodnocení krevního obrazu	49
Tabulka 9 Vyhodnocení diferenciálního rozpočtu leukocytů.....	50
Tabulka 10 Vyhodnocení buněčné imunity.....	51

SEZNAM ZKRATEK

ASRM.....	American Fertility Society systém
Bax.....	Regulátor apoptózy
BCL	B – buněčný lymphom
BMI.....	Body mass index
CD19+	Cluster of differentiation 19 (B – lymfocyty)
CD3+	Cluster of differentiation 3 (T – lymfocyty)
CD34	Cluster of differentiation 34 (hematopoetické kmenové buňky)
CD4+	Cluster of differentiation 4 (Th lymfocyty)
CD8+	Cluster of differentiation 8 (Tc lymfocyty)
CRP.....	C-reaktivní protein
CYP	Cytochrom
DMSO.....	Dimethylsulfoxid
EFI	Endometriosis fertility index = index plodnosti
ERs	Estrogenní receptory
FAK	Focal adhesion kinase
FGF.....	Bazický fibroblastový růstový faktor
fl.....	Femtolitr
FN Plzeň.....	Fakultní nemocnice Plzeň
GnRH.....	Gonadotropin releasing hormon
HGF	Hepatocyte growth factor
HLA DR+	Human Leukocyte Antigen – DR isotype

HOXA10..... Homeobox protein A10

HSD Hydroxysteroid dehydrogenázy

IGF..... Inzulinu podobný růstový faktor

IL Interleukin

INF-gamma..... Interferon gama

KRAS Kirsten rat sarcoma virus oncogene homolog

MAPK..... Mitogen-activated protein kinase

MCL Induced myeloid leukemia cell differentiation protein

MCP..... Monocyte chemoattractant protein

M-CSF Macrophage colony-stimulating factor

Mg..... hořčík

MIF..... Makrofágový migrační inhibiční faktor

MMP..... Matrix metalloproteináza

MMP..... Matrix-metaloproteináza

MVD Mikrovaskulární denzita v lymfomech

NF-KB Nukleární faktor kappa B

NGF Nerve growth factor

NK buňky Natural killers

NSAID Non-steroidal anti-inflammatory drugs

Oct-4 Octamer-binding transcription factor 4

Pak-1 Serine/threonine-protein kinase 1

PbS..... Sulfid olovnatý

pg Pikogram

PGE2..... Prostaglandin E2

PTEN Phosphatase and tensin homolog – tumorsupresorový gen

SD Směrodatná odchylka

SD směrodatná odchylka

Tc T lymfocyty – cytotoxické buňky

TGF-B..... Transforming growth factor β

Th T lymfocyty – helpery

TIMPs Tissue inhibitors of metalloproteinases

TNF-A Tumor necrosis factor alfa

Treg..... T lymfocyty – regulační buňky

USA Spojené státy americké

VEGF..... Vaskulární endoteliální růstový faktor

vit. Vitamín

ÚVOD

Endometrióza, známá jako „enigmatic disease“ neboli záhadná nemoc je estrogen-dependentní, zánětlivé, systémové a chronické onemocnění, jehož charakteristickým znakem je přítomnost ektopicky uložených endometriálních žlázek a stromatu mimo dutinu děložní. V současné době se uvádí, že tímto onemocněním trpí asi 10 % žen v reprodukčním věku, ve skutečnosti toto číslo může být ale ještě vyšší.

V teoretické části práce jsou zpracovány základní informace o tomto onemocnění – historie, epidemiologie, hypotézy patofyziologie, ale také klinické známky onemocnění, diagnostika a léčba.

V praktické části práce byly zpracovány anonymizované vzorky periferní krve, ze kterých byly izolovány mononukleární lymfocyty, které byly následně zamrazeny. Vznikla tak banka vzorků pro navazující analýzy. Tato část práce byla prováděna v Biomedicínském centru Lékařské fakulty v Plzni. Kromě vzorků krve byla zpracována i základní charakteristika studovaného souboru – základní osobní informace, parametry krevního obrazu, diferenciálního počtu leukocytů a buněčné imunity.

Primárním cílem práce bylo vytvoření banky izolovaných mononukleárních buněk od pacientek s endometriózou a zdravých kontrol. S těmito vzorky bude pracováno v navazujících studiích.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ENDOMETRIÓZA

1.1 Definice

Endometrióza je definovaná jako přítomnost funkčních endometriálních žlázek a stromatu mimo jejich obvyklou lokalizaci, tj. v dutině děložní. Na těchto nefyziologických místech vyvolává chronickou zánětlivou odpověď a jizvení. Může být postižen jakýkoliv orgán, nejčastěji se však nachází v lokalitě pánve. Fyziologicky je endometriální tkáň vyloučena během menstruace, ale v patologických stavech toho není schopna a dochází zde k jejímu hromadění. Z toho vyplývají typické příznaky, což je zejména chronická pánevní bolest, bolest při pohlavním styku, abnormální děložní krvácení, bolestivá menstruace, neplodnost či spontánní aborty. Tyto příznaky mají negativní dopad jak na fyzickou, tak i psychickou stránku ženy. Onemocnění postihuje cca 5-15 % žen v reprodukčním věku, což představuje cca 180 milionů žen na celém světě. (Fanta et al. 2012) Etiologie onemocnění není dosud přesně známa. Jedná se zřejmě o multifaktoriální onemocnění. Někdy je endometrióza svým chováním srovnávána s maligním onemocněním. Riziko maligního zvratu endometriózy je však poměrně nízké, a to kolem 1 %.

1.2 Historie

Poprvé se o tomto onemocnění zmínil v roce 1860 Karel Rokytanský, což byl vídeňský patolog pocházející z Čech. Při své práci si všiml zvláštních útvarů na vaječnicích žen, které obsahovaly děložní endometrium. Tyto struktury začlenil mezi sarkomy. Dále se tímto onemocněním zabýval kanadsko-americký gynekolog Thomas Cullen, který tuto nemoc popsal a označil ji jako tzv. adenomyom. Pojmenování endometrióza bylo použito až o několik let později (1927), Johnem Sampsonem, uznávaným profesorem gynekologie v New Yorku. Tento lékař se pokusil vysvětlit i původ vzniku tohoto onemocnění, a to z důvodu přítomnosti retrográdní menstruace. V roce 1890 byla v USA založena organizace Endometriosis Association, která se začala věnovat problematice této doposud neznámé nemoci. Cílem této asociace byl a stále je výzkum a propojení gynekologů, zajímající se o tuto problematiku, s nemocnými ženami. (Batt 2011; Hrušková 2011)

1.3 Epidemiologie

Endometrióza je třetím nejčastějším gynekologickým onemocněním, které vede k hospitalizaci žen. Obecně platí, že se jen vzácně objeví před menarche, nejčastěji postihuje ženy do 40. roku života a její výskyt klesá po menopauze. Nejmladší známé pacientce s endometriózou bylo 7 let a nejstarší 78 roků (Roztočil 2011; Dowlut-McElroy a Strickland 2017). Žen s endometriózou neustále přibývá, a to i díky pokroku v diagnostice a zlepšení lékařské péče o populaci.

Incidence a prevalence v populaci není přesně známa vzhledem k široké klinické manifestaci onemocnění, ale i bezpříznakovým případům. Odhaduje se však, že postihuje 5-15 % žen ve fertilním věku, 50 % žen s bolestmi v pánevní oblasti a u 25-40 % žen s poruchou plodnosti. U 30-50 % žen s endometriózou je narušena plodnost. (Zondervan et al. 2020)

Mezi rizikové faktory vzniku onemocnění patří např. nižší váha při porodu, genetická predispozice, zvýšený příjem alkoholu a kávy, gynekologické operace v minulosti, přítomnost imunitního onemocnění, zrzavé vlasy a dysmenorea (rizikový faktor, ale zároveň i symptom tohoto onemocnění viz níže retrográdní menstruace). Naopak jako protektivní faktory jsou uváděny kojení, multiparita, pozdní menarche (po 14. roku věku), snížený body mass index (BMI), cvičení, zvýšený příjem ovoce a zeleniny, zdravý životní styl. (Zondervan et al. 2020)

1.4 Etiopatogeneze

Přestože první zmínka o tomto onemocnění se objevila již před více než 100 lety, není jeho vznik zatím jednoznačně objasněn. Během první poloviny 20. století bylo zformulováno několik teorií pojednávající o vzniku tohoto onemocnění. Klinické studie nevyvracejí žádnou z teorií, naopak nevylučují různé možnosti kombinací.

1.4.1 Sampsonova teorie neboli implantační teorie

Tato teorie se považuje za jednu z nejstarších, jelikož pochází už z roku 1925. Vysvětluje sice mechanismus vzniku lézí, ale nevysvětluje, proč ke vzniku těchto lézí dochází. Základem teorie je přítomnost tzv. retrográdní menstruace (jedná se o tok menstruační krve opačným směrem než je fyziologické – což je ven z těla, krev v tomto případě míří přes tuby do dutiny břišní, kde dochází k její implantaci). (Sampson 1925). Existuje celá řada důkazů podporující tuto teorii. Patří sem například:

- a) zvýšené riziko vzniku endometriózy u žen s vrozenými abnormalitami vejcovodů a panenské blány (Burney a Giudice 2012)
- b) zvýšené riziko vzniku endometriózy u žen s iatrogeně způsobenou stenózou vejcovodů (Burney a Giudice 2012)
- c) identifikace životaschopných endometriálních buněk v menstruační krvi a v peritoneální dutině (Burney a Giudice 2012)

U jiných živočišných druhů, u primátů, bylo možné vyvolat endometriózu pouhým naočkováním autologních endometriálních produktů simulující retrográdní menstruaci do peritoneální dutiny. Po prvním naočkování endometriálních buněk se více než u 46 % testovaných zvířat objevily a rozvinuly endometriální léze. Po druhém očkování se léze objevily u 100 % testovaných primátů. Tyto endometriální léze byly histologicky a klinicky podobné lidským. (Harirchian et al. 2012)

Tato teorie má ale i významné nedostatky, jelikož nedokáže zcela vysvětlit přítomnost endometriálních ložisek u dívek před jejich první menstruací, dále u novorozenců či u mužů. U dívek by mohl být tento stav přítomen vlivem přítomnosti a následného úbytku mateřských hormonů v brzkém postnatálním období, ale u chlapců důvod není známý (Brosens a Benagiano 2013). Dále tato teorie nevysvětluje přítomnost endometriózy jen u malého procenta žen, u kterých byla prokázána přítomnost retrográdní menstruace. Toto zpětné zakrvácení se někdy vyskytlo až u 90 % žen fertilního věku a jen u malého procenta dojde k vzniku endometriózy. (Sourial et al. 2014)

1.4.2 Dysfunkce imunitního systému

O možnosti účasti imunitního systému v rozvoji endometriózy se uvažuje od roku 1987 (Dmowski 1987).

Od té doby byla prokázána existence propojenosti endometriózy s přítomnými odchylkami místní i systémové imunitní odpovědi. U pacientek jsou nacházeny poruchy jak humorální, tak buněčné imunity, zahrnující peritoneální infiltraci imunitními buňkami, aktivaci makrofágů, redukovanou aktivitu cytotoxických T-lymfocytů, posun Th1/Th2 směrem k Th2, produkci protilátek plazmatickými buňkami (anti-endometriální, anti-fosfolipidové, anti-nukleární) a také zejména snížený počet a aktivitu NK (natural killer, přirozený zabíječ) a invariantních NK buněk (Osuga et al. 2011).

Některé studie naznačují i souvislost endometriózy s autoimunitními chorobami (Pasoto et al. 2005), některá pozdější zjištění však tuto souvislost nepotvrdila (Matorras et al. 2007). Jedná se stále o otevřenou a diskutovanou otázku.

Změny u vrozené imunity

Makrofágy

Makrofágy jsou nejpočetnějšími imunitními buňkami v peritoneální tekutině (Ho et al. 1997). Jejich funkcí je fagocytóza červených krvinek, tkáňových fragmentů, buněčných zbytků, ale i produkce celé řady cytokinů, prostaglandinů či enzymů. Prostřednictvím těchto působků mohou makrofágy regulovat zánět, podporovat opravu tkáně a neovaskularizaci či mohou stimulovat aktivaci dalších imunitních buněk, jakými jsou B a T lymfocyty (Králičková a Vetvicka 2015).

U žen s endometriózou se nachází zvýšený počet makrofágů a dále i jejich vystupňovaná aktivace a sekreční schopnost (Oral et al. 1996). Přestože je jejich aktivace zvýšená, je jejich fagocytární aktivita snížena, z tohoto důvodu nejsou schopny eliminovat ektopické endometriální buňky, které se dostanou na endometrium s retrográdní menstruací (Králičková a Vetvicka 2015).

NK buňky

NK buňky jsou součástí vrozeného imunitního systému. Jsou schopny rozpoznat a eliminovat stresované buňky, buňky napadené viry nebo nádorově změněné buňky. Dále vylučují cytokiny, které se účastní formování získané imunity a opravy tkání. Aktivita buněk je regulována skrze receptory – aktivační a inhibiční (Ścieżyńska et al. 2019).

U žen s endometriózou byl nalezen snížený počet NK buněk, dále i snížený počet aktivačních znaků, a naopak zvýšené množství znaků inhibičních. Celkově je tedy u NK buněk žen s endometriózou pozorována jejich snížená cytotoxická aktivita (Osuga et al. 2011).

Změny u získané imunity

B-lymfocyty

U pacientek s endometriózou byl pozorován zvýšený počet B-lymfocytů, dále i jejich vystupňovaná aktivace a produkce protilátek (anti-endometriální, anti-fosfolipidové, anti-nukleární) (Riccio et al. 2017).

T-lymfocyty

T lymfocyty pocházejí z kmenových buněk z kostní dřeně, odkud putují do brzlíku, aby zde dokončily svůj vývoj. Jsou klasifikovány do několika podtypů, a to na cytotoxické T-lymfocyty ($CD8^+$ T-lymfocyty), pomocné T-lymfocyty ($CD4^+$ T-lymfocyty) a regulační T-lymfocyty (Treg). Pomocné T-lymfocyty jsou dále děleny na Th1 a Th2 skupinu, kdy každá z nich vykazuje jinou funkci. Th1-lymfocyty podporují diferenciaci cytotoxických T-lymfocytů, usnadňují buněčně zprostředkovanou imunitu aktivací monocytů a makrofágů. Naopak Th2-lymfocyty aktivují diferenciaci B-lymfocytů v plazmatické buňce, které tvoří protilátky. Cytotoxické T-lymfocyty aktivují makrofágy a usmrcejí buňky infikované viry či intracelulárními patogeny (Riccio et al. 2018).

U žen s endometriózou byl prokázán zvýšený poměr $CD4^+/CD8^+$ buněk v peritoneální tekutině. Dále byla pozorována redukováná aktivita cytotoxických T-lymfocytů a posun Th1/Th2 směrem k Th2 (Osuga et al. 2011).

1.4.3 Metaplastická teorie

Další teorie vzniku endometriózy předpokládá původ onemocnění z extrauterinních buněk, u kterých došlo k transformaci na buňky endometriální. Teorie coelomové metaplazie předpokládá původ onemocnění ze specializovaných buněk mezoteliální výstelky pobřišnice (Gruenwald 1942). Z těchto buněk vznikají buňky podobné endometriálním vlivem řady hormonálních a imunologických faktorů. Tato teorie by vysvětlovala přítomnost endometriózy u dívek před pubertou, na druhou stranu u těchto dívek chybí estrogen, jakožto hlavní hnací faktor růstu endometriálních buněk (Figueira et al. 2011). Další možností vedoucí ke vzniku onemocnění je chyba v embryonálním vývoji, kdy dochází k přítomnosti perzistujících embryonálních buněk Wolfových a Müllerových vývodů a z těchto buněk následně vznikají endometriální léze (Pitot et al. 2020). Ani tato teorie ale není dokonalá, jelikož nevysvětluje přítomnost endometriální tkáně mimo lokalitu vývodů (Burney a Giudice 2012).

1.4.4 Hormonální teorie

Jelikož endometrióza je onemocněním žen v reprodukčním období a nevyskytuje se u žen po menopauze (pokud u nich neprobíhá hormonální léčba), je předpokládán velký podíl pohlavních hormonů na vzniku tohoto onemocnění (Parente Barbosa et al. 2011). Hlavní skupinou hormonů podporující proliferaci endometriálních buněk jsou estrogeny. Progesteron naopak působí proti proliferaci a jednou z možností vzniku a rozvoje endometriózy může být snížená citlivost endometriálních buněk k tomuto hormonu (Kim et al. 2013).

1.4.5 Genetická teorie

Tato teorie je podporována přítomnou rodinnou zátěží u příbuzných prvního stupně a u dvojčat (Saha et al. 2015; Seli et al. 2003). Endometrióza má polygenní způsob dědičnosti, kdy je postiženo více lokusů. Mezi ženami s endometriózou a bez endometriózy byly nalezeny rozdíly v genech kódujících detoxikační enzymy, estrogenový receptor či součásti vrozeného imunitního systému.

Genetická predispozice může zvýšit poškození buněk, avšak mutace v genech pomáhají k rychlejšímu rozvoji endometriózy, tzn. dochází k rychlejší adhezi ke stěně a následné proliferaci buněk (Sourial et al. 2014).

Tabulka 1 Mutace v genech, které mohou způsobit endometriózu

GEN	FUNKCE
17B-HSD-2	hydroxysterid dehydrogenáza
BCL-2	protiapoptotický gen
CYP19	aromatázový enzym
HOXA10	transkripční faktor
IL-6	cytokin
KRAS	onkogen
MMP-3,7	matrix metalloproteináza
NF-KB	transkripční faktor
PGE2	prostaglandin
PTEN	tumorsupresorový gen
TGF-B	cytokin
TNF-A	cytokin

Zdroj: Králíčková Milena a Václav Větvicka 2015 (Králíčková a Větvicka 2015)

1.4.6 Oxidativní stres a zánětlivé změny

Zvýšená oxidace lipoproteinů je spojovaná s patogenezí endometriózy. Volné radikály způsobují oxidační degradaci lipidů, což vede k poškození DNA endometriálních buněk (Wang et al. 1997). Zdrojem volných radikálů je peritoneální tekutina. Ta navíc obsahuje i vysoké množství železa původem z hemoglobinu rozpadlých červených krvinek, což opět vede ke vzniku redoxních reakcí (Kumar a Bandyopadhyay 2005). Vlivem uvolněných prozánětlivých působků a signálů oxidačního stresu dochází k aktivaci lymfocytů a makrofágů, jejichž cytokiny podporují endoteliální růst. Vlivem zvýšené produkce kyslíkových radikálů dochází k poklesu antioxidantů, které za normální situace tyto prozánětlivé působky eliminují. (Burney a Giudice 2012)

Zánět je charakteristický pro endometriální tkáň, je spojen se zvýšenou produkcí prostaglandinů, metaloproteáz, chemokinů a cytokinů. Endometriální buňky mají nastavenou rovnováhu mezi apoptózou, angiogenezí a imunitní odpovědí trochu jinak než ostatní buňky, to umožňuje jejich dorůstání a odlupování se v cyklech. Rozdíl mezi fyziologickou a patologickou funkcí je tvorba estrogenu, prostaglandinů a rezistence na progesteron. V ženském těle je estrogen tvořen vaječníky, tukovou tkání, kůží a samotnými endometriálními ložisky. Prostaglandiny se tvoří lokálně a podílejí se na přítomnosti zánětu a bolesti (mají schopnost vyvolávat děložní kontrakce přispívající k dysmenoree nebo vyvolávat přímo bolest spojenou s endometriózou). Progesteron ovlivňuje dozrávání stromálních a epiteliálních buněk endometria. U žen s výskytem endometriózy je jeho hladina prudce snížena (Sourial et al. 2014)

1.4.7 Teorie potlačené apoptózy

Hlavní myšlenkou této teorie je, že aby endometriální buňky v peritoneální dutině přežily a dále se množily, tak je důležité potlačit jejich schopnosti apoptózy a naopak upřednostnit jejich proliferační aktivity (Hapangama et al. 2010). Ústřední roli v těchto změněných vlastnostech buněk by mohl mít enzym telomeráza. V apoptotické dráze buněk endometriózy byla prokázána zvýšená up-regulace antiapoptotických genů a naopak down-regulace genů proapoptotických (Ferryman a Rollason 1994). Inhibice apoptózy endometriálních buněk může být zprostředkována transkripcí pomocí aktivace genů, které normálně podporují zánět, angiogenezi a proliferaci buněk.

1.4.8 Kmenové buňky

Jedná se o nejmodernější a nejnovější teorii, která pojednává o možnostech diferenciaci endometriální tkáně v nejrůznějších lokalitách těla. Tato teorie vychází z přítomnosti cirkulujících kmenových krevních buněk z kostní dřeně. Důkazem této teorie je identifikace velkého množství endometriálních buněk dárce u příjemce kostní dřeně (Sourial et al. 2014).

Kmenové buňky jsou nediferencované buňky schopné své samo obnovy a diferenciaci do různých typů specializovaných buněk (Kato 2012). Důkazem existence kmenových buněk je schopnost endometria každoměsíční regenerace, dále jeho schopnost obnovy po porodu, potratu či jiných chirurgických výkonech (Tsuji et al. 2008). Předpokladem je, že tyto obnovující se kmenové buňky sídlí v bazální vrstvě endometria. Skutečnost, že některé z endometriálních kmenových buněk mají původ v kostní dřeni, podporuje možnost krevního šíření buněk do ektopických lokalit (Maruyama et al. 2010).

Tabulka 2 shrnuje hlavní teorie vzniku endometriózy.

Tabulka 2 Shrnutí teorií vzniku endometriózy

Teorie	Princip teorie
Sampsonova teorie	retrográdní menstruace
Dysfunkce imunitního systému	poruchy nebo snížení počtu buněk imunitního systému
Metaplastická teorie	transformace buněk
Hormonální teorie	působení pohlavních hormonů na endometriální buňky
Genetická teorie	mutace v genech
Oxidativní stres a zánětlivé změny	vznik volných radikálů, které poškozují DNA
Teorie potlačené apoptózy	inhibice apoptózy
Teorie kmenových buněk	diferenciaci kmenových buněk na buňky endometriální kdekoli v těle

Zdroj: vlastní

1.5 Klasifikace

Nejčastěji se setkáváme s endometriózou v oblasti pánve na sakrouterinních vazech a na vaječnicích. Může se ovšem vyskytnout kdekoliv po těle – například v mozku, spojivkovém vaku, plicní tkáni atd. Byla zjištěna ve všech tkáních kromě srdce a sleziny. (Hanáček J. 2012)

1.5.1 Základní dělení

Podle **Mezinárodní klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů** (MKN-10) z roku 2020 se toto onemocnění řadí do skupiny „Nezánětlivých onemocnění ženského pohlavního ústrojí“ (N80) a dále se dělí do 9 základních skupin (Ústav zdravotnických informací a statistiky 2020).

- I. Endometrióza dělohy – Adenomyóza
- II. Endometrióza vaječníku – Sampsonova cysta
- III. Endometrióza vejcovodu
- IV. Endometrióza pánevní pobřišnice
- V. Endometrióza rektovaginální přepážky a pochvy
- VI. Endometrióza střeva
- VII. Endometrióza v jizvě kůže
- VIII. Jiná endometrióza – Endometrióza hrudníku
- IX. Endometrióza nervového systému

1.5.2 Podle rozsahu onemocnění

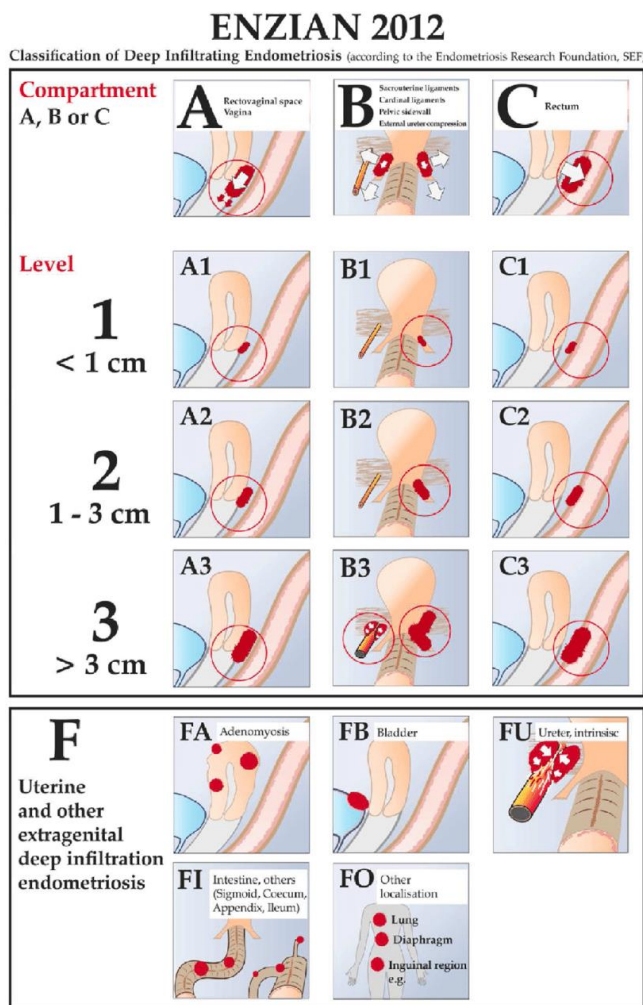
Z mnoha systémů, které byly navrženy, byl přijat pouze jeden – **American Fertility Society system (ASRM)** z roku 1985. Ten dělí endometriózu do 4 kategorií a to podle míry postižení reprodukčních orgánů v malé pánvi. První kategorie značí minimální postižení a naopak čtvrtá kategorie je charakterizována již velmi závažným postižením. Klasifikace je založena na bodovém hodnocení stupně poškození peritonea podle daných kritérií (Janoušková K. et al. 2018).

Hodnoceny jsou následující parametry:

- a) velikost a vzhled peritoneálních a ovariálních implantátů
- b) přítomnost, rozsah a typ ložisek: červená, bílá a černá
- c) přítomnost, rozsah a typ adneciálních srůstů a stupně ztráty průchodnosti vejcovodů

Tento klasifikační systém nebere v úvahu plodnost, a proto byl v roce 2010 vytvořen *index plodnosti* (The endometriosis fertility index – EFI), který vychází z počtu těhotenství bez asistované reprodukce po chirurgickém odstranění endometriálních srůstů. Dále nehodnotí hlubokou infiltrující endometriózu, která se hodnotí podle klasifikace ENZIAN z roku 2005 (Obrázek 1). ENZIAN není skóre jako ASRM, ale morfologický popis lézí, včetně jejich velikosti, připomíná staging onkologických diagnóz. (Janoušková K. et al. 2018)

Obrázek 1 Klasifikace dle ENZIAN z roku 2012



Zdroj: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6480968/figure/f3/?report=objectonly>

1.5.3 Podle příznaků

Další dělení endometriózy je podle případné přítomnosti příznaků. Dle tohoto kritéria je rozlišována forma *symptomatická* a *asymptomatická*. (Hanáček J. 2012)

1.5.4 Z klinického hlediska

Ovariální – nejčastější výskyt (55 % všech endometrióz). Většina těchto cyst je vyplněna tzv. „čokoládovou náplní“, která vzniká vlivem menstruačního krvácení.

Peritoneální – dělení do nejméně patnácti dalších typů (podle barvy, vzhledu, atd.)

Hluboká infiltrující (retrovaginální) endometrióza – vyskytuje se u 25-30 % žen. Nejčastěji se ložiska nacházejí v rektovaginálním septu a infiltrují do okolních orgánů (močový měchýř, sakrouterinní vazy, rektum a pochva). (Janoušková K. et al. 2018)

Obrázky 2 až 5 zobrazují pohled na endometriální tkáň při laparoskopickém vyšetření.

Obrázek 2 Endometriom vlevo – pohled před začátkem výkonu



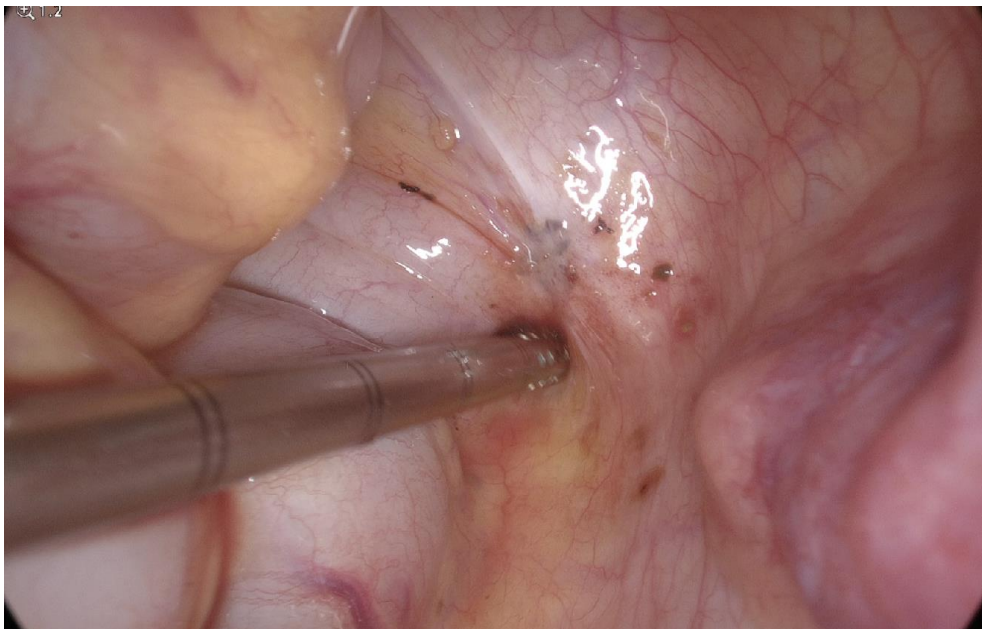
Zdroj: Gynekologické oddělení FN Plzeň, MUDr. Lukáš Prajka

Obrázek 3 Endometriom vlevo po ruptuře, vytéká typický „čokoládový obsah“



Zdroj: Gynekologické oddělení FN Plzeň, MUDr. Lukáš Prajka

Obrázek 4 Peritoneální endometrióza – shluky endometriálních buněk



Zdroj: Gynekologické oddělení FN Plzeň, MUDr. Lukáš Prajka

Obrázek 5 Peritoneální endometrióza



Zdroj: Gynekologické oddělení FN Plzeň, MUDr. Lukáš Prajka

1.6 Klinický obraz

Ženy s tímto onemocněním mají velmi rozdílné symptomy, které se vztahují k dané lokalizaci ektopického endometria. Na druhou stranu asi 30 % žen nepocítuje žádné příznaky (jsou zcela asymptomatické) a endometrióza je u nich objevena až při operačních intervencích z odlišného důvodu. Diagnostika endometriózy není vůbec snadná, mnohdy se překrývá i s jinými onemocněními, a proto může trvat několik let. Od první registrace příznaků do finální diagnózy může uběhnout i 6 až 8 let.

Bolest a neplodnost patří mezi nejčastější projevy endometriózy. Bolest omezuje ženy jak v jejich osobním tak i v sexuálním životě. Toto může být pro pacientky velmi skličující. Statistiky uvádějí, že až u 80 % žen, které trpí chronickými pánevními bolestmi, se vyskytuje endometrióza (Parasar et al. 2017).

Stupeň bolesti je různý, stejně tak její výskyt. Často se projevuje jako silná cyklicky se objevující pánevní bolest (dysmenorea – udává ji až 80 % pacientek), v pánvi vznikají srůsty, které se mohou projevovat necyklickou chronickou pánevní bolestí tzv. pelipathia, dále se může objevovat bolest při pohlavním styku (dyspareunie), bolest při vyprazdňování (dyschezia) nebo bolest při močení (dysuria). Tyto bolesti mají dvě teorie vzniku – jednak vlivem prorůstání endometriálních ložisek do okolních zdravých tkání s následným vznikem fibrózy a druhý, nepřímý způsob, je vlivem vyplavování cytokinů a dalších lokálních faktorů buňkami, kdy tyto působky dráždí nervová zakončení. (Maruyama et al. 2010; Hanáček J. 2012)

Sterilita může mít mnoho příčin spojených s endometriózou. Statistiky ukazují, že 12-40 % všech neplodných žen trpí endometriózou. (Tomeš a Novotný 2013) Např. pokud jsou zasaženy vaječníky, tak se může objevit porucha ovulace či hormonální dysbalance, která naruší fyziologický menstruační cyklus. Při postižení vejcovodů může dojít ke vzniku mechanického bloku pro spojení spermií s vajíčkem nebo k poruše kontraktilnosti svaloviny vejcovodů a myometria.

Mezi další možné příznaky může patřit krvácení mimo cyklus, silné menstruační krvácení, chronická únava, přítomnost krve ve stolici nebo v moči, nevolnost, zvracení, opakované spontánní potraty atd. (Grycová 2015; Wilson 2018)

Všechny výše vyjmenované příznaky se však mohou objevovat i u jiných onemocnění, tudíž přesný klinický obraz této nemoci není dán.

1.7 Diagnostika

Diagnostika endometriózy není vůbec jednoduchá vzhledem k rozdílným příznakům a nejasné etiologii, proto se její diagnostikování může protáhnout i na několik let. (Grycová 2015)

Prvním příznakem, který ženy přivede ke gynekologovi, je pánevní bolest. Což ovšem nemusí jednoznačně znamenat, že žena trpí endometriózou. Ignorování těchto příznaků může vést až k nemožnosti početí, což je další velmi častý důvod návštěvy gynekologa.

1.7.1 Gynekologické vyšetření

Lékař provede podrobnou anamnézu a zjistí návaznost klinických projevů na menstruační cyklus.

Prvním krokem je palpační vyšetření, kde může být přítomen nález fixované, retrovertované dělohy, zhrubělých a citlivých sakrouterinních vazů, dále přítomnost bolestivých uzlů v oblasti rektovaginálního septa či zvětšených a omezeně pohyblivých vaječníků.

Dalším krokem je provedení vaginálního i rektovaginálního vyšetření, které je součástí každé preventivní gynekologické prohlídky. Nicméně málokdy je objevena patologie týkající se endometriózy. Hluboká infiltrující endometrióza se diagnostikuje během vyšetření u probíhající menstruace. V době menstruace jsou endometriální uzly větší a více prokrvené. (Hanáček J. 2012) Viditelná jsou modravá prosvítající nepravidelná ložiska endometriózy, v zadní klenbě jizevnatá a vztažená ložiska. (Tomeš a Novotný 2013)

1.7.2 Laboratorní markery

Endometrióza nemá žádné specifické laboratorní markery, avšak zjistila se jistá spojitost pacientek s endometriózou a zvýšenou hladinou antigenu **Ca-125**. Jeho specifita i senzitivita je ale nízká a nedá se proto použít jako spolehlivý marker. Nicméně jeho hladina může být sledována v reakci na terapii.

TNF-alfa je přítomen v séru ve vysokých koncentracích na začátku onemocnění, avšak s rozvojem endometriózy v dalších stádiích klesá. Není spolehlivým markerem. (Tomeš a Novotný 2013)

V minulosti byly dále sledovány hladiny sérových cytokinů, růstových faktorů, matrix metaloproteinázy, adhezivních molekul, markery peritoneální angiogeneze a zánětu.

Probíhají další studie testující spojitost následujících cytokinů s onemocněním. Testují se: růstové faktory, TNF-beta, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13 a hormony s antiapoptotickým účinkem (prolaktin, leptin). (Fassbender et al. 2015)

Potenciální biomarkery, které by se mohli v budoucnu použít pro diagnostiku endometriózy, jsou shrnuty v Tabulce 3 (Parasar et al. 2017).

Tabulka 3 Potenciální diagnostické biomarkery pro diagnostiku endometriózy

Skupina	Biomarker
Zánětlivé markery, cytokiny	IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17, IL-21, RANTES, TNF- α , INF-gamma, MCP-1, MIF, CRP
Steroidy a hormony	ERs, 17 β HSD, aromatáza
Růstové faktory	IGF, Activin, TGF β 1, HGF, annexin-1
Adheze buněk a extracelulární matrix molekuly	Integriny, vimentin, E.cadherin, osteopontin, CD 54, β -catenin, FAK
Angiogeneze	VEGF, NGF, FGF-2, leptin, IGFBP-3, glycodelin, M-CSF, angiopoetin-1 a 2, MVD, endoglin, trombospondin-1
Apoptózy a kontrola buněčného cyklu	aktivita telomerázy, Pak-1, cyklin D+, survivin, BCL-2, MCL-1, Bax, BCL-xl, BCL-xs
Markery kmenových buněk	CD9, CD34, Oct-4
Genomika	HOXA10, 3p, 5q, 7p, 9p, 11q, 16q, 17q, 18q, 19p, 19q
Proteomika	analýza a rozdíl exprese určitých ednometriálních peptidů a proteinů
Přestavba tkáně	MMP-2, MMP-9, TIMPs, urokináza

Zdroj: vlastní dle předlohy (Parasar et al. 2017)

Nedávné studie ukázaly, že zánět vede ke zvýšeným hodnotám komponentů signálních drah jako je např. MAPK, což by mohl být potenciální cíl pro diagnostiku a terapii endometriózy. (McKinnon et al. 2016)

1.7.3 Sonografie

Umožňuje lepší pohled na endometrium, dělohu a ovaria. Mohou být využity různé metody skenování (abdominální, transvaginální a transrektální) nebo 3D ultrazvuk.

Zlepšení zobrazení umožňuje sonovaginografie. Tato metoda kombinuje transvaginální sonografii a aplikaci fyziologického roztoku Foleyovým katetrem do pochvy. Tato tekutina rozšíří poševní stěny a zlepšuje zobrazení lézí v rektovaginální oblasti. (Indrielle-Kelly et al. 2019a, 2019b)

1.7.4 Nukleární magnetická rezonance

Využívá se pro hlubokou infiltrující endometriózu. Detekuje přítomnost degradačních produktů hemoglobinu v T1 a T2 vážených obrazech a tím identifikuje ložiska endometriózy. Pro ostatní typy endometriózy se používá spíše jako doplňkové vyšetření z důvodu nákladnosti a dostupnosti. (Janoušková K. et al. 2018)

1.7.5 Laparoskopie

Toto vyšetření se považuje za zlatý standard diagnostiky. Avšak i zde je třeba zvážit provedení tohoto vyšetření z důvodu hrozících srůstů a možnosti rozšíření endometriózy. Metoda umožňuje přímý pohled do dutiny břišní, odebrání vzorku pro histopatologické vyšetření, ale zároveň i odstranění přítomných endometriálních ložisek. Je to tedy metoda nejen diagnostická, ale i terapeutická. (Parasar et al. 2017)

Používaný optický systém umožňuje až desetinásobné zvětšení, nicméně mikroskopická ložiska mohou být přehlédnuta i při laparoskopii.

Některé studie ukazují větší přítomnost nervových vláken v endometriu. Tato skutečnost se dá zjistit jednoduchým testem, kdy se při laparoskopii odebere vzorek endometria a ten je následně imunochemicky analyzován. Tento test byl schopen diagnostikovat endometriózu s mnohem větší senzitivitou a specifitou než marker Ca-125. (Hanáček J. 2012)

1.7.6 Další diagnostické metody

Kolonoskopie je využívána k zobrazení prorůstání hluboké infiltrující endometriózy. Tato metoda je určena pro pacientky s enteroragií a hematochezií.

Transvaginální hydrolaparoskopie je ambulantní endoskopické vyšetření malé pánve u žen prováděné přes zadní klenbu poševní, které je doplněné o peritoneální dispenzi fyziologickým roztokem. Využívá se primárně ke zjištění průchodnosti vejcovodů. (Tomeš a Novotný 2013)

Hysteroskopie doplňuje ostatní vyšetření. (Tomeš a Novotný 2013)

K pacientkám je potřeba při diagnostice přistupovat individuálně a volit způsob diagnostiky s ohledem na různé příznaky onemocnění.

1.8 Terapie

Volba léčby závisí na mnoha faktorech a aktuálním stavu pacienty. Některé případy se samy spontánně vyléčí, ale u většiny pacientek tomu tak není. Cílem léčby je zmírnění pánevní bolesti, předejít vzniku srůstů, zachovat nebo navrátit plodnost a zpomalit či zastavit progres onemocnění. (Tomeš a Novotný 2013)

1.8.1 Medikamentózní terapie

Působí i na minimální léze a je neinvazivní. Dochází při ní k ovlivnění hladiny ženských pohlavních hormonů, což ovlivňuje i toto hormonálně závislé onemocnění.

Endometrióza reaguje na cyklickou estrogenní aktivitu, což znamená, že se uměle snažíme navodit hormonální stav při těhotenství nebo menopauze. Další možností je podávání hormonální substituční terapie (HRT), tato možnost se uplatňuje u pacientek po recidivě nemoci.

Cílem medikamentózní terapie je zmírnit bolest, snížit cyklickou ovariální produkci hormonů a zmenšit či úplně inhibovat menstruační krvácení. (Kučera 2008)

Medikamentózní léčbu lze rozdělit na dva druhy. První skupina je tvořena léky schválenými pro terapii endometriózy. Do této skupiny patří např. GnRH agonisté, androgeny (Danazol) a některé progestiny. Druhou skupinou jsou tzv. off-label léky, které nejsou primárně určeny pro léčbu endometriózy a patří sem např. antiflogistika (NSAID) a kombinovaná hormonální antikoncepce. (Fanta et al. 2012)

1.8.2 Inhibitory aromatázy

V některých případech je indikována léčba pomocí inhibitorů aromatázy (enzym s rozhodujícím krokem v biosyntéze estrogenů, vyskytuje se ve velkém množství v endometriomech). Tato léčba je doporučena při selhání hormonální a chirurgické léčby.

Cílem této léčby je zmenšení endometriálních ložisek. Nevýhodou této léčby je častá recidivita onemocnění a vedlejší účinky léků (návaly horka, přibývání na váze, hormonální nerovnováha). (Fanta et al. 2012)

1.8.3 Chirurgická terapie

Nabízí možnost okamžitého řešení, avšak je radikální oproti medikamentózní léčbě.

Rozlišujeme tři druhy:

- a) *konzervativní léčba* – odstranění ložisek se snahou zachování plodnosti (u žen plánujících těhotenství)
- b) *semikonzervativní léčba* – odstranění dělohy se zachováním adnex
- c) *radikální léčba* – odstranění dělohy, bilaterální ovariectomie, odstranění všech ložisek endometriózy. Tato léčba je u pacientek s těžkými příznaky, které již neplánují těhotenství a nereagují na předchozí léčbu.

K nejběžnějším chirurgickým zákrokům patří excize, fulgurace, laserová ablace ložisek, přerušování nervových drah a lýza adhezí.

Cílem této léčby je odstranění všech ložisek. Procento úspěšnosti záleží na specializaci pracoviště, z tohoto důvodu je vhodné pacientku odeslat na specializované pracoviště, kde se zabývají touto léčbou.

Chirurgické zákroky u hluboce infiltruující endometriózy patří mezi jedny z nejsložitějších gynekologických zákroků, zvláště pokud se jedná o endometriózu rektovaginálního septa. Pacientka musí být seznámena s vážnými riziky operace – nejčastěji poranění střeva řešené stomií. (Fanta et al. 2012; Janoušková K. et al. 2018)

1.8.4 Kombinovaná léčba

Při léčbě endometriózy je často využíváno více typů terapie. I tak je léčba ve většině případů pouze dočasná a je třeba myslet na možnou recidivu onemocnění. Endometrióza by měla být považována za chronické onemocnění, které vyžaduje léčbu po celý život. (Hrušková 2011)

1.8.5 Doplnková alternativní terapie

Do alternativní terapie se řadí homeopatie, reflexologie, tradiční čínská medicína, akupunktura, úprava životosprávy a dietní opatření – vyšší přísun Mg, vit. B, E a C. (Hrušková 2011)

1.9 Rizikové faktory

S endometriózou bývá spojována celá řada rizikových faktorů. Je však nutné, brát je s určitou rezervou vzhledem ke stále neobjasněné příčině vzniku tohoto onemocnění. Mezi rizikové faktory patří:

- *věk* – endometrióza se vyskytuje nejčastěji u žen ve fertilním věku (od 20 do 45 let), po prodělané menopauze četnost onemocnění klesá (Tomeš a Novotný 2013)
- *krátký menstruační cyklus* – pod 27 dní (Wilson 2018)
- *pozdní těhotenství nebo nulipara* (žena, která dosud nebyla těhotná a nerodila) – ženy, které již rodily, mají snížený odpor v děložním čípku pro odtok menstruační krve (Janoušková K. et al. 2018)
- *genetická predispozice* – pokud se již toto onemocnění v rodině objevilo u matky, je vyšší riziko vzniku i u dcery (Wilson 2018)
- *životní styl* – rizikovější skupinu představují ženy s vyšším příjmem alkoholu, kávy, ženy užívající návykové látky a s nedostatkem pohybu. Zvláštním faktorem je *kouření*, ačkoliv je zdraví škodlivé, v některých studiích je spojeno se sníženým vznikem endometriózy díky svým anti-estrogenním účinkům. (Janoušková K. et al. 2018)
- *sociální stav* – častěji se onemocnění vyskytuje u žen vyšší sociální třídy, tato statistika může být zkreslena faktem, že ženám z vyšších vrstev bývá věnováno více pozornosti hlavně z důvodu problémů s otěhotněním
- *další faktory* – za zvýšené riziko bývá považováno i spojení s jinou nemocí (např. alergie, astma, autoimunitní onemocnění, rakovina prsu a vaječníků), dále dlouhodobý kontakt s chemikáliemi včetně ftalátů a dioxinů (vyskytující se např. v herbicidech), či předchozí záněty, operace, úrazy v pánevní oblasti (Grycová 2015)

Stejně tak se můžeme setkat s faktory, u kterých se ukazuje, že mohou mít **protektivní účinek na vznik endometriózy**. Patří sem např. dlouhodobé kojení, opakované těhotenství, pozdní menarché a užívání hormonální antikoncepce. (Janoušková K. et al. 2018) Dále je paradoxně riziko vzniku endometriózy nižší u žen s vyšší tělesnou hmotností (Tomeš a Novotný 2013).

PRAKTICKÁ ČÁST

2 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

2.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem naší práce bylo shromáždit vzorky mononukleárních lymfocytů od pacientek s endometriózou a zdravých dáreků a provést základní charakteristiku souboru.

2.2 Dílčí cíle

1. Izolace mononukleárních lymfocytů z periferní krve od pacientek trpících endometriózou a od zdravých dáreků.
2. Získané vzorky zamrazit a vytvořit banku vzorků pro následné analýzy.
3. Provést základní charakteristiku sledovaného souboru – získat základní osobní informace, parametry krevního obrazu, diferenciálního počtu leukocytů a buněčné imunity.

3 METODIKA PRÁCE

3.1 Charakteristika studovaného souboru

Krev byla získávána od pacientek Endokrinologické ambulance Gynekologicko-porodnické kliniky Fakultní nemocnice v Plzni. Jednalo se o ženy s prvozáchytem endometriózy, tyto ženy tedy nebyly na toto onemocnění dosud léčeny. Diagnóza endometriózy byla stanovena na základě klinického obrazu a sonografického vyšetření. Všechny pacientky i zdravé dárkyně podepsaly informovaný souhlas se zpracováním vzorku krve. Od každé ženy byly získány základní informace – věk, váha, výška, národnost, užívání cigaret, nejvyšší dosažené vzdělání, menarché, délka cyklu a délka menstruace.

Vzorky krve byly získány od 10 pacientek a 3 zdravých dárkyň. Průměrný věk pacientek byl 33,1 let ($SD \pm 8,26$), u dárkyň se jednalo o 36,0 let ($SD \pm 9,53$). Z krevního vzorku byly stanoveny parametry krevního obrazu, diferenciální počet leukocytů a buněčná imunita. Dále byly izolovány mononukleární buňky, které byly zamrazeny pro následné podrobnější zpracování.

3.2 Izolace mononukleárních buněk

Periferní krev byla odebrána do zkumavky Vacuette® K₃EDTA o objemu 6 ml.

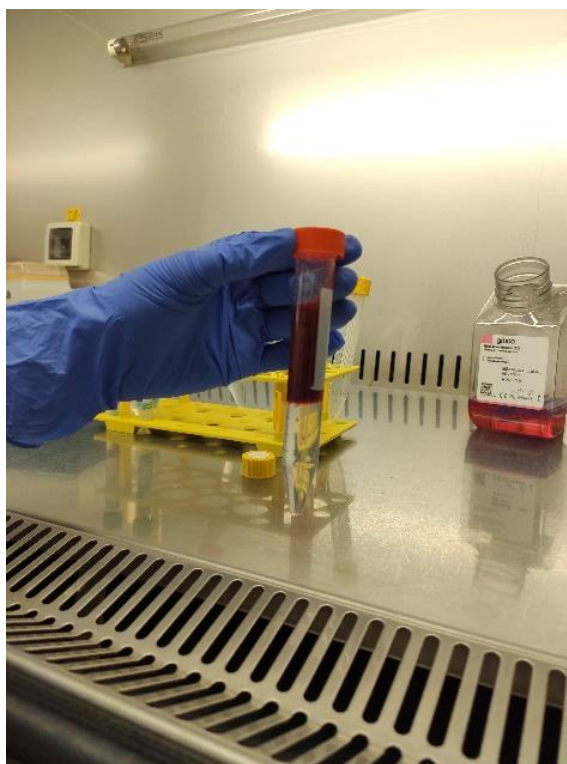
Celý proces zpracovávání vzorku probíhal v laminárním boxu, aby bylo zabráněno kontaminaci vzorku. Pro práci v laminárním boxu je klíčová dezinfekce veškerého materiálu, který je do boxu umisťován a se kterým je pracováno. Pro zpracování vzorku byly potřeba následující pomůcky:

- zkumavky o objemu 15ml a 50ml, kryozkumavky
- stojánek na zkumavky
- pipety a špičky
- pasteurky
- sérologické pipety
- vzorky krve ve zkumavkách K₃EDTA
- chemikálie:
 - separačního médium Ficoll-Paque
 - fosfátový pufr (PbS)
 - rozvolňovací médium (60 % albumin + 40 % PbS)

- kryo médium (40 % albumin + 40 % PBS + 20 % DMSO)

Pro každý vzorek krve byly připraveny 2 zkumavky o objemu 15 ml. Do zkumavek bylo napipetováno 6 ml separačního média Ficoll-Paque. Vzorek krve byl naředěn s PbS v poměru 1:1 a opatrně promíchán. Poté byla naředěná krev velmi pomalu a opatrně navrstvena na připravený Ficoll-Paque a to opět v poměru 1:1 (6 ml krve bylo navrstveno na připravených 6 ml média Ficoll-Paque). Výsledný vzhled připraveného vzorku je názorně ukázán na Obrázku 6.

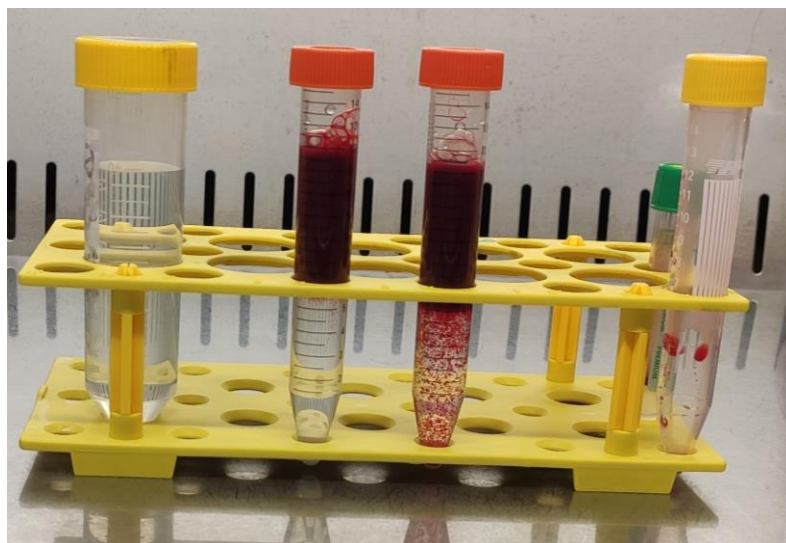
Obrázek 6 Výsledný vzhled připraveného vzorku



Zdroj: vlastní

Takto připravené zkumavky byly umístěny do centrifugy a pečlivě vyváženy. Centrifugace probíhala 30 minut při rychlosti 300 g s rychlostí rozjezdu a brzdění na nule. Pokud bychom zkumavky nedali do centrifugy ihned, můžeme si všimnout, jak červené krvinky začínají postupně sedimentovat ke dnu zkumavky (Obrázek 7).

Obrázek 7 Sedimentující červené krvinky



Zdroj: vlastní

Vlivem centrifugace došlo k rozdělení obsahu zkumavky, kdy nejspodněji jsou umístěny erytrocyty, nad nimi separační roztok Ficoll, dále prsteneček s mononukleárními lymfocyty a nejnvýše je plazma. Vzhled obsahu zkumavky po centrifugaci je na Obrázku 8.

Obrázek 8 Vzorek po centrifugaci

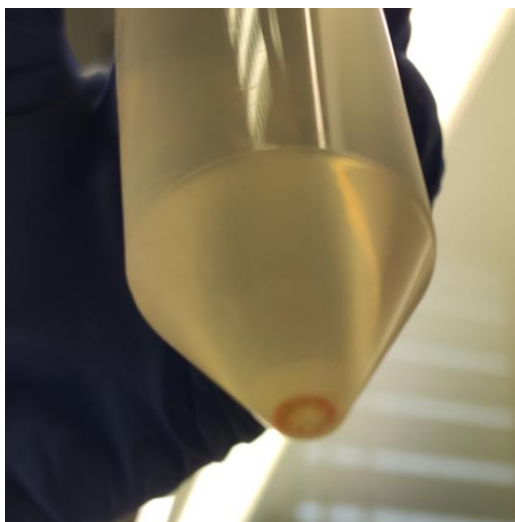


Zdroj: vlastní

Zkumavky byly následně opatrně přemístěny do laminárního boxu, pomocí pasteurky byl odebrán vzniklý prstenec a přendán do nové zkumavky o objemu 50 ml a byl přidán fosfátový pufr do výsledného objemu vzorku 30 ml.

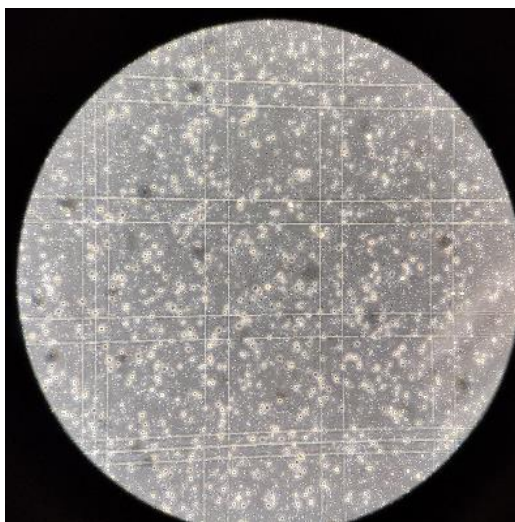
Následně byl vzorek opět centrifugován a to při rychlosti 480 g, čas 10 minut a stupeň rozjezdu a brzdy 9 (maximum). Po centrifugaci byl vzorek opět přenesen do laminárního boxu a byl odebrán supernatant, aby ve zkumavce zůstaly pouze vyizolované mononukleární buňky (Obrázek 9). Peleta buněk byla rozvolněna v 1 ml rozvolňovacího média (60 % albumin + 40 % PbS) a pomocí Bürkerovy komůrky bylo spočítáno množství získaných buněk (Obrázek 10).

Obrázek 9 Peleta buněk na dně zkumavky



Zdroj: vlastní

Obrázek 10 Počítání buněk v Bürkerově komůrce



Zdroj: vlastní

3.3 Zamrazení mononukleárních buněk

Pro zamrazení buněk bylo připraveno médium, do kterého byly buňky přepipetovány. Toto médium bylo tvořeno albuminem (40 %), fosfátovým pufrem (40 %) a DMSO (20 %). Do zamrazovací zkumavky bylo přeneseno 0,5 ml vzorku v rozvolňovacím médiu a následně bylo přidáno 0,5 ml zamrazovacího média. Vzorek byl umístěn do zamrazovacího kontejneru a přenesen do mrazáku s teplotou -96°C . Po 24 hodinách byl vzorek přenesen do tekutého dusíku.

3.4 Laboratorní analýza

Ženám byla při jejich návštěvě Gynekologicko-porodnické kliniky odebrána krev, ze které byly stanoveny parametry krevního obrazu, diferenciálu bílých krvinek a hodnoty buněčné imunity. Stanovované parametry a jejich referenční hodnoty jsou shrnuty v tabulkách 4, 5 a 6.

Tabulka 4 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – krevní obraz

KREVNÍ OBRAZ	
LABORATORNÍ PARAMETR	REFERENČNÍ HODNOTA
Leukocyty	4-10 x 10 ⁹ /l
Erytrocyty	3,8-5,2 x 10 ⁹ /l
Hemoglobin	120-160 g/l
Hematokrit	0,35-0,47
Objem erytrocytů	82-98 fl
Hemoglobin v erytrocytech	28-34 pg
Koncentrace hemoglobinu	320-360 g/l
Erytrocytární křivka	10-15,2 %
Trombocyty	150-400 x 10 ⁹ /l
Střední objem trombocytů	7,8-11 fl
Normoblasty – absolutní počet	0-0,02 x 10 ⁹ /l
Normoblasty – relativní počet	0-0,003

Zdroj: vlastní

Tabulka 5 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – diferenciální rozpočet leukocytů

DIFERENCIÁLNÍ ROZPOČET LEUKOCYTŮ	
LABORATORNÍ PARAMETR	REFERENČNÍ HODNOTA
Segmenty	0,45-0,7
Lymfocyty	0,2-0,45
Monocyty	0,02-0,12
Eozinofily	0-0,05
Bazofily	0-0,02
Segmenty – absolutní počet	$2-7 \times 10^9/l$
Lymfocyty – absolutní počet	$0,8-4 \times 10^9/l$
Monocyty – absolutní počet	$0,08-1,2 \times 10^9/l$
Eozinofily – absolutní počet	$0-0,5 \times 10^9/l$
Bazofily – absolutní počet	$0-0,2 \times 10^9/l$

Zdroj: vlastní

Tabulka 6 Referenční hodnoty sledovaných parametrů – buněčná imunita

BUNĚČNÁ IMUNITA	
LABORATORNÍ PARAMETR	REFERENČNÍ HODNOTA
Granulocyty, Monocyty	$2,4-6 \times 10^9/l$
CD3 ⁺ (%)	63-85 %
CD3 ⁺	$0,8-2,2 \times 10^9/l$
CD4 ⁺	$31-57 \times 10^9/l$
CD4 ⁺ (%)	0,309-1,571 %
CD8 ⁺	$19-48 \times 10^9/l$
CD8 ⁺ (%)	0,282-0,999 %
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0,7-2,3
CD19 ⁺ (%)	7-23 %
CD19 ⁺	$0,1-0,5 \times 10^9/l$
CD3 ⁺ /HLA DR ⁺ (%)	1,14-7,81 %
CD3 ⁺ /HLA DR ⁺	$0,02-0,12 \times 10^9/l$
NK buňky (%)	5-26 %
NK buňky	$0,072-0,543 \times 10^9/l$

Zdroj: vlastní

3.4.1 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení bylo zpracováno pomocí metody dvou výběrového t-testu. Za statisticky významný rozdíl byla považována hladina významnosti 5 % ($p < 0,05$)

4 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

4.1 Charakteristika sledovaného souboru

V období od dubna 2020 do konce ledna 2021 bylo do studie zařazeno 10 pacientek z Endokrinologické ambulance Gynekologicko-porodnické kliniky Fakultní nemocnice v Plzni a dále 3 zdravé dárkyně (ženy bez endometriózy). Průměrný věk pacientek byl 33,1 let ($SD \pm 8,26$), u kontrol se jednalo o 36,0 let ($SD \pm 9,53$). Tento menší počet zařazených žen bylo způsobeno tím, že do studie byly zařazeny pouze ženy, které s účastí dobrovolně souhlasily, dále se muselo jednat o pacientky, které nebyly dříve s endometriózou léčeny (farmakologicky ani chirurgicky) a jako typ endometriózy byl u nich diagnostikován endometriom. Nižší počet žen ovlivnila i celková situace spojená s onemocněním Covid-19, kdy byly uzavřeny specializované gynekologické ambulance. Od žen byly získány základní osobní informace – věk, váha, výška, národnost, užívání cigaret, nejvyšší dosažené vzdělání, menarché, délka cyklu a délka menstruace.

U pacientek byla průměrná váha 75,8 kg ($SD \pm 21,93$) a výška 171,9 cm ($SD \pm 7,99$). Devět žen bylo české národnosti, 1 žena slovenské. Většina žen (90,0 %) byly nekuřačky. Nejčastěji se jednalo o ženy se středoškolským vzděláním s maturitou (60,0 %), dvě ženy (20,0 %) byly vyučeny, 1 žena měla dokončené základní vzdělání a jedna vysokoškolské. Z gynekologických informací bylo zjištěno, že průměrná délka cyklu žen je 28,0 dní, délka menstruace 6,7 dní a první menstruaci měly ženy průměrně ve 12,8 letech.

U kontrolních dárek byla průměrná váha 84,33 kg ($SD \pm 12,09$) a výška 169,33 cm ($SD \pm 14,36$). Dvě ženy byly české národnosti a jedna německé. Všechny ženy byly nekuřačky a jejich nejvyšší dosažené vzdělání bylo vysokoškolské (2 ženy) nebo vyšší odborné (1 žena). Průměrná délka děložního cyklu byla 28,17 dní, délka menstruace 5 dní a menarché v 12,67 letech.

Podrobnější informace ukazuje tabulka 7.

Tabulka 7 Charakteristika souboru

CHARAKTERISTIKA SOUBORU		
SLEDOVANÝ PARAMETR	PACIENTKA (n = 10)	KONTROLA (n = 3)
Věk	33,1 let (SD ± 8,26)	36,00 let (SD ± 9,53)
Váha	75,8 kg (SD ± 21,93)	84,33 kg (SD ± 12,09)
Výška	171,9 cm (SD ± 7,99)	169,33 cm (SD ± 14,36)
Národnost		
• česká	9 žen (90,0 %)	2 ženy (66,67 %)
• slovenská	1 žena (10,0 %)	0 žen (0 %)
• jiná	0 žen (0 %)	1 žena (33,33 %)
Užívání cigaret		
• kuřačka	1 žena (10,0 %)	0 žen (0 %)
• nekuřačka	9 žen (90,0 %)	3 ženy (100 %)
Nejvyšší dosažené vzdělání		
• vysoká škola	1 žena (10,0 %)	2 ženy (66,67 %)
• vyšší odborná škola	0 žen (0 %)	1 žena (33,33 %)
• střední škola s maturitou	6 žen (60,0 %)	0 žen (0 %)
• střední odborné učiliště	2 ženy (20,0 %)	0 žen (0 %)
• základní škola	1 žena (10,0 %)	0 žen (0 %)
Menarché	12,80 let (SD ± 1,39)	12,67 let (SD ± 0,58)
Délka cyklu	28,0 dní (SD ± 0)	28,17 dní (SD ± 2,25)
Délka menstruace	6,7 dní (SD ± 1,97)	5 dní (SD ± 1,0)

Zdroj: vlastní

4.2 Přehled sledovaných laboratorních parametrů

4.2.1 Krevní obraz

V den návštěvy Endokrinologické ambulance byla ženám odebrána zkumavka periferní krve, kde byly stanovovány parametry krevního obrazu, a to konkrétně počet leukocytů, erytrocytů, trombocytů, dále hemoglobin, hematokrit, objem erytrocytů, hemoglobin v erytrocytech, koncentrace hemoglobinu, erytrocytární křivka, střední objem trombocytu a absolutní a relativní počet normoblastů. Tabulka 8 ukazuje průměrné hodnoty těchto stanovovaných parametrů u pacientek a kontrol. Statisticky významný rozdíl ($p \leq 0,05$) byl nalezen u hodnoty leukocytů, kdy průměrná hodnota u pacientek byla $6,48 \times 10^9/l$ ($SD \pm 1,14$) a u kontrol $8,86 \times 10^9/l$ ($SD \pm 2,04$).

Tabulka 8 Vyhodnocení krevního obrazu

KREVNÍ OBRAZ		
LABORATORNÍ PARAMETR	PACIENTKA (n = 10)	KONTROLA (n = 3)
Leukocyty	6,48 x 10⁹/l (SD ± 1,14)	8,86 x 10⁹/l (SD ± 2,04)
Erytrocyty	4,74 x 10 ⁹ /l (SD ± 0,60)	4,60 x 10 ⁹ /l (SD ± 0,33)
Hemoglobin	134,11 g/l (SD ± 14,43)	133,33 g/l (SD ± 2,89)
Hematokrit	0,41 (SD ± 0,04)	0,40 (SD ± 0,008)
Objem erytrocytu	86,00 fl (SD ± 5,59)	87,33 fl (SD ± 4,50)
Hemoglobin v erytrocytech	28,46 pg (SD ± 2,29)	29,00 pg (SD ± 1,57)
Koncentrace hemoglobinu	331,33 g/l (SD ± 12,06)	332,33 g/l (SD ± 4,04)
Erytrocytární křivka	14,39 % (SD ± 1,74)	13,46 % (SD ± 0,66)
Trombocyty	268,11 x 10 ⁹ /l (SD ± 66,99)	345,66 x 10 ⁹ /l (SD ± 111,39)
Střední objem trombocytu	8,27 fl (SD ± 1,00)	7,90 fl (SD ± 0,60)
Normoblasty – absolutní počet	0,01 x 10 ⁹ /l (SD ± 0,01)	0,02 x 10 ⁹ /l (SD ± 0,02)
Normoblasty – relativní počet	0,00 (SD ± 0,001)	0,002 (SD ± 0,002)

Zdroj: vlastní

4.2.2 Diferenciální počet leukocytů

Ženám byla odebrána také zkumavka krve pro stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů. Byly stanovovány jak absolutní, tak relativní hodnoty, a to u segmentů, lymfocytů, monocytů, eozinofilů a bazofilů. Tabulka 9 ukazuje průměrné hodnoty těchto sledovaných parametrů u pacientek a kontrol. Statisticky významný rozdíl ($p \leq 0,05$) byl nalezen u hodnoty lymfocytů, kdy průměrná hodnota u pacientek byla $1,71 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,45$) a u kontrol $2,90 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,43$).

Tabulka 9 Vyhodnocení diferenciálního rozpočtu leukocytů

DIFERENCIÁLNÍ ROZPOČET LEUKOCYTŮ		
LABORATORNÍ PARAMETR	PACIENTKA (n = 10)	KONTROLA (n = 3)
Segmenty – absolutní počet	$4,02 \times 10^9/l$ ($SD \pm 1,21$)	$5,07 \times 10^9/l$ ($SD \pm 1,75$)
Segmenty – relativní počet	0,61 ($SD \pm 0,09$)	0,57 ($SD \pm 0,07$)
Lymfocyty – absolutní počet	$1,71 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,45$)	$2,90 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,43$)
Lymfocyty – relativní počet	0,27 ($SD \pm 0,08$)	0,27 ($SD \pm 0,45$)
Monocyty – absolutní počet	$0,49 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,15$)	$0,6 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,1$)
Monocyty – relativní počet	0,08 ($SD \pm 0,02$)	0,068 ($SD \pm 0,02$)
Eozinofily – absolutní počet	$0,21 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,30$)	$0,17 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,21$)
Eozinofily – relativní počet	0,03 ($SD \pm 0,04$)	0,02 ($SD \pm 0,02$)
Bazofily – absolutní počet	$0,01 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,03$)	$0,03 \times 10^9/l$ ($SD \pm 0,05$)
Bazofily – relativní počet	0,01 ($SD \pm 0,002$)	0,009 ($SD \pm 0,004$)

Zdroj: vlastní

4.2.3 Buněčná imunita

Z již nabrané krve byla také stanovena buněčná imunita. Konkrétně počet T-lymfocytů ($CD3^+$), dále jejich podtypů – T_H lymfocyty ($CD4^+$, helpery), T_C lymfocyty ($CD8^+$, cytotoxické), jejich vzájemný poměr ($CD4^+/CD8^+$), počet aktivovaných T lymfocytů ($CD3^+/HLA\ DR^+$), NK buněk ($CD3^-/CD56^+$) a B lymfocytů ($CD19^+$). U pacientek byl zjištěn statisticky nižší počet T-lymfocytů ($CD3^+$) a to konkrétně $1,32 \times 10^9/l$ oproti kontrolám, kde byl průměrný počet $2,16 \times 10^9/l$. Dále byl u pacientek nalezen statisticky významně snížený počet T_H – lymfocytů ($CD4^+$) ($0,83 \times 10^9/l$ versus $1,52 \times 10^9/l$ u kontrol), B – lymfocytů ($CD19^+$) ($0,13 \times 10^9/l$ versus $0,41 \times 10^9/l$ u kontrol) a aktivovaných T – lymfocytů ($CD3^+/HLA-DR^+$) ($0,06 \times 10^9/l$ oproti $0,13 \times 10^9/l$ u kontrol). Tyto hodnoty podrobněji ukazuje Tabulka 10.

Tabulka 10 Vyhodnocení buněčné imunity

BUNĚČNÁ IMUNITA		
LABORATORNÍ PARAMETR	PACIENTKA (n = 10)	KONTROLA (n = 3)
Granulocyty, Monocyty	$4,76 \times 10^9/l$ (SD \pm 1,30)	$5,96 \times 10^9/l$ (SD \pm 1,61)
$CD3^+$	$1,34 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,46)	$2,16 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,10)
$CD3^+$ (%)	76,40 % (SD \pm 11,18)	75,15 % (SD \pm 7,12)
$CD4^+$	$0,83 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,26)	$1,52 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,07)
$CD4^+$ (%)	48,88 % (SD \pm 6,73)	53,23 % (SD \pm 7,87)
$CD8^+$	$0,44 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,23)	$0,57 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,12)
$CD8^+$ (%)	23,94 % (SD \pm 8,92)	19,83 % (SD \pm 4,43)
$CD4^+/CD8^+$	2,31 (SD \pm 0,86)	2,78 (SD \pm 0,84)
$CD19^+$	$0,13 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,07)	$0,41 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,19)
$CD19^+$ (%)	8,09 % (SD \pm 4,24)	13,86 % (SD \pm 4,26)
$CD3^+/HLA\ DR^+$	$0,06 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,04)	$0,13 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,02)
$CD3^+/HLA\ DR^+$ (%)	3,97 % (SD \pm 2,06)	4,91 % (SD \pm 1,40)
NK buňky	$0,23 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,12)	$0,30 \times 10^9/l$ (SD \pm 0,15)
NK buňky (%)	15,12 % (SD \pm 0,12)	10,00 % (SD \pm 3,52)

Zdroj: vlastní

4.3 Izolace a zamrazení mononukleárních lymfocytů

Výše popsaným způsobem bylo izolováno a zamraženo 13 vzorků (deset vzorků od pacientek a tři vzorky od kontrol). Tyto vzorky jsou uchovány v tekutém dusíku a budou použity pro podrobnější analýzu leukocytů, a to zejména s důrazem na funkční parametry NK buněk (aktivační receptory).

5 DISKUZE

Endometrióza patří k onemocněním, u kterých stále není znám mechanismus vzniku, což ovlivňuje a komplikuje nejen terapii, ale zejména znemožňuje prevenci tohoto onemocnění nebo recidivě. Zásadní úlohu ve vzniku a rozvoji onemocnění bude hrát imunitní systém. U pacientek jsou nacházeny poruchy jak humorální, tak buněčné imunity zahrnující peritoneální infiltraci imunitními buňkami, aktivaci makrofágů, redukovanou aktivitu cytotoxických T-lymfocytů, posun Th1/Th2 směrem k Th2, produkci protilátek plazmatickými buňkami (anti-endometriální, anti-fosfolipidové, anti-nukleární) a také zejména snížený počet a aktivitu NK a invariantních NKT buněk. (Osuga et al. 2011)

V této bakalářské práci jsme se zaměřili na porovnání rozdílů parametrů krevního obrazu, diferenciálního počtu lymfocytů a buněčné imunity u pacientek s endometriózou a u zdravých kontrol.?? Dále jsme náš sledovaný soubor charakterizovali z pohledu některých údajů osobní a gynekologické anamnézy – věk, váha, výška, národnost, užívání cigaret, nejvyšší dosažené vzdělání, menarché, délka cyklu a délka menstruace.

U pacientek byl zjištěn statisticky nižší počet T-lymfocytů ($CD3^+$), dále T_H – lymfocytů ($CD4^+$), B – lymfocytů ($CD19^+$) a aktivovaných T – lymfocytů ($CD3^+/HLA-DR^+$). Tato skutečnost může být způsobena malými studovanými soubory.

Do skupiny T lymfocytů patří cytotoxické T_C -lymfocyty ($CD8^+$) a pomocné T_H -lymfocyty ($CD4^+$). T_C jsou zodpovědné za kontrolu buněk v organismu a v případě, že je buňka poškozená, zničí ji pomocí svých cytotoxických mechanismů. T_H buňky mají za úkol zahájení specifické imunitní odpovědi a produkci cytokinů. Význam buněčné imunity pro umožnění implantace endometriálních buněk v ektopických lokalitách prokázal již Dmowski na počátku 80. let 20. století. (Dmowski et al. 1981) Ten provedl studii na opicích *Macacus rhesus*, kterým byla vpravena do těla injekce vlastních endometriálních buněk a s odstupem 48 hodin sledována imunitní odpověď. U zvířat postižených endometriózou došlo k vzniku výrazně menší odpovědi imunitního systému než u zdravých jedinců. Tato skutečnost byla potvrzena i u žen. (Gilmore et al. 1992)

V periferní krvi pacientek s endometriózou bylo detekováno snížené množství $CD3^+$ lymfocytů a aktivovaných T-lymfocytů ($CD3^+/HLA-DR^+$) v porovnání se zdravými kontrolami. (Wu et al. 1996) Stejně tak se ukazuje, že u pacientek s endometriózou je přítomen nižší počet $CD4^+$ T_H -lymfocytů. (Osuga et al. 2011) Tuto skutečnost jsme

pozorovali i v našem sledovaném souboru, kde pacientky vykazovaly nižší průměrný počet jak ve skupině T-lymfocytů, aktivovaných T-lymfocytů, tak v subtypu CD4⁺.

Kromě rozdílů v počtu buněk, byla u pacientek s endometriózou identifikována zvýšená hladina celé řady cytokinů včetně TNF- α , IL-1, IL-6 či IL-8. (Agić et al. 2006)

U B-lymfocytů byl v některých studiích zjištěn jejich snížený počet, ale jiné studie toto vyvrátily. (Osuga et al. 2011) Tento rozpor by mohl být způsoben rozdílným stádiem onemocnění ve sledovaných souborech – ženy s menším postižením na rozdíl od žen v pokročilém stádiu. (Osuga et al. 2011) V našem sledovaném souboru byl nižší počet B-lymfocytů oproti kontrolní skupině, což neodpovídá předpokladu, jelikož u žen v našem souboru byla přítomna nižší míra postižení (ovariální endometriom).

Další buňky imunitního systému, NK buňky, mají za úkol rychle zabít infikované nebo poškozené buňky pomocí degranulace specifických enzymů (perforiny, granzymy). Tato skupina buněk bude možná klíčová pro umožnění rozvoje endometriózy. U postižených žen se nachází jejich snížený počet a to zejména v peritoneální tekutině a to v době folikulární fáze ovariálního cyklu, tedy v době, kdy by měly být usmrceny endometriální buňky z případné retrográdní menstruace. (Oosterlynck et al. 1992)

Buňky imunitního systému hrají tedy velmi významnou roli v patogenezi endometriózy. Jejich fyziologickou úlohou by mělo být znemožnění přežití a uchycení ektopicky uložených endometriálních buněk. U některých žen, z prozatím neznámého důvodu tomu tak ale není, imunitní buňky umožní proliferaci endometriálních buněk mimo dutinu děložní a rozvoj onemocnění.

Přestože je dnešní moderní medicína velmi pokročilá a na vysoké úrovni, v oblasti této nemoci trvá diagnostika mnohdy i několik let. Vývoj potenciálních biomarkerů by umožnil odhalit nemoc v dřívějších stádiích, snížit náklady potřebné na léčbu a zejména rychlejší diagnostika by ulehčila život mnoha ženám, ušetřila by je bolestí spojených s touto nemocí a snížila trápení s případnou neplodností. Jednou z možností by mohla být funkční charakterizace imunitních buněk, které se budou nejspíše účastnit patogeneze tohoto onemocnění. Na tuto charakterizaci bychom se chtěli zaměřit v navazujících studiích, kdy kromě rozšíření sledovaného souboru, budou získané zamrazené mononukleární lymfocyty podrobně charakterizovány.

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem naší práce bylo získat, vyizolovat a zamrazit vzorky mononukleárních lymfocytů od pacientek s endometriózou a zdravých dáreků, a tím vytvořit materiál pro navazující studie. Prozatím se podařilo zpracovat 10 vzorků od pacientek a 3 vzorky od kontrol. U obou dvou těchto souborů byla zároveň provedena i jejich základní charakteristika.

Byl nalezen statisticky signifikantní rozdíl v počtu T-lymfocytů, aktivovaných T-lymfocytů, podtypu CD4⁺ T-lymfocytů a i B-lymfocytů. Tyto skupiny buněk byly u pacientek sníženy v porovnání s kontrolami, což ale může být způsobeno prozatím malým počtem sledovaných žen.

V navazujících studiích je v plánu rozšíření souboru pacientek i kontrol a podrobnější charakteristika parametrů imunitních buněk.

Endometrióza je časté onemocnění a počet pacientek stále narůstá, a i přes tuto skutečnost je o ni stále malé povědomí, proto nepsaným cílem mé práce bylo vytvořit ucelený přehled o endometrióze a shrnout informace z více zdrojů.

7 SEZNAM LITERATURY

AGIC, Admir, Hong XU, Dominique FINAS, Constanze BANZ, Klaus DIEDRICH a Daniela HORNING, 2006. Is Endometriosis Associated with Systemic Subclinical Inflammation? *Gynecologic and Obstetric Investigation* [online]. **62**(3), 139–147. ISSN 0378-7346, 1423-002X. Dostupné z: doi:10.1159/000093121

BATT, Ronald, 2011. *A History of Endometriosis*. B.m.: Springer Science & Business Media. ISBN 978-0-85729-585-9.

BROSENS, Ivo a Giuseppe BENAGIANO, 2013. Is neonatal uterine bleeding involved in the pathogenesis of endometriosis as a source of stem cells? *Fertility and Sterility* [online]. **100**(3), 622–623. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2013.04.046

BURNEY, Richard O. a Linda C. GIUDICE, 2012. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertility and Sterility* [online]. **98**(3), 511–519. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2012.06.029

DMOWSKI, W. P., 1987. Immunologic aspects of endometriosis. *Contributions to Gynecology and Obstetrics*. **16**, 48–55. ISSN 0304-4246.

DMOWSKI, W. P., R. W. STEELE a G. F. BAKER, 1981. Deficient cellular immunity in endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **141**(4), 377–383. ISSN 0002-9378. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9378(81)90598-6

DOWLUT-MCELROY, Tazim a Julie L. STRICKLAND, 2017. Endometriosis in adolescents. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* [online]. **29**(5), 306–309. ISSN 1473-656X. Dostupné z: doi:10.1097/GCO.0000000000000402

FANTA, M, P KOLIBA a Hana HRUŠKOVÁ, 2012. Endometrióza. *Čes. Gynek.*, **77**. **2012**(4), str. 314-319.

FASSBENDER, Amelie, Richard O. BURNEY, Dorien F. O, Thomas D'HOOGHE a Linda GIUDICE, 2015. Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. *BioMed Research International* [online]. [vid. 2021-02-09]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1155/2015/130854

FERRYMAN, S. R. a T. P. ROLLASON, 1994. Pathology of the uterine body. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. **6**(4), 344–350. ISSN 1040-872X.

FIGUEIRA, Paula Gabriela Marin, Mauricio Simões ABRÃO, Graciela KRIKUN, Hugh S. TAYLOR a Hugh TAYLOR, 2011. Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. **1221**, 10–17. ISSN 1749-6632. Dostupné z: doi:10.1111/j.1749-6632.2011.05969.x

GILMORE, S. M., S. AKSEL, C. HOFF a R. D. PETERSON, 1992. In vitro lymphocyte activity in women with endometriosis--an altered immune response? *Fertility and Sterility*. **58**(6), 1148–1152. ISSN 0015-0282.

GRUENWALD, Peter, 1942. Origin of endometriosis from the mesenchyme of the celomic walls. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **44**(3), 470–474. ISSN 0002-9378. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9378(42)90484-8

GRYCOVÁ, Lenka, 2015. C: PHARMANEWS | Odborné konference pro farmaceutické asistenty, lékárníky a sestry. *Pharma News* [online]. **2015** [vid. 2020-02-12]. Dostupné z: <http://www.pharmanews.cz/clanek/endometri-za/>

HANÁČEK J., 2012. *Endometrióza - Zdraví.Euro.cz* [online] [vid. 2020-02-12]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/endometrioza-463797>

HAPANGAMA, D. K., M. A. TURNER, J. DRURY, L. HEATHCOTE, Y. AFSHAR, P. A. MAVROGIANIS a A. T. FAZLEABAS, 2010. Aberrant expression of regulators of cell-fate found in eutopic endometrium is found in matched ectopic endometrium among women and in a baboon model of endometriosis. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **25**(11), 2840–2850. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/deq248

HARIRCHIAN, P., I. GASHAW, S. T. LIPSKIND, A. G. BRAUNDMEIER, J. M. HASTINGS, M. R. OLSON a A. T. FAZLEABAS, 2012. Lesion kinetics in a non-human primate model of endometriosis. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **27**(8), 2341–2351. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/des196

HO, H. N., M. Y. WU, K. H. CHAO, C. D. CHEN, S. U. CHEN a Y. S. YANG, 1997. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. **12**(11), 2528–2533. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/12.11.2528

HRUŠKOVÁ, Hana, 2011. Endometrióza: výrazný dopad na kvalitu života ženy. *Interní medicína pro praxi*. **13**(10), 394–396. ISSN 12127299, 18035256.

INDRIELLE-KELLY, T., F. FRÜHAUF, A. BURGETOVÁ, M. FANTA a D. FISCHEROVÁ, 2019a. Diagnosis of endometriosis 1st part - Overview of diagnostic approaches. *Ceska Gynekologie*. **84**(4), 252–259. ISSN 1210-7832.

INDRIELLE-KELLY, T., F. FRÜHAUF, A. BURGETOVÁ, M. FANTA a D. FISCHEROVÁ, 2019b. Diagnosis of endometriosis 2nd part - Ultrasound diagnosis of endometriosis (adenomyosis, endometriomas, adhesions) in the community. *Ceska Gynekologie*. **84**(4), 260–268. ISSN 1210-7832.

JANOŤKOVÁ K., PLÁTENÍKOVÁ T., HÁJEK M., PROCHÁZKA M. a KLUGAR M., 2018. Endometrióza a její vliv na plodnost a kvalitu života. *Prakt. Lék*. **2018**(98(4)), 147–152.

KATO, Kiyoko, 2012. Stem cells in human normal endometrium and endometrial cancer cells: characterization of side population cells. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* [online]. **28**(2), 63–71. ISSN 2410-8650. Dostupné z: doi:10.1016/j.kjms.2011.06.028

KIM, J. Julie, Takeshi KURITA a Serdar E. BULUN, 2013. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrine Reviews* [online]. **34**(1), 130–162. ISSN 1945-7189. Dostupné z: doi:10.1210/er.2012-1043

- KRÁLÍČKOVÁ, Milena a Vaclav VETVICKA, 2015. Immunological aspects of endometriosis: a review. *Annals of Translational Medicine* [online]. **3**(11), 6. ISSN 2305-5847. Dostupné z: doi:10.3978/j.issn.2305-5839.2015.06.08
- KUČERA, Eduard, 2008. *Endometrióza: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf. Farmakoterapie pro praxi, sv. 26. ISBN 978-80-7345-144-8.
- KUMAR, Sanjay a Uday BANDYOPADHYAY, 2005. Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicology Letters* [online]. **157**(3), 175–188. ISSN 0378-4274. Dostupné z: doi:10.1016/j.toxlet.2005.03.004
- MARUYAMA, Tetsuo, Hirotaka MASUDA, Masanori ONO, Takashi KAJITANI a Yasunori YOSHIMURA, 2010. Human uterine stem/progenitor cells: their possible role in uterine physiology and pathology. *Reproduction (Cambridge, England)* [online]. **140**(1), 11–22. ISSN 1741-7899. Dostupné z: doi:10.1530/REP-09-0438
- MATORRAS, R., I. OCERIN, M. UNAMUNO, A. NIETO, E. PEIRÓ, J. BURGOS a A. EXPÓSITO, 2007. Prevalence of endometriosis in women with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Lupus* [online]. **16**(9), 736–740. ISSN 0961-2033. Dostupné z: doi:10.1177/0961203307081339
- MCKINNON, Brett D., Vida KOCBEK, Kostantinos NIRGIANAKIS, Nick A. BERSINGER a Michael D. MUELLER, 2016. Kinase signalling pathways in endometriosis: potential targets for non-hormonal therapeutics. *Human Reproduction Update* [online]. **22**(3), 382–403. ISSN 1460-2369. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/dmv060
- OOSTERLYNCK, D. J., C. MEULEMAN, M. WAER, M. VANDEPUTTE a P. R. KONINCKX, 1992. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertility and Sterility* [online]. **58**(2), 290–295. ISSN 0015-0282. Dostupné z: doi:10.1016/s0015-0282(16)55224-8
- ORAL, E., D. L. OLIVE a A. ARICI, 1996. The peritoneal environment in endometriosis. *Human Reproduction Update* [online]. **2**(5), 385–398. ISSN 1355-4786. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/2.5.385
- OSUGA, Yutaka, Kaori KOGA, Yasushi HIROTA, Testuya HIRATA, Osamu YOSHINO a Yuji TAKETANI, 2011. Lymphocytes in Endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology* [online]. **65**(1), 1–10. ISSN 1600-0897. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0897.2010.00887.x
- PARASAR, Parveen, Pinar OZCAN a Kathryn L. TERRY, 2017. Endometriosis: Epidemiology, Diagnosis and Clinical Management. *Current obstetrics and gynecology reports* [online]. **6**(1), 34–41. ISSN 2161-3303. Dostupné z: doi:10.1007/s13669-017-0187-1
- PARENTE BARBOSA, C., A. M. BENTES DE SOUZA, B. BIANCO a D. M. CHRISTOFOLINI, 2011. The effect of hormones on endometriosis development. *Minerva Ginecologica*. **63**(4), 375–386. ISSN 0026-4784.
- PASOTO, Sandra G., Mauricio S. ABRAO, Vilma S. T. VIANA, Cleonice BUENO, Elaine P. LEON a Eloisa BONFA, 2005. Endometriosis and systemic lupus erythematosus: a comparative evaluation of clinical manifestations and serological autoimmune phenomena.

American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989) [online]. **53**(2), 85–93. ISSN 1046-7408. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0897.2005.00252.x

PITOT, Marika A., Candice A. BOOKWALTER a Kika M. DUDIÁK, 2020. Müllerian duct anomalies coincident with endometriosis: a review. *Abdominal Radiology (New York)* [online]. **45**(6), 1723–1740. ISSN 2366-0058. Dostupné z: doi:10.1007/s00261-020-02465-y

RICCIO, L. G. C., E. C. BARACAT, C. CHAPRON, F. BATTEUX a M. S. ABRÃO, 2017. The role of the B lymphocytes in endometriosis: A systematic review. *Journal of Reproductive Immunology* [online]. **123**, 29–34. ISSN 0165-0378. Dostupné z: doi:10.1016/j.jri.2017.09.001

RICCIO, Luiza da Gama Coelho, Pietro SANTULLI, Louis MARCELLIN, Mauricio Simões ABRÃO, Frederic BATTEUX a Charles CHAPRON, 2018. Immunology of endometriosis. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* [online]. **50**, Endometriosis: Impact and pathogenesis, 39–49. ISSN 1521-6934. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.01.010

ROZTOČIL, Aleš, 2011. *Moderní gynekologie*. B.m.: Grada Publishing a.s. ISBN 978-80-247-2832-2.

SAHA, Rama, Hans Järnbert PETTERSSON, Pia SVEDBERG, Matts OLOVSSON, Agneta BERGQVIST, Lena MARIONS, Per TORNVALL a Ralf KUJA-HALKOLA, 2015. Heritability of endometriosis. *Fertility and Sterility* [online]. **104**(4), 947–952. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2015.06.035

SAMPSON, John A., 1925. Heterotopic or misplaced endometrial tissue. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **10**(5), 649–664. ISSN 0002-9378. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9378(25)90629-1

ŚCIEŻYŃSKA, Aneta, Michał KOMOROWSKI, Marta SOSZYŃSKA a Jacek MALEJCZYK, 2019. NK Cells as Potential Targets for Immunotherapy in Endometriosis. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **8**(9), 1468. Dostupné z: doi:10.3390/jcm8091468

SELI, Emre, Murat BERKKANOGLU a Aydin ARICI, 2003. Pathogenesis of endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. **30**(1), 41–61. ISSN 0889-8545.

SOURIAL S., TEMPEST N., HAPANGAMA D. K., Nicola TEMPEST a Dharani K. HAPANGAMA, 2014. M: Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine* [online]. **2014** [vid. 2020-02-26]. ISSN 2356-7104. Dostupné z: doi:10.1155/2014/179515

SOURIAL, Samer, Nicola TEMPEST a Dharani K. HAPANGAMA, 2014. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine* [online]. **2014** [vid. 2020-10-21]. ISSN 2356-7104. Dostupné z: doi:10.1155/2014/179515

TOMEŠ, Pavel a Z NOVOTNÝ, 2013. *Endometrióza* [online] [vid. 2020-02-12]. Dostupné z: <https://mefanet.lfp.cuni.cz/clanky.php?aid=278>

TSUJI, Shunichiro, Momoko YOSHIMOTO, Kentaro TAKAHASHI, Yoichi NODA, Tatsutoshi NAKAHATA a Toshio HEIKE, 2008. Side population cells contribute to the genesis of human endometrium. *Fertility and Sterility* [online]. **90**(4 Suppl), 1528–1537. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2007.08.005

ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY, 2020. *Mezinárodní klasifikace nemoci MKN - ÚZIS ČR* [online] [vid. 2020-10-21]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--klasifikace--mezinarodni-klasifikace-nemoci#publikace>

WANG, Y., R. K. SHARMA, T. FALCONE, J. GOLDBERG a A. AGARWAL, 1997. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertility and Sterility* [online]. **68**(5), 826–830. ISSN 0015-0282. Dostupné z: doi:10.1016/s0015-0282(97)00343-9

WILSON, Debra Rose, 2018. Endometriosis: Symptoms, causes, and treatments. *Medical News Today* [online] [vid. 2020-01-28]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/149109.php>

WU, M. Y., K. H. CHAO, S. U. CHEN, H. F. CHEN, Y. S. YANG, S. C. HUANG a H. N. HO, 1996. The suppression of peritoneal cellular immunity in women with endometriosis could be restored after gonadotropin releasing hormone agonist treatment. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989)* [online]. **35**(6), 510–516. ISSN 1046-7408. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0897.1996.tb00050.x

ZONDERVAN, Krina T., Christian M. BECKER a Stacey A. MISSMER, 2020. Endometriosis. *New England Journal of Medicine* [online]. [vid. 2020-11-19]. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1810764