

Endometriosi: trattamenti attuali e nuovi orizzonti terapeutici

M. Vignali, C. D'Amico, M. Busacca

Clinica Ostetrico Ginecologica – Università degli Studi di Milano
P.O. Macedonio Melloni - Milano

Nonostante i numerosi contributi offerti dalla letteratura mondiale, l'endometriosi rimane una patologia complessa ed enigmatica, caratterizzata da manifestazioni cliniche ed anatomopatologiche differenti e da una eziopatogenesi ancora incerta che rendono difficoltosa l'impostazione di un iter terapeutico univoco.

La prevalenza dell'endometriosi nella popolazione generale femminile corrisponde a circa il 6-10% ma può raggiungere il 35-50% in donne con dolore pelvico, infertilità od entrambi [1-4].

La necessità di un approccio diagnostico che consenta di formulare una diagnosi precoce, e quindi di instaurare la corretta terapia, è di capitale importanza.

Il razionale delle attuali opzioni terapeutiche è di inibire la crescita di impianti ectopici endometriocici al fine di ridurre la sintomatologia algica che caratterizza questa malattia.

Il sintomo prevalente è infatti il dolore che può manifestarsi come dismenorrea, algie pelviche non correlate al ciclo mestruale, dispareunia profonda, dischezia (in caso di endometriosi profonda del cavo del Douglas) e disuria (in caso di coinvolgimento del setto vescico-uterino e della vescica) [5].

Il trattamento chirurgico è il *gold standard* per la diagnosi e la terapia dell'endometriosi in quanto consente, oltre la diagnosi istopatologica, la diretta localizzazione e l'escissione delle lesioni, con efficace risoluzione della sintomatologia dolorosa ed aumento della funzionalità riproduttiva [6-12].

Date però l'invasività della procedura e quindi il rischio di possibili complicanze conseguenti alla chirurgia, il trattamento medico è da considerare una valida alternativa di intervento. E' evidente che l'azione della terapia medica sia mirata più alla risoluzione della sintomatologia algica che alla riduzione delle lesioni endometriosiche [13].

Considerando inoltre l'alta percentuale di recidive (15-40% a seconda del tipo di endometriosi) che caratterizza questa patologia, la principale applicazione del trattamento medico risulta essere la terapia adiuvante a lungo termine dopo chirurgia ed il trattamento delle recidive.

Tuttavia è bene sottolineare l'assenza di evidenze scientifiche che sostengano un ruolo attivo dei farmaci nel ridurre l'incidenza delle recidive stesse [14-17], né che il trattamento medico migliori la prognosi riproduttiva [18].

La conoscenza, sebbene ancora controversa, dei meccanismi patogenetici e molecolari che sottendono l'endometriosi, sebbene non consenta di identificare il trattamento ideale, ha però permesso di indirizzare la scelta verso determinate categorie di farmaci in grado di non interferire con la fisiologica funzionalità ovarica ed endometriale.

TRATTAMENTI ATTUALI

ESTRO-PROGESTINICI (EP) E PROGESTINICI (P)

E' noto che l'endometriosi rappresenti una patologia ormono-dipendente.

La temporanea inibizione dell'ovulazione, attraverso il *feed-back* negativo esercitato sull'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio, ed il conseguente stato di ipoestrogenismo, riducono gli impianti ectopici e lo stato infiammatorio, così come la sintomatologia algica associata [19-20].

L'elevata tollerabilità, i ridotti effetti collaterali, la possibilità di trattamento a lungo termine ed i costi contenuti, rendono i progestinici e gli estrogeno-progestinici combinati il trattamento di scelta.

La somministrazione ciclica di EP non è però sempre risolutiva della sintomatologia dolorosa.

sa, tanto che studi recenti hanno dimostrato che, in tali casi, la somministrazione continua (per 28 giorni anziché 21) sia maggiormente efficace [21-22].

Tale modalità di trattamento a lungo termine, considerando la scarsa percentuale di effetti collaterali specialmente se confrontata con terapie largamente utilizzate negli anni '80 e '90 (Danazolo e GnRH analoghi), risulta essere l'opzione ideale in donne non desiderose di prole [23].

Infatti ci sono diversi studi in letteratura che confrontando EP ed analoghi del GnRH dimostrano una efficacia sovrapponibile nella riduzione della sintomatologia dolorosa (Tab. I) [24-27].

Vercellini 1993

Confrontando il trattamento con E/P a quello con GnRH-analoghi si ottiene una paragonabile risoluzione della sintomatologia algica: dispareunia ($p < 0.01$) ed algie pelviche non mestruali ($p < 0.01$)

Parazzini 2000

Confrontando il trattamento con E/P a quello con GnRH-analoghi + E/P si ottiene una paragonabile risoluzione della sintomatologia algica: dismenorrea ed algie pelviche non mestruali (differenze non statisticamente significative)

Davis 2007

Confrontando il trattamento per E/P versus GnRH-analoghi si ottiene una paragonabile risoluzione della sintomatologia algica: dismenorrea (OR 0.48; 95% CI 0.08 to 2.90) e dispareunia (OR 4.87; 95% CI 0.96 to 24.65)

Tab I: E/P vs GnRHa nel trattamento dell'endometriosi

L'utilizzo di **progestinici** (Tab II), mimando l'azione del progesterone, offre numerosi vantaggi nel trattamento a lungo termine dell'endometriosi, consentendo un buon controllo del sanguinamento uterino e la riduzione della dismenorrea e del dolore pelvico cronico [28-35].

Il Progesterone previene l'impianto e la crescita dell'endometrio rigurgitato (fenomeno della "mestruazione retrograda") attraverso la pro-

duzione di fattori locali che inibiscono l'azione delle MMP (Metalloproteinasi di Matrice) e l'angiogenesi, coinvolti nella patogenesi dell'endometriosi. Esso, inoltre, esercita un importante effetto anti-infiammatorio. L'efficacia nella riduzione della sintomatologia algica è proporzionale alla durata del trattamento, che a sua volta è inficiato dagli effetti collaterali (acne, spotting, oligo-amenorrea, incremento ponderale, vampate, cefalea, riduzione della libido, aumento dell'appetito) [36]. Uno studio randomizzato di Vercellini *et al.* ha paragonato gli effetti della somministrazione continuativa per 6 mesi di Ciproterone acetato (12.5 mg/die) con quelli di EP combinati (Desogestrel 0.15 mg ed Etinilestradiolo 0.02 mg). Dismenorrea, dispareunia ed algie pelviche intermestruali sono considerabilmente migliorate, così come il profilo psicologico e la soddisfazione sessuale delle pazienti, senza differenze significative tra i due gruppi [37].

Impianti progestinici subdermici e dispositivi intrauterini che rilasciano progestinico rappresentano interessanti opzioni per il trattamento a lungo termine, soprattutto post-chirurgico, di donne affette da endometriosi sintomatica.

Le altre vie di somministrazione disponibili in commercio sono quelle orale, intramuscolo ed intravaginale.

La scelta del solo progestinico è da preferirsi quando gli effetti soggettivi e metabolici degli estrogeni necessitano di essere contrastati o in donne che, per motivazioni culturali o religiose, rifiutano l'uso del contraccettivo. Tuttavia va segnalato che un recente studio di Rodgers *et al.* riporta un'elevata percentuale di recidiva della patologia in donne che hanno assunto soli progestinici [38].

DANAZOLO E GESTRINONE

Il **Danazolo**, un 17-etinil-testosterone, è stato il primo composto utilizzato nel trattamento dell'endometriosi.

Agisce inibendo la steroidogenesi ovarica ed il legame del progesterone alle *sex hormone binding globulin* (SHBG), con conseguente incremento della concentrazione sierica di testosterone libero.

Inoltre, attraverso il legame con i recettori progestinici, con una affinità pari al 3% di quella del progesterone stesso, esercita effetti diretti a livello del tessuto endometriale [39-40].

Questa categoria di farmaci risulta efficace nel ridurre dismenorrea, algie pelviche e dispareunia ma la sintomatologia viene riferita nuovamente dalla paziente, in più di 50% dei casi, dopo 6 mesi dalla sospensione del trattamento [41-42].

Le proprietà anaboliche ed androgeniche del Danazolo sono, inoltre, associate a numerosi effetti collaterali: aumento ponderale, mialgie, acne, diminuzione di HDL ed aumento di LDL, sintomi gastro-intestinali, crampi muscolari, malessere, depressione.

A differenza, però, degli GnRH-analoghi non provocano riduzione della *bone mineral density* (BMD) [43-45].

Il **Gestrinone**, un 19-norsteroido trienico sintetico, agisce inibendo l'ipofisi e, di conseguenza, il rilascio gonadotropinico.

La soppressione ovarica che ne deriva determina atrofia sia a livello endometriale sia a livello dei tessuti endometriali ectopici.

Inoltre possiede proprietà anti-progestiniche, anti-estrogeniche ed androgeniche.

Esso riduce le lesioni endometrioidiche, risultando efficace sulla risoluzione della sintomatologia algica.

Numerosi studi dimostrano l'indiscussa efficacia nel ridurre il dolore associato all'endometriosi, ma l'elevata percentuale di effetti androgenici ed anabolici e la disponibilità di nuovi trattamenti maggiormente tollerabili, ne limitano l'impiego [46-48].

ANALOGHI DEL GnRH: AGONISTI ED ANTAGONISTI

Il *Growth Hormone- Releasing Hormone* (GnRH) è un decapeptide, prodotto dai neuroni siti nell'area preottica e nel nucleo arcuato dell'ipotalamo, secreto in modo pulsatile nella circolazione portale-ipofisaria.

Esso stimola la secrezione ipofisaria di luteotropina (LH) e di follicolotropina (FSH), tramite un meccanismo calcio-mediato.

Essendo l'endometriosi una patologia estrogeno-dipendente, l'introduzione di composti che inducessero uno stato di ipoestrogenismo, ha portato un'ampia applicazione clinica: agonisti ed antagonisti del GnRH.

Gli **agonisti del GnRH** provocano desensibilizzazione dei recettori ipofisari del GnRH inducendo un'iniziale stimolazione dell'asse ipofisi-ovaio, seguito dalla soppressione della

secrezione gonadotropinica e dall'inibizione della steroidogenesi ovarica, con conseguente anovulazione ed amenorrea.

Questi farmaci risultano efficaci nel ridurre il dolore [49], ma la presenza di effetti collaterali non trascurabili (sintomatologia vasomotoria, insonnia, cefalea, riduzione della densità minerale ossea, labilità emotiva, etc.) [64-67-68] e l'elevata percentuale di recidiva della patologia alla sospensione del trattamento (nella metà dei casi a 5 anni dal trattamento) hanno reso l'utilizzo degli agonisti del GnRH una terapia di seconda scelta [50-52].

L'impiego di **antagonisti del GnRH** nel trattamento dell'endometriosi è di recente introduzione.

Tale farmaco, attraverso un'azione dose-dipendente, riduce i livelli estrogenici in modo da inibire la sintomatologia algica ma senza tuttavia scatenare i fastidiosi effetti collaterali conseguenti alla deprivazione estrogenica.

Inoltre, a differenza degli agonisti del GnRH, questi farmaci non determinano l'iniziale stimolo dell'asse ipofisi-ovaio ed il conseguente picco gonadotropinico [53-55].

Il trattamento con GnRH-antagonisti (Cetrorelix 3 mg/settimana per 8 settimane) è stato ben descritto in uno studio non randomizzato su 15 pazienti: al termine del trattamento tutte le donne presentavano un efficace miglioramento dei sintomi, giustificato dalla regressione delle lesioni endometrioidiche [56].

L'assenza di studi randomizzati non consente, però, di trarre conclusioni certe.

NUOVI ORIZZONTI TERAPEUTICI

TERAPIE BASATE SULL'INIBIZIONE DELL'AZIONE ESTROGENICA

Come precedentemente ricordato, l'endometriosi rappresenta una patologia che tende a regredire in condizione di ipoestrogenismo.

Vi è evidenza che le terapie ipoestrogeniche non conducano ad una permanente risoluzione della patologia, ma solo ad un temporaneo miglioramento, in quanto i focolai endometrioidici vanno in ipotrofia e quiescenza, ma sono pronti a ridivenire funzionali con la ripresa dell'attività ovulatoria. Tale considerazione va ad aggiungersi alla necessità di un trattamento a lungo termine, con i conseguenti effetti collaterali che ne derivano.

Per questi motivi, e per l'ovvia esigenza di agire localmente sulle lesioni piuttosto che bloccare l'asse ovarico, sono state proposte due nuove categorie di farmaci che inducono un'inibizione estrogenica:

1. Gli inibitori dell'aromatasi
2. Gli inibitori selettivi del recettore estrogenico (SERM)

Gli inibitori dell'aromatasi

L'aromatasi è un enzima del citocromo P450 che catalizza una tappa specifica della biosintesi estrogenica: la conversione degli androgeni (soprattutto androstenedione) in estrogeni [57-58].

Si ritiene che lo sviluppo e la crescita di impianti ectopici endometriosisici sia favorita e potenziata dalla presenza locale di questo enzima [59].

L'espressione dell'aromatasi avviene in numerosi tessuti umani e cellule, come le cellule ovariche della granulosa, il sinciziotrofoblasto placentare, il tessuto adiposo, i fibroblasti cutanei ed il tessuto cerebrale.

Livelli estremamente elevati di mRNA aromatasi sono stati trovati anche in impianti endometriosisici extraovarici e in endometriomi: sembrerebbe, infatti, che il tessuto patologico endometriale ectopico stesso sia in grado di produrre estrogeni [60-61].

Lo stimolo maggiore di sintesi dell'aromatasi a livello delle cellule ectopiche endometriali è costituito dalla PGE2; a loro volta gli estrogeni aumentano la produzione di PGE2 favorendo l'espressione di COX2, enzima chiave nella conversione dell'acido arachidonico in PGE2, che risulta "up-regolato" nelle cellule stromali del tessuto endometriale e nell'endometrio di donne con endometriosi [62].

Da qui deriva un circolo vizioso che aumenta sempre più in sede locale la produzione estrogenica.

Inoltre, l'escrezione sistemica di estradiolo, non solo da parte dell'ovaio, del tessuto adiposo e della cute, ma anche localmente dal tessuto endometriosisico, può rappresentare un fattore importante nella formazione di focolai endometriosisici. Queste scoperte sono le basi molecolari che sostengono gli inibitori dell'aromatasi come candidati al trattamento dell'endometriosi.

Questi farmaci riducono i livelli circolanti di estrogeni senza però influenzare la produzione degli altri ormoni steroidei [63].

Sono disponibili due categorie di farmaci: inibitori steroidei irreversibili della sintesi estrogenica ed inibitori non steroidei reversibili.

L'evidenza che donne con funzionalità ovarica conservata possano risultare resistenti all'azione di questi farmaci ha limitato l'utilizzo di tale trattamento alle donne in postmenopausa affette da endometriosi sintomatica [64].

Takayama et al. hanno somministrato **Anastrozolo** (1mg/die per 9 mesi) ad una donna sottoposta ad isteroannessiectomia bilaterale ed affetta da un'importante localizzazione endometriosisica vaginale sintomatica, con conseguente completa guarigione al termine del trattamento [65].

Un altro studio interessante è stato condotto da Ailawadi *et al.* che hanno trattato per 6 mesi 10 donne in età feconda con localizzazione endometriosisiche di varie entità con 2.5 mg/die di **Letrozolo** e 2.5 mg di **Noretidrone acetato**, per limitare gli effetti secondari.

La verifica laparoscopica, effettuata a 30-60 giorni dal termine del trattamento, ha dimostrato istologicamente l'assenza di endometriosi in tutte le pazienti.

Confrontando lo *score* relativo al dolore pelvico durante il trattamento e dopo 6 mesi di trattamento, a quello pre-trattamento, si è ottenuta una riduzione statisticamente significativa dello stesso ($p=0.005$ e $p=0.001$, rispettivamente).

Non è stata, inoltre, rilevata alcuna modificazione significativa ($p=0.04$) della densità minerale ossea (BMD).

Durante il trattamento le pazienti hanno riferito la comparsa di vampate, *spotting*, modificazioni dell'umore e cefalea.

Rimane quindi la possibilità di trattare comunque donne in età feconda, senza provocare importanti effetti collaterali [66].

Alcuni *case report* hanno evidenziato risultati promettenti circa l'utilizzo di inibitori dell'aromatasi nel trattamento dell'endometriosi, ma vi è solamente uno studio clinico randomizzato che ha valutato l'efficacia della combinazione di inibitori dell'aromatasi associati ad analoghi del GnRH (**Anastrozolo** e **Goserelin**) o analoghi del GnRH da soli (**Goserelin**) nel trattamento post-chirurgico, della durata di 6 mesi, di 80 donne con severa endometriosi.

Al termine di un follow-up, della durata di 24 mesi, si è rilevato un tempo medio libero da recidiva maggiore nel trattamento con analoghi associati ad inibitori dell'aromatasi, rispetto agli analoghi da soli (> 24 mesi *versus* 17 mesi; $p=0.0089$; RR: 4.3%).

Il 7.5% delle pazienti trattate con entrambi i farmaci, rispetto al 35% di quelle trattate unicamente con *Goserelin*, hanno presentato una recidiva durante i 2 anni di osservazione.

Al termine del trattamento il 54.7% *versus* il 10.4%, rispettivamente, non hanno avuto recidive.

I valori medi delle differenze ottenute sottraendo allo score sintomatologico basale quello ottenuto dopo 24 mesi di follow-up, per ciascuno dei sintomi valutati (dismenorrea, dispareunia e dolore pelvico), hanno evidenziato una modificazione statisticamente significativa in favore del trattamento combinato (9.2 ± 2.1 *versus* 6.7 ± 2.8 ; paired t-test; $P < 0.0001$; 95% CI 1.5 ± 4.0) [67].

Come osservazione marginale va specificato che il trattamento con gli inibitori dell'aromatasi non risulta meno costoso rispetto all'analogo; se comunque ci soffermiamo sui risultati ottenuti dobbiamo concludere che l'utilizzo dell'inibitore dell'aromatasi sembra indicare un vantaggio rispetto all'impiego degli analoghi nel trattamento della sintomatologia dolorosa legata alla patologia endometriosa.

Rispetto alle terapie endocrine utilizzate in passato, i vantaggi degli inibitori dell'aromatasi, che includono un ormai noto meccanismo d'azione, un buon profilo tossicologico, uno schema di somministrazione conveniente e la mancanza di effetto estrogenico sull'endometrio, hanno stimolato l'utilizzo di questi farmaci soprattutto nelle pazienti in post-menopausa o in donne in pre-menopausa la cui funzionalità ovarica è stata resa non funzionale da altri trattamenti [68].

Non sono però da sottovalutare i possibili effetti collaterali di un trattamento a lungo termine: cefalea, nausea, diarrea e vampate. *Letrozolo* ed *Anastrozolo* sono associati a calo ponderale, dispnea, eventi trombotici e sanguinamento vaginale. Gli effetti a lungo termine sul BMI e sul profilo lipidico sono ancora sconosciuti [69-70].

DISPOSITIVI INTRA-UTERINI MEDICATI

Già negli anni '90 Igarashi aveva studiato gli effetti locali dell'applicazione vaginale (pessario medicato al **Danazolo** 2-3.5g) ed intrauterina di Danazolo (175 mg) in 35 donne infertili, affette da endometriosi pelvica ed adenomiosi uterina. L'utilizzo di tali dispositivi ha portato rispettivamente alla riduzione della dismenorrea e delle lesioni endometriose nel primo caso, ed alla riduzione del volume uterino ed all'insorgenza di gravidanza nel 66.6% delle donne sottoposte a terapia con IUD.

Il Danazolo non inibisce l'ovulazione, ma provoca atrofia delle lesioni endometriose, facilitando, in tal modo, lo stato gravidico [71].

Nel 2004 lo stesso Igarashi, in collaborazione con Cobellis *et al*, sottolinea ancora l'efficace utilizzo di IUD contenente Danazolo (300-400 mg) in 18 donne con diagnosi istologica di endometriosi, accompagnata a dolore pelvico cronico.

Già dopo il primo mese di trattamento si ottiene un importante miglioramento di dismenorrea, dispareunia e dolore pelvico ($p < 0.01$), con un effetto persistente positivo nei sei mesi di utilizzo della spirale medicata [72].

L'utilizzo di **dispositivi intra-uterini a base di progestinico** (Levonorgestrel, Norgestrol), il quale presenta un'attività androgenica ed anti-estrogenica a livello endometriale [73], è invece considerato un approccio terapeutico di ultima generazione, il quale garantisce un'efficace risoluzione della dismenorrea, così come del dolore associato all'endometriosi retto-vaginale [74-75].

La somministrazione locale di progestinico svolge un'importante azione a livello dell'endometrio, che diviene atrofico ed inattivo, benché l'ovulazione generalmente non venga soppressa.

L'identificazione di una sicura ed efficace alternativa da utilizzare come trattamento a lungo termine e la possibilità di assicurare una determinata azione terapeutica in relazione dello specifico organo coinvolto, riducendo così l'impatto metabolico generale, rappresentano un argomento di grande interesse.

La distribuzione a livello dei tessuti pelvici, che garantisce una concentrazione locale maggiore del farmaco rispetto a quella plasmatica, conduce ad un livello elevato di efficacia e riduce gli effetti collaterali legati al metabolismo

di primo passaggio epatico, caratteristico dei farmaci assunti per via orale.

Le ridotte conseguenze metaboliche sono anche da imputarsi alla bassa dose di assunzione, che risulta minore rispetto agli altri metodi contraccettivi (un dispositivo intra-uterino rilascia 20 mcg/die di Levonorgestrel).

Sono comunque importanti da menzionare i casi di espulsione del dispositivo intrauterino e l'aumentato rischio di infezione pelvica.

L'utilizzo di spirali medicate è stato volto a pazienti con endometriosi pelvica, del setto retto-vaginale, in caso di recidiva e come trattamento post-operatorio [76].

Sono necessari studi randomizzati, al fine di poter sostenere un ruolo efficace di questi dispositivi nel trattamento dell'endometriosi.

TERAPIE SPERIMENTALI

Modulatori selettivi del recettore estrogenico (SERM)

L'utilizzo di farmaci che, interferendo direttamente col recettore estrogenico, determinino una diminuzione dei livelli locali e sistemici di estrogeni, rappresenta un'interessante opportunità terapeutica nel trattamento dell'endometriosi.

Essi competono con l'estrogeno per il legame alle proteine del corrispondente recettore.

Il **Raloxifene** è il più testato dei modulatori selettivi del recettore estrogenico, usato soprattutto come agente terapeutico dell'osteoporosi post-menopausale [77].

La mancata soppressione della produzione estrogenica, in epoca pre-menopausale, ne esclude una possibile applicazione in queste categorie di pazienti [78].

Il rationale del suo utilizzo in pazienti con endometriosi è correlato all'attività estrogeno-antagonista a livello endometriale ed estrogeno-agonista su ossa e lipoproteine plasmatiche [79].

Gli studi effettuati in ambito animale hanno evidenziato un'efficace riduzione delle lesioni endometriosiche dopo somministrazione di SERM [80-82].

In campo umano i dati disponibili sono ancora insufficienti.

TERAPIE BASATE SULLA MODIFICAZIONE DELL'AZIONE PROGESTINICA

Modulatori selettivi del recettore progestinico (SPRM)

E' stata ipotizzata l'esistenza di un'alterazione molecolare a livello recettoriale che possa essere coinvolta nella patogenesi dell'endometriosi.

Il recettore del progesterone è un recettore nucleare che, a seguito del legame con il corrispondente ligando, va incontro a dimerizzazione.

Gli omodimeri che ne derivano si legano a specifiche sequenze presenti sul DNA chiamate "progesterone response elements" (PRE) con conseguente trascrizione genica.

Sono stati così individuati modulatori selettivi del recettore del progesterone in grado di produrre effetti diversi:

- ligandi di tipo I: prevengono od attenuano il legame del progesterone con al PRE (antagonisti);
- ligandi di tipo II: promuovono il legame progesterone-PRE ma la loro capacità di alterare l'espressione genica è notevolmente variabile e può essere sito specifica;
- ligandi di tipo III: promuovono il legame progesterone-PRE ma in alcune circostanze tale trascrizione può non verificarsi.

I ligandi di tipo I e III agiscono come puri antagonisti, mentre i ligandi di tipo II possono agire come agonisti, agonisti parziali od antagonisti a seconda della dose, della presenza o assenza del progesterone e del sito di azione [83].

Il meccanismo con cui i SPRM possono esercitare un'azione antiproliferativa endometriale è complessa e non completamente indagata. Attualmente è evidente che possono esercitare:

- Blocco dell'azione del progesterone sulla crescita e sulla funzione delle arterie spiraliformi;
- Soppressione degli effetti proliferativi degli estrogeni;
- *Down-regulation* di fattori di crescita stromali;
- Induzione dell'espressione del recettore degli androgeni a livello endometriale;

- Riduzione della sintomatologia algica tramite diminuzione della produzione di prostaglandine, mediata dall'azione del progesterone [84-86] (Fig.I).

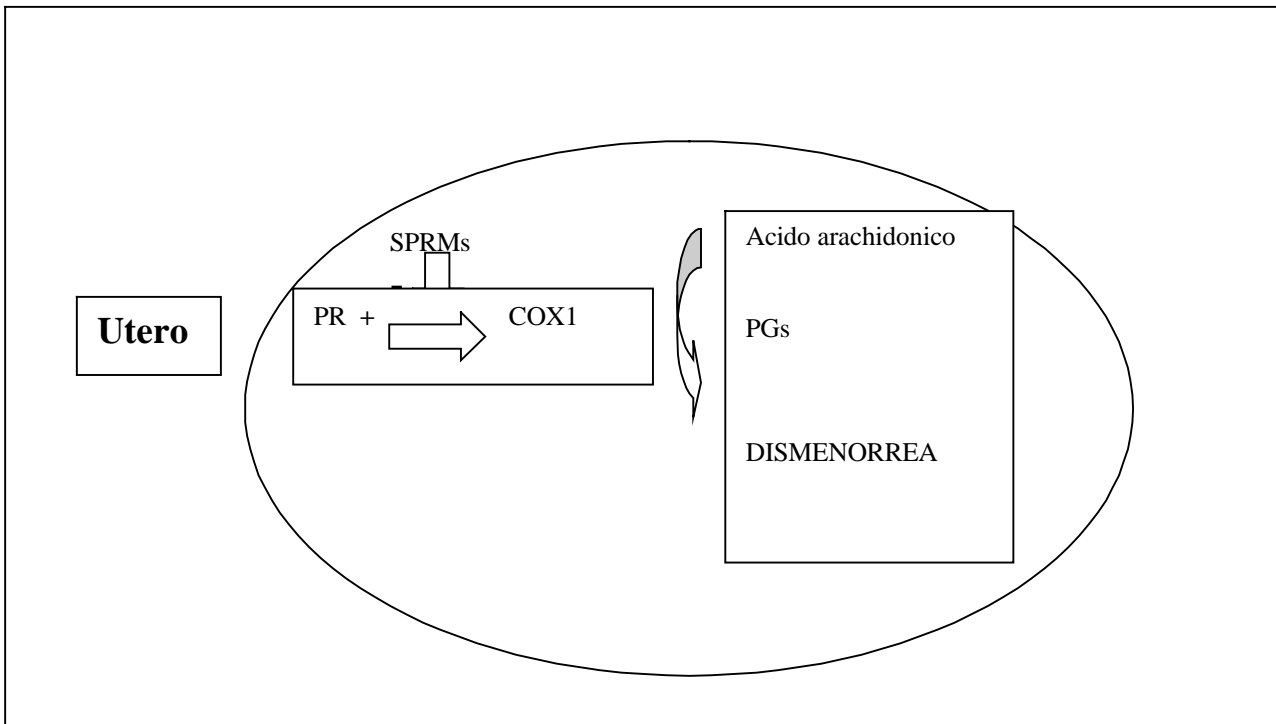


Fig. I: Potenziale effetto dei SPRM sulla sintomatologia algica.

L'utilizzo *in vivo* nell'ambito animale ha infatti dimostrato l'esistenza di attività diverse nei confronti del progesterone [87].

Sono stati eseguiti alcuni *trials*, su piccoli campioni, con modulatori non selettivi del recettore del progesterone (Mifepristone) che hanno dimostrato una riduzione delle lesioni endometriosiche e della sintomatologia dolorosa, alla dose di 50 mg/die. Alla luce di questi dati l'utilizzo di modulatori selettivi potrebbe condurre a risultati particolarmente brillanti nel trattamento dell'endometriosi [88].

AGENTI IMMUNO-MODULATORI ED ANTI-INFIAMMATORI

L'ipotesi di Sampson riguardo la mestruazione retrograda, vista come un fenomeno essenziale nello sviluppo dell'endometriosi, non spiega

perché il processo, che è fisiologico, non induce la patologia in tutte le donne.

A tal riguardo, si sostiene che il sistema immunitario espliciti un ruolo critico nello sviluppo di una risposta immunologica locale contro i frammenti endometriali refluiti in cavità peritoneale [89].

Sia le evidenze *in vivo* sia quelle *in vitro* ipotizzano che nell'endometriosi possa esistere una qualche caratteristica cellulare che permetta ai foci ectopici di tessuto endometriale di evadere l'immunosorveglianza (Tab.II).

Tab. II: Meccanismi delle cellule endometriali per evadere l'immunosorveglianza peritoneale

- Modificazione dell'espressione degli antigeni HLA classe I importanti per il riconoscimento immunologico
- Produzione di antigeni circolanti capaci di competere con gli antigeni di superficie critici per il riconoscimento immunologico (sICAM, sHLA)
- Secrezione diretta od indiretta di fattori inibitori e citochine (TGF- β , shift vs – Th2, PGE2)
- Induzione di apoptosi nelle cellule immuni attraverso meccanismi Fas-mediati

D'altra parte, l'endometriosi dovrebbe essere considerata una malattia infiammatoria, in quanto evidenze considerevoli hanno sottolineato importanti modificazioni locali come un significativo aumento delle citochine nel liquido peritoneale e dei fattori di crescita, alterazioni dell'attività delle cellule B linfocitarie, un aumentata risposta anticorpale nonché un aumento del numero, della concentrazione e dell'attività dei macrofagi peritoneali [90-93].

Alla base di questi concetti, viene sostenuto l'uso di due diversi tipi di immunomodulatori nel trattamento dell'endometriosi: agenti in grado di stimolare la risposta immunitaria cellulo-mediata ed agenti in grado di ridurre la risposta infiammatoria.

Agenti immuno-modulatori

Il rationale dell'utilizzo di agenti in grado di stimolare la risposta immunitaria si basa sulla possibilità di sfruttare l'attività citolitica cellulo-mediata.

Questa azione si ottiene tramite l'utilizzo di farmaci antinfiammatori ed anti-citochine [94]. Le molecole dotate di proprietà immunostimolanti che sono state indagate nel campo dell'endometriosi sono: **Interleuchina-2 (IL-2)**, **Interferone (IFN)**, e due immuno-modulatori sintetici (l'analogo della guanosina, **Loxorobina**, e l'agonista del recettore nicotinico colinergico, **Levamisolo**).

Questi elementi sono stimolatori pleiotropici caratteristici di componenti del sistema immunitario.

IL-2 è una citochina eterodimerica che agisce sulle cellule T e sugli NK inducendo una produzione di citochina INF- γ che a sua volta incrementa l'attività citotossica degli NK.

Il ruolo della componente immunologica nel limitare la crescita endometriosica risulta oggetto di numerose pregresse osservazioni.

Nel 1999 è stato messo a punto un modello murino che consentiva di indurre la comparsa di endometriosi in topi immuno-competenti.

In questo modello, l'endometriosi è stata indotta attraverso l'inoculazione di frammenti sigenici endometriali, attraverso una piccola incisione laparotomia, nello spazio peritoneale. Per valutare la capacità dell'**Interleuchina-12 (IL-12)** di prevenire lo sviluppo delle lesioni endometriosiche, i topi sono stati trattati con e senza forme ricombinanti di citochine sotto forma di iniezioni giornaliere intraperitoneali di 0,15 μ g per 5 giorni a partire da 2 giorni prima fino a 2 giorni dopo l'inoculazione di endometrio. L'esperimento è stato eseguito su 2 differenti specie di topi, C57BL/6 e BALB/c. A un esame del peritoneo compiuto 3 settimane più tardi, è risultato che il peso totale e la superficie globale delle lesioni erano significativamente più bassi nei topi trattati con IL-12 rispetto ai controlli non trattati (rispettivamente di 77% e 61% nei topi C57BL/6 e di 42% e 28% nei topi BALB/c) (Fig.II).

Premesso che in campo umano IL-2 è già stata utilizzata in campo oncologico per contrastare la crescita dei melanomi e del tumore renale, può essere utile partire dai risultati riportati nell'ambito animale per studiare un modello terapeutico in grado di potenziare l'attività immunologica nei soggetti affetti da endometriosi [95].

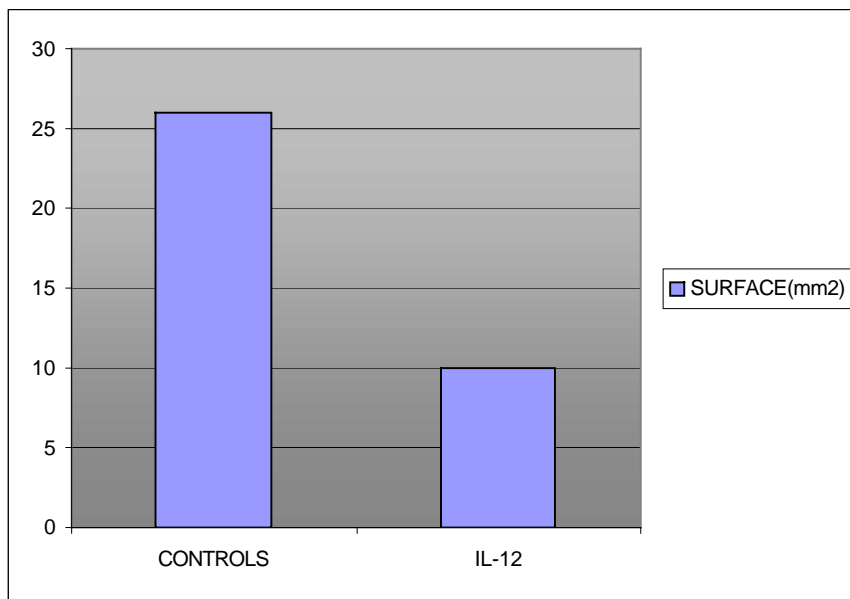
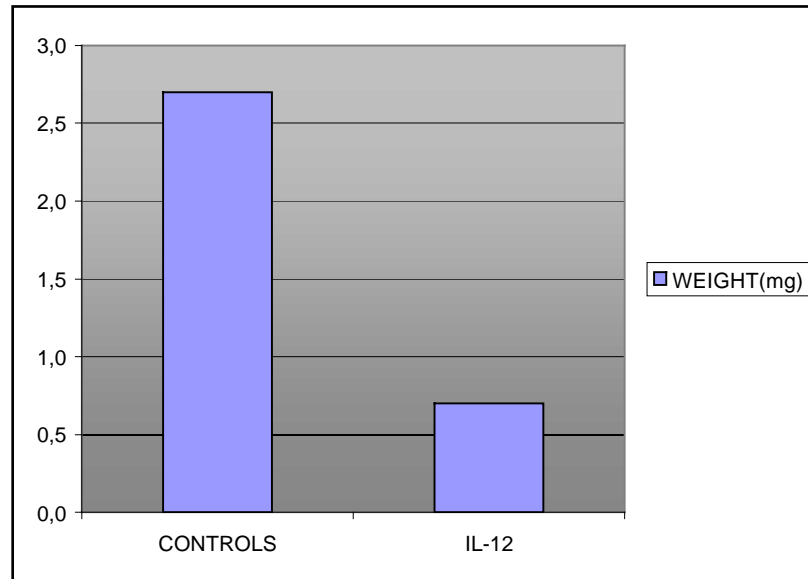


Fig.II: il peso totale delle lesioni e l'area totale risultano significativamente ridotte negli animali trattati con IL-12 vs controlli ($p < 0.005$ e $p < 0.001$ rispettivamente).

Al fine di valutare l'efficacia di una somministrazione intracavità di IL-12 in pazienti affette da endometrioma, Acién *et al.* ha effettuato due studi randomizzati che hanno evidenziato risultati poco confortanti sia in termini di risoluzione del dolore, che di riduzione delle lesioni endometriosiche [96-97].

Ingelmo *et al.* hanno disegnato uno studio per verificare l'ipotesi che l'immunomodulazione con ricombinanti umani di IFN- α -2b svolga un effetto benefico sulla crescita dei foci endometriali trapiantati nella cavità peritoneale dei ratti. Il risultato è stato che queste citochine, usate in brevi regimi di somministrazione, riducono

significativamente gli impianti endometriali con un effetto a lungo termine [98].

Anche Keenan *et al.*, usando un modello simile di endometriosi, hanno dimostrato che la Loxoribina, ma non il Levamisolo, ha determinato la regressione sia della componente stromale sia di quella epiteliale negli impianti endometriali [99].

Purtroppo, i dati disponibili sulla specie umana sono ancora pochi.

Ali *et al.* hanno eseguito un'iniezione laparoscopica intraperitoneale di IFN-a-2b per il trattamento di 25 donne affette da endometriosi pelvica allo stadio II-III.

Al *second-look* laparoscopico effettuato 3 mesi più tardi, è stata rilevata una riduzione statisticamente significativa di tutti i sintomi e segni, inclusi i livelli di CA-125.

Le pazienti allo stadio II sono regredite allo stadio I, così come quelle allo stadio III e IV allo stadio II e III, rispettivamente. Si è raggiunta una guarigione completa della patologia in 2 dei 5 casi allo stadio II e in 2 dei 10 casi allo stadio III [100].

Acien *et al.*, attraverso uno studio randomizzato, hanno valutato l'efficacia dell'utilizzo di IFN-a in donne, affette da endometriosi, sottoposte ad intervento laparotomico conservativo.

Alle pazienti è stato somministrato IFN-a o soluzione salina, a livello intraperitoneale.

La percentuale di recidiva è stata molto elevata in entrambi i gruppi, rispettivamente del 42% nel gruppo dei casi e del 15% nel gruppo controllo [101].

I risultati contrastanti che si sono ottenuti suggeriscono la necessità di comprendere più a fondo la complessità dei meccanismi immunologici coinvolti nella patologia endometriosica.

Agenti in grado di ridurre la risposta infiammatoria

La prima molecola antinfiammatoria in grado di ridurre la produzione e l'azione delle citochine, e quindi teoricamente in grado di determinare la regressione del tessuto ectopico endometriale senza indurre uno stato di ipoestrogenismo, è stata la **Pentossifillina**.

Diversi autori ne hanno sostenuto l'utilizzo, dimostrando una riduzione delle lesioni endometriosiche, sia in modelli animali che umani [102-104].

Vista l'importanza che i processi infiammatori hanno nel mantenere e favorire lo sviluppo

dell'endometriosi, è stato proposto di utilizzare composti più specifici in grado di bloccare tale processo: preparati anti-TNF ed inibitori della COX [105].

Il **Fattore di Necrosi Tumorale (TNF)-a** è una citochina di fase acuta coinvolta in numerosissimi processi come la morte apoptotica delle cellule, la proliferazione, il differenziamento, la cancerogenesi e la replicazione virale.

Il TNF è prodotto in massima parte dai macrofagi, ma anche da una serie di altri tipi cellulari inclusi cellule linfoidi, mastociti, cellule endoteliali, fibroblasti e cellule nervose.

La sua concentrazione risulta aumentata nel liquido peritoneale di donne affette da endometriosi.

L'attenzione è stata portata sul TNF-a in quanto questa sostanza può stimolare l'adesione delle cellule endometriali, la proliferazione del tessuto endometriale ectopico ed eutopico in donne con endometriosi, l'espressione delle metalloproteasi che favoriscono l'invasione, l'angiogenesi mediante la regolazione dell'espressione di IL-8 e svolgere un'azione citotossica sui gameti (con possibile ruolo nella fertilità) [106-107].

La terapia specifica risulta intesa ad inibire TNF-a andando ad agire sulla porzione extracellulare del suo recettore.

Attualmente questa terapia è utilizzata nel trattamento dell'artrite reumatoide mentre, per quanto concerne l'applicazione della cura dell'endometriosi, sono riportati interessanti risultati ottenuti in ambito animale.

D'Antonio *et al.* hanno trattato un modello animale di ratti, nei quali era stata provocata l'endometriosi, utilizzando *TNF-binding protein 1* (10 mg pro Kg per 7 giorni), ottenendo una riduzione delle localizzazioni endometriosiche del 33% e del 64% rispettivamente dopo 2 e 9 giorni dalla fine del trattamento [108].

Barrier *et al.* hanno riportato dati relativi a 12 babbuini nei quali era presente endometriosi insorta spontaneamente e trattati in parte con placebo, in parte con *Etanercept* sottocute. Nei babbuini trattati con *Etanercept* vi era una netta riduzione delle lesioni dopo 8 settimane dalla fine del trattamento [109].

D'Hoghe *et al.* hanno trattato 14 babbuini, nei quali l'endometriosi era stata indotta sperimentalmente, dividendoli in 3 gruppi:

- gruppo 1 trattato con placebo;
- gruppo 2 trattato con un antagonista del GnRH;

- gruppo 3 trattato con TNF-*binding protein*.
E' stata eseguita una laparoscopia di controllo dopo 25 giorni e si è potuto vedere, nei babbuini trattati con l'antagonista del GnRH e con la proteina ricombinante, una netta riduzione delle lesioni endometriosiche rispetto ai babbuini trattati con placebo [110].
L'efficacia del trattamento nel ridurre le lesioni endometriosiche in babbuini, è stata supportata anche da Falconer *et al.* [111].
Non vi sono, però, studi clinici che riportino l'efficacia di agenti anti-TNF nell'endometriosi umana, ma i risultati ottenuti in ambito animale ipotizzano un loro utilizzo anche in tale campo. Non vanno però trascurati gli effetti collaterali provocati da una terapia a lungo termine effettuata con tali farmaci, i quali risultano noti data l'applicazione in altri ambiti clinici (aumento di infezioni, linfomi) [112-113].
Evidenze cliniche supportano anche l'uso degli **inibitori della Ciclossigenasi** nel trattamento del dolore pelvico e della dismenorrea associati all'endometriosi, sebbene non sia stato dimostrato o documentato alcun beneficio da parte di questi farmaci in termini di tasso di gravidanze o riduzione della patologia.
La Ciclossigenasi è l'enzima chiave coinvolto nella formazione di prostaglandine a partire dall'acido arachidonico.
Gli inibitori di questo enzima appartengono al gruppo dei farmaci anti-infiammatori non steroidei che, grazie alle loro proprietà analgesiche, la loro accessibilità e gli scarsi effetti collaterali, vengono utilizzati per il trattamento del dolore pelvico cronico e della dismenorrea.
Il blocco esercitato a livello enzimatico, e la conseguente inibizione del rilascio di prostaglandine, riduce il dolore associato all'endometriosi.
Studi effettuati su animali sostengono l'efficace utilizzo di questi farmaci [114-118].
Gli studi effettuati in ambito umano sono ancora insufficienti per trarre conclusioni circa l'utilizzo di questi farmaci nella pratica clinica.
Cobellis *et al.* sostengono un ruolo positivo degli inibitori della COX2 nel ridurre il dolore pelvico in 28 donne sottoposte ad intervento chirurgico per endometriosi, ma il campione limitato non permette di trarre conclusioni certe [119].

Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPAR)- agonisti

I PPAR rappresentano un gruppo di recettori proteici nucleari che fungono da fattori di trascrizione, regolando espressione di determinati geni coinvolti in differenti funzioni quali la differenziazione cellulare, lo sviluppo ed il metabolismo di carboidrati, lipidi e proteine [120].
Nell'ambito dell'endometriosi i farmaci agonisti giocano un ruolo importante in quanto svolgono una funzione anti-infiammatoria, inducono apoptosi, esercitano effetti antiangiogenici ed inibiscono la crescita cellulare [121-122].
Studi condotti in ambito animale, su ratti e babbuini, hanno messo in luce il ruolo di questi composti nel ridurre le lesioni endometriosiche [123-124].
Sebbene i dati ottenuti siano promettenti, le informazioni circa una possibile applicazione in campo umano sono ancora insufficienti.

TERAPIE ANTIANGIOGENICHE

La presenza, in pazienti affette da endometriosi, di un'elevata concentrazione di fattori angiogenici nel fluido peritoneale e negli impianti endometriosici stessi, ha supportato l'ipotesi che l'angiogenesi giochi un ruolo importante nello sviluppo della malattia.
Sembra infatti che la neovascolarizzazione sia una componente importante del processo che conduce all'invasione di cellule endometriali in sede ectopica [125].
Un rilievo particolare assume il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), una glicoproteina in grado di stimolare la proliferazione delle cellule endoteliali *in vitro* e l'angiogenesi *in vivo*.
Esso viene prodotto da vari tipi cellulari, compresi i macrofagi, e nell'uomo la sua produzione è regolata dagli estrogeni.
Nell'endometriosi il VEGF provoca la crescita degli impianti secondo lo schema riportato nella fig.III.
Donnez, nel 1998, dimostrò un livello più elevato di VEGF negli impianti endometriosici rossi e nell'endometrio eutopico di pazienti con endometriosi rispetto all'endometrio di pazienti sane e che questo livello era correlato in modo direttamente proporzionale alla gravità dell'endometriosi [126].
Healy, nel 1998, riscontrò, invece, un aumento dell'espressione del gene di codifica del VEGF

nell'endometrio di pazienti endometriosiche [127].

Sembra, inoltre, che le stesse lesioni endometriosiche siano in grado di produrre fattori stimolanti l'angiogenesi, in particolare VEGF [128-130].

Da quanto detto deriva l'ipotesi di un possibile utilizzo di farmaci anti-angiogenici nel trattamento della patologia endometriosica.

Si sono ottenuti risultati confortanti in ambito animale ma occorre attendere dati relativi al campo umano per trarre conclusioni certe [131-132].

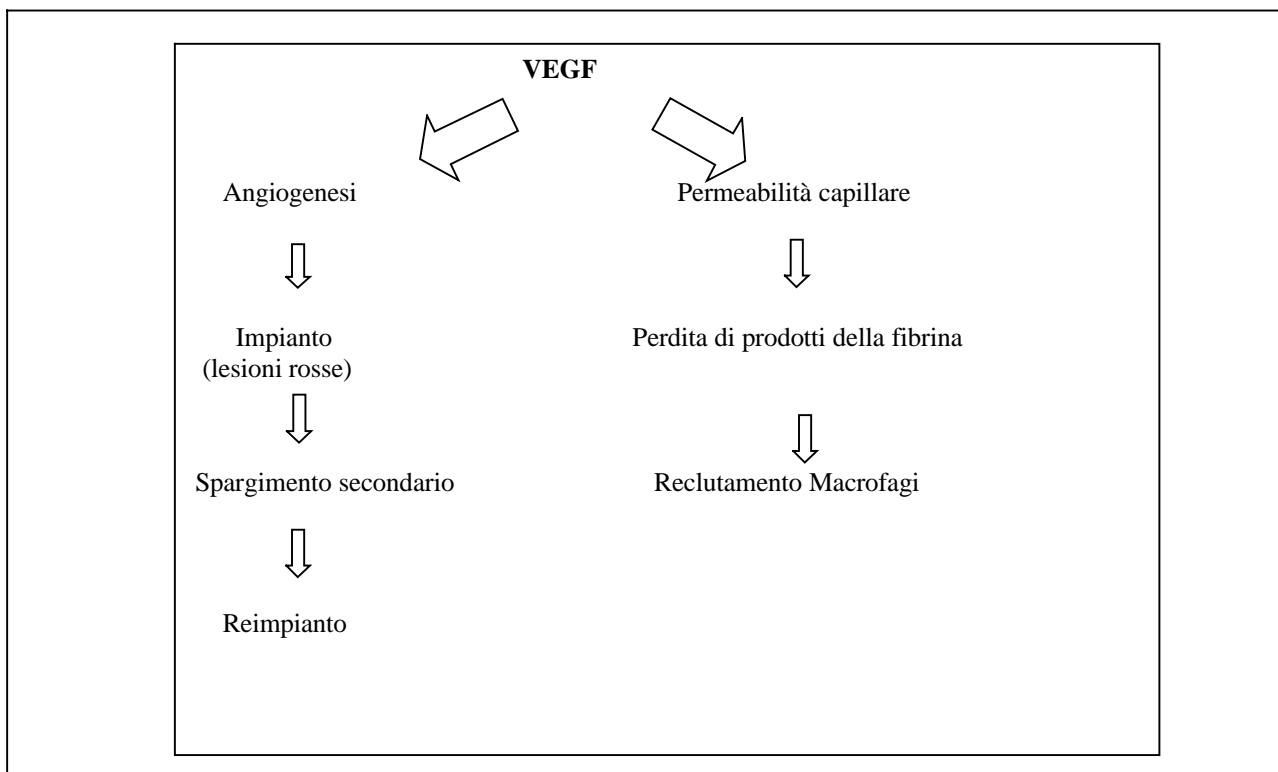


Fig.III: VEGF e endometriosi.

TERAPIA GENICA

L'evidenza che trattamenti medici a lungo termine comportino importanti effetti da ipoestrogenismo, l'inefficacia degli stessi nella cura dell'endometriosi associata ad infertilità e l'ampia percentuale di recidiva alla sospensione della terapia, hanno portato l'attenzione su

nuove modalità di trattamento che, piuttosto che inibire la produzione ovarica di estrogeni, agissero a livello molecolare [133].

La terapia genica sta trovando importante sviluppo sia nel campo della patologia maligna, sia in quella benigna [134].

Il procedimento si basa sull'introduzione di materiale genetico nella cellula con conseguente stimolazione e produzione di fattori proteici specifici.

Dabrosin *et al.*, hanno ottenuto una riduzione di lesioni endometriosiche attraverso l'introduzione, nel cavo peritoneale di ratti, del gene dell'angiostatina veicolato da un adenovirus.

Di conseguenza si è verificata una inibizione dell'angiogenesi correlata alla patologia endometriosica [135].

Recentemente Othman *et al.* hanno utilizzato un adenovirus per trasferire *in vitro* il gene del recettore estrogenico in cellule endometriosiche umane.

Questo ha portato ad un arresto della proliferazione cellulare, all'inibizione della produzione di citochine ed all'induzione di apoptosi in queste cellule, come risultato di una deprivazione estrogenica [136].

L'utilizzo di adenovirus ricombinanti come vettori si basa sulla accessibilità ed il possibile utilizzo del metodo in laboratorio, sulla bassa patogenicità umana e sul ridotto potenziale di mutazioni.

Ciononostante, il trofismo promiscuo rappresenta una limitazione in quanto il trasferimento di materiale genetico avviene sia in cellule in divisione che non [137].

Inoltre vi può essere un effetto tossico a livello di altri organi oltre a quello bersaglio [138].

Da qui ne deriva la necessità di ottenere vettori genici maggiormente tessuto-specifici, efficaci e sicuri.

TERAPIA FOTODINAMICA

La continua ricerca di nuove modalità di diagnosi e trattamento nel campo della patologia endometriosica ha messo in luce nuove prospettive d'intervento.

Wolun-Cholewa M. *et al.* hanno utilizzato la terapia fotodinamica utilizzando acido-5-aminolevulinico (ALA), il quale induce accumulo di protoporfirina IX.

Sono state isolate cellule epiteliali primarie da foci endometriosici, preincubate a varie concentrazioni di ALA ed esposte ad energia luminosa per 8 minuti.

L'illuminazione con laser ha indotto apoptosi cellulare 24 ore dopo l'esposizione.

Sebbene sia difficile immaginare una possibile applicazione in campo umano, la fototerapia offre interessanti spunti terapeutici anche nell'ambito della patologia endometriosica [139].

TRATTAMENTO CON MELATONINA

Güney M. *et al.* hanno effettuato uno studio interessante, su modello animale, nel quale hanno valutato l'effetto antiossidante, immunomodulatore ed anti-infiammatorio della melatonina in impianti endometriosici.

E' stata indotta l'endometriosi in 25 ratti tramite trapianto, nella superficie interna della parete addominale, di un frammento autologo di tessuto endometriale quattro settimane dopo ad 11 ratti è stato somministrato il trattamento a base di melatonina e la successiva valutazione morfologica laparotomica, la valutazione immunoistochimica ed istologica dell'espressione di COX2 e l'analisi dell'attività ossidativa tramite enzimi specifici (SOD, CAT), hanno evidenziato una efficace regressione ed atrofia delle lesioni endometriosiche [140].

Bibliografia

1. Houston DE, Noller KL, Melton LJ 3rd, Selwyn BJ. The epidemiology of pelvic endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:787–800.
2. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2002;955:11–22.
3. Sensky TE, Liu DT. Endometriosis: associations with menorrhagia, infertility and oral contraceptives. *Int J Gynaecol Obstet* 1980;17:573–6.
4. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:235–58.
5. Farquhar C. Endometriosis. *BMJ*. 2007 Feb 3;334(7587):249-53.
6. Sutton C, Pooley A, Ewen S. Follow-up report on a randomized controlled trial of laser laparoscopy in the treatment of pelvic pain associated with minimal to moderate endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68:1070.
7. Chapron C, Fauconnier A, Goffinet F, Bréart G, Dubuisson JB. Laparoscopic surgery is not inherently dangerous for patients presenting with benign gynaecologic pathology. Results of a meta-analysis. *Hum Reprod*. 2002 May;17(5):1334-42.
8. Garry R. The effectiveness of laparoscopic excision of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2004 Aug;16(4):299-303.
9. Donnez J, Pirard C, Smets M, Jadoul P, Squifflet J. Surgical management of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004 Apr;18(2):329-48.
10. Rodgers AK, Falcone T. Treatment strategies for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Feb;9(2):243-55.
11. Marcoux S, Maheux R, Be´rube´ S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Engl J Med* 1997;337: 217–22.
12. Sutton C, Ewen S, Whitelaw N. Prospective, randomized, double-blind controlled trial of laser laparoscopy in the treatment of pelvic pain associated with minimal, mild, and moderate endometriosis. *Fertil Steril* 1994;62:696–700.
13. Vercellini P, Fedele L, Pietropaolo G et al. Progestogens for endometriosis: forward to the past. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 387–396.
14. Vercellini P, Cortesi I, Crosignani PG. Progestins for symptomatic endometriosis: a critical analysis of the evidence. *Fertil Steril* 1997;68:393.
15. Vercellini P, De Giorgi O, Pesole A, et al. *Prevention of recurrences by postoperative medical treatment*. Parthenon, Quebec City, 1998.
16. Bianchi S, Busacca M, Agnoli B, et al. Effects of 3 month therapy with danazol after laparoscopy surgery for stage III/IV endometriosis: a randomized study. *Hum Reprod* 1999;14:1335.
17. Busacca M, Somigliana E, Bianchi S, et al. (2001). Post-operative GnRH analogue treatment after conservative surgery for symptomatic endometriosis stage III-IV: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2001;16:2399.
18. Vercellini P, Somigliana E, Viganò P, Abbiati A, Daguati R, Crosignani PG. Endometriosis: current and future medical therapies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2008 Apr;22(2):275-306. Epub 2007 Nov 26.
19. Vercellini P, Somigliana E, Viganò P, Abbiati A, Daguati R, Crosignani PG. Endometriosis: current and future medical therapies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2008 Apr;22(2):275-306. Epub 2007 Nov 26
20. Winkel CA, Scialli AR. Medical and surgical therapies for pain associated with endometriosis. *J Womens Health Gend Based Med*. 2001 Mar;10(2):137-62
21. Sulak P, Thomas J, Ortiz M et al. Acceptance of altering the standard 21-day/7-day oral contraceptive regimen to delay menses and reduce hormone withdrawal symptoms. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 1142–1149.
22. Coffee AL, Sulak PJ & Kuehl TJ. Long-term assessment of symptomatology and satisfaction of an extended oral contraceptive regimen. *Contraception* 2007; 75: 444–449.

23. Vercellini P, De Giorgi O, Pesole A, Zaina B, Pisacreta A, Crosignani PG. Prevention of recurrences by postoperative medical treatment. In: Lemay A, Maheux R, eds. Understanding and managing endometriosis. Advances in research and practice. Quebec City: Parthenon Publishing, 1998:261–8.
24. Vercellini P, Trespidi L, Colombo A et al. A gonadotropin-releasing hormone agonist versus a lowdose oral contraceptive for pelvic pain associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1993; 60: 75–79.
25. Parazzini F, Di Cintio E, Chatenoud L et al. Estroprogestin vs. gonadotropin agonists plus estroprogestin in the treatment of endometriosis-related pelvic pain: a randomized trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 88: 11–14.
26. Davis L, Kennedy SS, Moore J, Prentice A. Modern combined oral contraceptives for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Jul 18;(3):CD001019
27. Vercellini P, Cortesi I, Crosignani PG. Progestins for symptomatic endometriosis: a critical analysis of the evidence. *Fertil Steril* 1997;68:393.
28. Muneyyirci-Delale O & Karacan M. Effect of norethindrone acetate in the treatment of symptomatic endometriosis. *Int J Fertil Womens Med* 1998; 43: 24–27.
29. Moore C, Kohler G & Muller A. The treatment of endometriosis with dienogest. *Drugs Today* 1999; 35(Suppl C): 41–52.
30. Riis BJ, Lehmann HJ & Christiansen C. Norethisterone acetate in combination with estrogen: effects on the skeleton and other organs: a review. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1101–1106.
31. Moran C, Alcivia JC, Garcia-Hernandez E et al. Treatment of endometriosis with cyproterone acetate. Preliminary report. *Arch Med Res* 1996; 27: 535–538.
32. Clark MK, Sowers MR, Nichols S et al. Bone mineral density changes over two years in first-time users of depot medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 2004; 82: 1580–1586.
33. Shaarawy M, El-Mallah SY, Seoudi S et al. Effect of long-term use of depot medroxyprogesterone acetate as hormonal contraceptive on bone mineral density and biochemical markers of bone remodeling. *Contraception* 2006; 74: 297–302.
34. Crosignani PG, Luciano A, Ray A et al. Subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate versus leuprolide acetate in the treatment of endometriosis-associated pain. *Hum Reprod* 2006; 21: 248–256.
35. Schlaff WD, Carson SA, Luciano A et al. Subcutaneous injection of depot medroxyprogesterone acetate compared with leuprolide acetate in the treatment of endometriosis-associated pain. *Fertil Steril* 2006; 85: 314–325.
36. Vercellini P., Fedele L, Pietropaolo G, Frontino G, Somigliana E, Crosignani P. Progestogens for endometriosis: forward to the past. *Human Reproduction Update*, Vol.9, No.4 pp. 387±396, 2003.
37. Vercellini P, De Giorgi O, Mosconi P et al. Cyproterone acetate versus a continuous monophasic oral contraceptive in the treatment of recurrent pelvic pain after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 52–61.
38. Rodgers AK, Falcone T. Treatment strategies for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Feb;9(2):243-55
39. Greenblatt RB, Dmowski WP, Mahesh VB, Scholer HF: Clinical studies with an antigonadotropin - Danazol. *Fertil Steril* (1971) 22(2):102-112.
40. Telimaa S, Puolakka J, Ronnberg L, Kauppila A: Placebo-controlled comparison of danazol and high-dose medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Gynecol Endocrinol* (1987) 1(1):13-23.
41. Fedele L, Arcaini L, Bianchi S, Baglioni A, Vercellini P. Cyproterone acetate and danazol in the treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Obstet Gynecol* (1989) 73(6):1000- 1004.
42. Adamson GD, Kwei L, Edgren RA: Pain of endometriosis: Effects of nafarelin and danazol therapy. *Int J Fertil Menopausal Stud* (1994) 39(4):215-217.

43. Henzl MR, Corson SL, Moghissi K, Buttram VC, Berqvist C, Jacobson J: Administration of nasal nafarelin as compared with oral danazol for endometriosis. A multicenter double-blind comparative clinical trial. *N Engl J Med* (1988) 318(8):485-489.
44. Jelley RY, Magill PJ: The effect of LHRH agonist therapy in the treatment of endometriosis (English experience). *Prog Clin Biol Res* (1986) 225:227-238.
45. Dawood MY, Ramos J, Khan-Dawood FS: Depot leuprolide acetate versus danazol for treatment of pelvic endometriosis: Changes in vertebral bone mass and serum estradiol and calcitonin. *Fertil Steril* (1995) 63(6):1177-1183.
46. Fraser IS, Shearman RP, Jansen RP et al. A comparative treatment trial of endometriosis using the gonadotrophin-releasing hormone agonist, nafarelin, and the synthetic steroid, danazol. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1991; 31: 158–163.
47. Rotondi M, Labriola D, Rotondi M et al. Depot leuprorelin acetate versus danazol in the treatment of infertile women with symptomatic endometriosis. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002; 23: 523–526.
48. Selak V, Farquhar C, Prentice A et al. Danazol for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 4. CD000068.
49. Fedele L, Bianchi S, Viezzoli T et al. Gestrinone versus danazol in the treatment of endometriosis. *Fertil Steril* 1989; 51: 781–785.
50. Bergqvist A: A comparative study of the acceptability and effect of goserelin and nafarelin on endometriosis. *Gynecol Endocrinol* (2000) 14(6):425-432.
51. Batzer FR. GnRH analogs: options for endometriosis-associated pain treatment. *J Minim Invasive Gynecol* 2006; 13: 539–545.
52. Pickersgill A. GnRH agonists and add-back therapy: is there a perfect combination? *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105: 475–485.
53. Bedaiwy M & Casper R. Treatment with leuprolide acetate and hormonal add-back for up to 10 years in stage IV endometriosis patients with chronic pelvic pain. *Fertil Steril* 2006; 86: 220–222.
54. Hornstein MD, Surrey ES, Weisberg GW, Casino LA. Leuprolide acetate depot and hormonal add-back in endometriosis: a 12-month study. *Lupron Add-Back Study Group. Obstet Gynecol.* 1998 Jan;91(1):16-24.
55. Mihalyi A, Simsa P, Mutinda KC, Meuleman C, Mwenda JM, D'Hooghe TM. Emerging drugs in endometriosis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2006 Sep;11(3):503-24.
56. Huirne JA & Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* 2001; 358: 1793–1803.
57. K pker W, Felberbaum RE, Krapp M, Schill T, Malik E, Diedrich K: Use of GnRH antagonists in the treatment of endometriosis. *Reprod Biomed Online* (2002) 5(1):12-16.
58. Seli E, Berkkanoglu M & Arici A. Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003; 30: 41–61.
59. Buzdar A. Role of aromatase inhibitors in advanced breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:219–25.
60. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999;72:961-9.
61. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, et al. Aromatase expression in endometriosis: biology and clinical perspectives. *Parthenon, Quebec City, 1998.*
62. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril* 1999;72:961.
63. Attar E, Bulun SE. Aromatase inhibitors: the next generation of therapeutics for endometriosis? *Fertil Steril.* 2006 May;85(5):1307-18.
64. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, Sasano H. Molecular basis for treating endometriosis with aromatase inhibitors. *Hum Reprod Update* 2000;6:413.
65. Vignali M, Infantino M, Matrone R et al. Endometriosis: novel etiopathogenetic concepts and clinical perspectives. *Fertil Steril* 2002; 78: 665–678.
66. Takayama K, Zeitoun K, Gunby RT, et al. Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 1998; 69: 709-13.

67. Ailawadi RK, Jobanputra S, Kataria M, et al. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. *Fertil Steril* 2004; 81:290-6.
68. Soysal S, Soysal ME, Ozer S et al. The effects of post-surgical administration of goserelin plus anastrozole compared to goserelin alone in patients with severe endometriosis: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2004; 19: 160–167.
69. Santen R, Harvey H. Use of aromatase inhibitors in breast carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:75–92.
70. Buzdar A. Role of aromatase inhibitors in advanced breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:219–25.
71. Santen R, Harvey H. Use of aromatase inhibitors in breast carcinoma. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:75–92.
72. Igarashi M. A new therapy for pelvic endometriosis and uterine adenomyosis: local effect of vaginal and intrauterine danazol application. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol.* 1990 Mar;16(1):1-12.
73. Cobellis L, Razzi S, Fava A, Severi FM, Igarashi M, Petraglia F. A danazol-loaded intrauterine device decreases dysmenorrhea, pelvic pain, and dyspareunia associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 2004 Jul;82(1):239-40
74. Salmi A, Pakarinen P, Peltola AM et al. The effect of intrauterine levonorgestrel use on the expression of C-Jun, oestrogen receptors, progesterone receptors and Ki-67 in human endometrium. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 1110–1115.
75. Rodgers AK, Falcone T. Treatment strategies for endometriosis. *Expert Opin Pharmacother.* 2008 Feb;9(2):243-55
76. Fedele L, Berlanda N. Emerging drugs for endometriosis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2004 May;9(1):167-77
77. Vercellini P, Somigliana E, Viganò P, Abbiati A, Daguati R, Crosignani PG. Endometriosis: current and future medical therapies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2008 Apr;22(2):275-306. Epub 2007 Nov 26.
78. Buelke-Sam J, Bryant HU, Francis PC. The selective estrogen receptor modulator, raloxifene: an overview of nonclinical pharmacology and reproductive and developmental testing. *Reprod Toxicol* 1998;12:217– 21.
79. Viganò P, Mangioni S, Odorizzi MP, Chiodini A, Rocca S, Chiodo I: Use of estrogen antagonists and aromatase inhibitors in endometriosis. *Curr Opin Invest Drugs* (2003) 4(10):1209-1212.
80. Buelke-Sam J, Bryant HU, Francis PC. The selective estrogen receptor modulator, raloxifene: an overview of nonclinical pharmacology and reproductive and developmental testing. *Reproductive Toxicology* 1998;12:217.
81. Swisher DK, Tague RM, Seyler DE. Effect of the selective estrogen receptor modulator raloxifene on explanted uterine growth in rats. *Drug Development Research* 1995;36:43.
82. Yavuz E, Oktem M, Esinler I, Toru SA, Zeyneloglu HB. Genistein causes regression of endometriotic implants in the rat model. *Fertil Steril.* 2007 Oct;88(4 Suppl):1129-34.
83. Fanning P, Kuehl T, Lee R, Pearson S, Wincek T, Pliego J, et al. Video mapping to assess efficacy of an antiestrogen (raloxifene) on spontaneous endometriosis in the rhesus monkey, *Macaca mulatta*. In: Kuehl TJ, ed. Bunkley Day Proceedings. Temple (TX): Texas A&M University Health Science Center, 1996:51–61.
84. Spitz IM. Progesterone receptor antagonists. *Curr Opin Investig Drugs.* 2006 Oct;7(10):882-90.
85. Chwalisz K, Perez MC, Demanno D et al. Selective progesterone receptor modulator development and use in the treatment of leiomyomata and endometriosis. *Endocr Rev* 2005; 26: 423–438.
86. Olive DL, Lindheim SR & Pritts EA. New medical treatments for endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 319–328.
87. Ferrero S, Abbamonte LH, Anserini P et al. Future perspectives in the medical treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol Surv* 2005; 60: 817–826.

88. De Manno D, Elger W, Garg R, et al. ASOPRISNIL (J867) : a selective progesterone receptor modulator for gynaecological therapy. *Steroids* 2003; 68:1019-32.
89. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, Jen SS. Preliminary report on the treatment of endometriosis with low-dose mifepristone (RU486). *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:1151-6.
90. Braun DP, Dmowski WP. Endometriosis: abnormal endometrium and dysfunctional immune response. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1998;10:365.
91. Lebovic DI, Mueller M, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1.
92. Ho HN, Wu MY & Yang YS. Peritoneal cell immunity and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 400–412.
93. Sharpe-Timms KL. Basic research in endometriosis. *Obstet Gynecol Clin N Am* 1997; 24: 269–290.
94. Kupker W, Schultze-Mosgau A & Diedrich K. Paracrine changes in the peritoneal environment of women with endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 719–723.
95. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001;76:223.
96. Somigliana E, Viganò P, Rossi G, et al. Endometrial ability to implant in ectopic sites can be prevented by interleukin-12 in a murine model of endometriosis. *Hum Reprod* 1999;14:2944.
97. Acién P, Quereda FJ, Gómez-Torres MJ, Bermejo R, Gutierrez M. GnRH analogues, transvaginal ultrasound-guided drainage and intracystic injection of recombinant interleukin-2 in the treatment of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest.* 2003;55(2):96-104.
98. Acién P, Pérez-Albert G, Quereda FJ, Sánchez-Ferrer M, García-Almela A, Velasco I. Treatment of endometriosis with transvaginal ultrasound-guided drainage under GnRH analogues and recombinant interleukin-2 left in the cysts. *Gynecol Obstet Invest.* 2005;60(4):224-31.
99. Ingelmo JMR, Quereda F, Acién P. Intraperitoneal and subcutaneous treatment of experimental endometriosis with recombinant human interferon-a-2b in a murin model. *Fertil Steril* 1999;71:907.
100. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, et al. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine e levamisole. *Fertil Steril* 1999;72.
101. Ali AFM, Fateen B, Ezzet A, et al. Laparoscopic intraperitoneal injection of human interferon-a-2b in the treatment of pelvic endometriosis: a new modality. *Obstet Gynecol* 2000;95(suppl):478.
102. Acién P, Quereda F, Campos A, Gomez-Torres MJ, Velasco I, Gutierrez M. Use of intraperitoneal interferon alpha-2b therapy after conservative surgery for endometriosis and post-operative medical treatment with depot gonadotropin-releasing hormone analog: a randomized clinical trial. *Fertil Steril.* 2002 Oct;78(4):705-11.
103. Steinleitner A, Lambert H, Roy S. Immunomodulation with pentoxifylline abrogates macrophage-mediated infertility in an in vivo model: a paradigm for a novel approach to the treatment of endometriosis-associated subfertility. *Fertil Steril* 1991;55:26.
104. Nothnick WB, Curry TE, Vernon MW. Immunomodulation of rat endometriotic implant growth and protein production. *AJRI* 1994;31:151.
105. Balash J, Creus M, Fàbregues F, et al. Pentoxifylline versus placebo in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis: a pilot study randomized clinical trial. *Hum Reprod* 1997;12:2046.
106. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001; 76: 223–231.
107. Mihalyi A, Simsa P, Mutinda KC, Meuleman C, Mwenda JM, D'Hooghe TM. Emerging drugs in endometriosis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2006 Sep;11(3):503-24.
108. Kyama CM, Mihalyi A, Simsa P, Mwenda JM, Tomassetti C, Meuleman C, D'Hooghe TM. Non-steroidal targets in the diagnosis and treatment of endometriosis. *Curr Med Chem.* 2008;15(9):1006-17.

109. D'Antonio M, Martelli F, Peano S, et al. Ability of recombinant human TNF binding protein-1 (rhTBP-1) to inhibit the development of experimentally-induced endometriosis in rats. *J Reprod Immunol* 2000; 48:81-98.
110. Barrier BF, Bates GW, Leland MM et al. Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy in the treatment of spontaneous endometriosis in baboons. *Fertil Steril* 2004; 81(Suppl 1): 775-779.
111. D'Hooghe TM, Debrock S, Kyama CM, et al. Baboon model for fundamental and preclinical research in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2004; 57: 43-6.
112. Falconer H, Mwenda JM, Chai DC, Wagner C, Song XY, Mihalyi A, Simsa P, Kyama C, Cornillie FJ, Bergqvist A, Fried G, D'Hooghe TM. Treatment with anti-TNF monoclonal antibody (c5N) reduces the extent of induced endometriosis in the baboon. *Hum Reprod.* 2006 Jul;21(7):1856-62.
113. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA.* 2006 May 17;295(19):2275-85.
114. Askling J, Fored CM, Geborek P, Jacobsson LT, van Vollenhoven R, Feltelius N, Lindblad S, Klareskog L. Swedish registers to examine drug safety and clinical issues in RA. *Ann Rheum Dis.* 2006 Jun;65(6):707-12.
115. Dogan E, Saygili U, Posaci C, Tuna B, Caliskan S, Altunyurt S, Saatli B. Regression of endometrial explants in rats treated with the cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib. *Fertil Steril.* 2004 Oct;82 Suppl 3:1115-20.
116. Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Dallel R, Okamura K, Mage G. Cyclooxygenase-2 selective inhibitor prevents implantation of eutopic endometrium to ectopic sites in rats. *Fertil Steril.* 2004 Dec;82(6):1609-15.
117. Efsthathiou JA, Sampson DA, Levine Z, Rohan RM, Zurakowski D, Folkman J, D'Amato RJ, Rupnick MA. Nonsteroidal antiinflammatory drugs differentially suppress endometriosis in a murine model. *Fertil Steril.* 2005 Jan;83(1):171-81.
118. Ozawa Y, Murakami T, Tamura M, Terada Y, Yaegashi N, Okamura K. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses the growth of endometriosis xenografts via antiangiogenic activity in severe combined immunodeficiency mice. *Fertil Steril.* 2006 Oct;86 Suppl 4:1146-51.
119. Laschke MW, Elitzsch A, Scheuer C, Vollmar B, Menger MD. Selective cyclo-oxygenase-2 inhibition induces regression of autologous endometrial grafts by down-regulation of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis and stimulation of caspase-3-dependent apoptosis. *Fertil Steril.* 2007 Jan;87(1):163-71.
120. Cobellis L, Razzi S, De Simone S, Sartini A, Fava A, Danero S, Giofrè W, Mazzini M, Petraglia F. The treatment with a COX-2 specific inhibitor is effective in the management of pain related to endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Sep 10;116(1):100-2.
121. Cunard R, Ricote M, DiCampli D, Archer DC, Kahn DA, Glass CK, Kelly CJ. Regulation of cytokine expression by ligands of peroxisome proliferators activated receptors. *J Immunol.* 2002 Mar 15;168(6):2795-802.
122. Hornung D, Waite LL, Ricke EA, Bentzien F, Wallwiener D, Taylor RN. Nuclear peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma have opposing effects on monocyte chemotaxis in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Jul;86(7):3108-14.
123. Pritts EA, Zhao D, Sohn SH, Chao VA, Waite LL, Taylor RN. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand inhibition of RANTES production by human endometriotic stromal cells is mediated through an upstream promoter element. *Fertil Steril.* 2003 Aug;80(2):415-20.
124. Lebovic DI, Kir M, Casey CL. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma induces regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis. *Fertil Steril.* 2004 Oct;82 Suppl 3:1008-13.

125. Lebovic DI, Mwenda JM, Chai DC, Mueller MD, Santi A, Fisseha S, D'Hooghe T. PPAR-gamma receptor ligand induces regression of endometrial explants in baboons: a prospective, randomized, placebo- and drug-controlled study. *Fertil Steril.* 2007 Oct;88(4 Suppl):1108-19.
126. Healy DL, Rogers PA, Hii L et al. Angiogenesis: a new theory for endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 736–740
127. Donnez J, Smoes P, Gillerot S et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod* 1998; 13: 1686–1690.
128. Healy DL, Rogers PA, Hii L, Wingfield M. Angiogenesis: a new theory for endometriosis. *Hum Reprod Update.* 1998 Sep-Oct;4(5):736-40.
129. Donnez J, Smoes P, Gillerot S et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod* 1998; 13: 1686–1690.
130. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod* 1996; 11: 220–223.
131. Tan XJ, Lang JH, Liu DY et al. Expression of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 mRNA in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 78: 148–153.
132. Laschke MW, Elitzsch A, Vollmar B, Vajkoczy P, Menger MD. Combined inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor, but not inhibition of VEGF alone, effectively suppresses angiogenesis and vessel maturation in endometriotic lesions. *Hum Reprod.* 2006 Jan;21(1):262-8.
133. Becker CM, Rohwer N, Funakoshi T, Cramer T, Bernhardt W, Birsner A, Folkman J, D'Amato RJ. 2-methoxyestradiol inhibits hypoxia-inducible factor-1{alpha} and suppresses growth of lesions in a mouse model of endometriosis. *Am J Pathol.* 2008 Feb;172(2):534-44.
134. Essam-Eldin R. Othman, MD; Zeng B. Zhu, MD; David T. Curiel, MD, PhD; Nilufar Khatoon, MSc; Hosam T. Salem, MD, PhD; Essam Al-Din M. Khalifa, MD; Ayman Al-Hendy, MD, PhD. Toward gene therapy of endometriosis: transductional and transcriptional targeting of adenoviral vectors to endometriosis cells. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:117.e1-117.e6.
135. Al-Hendy A, Lee EJ, Wang HQ, Copland JA. Gene therapy of uterine leiomyomas: Adenovirus-mediated expression of dominant negative estrogen receptor inhibits tumor growth in nude mice. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191: 1621-31.
136. Dabrosin C, Gyorffy S, Margetts P, Ross C, Gauldie J. Therapeutic effect of angiostatin gene transfer in a murine model of endometriosis. *Am J Pathol* 2002;161:909-18.
137. Othman E, Salama SA, Ismail N, Al-Hendy A. Gene therapy of endometriosis: adenovirus mediated expression of dominant negative estrogen receptor induces apoptosis in human endometriotic cells. *Fertil Steril* 2007;88: 462-71.
138. Essam-Eldin R. Othman, MD; Zeng B. Zhu, MD; David T. Curiel, MD, PhD; Nilufar Khatoon, MSc; Hosam T. Salem, MD, PhD; Essam Al-Din M. Khalifa, MD; Ayman Al-Hendy, MD, PhD. Toward gene therapy of endometriosis: transductional and transcriptional targeting of adenoviral vectors to endometriosis cells. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:117.e1-117.e6.
139. Rein DT, Breidenbach M, Curiel DT. Current developments in adenovirus-based cancer gene therapy. *Future Oncol* 2006;2:137-43.
140. Wolun-Cholewa M, Butowska W, Fischer N, Warchl W, Nowak-Markwitz E. Aminolevulinic Acid-Mediated Photodynamic Therapy of Human Endometriotic Primary Epithelial Cells. *Photomed Laser Surg.* 2008 Sep 11.
141. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertil Steril.* 2008 Apr;89(4):934-42. Epub 2007 Jun 19.