

11204



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

“EXITO REPRODUCTIVO EN MUJERES CON ESTERILIDAD Y ENDOMETRIOSIS Y SU RELACION CON MARCADORES INMUNOLOGICOS”

SISTEMA DE ESPECIALIZACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN:

**BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA**

P R E S E N T A:

**DR. ERICK ANTONIO MONTENEGRO PEREIRA**

DR. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO  
PROFESOR TITULAR BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

ASESORES: DR. JULIO DE LA JARA DIAZ  
DR. CESAR HERNANDEZ GUERRERO



MEXICO, D.F.

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA 2004

M. 336370



DIRECCION DE ENSEÑANZA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO  
EN EL DEPARTAMENTO DE ESTERILIDAD  
E INFERTILIDAD Y EN EL DEPARTAMENTO  
DE ULTRAMICROSCOPIA DEL INSTITUTO  
NACIONAL DE PERINATOLOGÍA.**

**Agradecimientos:**

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por el apoyo recibido a través del soporte financiero: **Fondo Sectorial en Salud-2002-C01-7615/A-1.**

**EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO  
EN EL DEPARTAMENTO DE ESTERILIDAD  
E INFERTILIDAD Y EN EL DEPARTAMENTO  
DE ULTRAMICROSCOPIA DEL INSTITUTO  
NACIONAL DE PERINATOLOGÍA.**

**Agradecimientos:**

Esta tesis fue realizada gracias el apoyo de la **Secretaría de Relaciones Exteriores**, mediante el apoyo recibido al Becario: Dr. Erick Montenegro Pereira.

## AGRADECIMIENTOS

**A DIOS:** Por haberme permitido llegar hasta aquí siendo mi guía espiritual.

**A mi esposa:** Alejandra Buezo Perez, por permitirme ser parte de su vida, por su amor, paciencia, comprensión y apoyo incondicional.

**A mis hijos:** Erick Rodrigo y Valeria, por ser motivo de mi inspiración y por que a través de sus ojos miro la paz, la ternura y el valor de la vida.

**A mis padres:** Hugo Humberto y Maria del Carmen, por su amor y enseñanza de valores que me han hecho crecer como ser humano.

**A mis hermanos:** Hugo Alberto y Rosa Amelia por su cariño y confianza.

**A mis Sobrinos, Familia y Amigos:** en general por su confianza.

**Al Instituto Nacional de Perinatología:** por darme la oportunidad del conocimiento.

**A mis Maestros:** en especial a mi profesor titular Dr. Fernando Gaviño

**A mis Asesores:** Dr. Julio de la Jara Díaz y Dr. César Hernández Guerrero, por su apoyo, tiempo y enseñanza.

# ÍNDICE

1. Índice.....	5
2. Índice de tablas.....	6
3. Introducción.....	7
4. Etiopatogenia.....	8
5. Teoría del trasplante mecánico.....	9
6. Teoría de la metaplasia celómica.....	10
7. Teoría compuesta.....	11
8. La endometriosis y su papel en la infertilidad.....	12
9. Alteraciones del semen.....	13
10. Unión de células endometriales y mesotelio .....	14
11. El ambiente peritoneal.....	16
12. Inmunidad celular y endometriosis.....	17
13. Planteamiento del problema.....	19
14. Objetivos.....	20
15. Hipótesis.....	21
16. Justificación.....	22
17. Material y Métodos.....	23
18. Resultados.....	27
19. Discusión.....	30
20. Conclusiones.....	34
21. Bibliografía.....	35

## ÍNDICE DE TABLAS

1. Tabla 1.....	26
2. Tabla 2.....	28
3. Tabla 3.....	29

## INTRODUCCION

Varios millones de mujeres de diferentes grupos étnicos y sociales sufren endometriosis, la cual es un desorden complejo característico por la presencia de tejido endometrial ectópico (estroma y glandular) fuera del útero, es una enfermedad crónica y progresiva que puede tener síntomas severos. El diagnóstico se hace por laparoscopia (78-87 %) o por laparotomía en una presencia en la población en general. (1) Mientras que en la población infértil su prevalencia es de 20-50%, el único estudio de incidencia en 157135 mujeres en 9 años de estudio tuvo un resultado de 0.3%(2).

### FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS:

La edad para el diagnóstico es más frecuente entre 25-29 años; la raza blanca es la más asociada a esta patología con un alto nivel socioeconómico; esto podría ser sólo un reflejo en un grupo de población que tiene más acceso a los servicios de salud y por lo tanto a tener el diagnóstico, comparado con las mujeres afro-americanas quienes tienen una menor incidencia (3). La historia familiar parece tener implicaciones en el desarrollo de ésta enfermedad, sobre todo el antecedente de endometriosis en una familiar de primer grado, se ha reportado hasta una prevalencia en hermanas de hasta un 5.9%(4). Esto va muy relacionado con la influencia genética, que se ha estudiado en gemelas monocigotas y dicigotas; en uno de ellas se estima que hasta el 51% de la varianza fue atribuida probablemente a influencia genética, mostrando una concordancia de hasta el 2 % en monocigotas y 0.6% en dicigotas(5). Los principales genes relacionados son los que codifican las enzimas detoxificantes GSTM1 y NAT2. (4)

Las características menstruales tienen un impacto epidemiológico real, períodos más abundantes y cortos menores de 27 días, con menstruaciones más prolongadas y abundantes, la edad de la menarquia asociada con mayor tiempo de exposición a las menstruaciones y un punto de referencia de los 11 años como el

momento que aumenta los riesgos, el uso de tampones por varios días, aunque aún está en debate (6), la ligadura tubárica, aunque en este último punto existe mucha controversia. Existe una relación inversa entre el peso, el índice de masa corporal y la endometriosis, las mujeres con sobrepeso tienen más irregularidad menstrual, así como períodos más abundantes, lo que hace aumentar el riesgo para esta entidad; la talla alta también se ha asociado con mayor riesgo por tener mayor nivel de estradiol. Por último existe una mayor relación entre las mujeres que consumen alcohol y la endometriosis. En oposición, las mujeres que realizan ejercicios desde muy jóvenes y lo practican más de dos horas semanales como mínimo por tener menores niveles de estrógenos y las mujeres usuarias de anticonceptivos orales tienen menor incidencia de sufrir endometriosis(7).

### **ETIOPATOGENIA:**

Hasta la fecha existen 11 teorías acerca de la histiogénesis, ninguna de ellas tiene la aceptación total.

### **TEORÍA DE LA IMPLANTACION:**

Descrito por Sampson en 1927 y se refiere al paso retrógrado del tejido endometrial a través de las trompas durante la menstruación y su depósito de los órganos abdominopélvicos, aún así existen estudios en los que con laparoscopia se encontró menstruación retrógrada hasta en un 90% de las mujeres sanas, lo que lo hace prácticamente universal y al concluir que no todas desarrollan endometriosis, se convierte en una teoría que no es aceptada al 100%(8). Un aspecto cuestionado de la misma, es la capacidad de implantación de líquido menstrual en otros órganos. Se ha sugerido que el líquido menstrual al pasar de la cavidad endometrial a la cavidad pélvica es atacado por enzimas proteolíticas y por el sistema inmunológico, restándole capacidad de implantación en un ambiente normal (9). Si hay un daño por trauma, inflamación, o infección previo al tejido puede aumentar la adhesión celular en la superficie peritoneal. El líquido peritoneal de las mujeres con endometriosis tiene componentes que aumentan la capacidad de adhesión celular (10).

## **TEORÍA DEL TRASPLANTE MECÁNICO:**

El tejido endometriósico ectópico puede ser inducido y alogénicamente por trasplante mecánico; esto es respaldado por numerosos casos de endometriosis en heridas quirúrgicas de laparotomías y episiotomías (8).

## **TEORÍA DE METÁSTASIS LINFÁTICA Y VASCULAR:**

Sampson fue el primero en sugerir la diseminación linfática y hematógena. Teoría que es respaldada por múltiples casos de endometriosis en el aparato gastrointestinal, (hígado, páncreas, vesícula biliar e intestino) tracto genitourinario (vejiga, riñón, uréter, uretra, retroperitoneo) sistema músculo esquelético, (piel, antebrazo, muslo, vértebras, huesos y ombligo) sistema neural, (siático y perineural) aparato pulmonar, (pleura, parénquima pulmonar y diafragma).

Esta teoría fue propuesta al encontrar focos de endometriosis a distancia de la pelvis, lo que propuso que la endometriosis se diseminara por los ganglios linfáticos y la vasculatura.

## **TEORÍA DE LA EXTENSION DIRECTA:**

Propone que el tejido endometrial puede ser directamente diseminado por extensión a través de la musculatura uterina, según esta hipótesis requiere del transporte venoso y linfático.

## **TEORÍA UTEROTUBÁRICA:**

Teoría propuesta de la unión de la extensión directa y de la implantación, se basa en el hallazgo de células endometrial intraluminales por migración retrógrada o por extensión directa a través de las paredes tubáricas.

## **TEORÍA DE LA METAPLASIA CELÓMICA:**

Propuesta por Meyer, propone la endometriosis a partir de metaplasia celómica de las células endometriales, se sugiere la metaplasia de las células que tapizan el peritoneo pélvico y se basa en los estudios embriológicos que demuestran el conducto de Müller, el epitelio germinal del ovario y del peritoneo pélvico tienen un origen común. Estos cambios se producen como respuesta a procesos inflamatorios, influencias hormonales. Varios investigadores han demostrado que puede existir inclusión mesotelial pélvica en mujeres con endometriosis. Se sugiere que el epitelio celómico podría producir metaplasia para formar algún tipo de epitelio del conducto de Müller y que las inclusiones nodulares no representan endometriosis en todos los casos. Las infecciones, las hormonas u otros estímulos producen metaplasia, refuerzan esta teoría la endometriosis en mujeres adolescentes, mujeres amenorreicas, la presencia de esta entidad en sitios inusuales (11). Esta teoría está propuesta para explicar la afección del nervio ciático cíclico con predominio del lado derecho en 62% de los casos estudiados en mujeres con endometriosis (12).

## **TEORÍA DE LA INDUCCIÓN:**

Descrita en 1955, postula que el endometrio necrótico libera sustancias específicas que activan el mesénquima para producir endometriosis, es una extensión de la metaplasia celómica y propone como factores desencadenantes estados inmunológicos y bioquímicos.

## **TEORÍA DE LOS RESTOS EMBRIONARIOS:**

En 1890 Rusell y Von Reclinghausen propusieron esta teoría; encontraron restos del conducto de Müller en el ligamento ancho y porciones antero laterales de la vagina y el cérvix por lo que se sugirió que bajo un estímulo específico las células pueden activarse en función del endometrio.

## **TEORÍA COMPUESTA:**

Propuesta por Javert en 1949, es una combinación de las teorías de implantación, metástasis vascular y linfática y extensión directa.

## **CLASIFICACION DE LA ENDOMETRIOSIS**

El estudio de la endometriosis es muy importante y como herramienta clínica durante el transcurso del tiempo se ha desarrollado varios sistemas para saber el grado de endometriosis que presenta una mujer.

Sampson fue el primero en clasificarla en grados en 1921, usó una clasificación previa de quistes hemorrágicos de ovario y la modificó. En 1949 Wicks propuso criterios histológicos para evaluar la endometriosis; Huffman presentó una clasificación anatómica en 1951, lo cual ayudó al tratamiento. En 1962, Rivera estudiando alternativas al tratamiento médico de esta entidad con la progesterona separó cuidadosamente a las mujeres, dependiendo de qué estructuras pélvicas estaban involucradas usando una escala que definía el beneficio médico. En 1966 Bechan detalló la localización endometriósica, luego Acosta propuso una clasificación en leve, moderada y severa incluyendo sitios de lesiones, adherencias tubáricas, ováricas y endometriomas.

La Sociedad Americana de Fertilidad, publicó en 1979 una clasificación innovadora de endometriosis, tomando en cuenta la presencia de adherencias tubáricas, ováricas, al peritoneo, la presencia de enfermedad unilateral o bilateral, el tamaño del endometrioma y la clasificaron en leve, moderada, severa y extensa.

En 1985 la Sociedad Americana de Fertilidad revisó la clasificación con un sistema más detallado con una modificación a estadio mínimo, leve, moderada y severa; sistema que aún en nuestros días se utiliza a pesar que tiene algunos limitantes como un punteo arbitrario, un error potencial en las observaciones, reproductibilidad limitada, fallo a considerar el tipo de lesión morfológica. Misma clasificación que fue revisada en una tercera ocasión en 1996, como se mencionó anteriormente, tiene sus limitaciones y defectos; no es buena predictora de embarazo post-tratamiento, la clasificación no

correlaciona bien con los síntomas de dolor pélvico y dispareunía, el puntaje para estadio mínimo es de 1-5 puntos, leve es de 6-15 puntos, moderado 16-40 puntos y severo > de 40 puntos, lo que se evalúa son focos endometriósicos en peritoneo y ovarios y adherencias en ovario y trompas (13).

## **LA ENDOMETRIOSIS Y SU PAPEL EN LA INFERTILIDAD**

La endometriosis es una enfermedad que tiene todavía muchos interrogantes, por lo que aún existen grandes controversias para aclarar su patogenia y sobre todo para lograr una unificación de criterios.

Se han propuesto factores que podrían reducir la fecundidad entre los que mencionaremos:

### **FUNCION OVARICA:**

**RESERVA OVÁRICA.** Múltiples investigadores concuerdan que hay una pérdida progresiva de la reserva ovárica en las mujeres con endometriosis, independientemente de la edad, observándose una disminución de la inhibina beta, que es un marcador de reserva ovárica durante la estimulación, también se han encontrado menos cantidad de ovocitos recuperados y finalmente los niveles de estradiol y FSH en el día 3 del ciclo están elevados en las mujeres con estadios 3 y 4. Teniendo en general una pobre respuesta ovárica las mujeres con endometriosis (14,15, 16) y aún aquellas quienes se les ha realizado cistectomía por un endometrioma (17).

**ALTERACIONES HORMONALES.** Se han encontrado en líquido folicular una reducción de la secreción de estrógenos y una disfunción en el pico de secreción endógena de LH. (14)

**DISMINUCION DE LA ESTEROIDOGENESIS EN LAS CELULAS DE LA GRANULOSA.** Se han encontrado niveles altos de endotelina 1, disminución de las concentraciones de LH, disminución de la producción de progesterona y de la actividad aromatasa en los folículos preovulatorios (18).

**ALTERACIONES PARACRINAS EN EL LÍQUIDO FOLICULAR.** Existe una disminución de la inhibina B, hay un aumento de la interleucina 6, disminución del factor de crecimiento del endotelio vascular.

### **CALIDAD OVOCITARIA**

En base a estudios en los que hay peores resultados de embarazos e implantación en mujeres que han recibido ovocitos de mujeres con

endometriosis, se concluye que la endometriosis podría estar relacionada con alteraciones del ovocito

**APOPTOSIS DE LA CELULA DE LA GRANULOSA.** Los cuerpos apoptóticos son fragmentos de citoplasma que contienen cromatina condensada en las pacientes con endometriosis; se cree que la incidencia de estos en la membrana granulosa aumenta cuando el estadio de endometriosis es mayor, además esta entidad aumenta la apoptosis folicular y lo hace evolucionar hasta un estado atrésico (19).

### **ALTERACIONES DEL SEMEN**

El líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis tiene mayor capacidad para fagocitar los espermatozoides por los macrófagos que allí se encuentran, así como un menor porcentaje de linfocitos T.

### **FECUNDACION**

Hay una disminución de las tasas de fecundación, las causas precisas no están bien claramente definidas.

### **CALIDAD EMBRIONARIA**

Al evaluar morfológicamente a los embriones en sus dos primeros días, se han encontrado más aberraciones celulares y nucleares y se ha sugerido la presencia de sustancias embriotóxicas en estas mujeres.

### **IMPLANTACION**

Se ha encontrado disminución en la tasa de implantación y el grupo de endometriosis mínima o leve es el que tiene menores tasas de implantación, posiblemente por una alteración del micro ambiente intrauterino (20).

### **IMPLANTE ENDOMETRIOSICO Y SU CRECIMIENTO**

El fenómeno de la menstruación retrógrada es universal y de todas las teorías es la más aceptada.

Se han postulado 5 pasos importantes en el desarrollo de la endometriosis:

- Unión de células endometriales a las células mesoteliales
- Invasión de esas células al mesotélio
- Sobrevida de las células inflamatorias del implante
- Angiogénesis
- Proliferación de células endometrial.

## **Uniones de células endometriales y mesotélio**

El mecanismo de unión ha sido estudiado in Vitro, evaluando la capacidad de unión de las células endometriales con la membrana amniótica, tomando en cuenta que esta última es muy similar en sus cito queratinas al peritoneo.

Se ha encontrado que la unión no ocurre en el lado epitelial sino que sucede en el lado no epitelial, o se une al lado epitelial solo bajo condiciones en las que ha existido daño o ausencia; por lo que se considera el mesotelio intacto una barrera que previene la unión en fragmentos endometriales, por lo que el trauma al mesotelio es un prerrequisito para la unión, esto puede ser producido por los polimorfos nucleares durante la inflamación antes de la llegada de los macrófagos, aunque su presencia es transitoria, produce enzimas proteolíticas y metabolitos reactivos de oxígeno que oxidan proteínas y membranas, produciendo una lesión importante del mesotelio, y por lo mismo, facilitando la extravasación del fibrinógeno; después de la fase de contacto debe llegar el momento en el que el tejido endometrial se adhiera al peritoneo (21, 22, 23).

En ello pueden intervenir varias moléculas de unión, como las moléculas de unión intracelular 1, que son glucoproteínas de la superficie celular, esenciales en la morfogénesis y la histogénesis, entre poblaciones celulares se clasifican en varias clases, como cadaverinas, integrinas, inmunoglobulinas y selectinas; éstas participan en el proceso de aposición y adhesión del embrión en la fase secretora del ciclo, en el proceso de descamación endometrial desde su capa basal durante la menstruación y posiblemente en el proceso de aposición y adhesión del endometrio en la cavidad peritoneal; molécula de unión vascular 1 y el factor de permeabilidad vascular que son los responsables del aumento de permeabilidad vascular y de la extravasación del fibrinógeno, este factor es producido por células endometriales hipóxicas durante la menstruación y por los macrófagos activados del flujo menstrual y de la cavidad peritoneal(22,23).

Las integrinas tienen un papel relevante en las interacciones célula-matriz extracelular, pueden ser responsables de la unión a estructuras subepiteliales. Cinco de las seis integrinas beta 1, han dado positivo

en el endometrio menstrual. La incubación de los anticuerpos bloqueadores de integrinas interfirieron con la unión de las células epiteliales o estromales del endometrio con el mesotelio, esto demostró la importancia de las integrinas entre la unión de las células endometriales y el mesotélio (23).

Recientemente el ácido hialurónico y sus receptor CD44 han sido implicados en la interacción del peritoneo mesotelial con las células endometrióticas (24).

## **INVACION**

Existen pruebas indirectas que sugieren que las lesiones endometrióticas precoces invaden la matriz extracelular. El colágeno tipo 3 es uno de los principales componentes de la matriz extracelular y su precursor pro colágeno 3 que contiene extensiones amino terminal y carboxiterminal. En pacientes con endometriosis en su líquido peritoneal se observó un aumento significativo del pro péptido amino terminal del pro colágeno 3, lo que indica un activo proceso de remodelación de la matriz extracelular.

Las metalo proteinasas de la matriz extracelular, así como sus inhibidores, tienen un papel importante en la remodelación normal del endometrio, la familia de la metaloproteinazas contiene varias estructuras relacionadas al zinc, dependientes de endopeptidasas que son los responsables de la degradación de varios componentes de la matriz extracelular, incluyendo colágeno, gelatinas, proteoglicanos, laminina, fibronectina, y elastina. Está regulado por hormonas esteroideas y citoquinas en cada fase del ciclo menstrual. Coincidentemente con el rompimiento del tejido y la remodelación ocurre la menstruación y durante la fase proliferativa temprana ocurre un aumento, así como una disminución durante la diferenciación endometrial con predominio de la progesterona en la fase lútea del ciclo (25).

La actividad de las metaloproteinazas en el líquido menstrual es diferente a su actividad en el líquido peritoneal, esto sugiere que el tejido endometrial tras entrar en la cavidad abdominal, podría usar su propia actividad de metaloproteinazas para invadir la matriz extracelular, encontrándose en el tejido ectópico existen miembros específicos como metaloproteinaza 1, 3 y 7, los cuáles están regulados por factores paracrinos como el factor transformador de

crecimiento beta, que es producido por el estroma endometrial en respuesta a la progesterona y puede suprimir la expresión de la metaloproteinasa 7, otra citoquina que regula su expresión es la interleucina 1 alfa, que es un potente estimulador de la metaloproteinasa 3, la progesterona disminuye su expresión.

La habilidad de la progesterona para inhibir la metaloproteinasas 3 y 7, requiere de la expresión local del factor de crecimiento tisular B (TGF B) y ácido retinoico; su tratamiento in Vitro hizo recuperar la habilidad de la progesterona para suprimir las metaloproteinasas en un modelo de ratones; y previno el establecimiento de la enfermedad experimental. (26)

El propio tejido endometrial ectópico tiene algunas características como; la presencia de la enzima citocromo- aromatasas P450 que convierte los andrógenos en estrona y estradiol, lo que significa que este tejido tiene la capacidad de aumentar su propia cantidad de estrógenos, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) desempeña un papel determinante en el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, proceso que es importante para el establecimiento de nuevos implantes, las mujeres con esta enfermedad tienen más VEGF que las mujeres sanas, además su índice de proliferación celular está aumentado, lo que indica que el endometrio de estas mujeres puede tener una mayor capacidad para proliferar y sobrevivir en regiones ectópicas; el endometrio de esta enfermedad ha demostrado ser más resistente a la lisis de las células NK .

La proteína quimiotáctica para los monocitos 1 (MCP-1) tiene una mayor expresión en estas mujeres; puede convertirse en un mediador celular en la patogénia de la enfermedad (27).

## **EL AMBIENTE PERITONEAL**

El peritoneo es una suave membrana que recubre el interior de la pared abdominal, habitualmente está vacía, con excepción de una pequeña cantidad de líquido que mantiene la humedad en la superficie, el volumen del líquido peritoneal está en relación con el ciclo menstrual aumentando desde 0.8ml de la fase proliferativa temprana hasta un valor de 18,7ml tras la ovulación, al respecto se ha descrito que el ambiente peritoneal de la mujer con endometriosis, desde los primeros estadios de patología, presenta un mayor estado

pro inflamatorio como causa de presencia de citocinas (TNF  $\alpha$ , IL-1 B, IL-6) y disminuyen los niveles de INF-gamma así como la concentración de EGF y bFGF son muy variables; proceso que se ha comprobado en modelos in Vitro del líquido peritoneal de mujeres con endometriosis(28)

## **INMUNOLOGIA DE LA ENDOMETRIOSIS**

Aunque se desconoce la etiopatogenia de la endometriosis la hipótesis más aceptada es la de John Sampson, que ocurre en el 90% de las mujeres en edad fértil, aún así solo el 10% de la población general y del 9-50% de la población infértil presentan la endometriosis. Diversos grupos han planteado y reportado evidencias que señalan alteraciones inmunológicas de tipo celular y humoral en el micro ambiente peritoneal de la mujer con endometriosis, lo que conlleva a una deficiente capacidad de eliminar las células y el tejido endometrial que arriba periódicamente al peritoneo (29).

## **INMUNIDAD CELULAR Y ENDOMETRIOSIS**

Una menor respuesta de este tipo de inmunidad podría hacer la implantación de tejido ectópico endometrial.

### **ASESINAS NATURALES (NK)**

El mecanismo por el cual ocurre limpieza de las células endometriales regurgitadas en la cavidad peritoneal está poco comprendido. De cualquier modo las células asesinas naturales tienen un papel importante existiendo una disminución de la citotoxicidad periférica y peritoneal en mujeres con endometriosis, esta disminución mayor en estadios moderados y severos, su mecanismo no está claro, se ha reportado un aumento de un inhibidor del receptor de células asesinas, lo que representa una disminución en la actividad de las células NK; existiendo discrepancia entre diferentes estudios del número o porcentaje de células NK ( 30 ).

Es interesante notar que en mujeres con endometriosis hay un aumento progresivo del número de células NK y su actividad seguido del tratamiento con GnRH a (31)

### **MACROFAGOS**

Se sabe que los monolitos y macrófagos son modulados por células inmunes y no inmunes; varios investigadores han mostrado un

aumento en la actividad de los monocitos y macrófagos en mujeres con endometriosis (30)

Al investigar la relación del factor de crecimiento del Hepatocito, que es reconocido como un potenciador mitógeno, motógeno y morfogeno, que actúa en las células epiteliales y su asociación con los cambios con los macrófagos, se encontró un incremento estadísticamente significativo del factor de crecimiento del hepatocito alrededor de las lesiones rojas con la acumulación de macrófagos (32)

## LINFOCITOS

Hay una disminución en la proliferación de linfocitos en sangre periférica de endometriosis, así como se ha observado un aumento en la síntesis de óxido nítrico por parte de los linfocitos, el cual es un inhibidor de la actividad efectora citotóxica en mujeres con endometriosis (33)

Existe un aumento de la relación de T ayudadores con T supresor en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis. Con el tratamiento de GnRHa se ha reportado un aumento en la actividad proliferativa de las células T. (30)

Los diversos datos reportados a la fecha señalan en general que el ambiente peritoneal y/o periférico de las mujeres que presentan la patología manifiestan una disminución en el número de linfocitos T ayudadores encargados de dirigir la respuesta inmune. Así mismo, los linfocitos T citotóxicos expresan una menor actividad citolítica al analizarlas en sistemas in Vitro, se ha informado una menor actividad citotóxica en el líquido peritoneal y periférico de pacientes con endometriosis al endometrio autólogo y heterólogo de las células natural killer, siendo mayor la disminución en estadios moderada y severa; varios estudios recientes reportan un aumento en la actividad proliferativa de las subpoblaciones de linfocitos T y las células asesinas naturales luego del tratamiento con agonista de GnRH.

En cuanto a la actividad efectora de la respuesta inmunológica se sabe que se manifiesta a través de dos grandes brazos. El brazo celular está modulado por la subpoblación de linfocitos T cooperadores denominados TH1 que promueven la actividad citotóxica e inflamatoria y el otro es modulado por la subpoblación de linfocitos TH2. En mujeres con endometriosis se ha propuesto una supresión de la actividad TH1 y de las células CD4 peritoneales. Esta supresión de la subpoblación de linfocitos puede ser hecha por la elevación de interleucina 10 y 12 en el líquido peritoneal.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La endometriosis es una entidad que se ha asociado a infertilidad y aunque no se conoce su etiología clara, se ha propuesto un abatimiento en la respuesta inmunológica asociada al evento. A la fecha se desconoce la relación existente entre la presencia de células reguladoras y efectoras de la respuesta inmunológica, en el ambiente periférico y peritoneal, con el porcentaje de embarazos espontáneos en mujeres con endometriosis después de tratamiento combinado. Para realizar el estudio se revisaron los expedientes clínicos de mujeres con infertilidad primaria o secundaria de la clínica de Esterilidad del Instituto Nacional de Perinatología a quienes se les realizó laparoscopia, diagnosticándose endometriosis (ASRM 1996) y a quienes se les tomó una muestra de líquido peritoneal y sangre periférica, con la intención de determinar las subpoblaciones de linfocitos T cooperadores, T citotóxicos y T activados con el porcentaje de embarazos espontáneos que presentaron dichas mujeres, un año posterior al tratamiento combinado.

## **OBJETIVO GENERAL**

Relacionar el índice de embarazos espontáneos, con subpoblaciones de linfocitos obtenidos del ambiente peritoneal de mujeres con esterilidad y endometriosis, pos tratamiento combinado.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Conocer la edad, el tiempo y el tipo de esterilidad de las pacientes en estudio.
2. Evaluar las características de las subpoblaciones de linfocitos en líquido peritoneal y sangre periférica en las mujeres de estudio.
3. Conocer la tasa de embarazo conseguida en las pacientes de estudio y asociarla con la intensidad de la patología y la presencia de subpoblaciones de linfocitos.
4. Investigar el grado de endometriosis y su correlación con las subpoblaciones de linfocitos

## **HIPOTESIS**

El tratamiento combinado (médico-quirúrgico) en las pacientes con endometriosis, modifica las características inmunológicas del ambiente peritoneal, promoviendo una mayor tasa de embarazo espontáneo.

## JUSTIFICACIÓN

La incidencia de infertilidad directamente atribuida a endometriosis es difícil de evaluar; la endometriosis puede coincidir con la infertilidad en un rango de 30-50%(34). La etiología de la enfermedad aun no ha sido establecida, pero entre otras teorías, se ha propuesto un abatimiento de las características efectoras de la respuesta inmunológica en el ambiente peritoneal, que promueve la implantación y/o el crecimiento ectópico del tejido. A la fecha se desconoce el impacto que ejerce el tratamiento médico combinado con marcadores inmunológicos locales, y el resultado reproductivo obtenido. De aquí que un mayor conocimiento de las características inmunológicas en las pacientes antes referidas, podrá ayudar a establecer con mayor certeza, la participación del brazo inmunológico en mujeres con esterilidad asociada a endometriosis.

## MATERIAL Y METODOS

Se revisaron los expedientes clínicos en un total de 21 mujeres, las que se dividieron en 16 mujeres con infertilidad primaria o secundaria que asisten a la clínica de Esterilidad del Instituto Nacional de Perinatología, a quienes se les realizó laparoscopia operatoria y que fueron diagnosticadas en ese momento con endometriosis en sus diferentes estadios según la clasificación de la American Society for Reproductive Medicine (1996), los focos endometriósicos recibieron tratamiento con fulguración que se detallará a continuación y posterior a la cirugía todas las pacientes recibieron tratamiento médico con un análogo de GnRH (Nafarelina –Synarel, laboratorio Sandoz), por un período de 3 meses, evaluando su fertilidad espontánea a partir de ese momento por un período de 1 año, y se comparó con 5 mujeres control fértiles sin diagnóstico de endometriosis a las que se les realizó oclusión tubaria bilateral por laparoscopia, tomando las muestras correspondientes de líquido peritoneal y sangre, durante el procedimiento.

Se estudió las subpoblaciones de linfocitos CD4, CD8 y HLADR en líquido peritoneal durante la Laparoscopia operatoria y en sangre periférica, con el fin de relacionar las subpoblaciones de linfocitos en el grupo de estudio y el grupo control, para relacionarlo con su éxito reproductivo.

La técnica laparoscópica y la obtención de la muestra en líquido peritoneal se realizó luego de colocar a la paciente bajo efectos de anestesia general y colocación de campos estériles, se procedió a realizar incisión transumbilical, lugar donde se colocó la aguja de Veress, por la cual se distendió la cavidad abdominopélvica con CO<sub>2</sub>; se colocó el trocar principal y después de la exploración de la cavidad abdominopélvica, se introdujo a través de un trocar accesorio de segunda punción de 5 mm en alguna de las fosas iliacas, se introdujo una cánula Storz de tres vías, mediante la cual se aspiró el líquido peritoneal del fondo de saco posterior, empleando una jeringa estéril de 20 ml, para recolectar el fluido biológico presente.

La jeringa con el líquido peritoneal recolectado, se entregó al personal de investigación presente en el quirófano, asignado de manera específica para la función de captura y traslado de muestras biológicas.

El personal asignado para recolectar muestras en el área de quirófano, colocó el fluido peritoneal en un tubo de 15 ml estéril con tapón de rosca de polipropileno, vertiendo por las paredes del tubo el líquido peritoneal, previo a haber retirado la aguja de la jeringa. El tubo con el fluido biológico, fue almacenado y transportado al laboratorio en temperatura de refrigeración (4°C).

Una vez en el laboratorio, se procedió a centrifugar la muestra a 3000 rpm por 5 min. a fin de eliminar las células suspendidas o detritus celulares, empleando la centrífuga Labofuge 400R. Al término de la centrifugación, se colectó el sobrenadante con ayuda de una pipeta Pasteur, cuidando de no tocar el botón celular que queda al fondo del tubo.

El líquido peritoneal libre de células se colocó en alícuotas de 500  $\mu$ L (microlitros), en tubos eppendorf de 1.5 mL de capacidad o bien en crió tubos de 2 mL, mismos que se mantuvieron en hielo durante su manipulación, y posteriormente almacenarse en el ultra congelador (-70°C) hasta el momento de ser empleado el fluido peritoneal, para alguna determinación bioquímica. A uno de los tubos eppendorf deberán adicionarse 10  $\mu$ l de Butiril-hidroxitolueno (BHT), a una concentración de 2 mM (mili Molar) como antioxidante (Apéndice: BHT Antioxidante) por cada mililitro de plasma recuperado, antes de almacenarse a -70° C. Este tubo fue empleado para determinar el grado de lipoperoxidación que presenta dicho fluido.

Una vez que el cirujano ha colectado y entregado la muestra biológica, procedió a revisar la cavidad peritoneal mediante el sistema videolaparoscópico, realizando fulguración de los focos endometriósicos con pinza bipolar y posterior irrigación con agua para evitar el exceso de material necrótico, se realizó hemostasia con pinza bipolar y no se dejó ninguna solución o material especial para evitar las adherencias post-cirugía.

Para la muestra en sangre periférica, se realizó al momento de llevar a cabo la cirugía laparoscópica, se obtuvo una muestra de 5.0 ml de sangre periférica por punción venosa humeral, empleando el sistema Vacutainer y tubos con anticoagulante heparina (80 UI/ 5 mL). La muestra de sangre periférica obtenida fue entregada al personal de investigación presente en el quirófano, quien la transportó al laboratorio a temperatura ambiente.

Para la obtención de plasma sanguíneo. La muestra de sangre periférica colectada, se dejó en incubación durante 10 minutos (min.) a temperatura ambiente, con la intención de que se forme el coágulo.

No se recomienda en este tiempo ponerla en frío, a fin de evitar lisis excesiva de eritrocitos. Una vez transcurrido este lapso, se procedió a centrifugar la muestra a 3,000 rpm durante 10 min. a fin de separar el plasma del paquete globular, empleando la centrífuga Labofuge 400R. Al término de la centrifugación, empleando una pipeta Pasteur de vidrio se colectó el plasma, que corresponde a la fracción de color ámbar o amarillo paja que queda en la parte superior, cuidando de no tomar de la fracción globular (fracción de color rojo intenso), ni tampoco la capa blanquecina que se observa inmediatamente sobre esta (correspondiente a leucocitos).

El plasma recuperado fue alícuotado en volúmenes de 500  $\mu$ L empleando tubos eppendorf con capacidad de 1.5 mL, o en crió tubos de 2 mL. Los cuales fueron colocados sobre hielo para su manipulación y traslado. Posteriormente fueron almacenados en el ultra congelador a  $-70$  °C, hasta el momento de ser empleado el plasma para alguna determinación bioquímica.

Luego de ser obtenidas las muestras fueron procesadas en el laboratorio de ultramicroscopía las subpoblaciones de linfocitos en el compartimiento periférico materno y proveniente del líquido peritoneal mediante citometría de flujo con la siguiente metodología:

Alrededor de 100,000 células provenientes de líquido peritoneal o 20  $\mu$ l de sangre periférica, se colocaron en contacto con 4  $\mu$ l de los anticuerpos monoclonales específicos, para las diferentes moléculas de superficie (tabla 1). La muestra se dejó incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.

Al término de la incubación, se adicionaron 250  $\mu$ l de solución de lisis (Apéndice: Solución De Lisis FACS), con la intención de eliminar las células hemáticas presentes, y se permitió su actuar durante 15 minutos.

Una vez transcurrida la incubación, se adicionaron 1.5 ml de solución PBA (Apéndice: Solución PBA), con la intención de eliminar en su totalidad la solución de lisis. Las muestras se centrifugaron a 300 x g durante 5 minutos en la centrífuga Labofuge 400R, y se decantó el sobrenadante.

El paquete celular obtenido en la última centrifugación, se homogeneizó y se adicionaron 150 µl de PBS, para llevar a cabo la adquisición y análisis de las subpoblaciones celulares, empleando el citómetro de flujo Coulter Epics Altra, en un lapso no mayor a 48 horas, almacenado las muestras en el intervalo de la determinación a 4°C.

<b>ANTICUERPOS (anti CD)</b>	<b>FLUOROCROMO</b>	<b>SUBPOBLACION IDENTIFICADA</b>
CD3	PE-Cy5	Linfocitos T totales
CD4	FITC	Linfocitos T inductores
CD8	FITC	Linfocitos T citotóxicos
CD3/HLA-DR	FITC / PE	Linfocitos T activados

**Tabla 1** Anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos, empleados en la tinción de superficie de células para citometría de flujo. PE-Cy5 = Ficoeritrina cianina. PE = Ficoeritrina. FITC = Isotiocianato de fluoresceína.

#### **TIPO DE ESTUDIO:**

Transversal: Indicamos observaciones sencillas de nuestra población en un momento determinado

Descriptivo: Contribuimos a generar la hipótesis

Retrospectivo: El factor de estudio y la enfermedad ocurrió antes.

## RESULTADOS.

Se revisaron los expedientes clínicos de 16 pacientes de la clínica de esterilidad del Instituto Nacional de Perinatología a quienes se les realizó laparoscopia quirúrgica y se les diagnosticó endometriosis; su edad promedio fue de 30.46 años, con una infertilidad primaria de 62.5%, y una infertilidad secundaria de 32.5%, el tiempo medio en años de infertilidad es de 6 años.

En nuestro estudio se encontró endometriosis mínima en un 50% de las pacientes, leve 37.5%, moderada 6.25% y severa en 6.25%. De las 16 pacientes del grupo estudiado, se embarazaron espontáneamente 4 durante el año de seguimiento (25%). Considerando al grado de endometriosis de acuerdo a la clasificación de la ASRM. Para las pacientes con endometriosis mínima-leve hubo un embarazo en cada grupo, (total de 50% en ambos grupos), moderada un embarazo (25%) y severa un embarazo (25%), el tiempo en lograr el objetivo reproductivo post- cirugía fue de 9 meses.

Se llevó a cabo la determinación de las subpoblaciones de linfocitos a continuación descritas, en sangre periférica y líquido peritoneal, en la primera fase del estudio y en la segunda fase del estudio se dio el tratamiento combinado a las pacientes, en sangre periférica para CD4 las mujeres no embarazadas se encontró 58.63%, embarazadas 53.92%, y las controles un 57%, para la subpoblación de CD8 las no embarazadas 33.87%, embarazadas 31.42%, para las controles 40.36%, para HLADR no embarazadas se encontró en 4.34%, las embarazadas 4% y las mujeres controles un 5.94%, datos que se observan en la tabla 2.

En líquido peritoneal para la subpoblación de CD4 no embarazada 31.83%, embarazadas 28.25% y controles 30.38%, para CD8 no embarazadas 53.51%, embarazadas 62.5% y controles 68.48% y finalmente para la subpoblación de HLADR no embarazadas 2.12%, para las embarazadas un 2.7% y controles un 12.62% datos que se observan en la tabla 3.

**Subpoblaciones de linfocitos en sangre periférica.**

	MEDIA	STD. DEV	MINIMO	MAXIMO	SIGNIFICANCIA
CD4 NO EMBARAZO	58.63	10.27	30.2	70.2	NS
CD4 SI EMBARAZO	53.92	7.02	46.3	61.7	NS
CD4 CONTROL	57	6.36	49.7	64	NS
CD8 NO EMBARAZO	33.87	8.89	25	35.9	NS
CD8 SI EMBARAZO	31.42	4.64	25	35.9	NS
CD8 CONTROL	40.36	6.41	35	50	NS
HLADR-NO EMBARAZO	4.34	3.61	0	11.9	NS
HLADR- SI EMBARAZO	4	2.11	2.4	6.4	NS
HLADR-CONTROL	5.94	5.96	1.5	15.5	NS

**Tabla 2.-** Linfocitos T cooperadores (CD3+/CD4+), linfocitos T citotóxicos (CD3+/CD8+) y linfocitos T activados (CD3+/HLA-DR+) Cada subpoblación de linfocitos de los grupos de estudio, fue comparada versus el grupo de mujeres fértiles mediante prueba t. Valor de significancia  $p < 0.05$ .

### Subpoblaciones de linfocitos en líquido peritoneal

	MEDIA	STD.DEV	MINIMO	MAXIMO	P
CD4 NO EMBARAZO	31.83	12.51	5.9	52.1	NS
CD4 SI EMBARAZO	28.5	7.92	16.8	35	NS
CD4 CONTROL	30.38	7.37	19.9	40.1	NS
CD8 NO EMBARAZO	53.51	19.97	0.6	87.7	NS
CD8 SI EMBARAZO	62.5	8.67	50	68.9	NS
CD8 CONTROL	68.48	7.06	59.9	78.7	NS
HLADR-NO EMBARAZO	2.12	2.54	7.3	0.1	< 0.05
HLADR SI-EMBARAZO	2.7	3.41	0.5	7.8	NS
HLADR-CONTROL	12.62	8.97	4.1	26.5	NS

**Tabla 3.-** Linfocitos T cooperadores (CD3+/CD4+), linfocitos T citotóxicos (CD3+/CD8+) y linfocitos T activados (CD3+/HLA-DR+) Cada subpoblación de linfocitos de los grupos de estudio, fue comparada versus el grupo de mujeres fértiles mediante prueba t. Valor de significancia  $p < 0.05$ .

## DISCUSION

La fecundidad está definida como la probabilidad que tiene la mujer de quedar embarazada en un mes, y en las parejas normales la tasa de fecundidad es de 0.15 a 0.20 por mes y disminuye con la edad. En las mujeres infértiles con endometriosis la fecundidad mensual es de 0.02 a 0.01 (34). La hipótesis de que la endometriosis causa infertilidad o disminuye la fecundidad permanece controversial.

Hasta la fecha se han desarrollado múltiples teorías, que tratan de explicar el origen de la endometriosis, y su relación con la fertilidad, pero ninguna ha logrado dar una explicación global al origen de esta enfermedad y no se tiene evidencia concreta de lo que sucede exactamente y su relación con los cambios inmunológicos. Los seres superiores defienden constantemente su integridad biológica frente a agresiones procedentes del exterior, así como del propio organismo, de no ser así morirían como consecuencia de tumores e infecciones. Para que estos fenómenos de defensa se lleven a cabo, los organismos disponen de un conjunto de elementos especiales, conocido como sistema inmune; existen dos tipos de inmunidad: inespecífica y específica; la respuesta inmune específica se caracteriza porque es efectiva ante aquellos antígenos frente a los cuales se ha iniciado y desarrollado este tipo de respuesta, es mediada por linfocitos, los que se dividen en linfocitos B y linfocitos T, los linfocitos T a su vez, pueden ser linfocitos T colaboradores, CD4 (TH) y linfocitos T citotóxicos CD8 (TC), a esto se conoce como inmunidad celular.

La respuesta inmune celular cumple una importante función como mecanismo inmunológico de defensa. Es compleja en sus efectos y acciones finales, así como en su iniciación y desarrollo y en ella participan los linfocitos T colaboradores y citotóxicos. Tal como se ha dicho anteriormente, reconocen al antígeno mediante el receptor T (TCR), que consiste en una asociación covalente alfa y beta heterodimérica de proteínas en combinación con un complejo de proteínas CD3; las CD3 son las características de todas las células T maduras, el TCR se encuentra solamente en forma de célula asociada y no secretada y lo hacen sólo cuando el antígeno es degradado y

procesado en el interior de la célula presentadora de antígeno (APC), entre las que existen los macrófagos, las células dendríticas y los linfocitos B, y sus determinantes antigénicos, son expuestos en la superficie de estas células, en el seno de una molécula del complejo principal de histocompatibilidad. Las moléculas de dicho complejo (MHC) son una serie de glicoproteínas presentes en las membranas de todas las células nucleadas con excepción de los espermatozoides y del trofoblasto, existen esencialmente dos tipos o clases de antígenos de histocompatibilidad, la molécula clase 1 consiste en tres dominios de cadena pesada y se clasifica a su vez en tipos A, B y C y la clase 2 presenta también tres moléculas polimórficas que son DP, DQ y DR. Las funciones de estas moléculas son presentar antígenos a los linfocitos, el MHC1 presenta los antígenos al linfocito CD8, y el MHC2 lo presenta al linfocito CD4, así como participar en el proceso de maduración de los linfocitos en el timo.

El reconocimiento del antígeno por las células T, exige que previamente sea procesado proteolíticamente en el interior de las células presentadoras de antígeno, la separación de las funciones de los linfocitos CD4 y CD8 viene dada por el origen de los antígenos que reconocen y, en último término, por donde han sido procesados por vía exógena en el sistema endosomal de las células presentadoras de antígeno.

El TCR que reconoce específicamente el antígeno y para ello ha de encontrarlo presentado en el contexto de moléculas MHC; cuando esto sucede, se desencadena una cascada de reacciones bioquímicas en el citoplasma de la célula T, dando así lugar al proceso de activación, proliferación y diferenciación celular.

Estos mecanismos implican la participación de sustancias intracitoplasmáticas, conocidas como segundos mensajeros que son ciertas sustancias de carácter lipídico y proteínas que adquieren su carácter funcional al fosforilarse esencialmente en el aminoácido serina y treonina, la consecuencia final de este tipo de respuesta, es la formación de las células T cooperadoras activas y productoras de interleucinas y células citotóxicas que tienen la capacidad de lisar a las células que portan el antígeno que indujo su activación.

El estudio incluyó tres grupos de mujeres, el primero un grupo de mujeres con endometriosis sin lograr embarazo, conformado por todos los estadios de la enfermedad grados mínima (50%), leve (37.5%), moderado (6.25%) y severo (6.25%), según la clasificación The American Society for Reproductive Medicine ASRM (1996). Un segundo grupo de mujeres con endometriosis que lograron embarazarse en los estadios antes mencionados según la clasificación ASRM leve (50%), moderada (25%) y severa (25%) (1996), y un tercer grupo de mujeres sanas fértiles control.

En nuestro estudio iniciamos la búsqueda de subpoblaciones de linfocitos involucradas con la regulación de la respuesta inmunológica, incluimos el marcador (CD4) linfocito cooperador y (CD8) para identificar linfocitos T citotóxicos y también incluimos el HLA-DR expresado en linfocitos totales en líquido peritoneal y sangre periférica, el cual se ha descrito estar asociado con la activación de los linfocitos T. Señalando que dicha expresión se refiere a la activación que expresan las subpoblaciones antes referidas al iniciar su fase efectora, entendiendo dicha fase como el proceso mediante el cual van a ejercer la función específica correspondiente, como liberación de citocinas, expansión clonal, actividad citotóxica, regulación inmunológica, etc.

En nuestro estudio incluimos mujeres sanas fértiles, las cuales mostraron un valor de activación de HLADR en líquido peritoneal (la media 12.62%), el cual se presenta en pacientes fértiles de nuestra población para nuestro estudio. Dicho valor fue tomado como valor "normal", y aunque no sabemos que tan amplio es el margen que puede presentar en las mujeres fértiles, nos permite tener un valor de comparación con los grupos de estudio, aunque habrá que aumentar el número de evaluaciones al respecto, para definir con claridad el punto de corte y normalidad de dicho parámetro.

Al analizar los valores obtenidos con este marcador, entre grupos de mujeres con endometriosis sin embarazo contra las mujeres control se observó diferencia estadísticamente significativa.

Este dato se ve reforzado por la ausencia de diferencia estadística entre las mujeres control y las mujeres con endometriosis que se embarazaron, interpretando que el grupo de mujeres que logró embarazarse a pesar de haber tenido endometriosis, presentan una

similitud en cuanto a la activación de los linfocitos T del líquido peritoneal con el grupo de mujeres sanas fértiles, lo que va acorde con la idea que relaciona la respuesta inmunológica con la infertilidad.

La similitud entre el grupo de mujeres con endometriosis que se embarazaron y las mujeres sanas fértiles en cuanto al marcador de activación, pensamos que es un factor asociado con el éxito reproductivo espontáneo. Y aunque no tenemos evidencias que nos permitan afirmar la relación directa entre el tratamiento combinado médico y quirúrgico, pensamos que éste es capaz de modificar o compensar directa o indirectamente, la alteración observada en el grado de activación de los linfocitos T, lo cual como ha sido referido con anterioridad, puede estar involucrado en la etiología del proceso de infertilidad que presentaban las mujeres.

Por otra parte los datos obtenidos en el ambiente periférico de los 3 grupos de estudio no mostraron diferencia estadística alguna, lo que refuerza la hipótesis sobre la compartimentalización del ambiente peritoneal en la fisiología de la infertilidad.

A ciencia cierta no sabemos sobre que procesos específicos tuvo lugar la intervención médica, o si las condiciones de respuesta inmunológica, se modificaron de manera independiente por aspectos ambientales o nutricios. Sin embargo es claro que se observa una modificación en el marcador inmunológico HLA-DR de las mujeres que lograron embarazarse, y las que no lo hicieron, bajo un esquema de tratamiento médico muy similar. Así los datos obtenidos en el presente estudio abordan la relación existente entre aspectos clínicos y aspectos básicos etiológicos. Los cuales son necesarios para entender de mejor manera la serie de mecanismos involucrados en la etiología de la esterilidad y la endometriosis como factor asociado.

Será necesario realizar estudios que incluyan un mayor número de observaciones y que permitan conocer y controlar el mayor número de variables relacionadas, de tal manera que sea posible determinar con mayor precisión hasta que punto la respuesta inmunológica participa en el evento. Con la intención de ofrecer nuevas alternativas pronósticas, diagnósticas y terapéuticas, en una de las patologías más importantes en la salud reproductiva.

## **CONCLUSIONES**

1. No hay diferencia estadística entre ninguna de las subpoblaciones analizada, en las mujeres fértiles y las mujeres con endometriosis previa que lograron un embarazo espontáneo, en el compartimiento periférico.
2. Las mujeres con endometriosis que lograron embarazo espontáneo, presentan una modificación estadísticamente significativa (aumentó), en la subpoblación de linfocitos HLA-DR, en el ambiente peritoneal, en comparación con las mujeres que no lograron embarazo. Previo al tratamiento combinado.

## BIBLIOGRAFIA

1. Barbieri R. Etiology and epidemiology of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162: 564-567.
2. Houston D, Noller R, Melton L. Incidence of pelvic endometriosis in Rochester, Minesota, 1970-1979 . *Am J Epidemiol* 1987; 125: 959.
3. Matorras R, Rodriguez F, Piojan J, Ramón O, Gutiérrez . Epidemiology of endometriosis in ifertile women . *Fertil Steril* 1995; 63: 34-38.
4. Zondervan K, Cardon L, Kennedy S. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13:309-314
- 5 Treolar S, O'Connor D, O' Connor V, Martin N. *Fertility and Sterility* 1999;71: 701-710.
- 6 Cramer D, Wilson E, Stillman R, Berjer M, Beslisle S, Schiff The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking and exercise. *JAMA* 1985; 255:1904-1908.
- 7 Baker E, Mathur R, Kirk R. Female runners and secondary amenorrhea: correlation with age, parity mileage and plasma hormonal and sex-hormone-binding globulin concentrations. *Fertil Steril* 1981; 36: 183-187.
- 8 Barbieri R, Callery M, Perez S. Directionality of menstrual flow cervical os diameter as a determinant of retrograde menstruation. *Fertil Steril* 1992; 57:727-730.
- 9 Halme J, Becker S, Haskill S. Altered maturation and function of peritoneal macrophages possible role in pathogenesis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 16: 783-789.
- 10 Hernández C, Vadillo F, Jimenez L, Tlapanco R, Gonzalez M, Ramos C. El líquido peritoneal de mujeres con endometriosis promueve la adhesión celular modelo in vitro. *Perinatol Reprod Hum* 2002; 16:163-171.
- 11 Matsuura K, Ohtake H, Katabuch H, Okamura H. *Gynecol Obstet Invest* 1999;47: 18-20.
- 12 Vercillini P, Chapron C, Fedele L, Frontino G, Zaina B, Giorgio P. Evidence for asymmetric distribution of sciatic nerve endometriosis. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 383-387.

- 13 ACOG Practice Bulletin. Medical Management of Endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 11: 1-14.
- 14 Buyalos R, Agarwal S. Endometriosis associated infertility Current Opinion in Obstet Gynecol 2000; 12:377-381.
- 15 Al Azemi M, López A, Gramsbergen I, Barlow D, Kennedy S. Ovarian response controlled stimulation in in-vitro fertilization cycles in patients with ovarian endometriosis. *Hum Reprod* 2000; 15: 72-75.
- 16 Hock D, Dagostino L, Kemman E, Seifer D. Contribution diminished ovarian reserve to hipofertility associated with endometriosis. *J Reprod Med.* 2001;46:7-10.
- 17 Ho H, Kuo R, Yu H, Ming L, Tsung J, Chun Y. Poor response of ovaries with endometrioma previously treated with cystectomy to controlled ovarian hiperstimulation. *J Assist Reprod Genet* 2002;19: 507-511.
- 18 Harlow C, Cahill D, Maile L, Talbot W, Mears J. Reduced preovulatory granulose cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol.* 1996; 81: 426-429.
- 19 Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cell in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 2000;73 : 344-350.
- 20 Arici A, Oral E, Bukulmez O, Duleba A, Olive D. The effect of endometriosis on implantation: result from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil Steril* 1996;65: 603-607.
- 21 Van der Linden P, Goeij A, Dunselman G, Erkens H. Endometrial cell adhesion in an in vitro model using intact amniotic membranes. *Fertil Steril* 1996;65:76-80.
- 22 Bruce C, Bergqvist A, Carlstron K, Fiauni A, Lecander I. Fibrinolytic factors in endometriotic tissue, endometrium, fluid peritoneal, and plasma from women with endometriosis and in endometrium and peritoneal fluid from healthy women *Fertil Steril* 1998; 70:821-826.
- 23 Van der Linden P, Goeij A, Dunselman G, Erkens H, Evers J. Expression of cadherins and integrins in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril* 1995;63: 1210-1216.
- 24 Dechaud H, Witz C, Montoya I, Degraffenreid L, Shenken R. Mesothelial cell associated hiluronic acid promotes adhesion of

- endometrial cells to mesothelium. *Fertil Steril* 2001; 76: 1012-1018.
- 25 Salamonsen L, Wooley D Matrix Metalloproteinases in normal menstruation. *Human Reprod* 1996;11: 124-133.
  - 26 Bruner K, Eisemberg E, Yeaman G, Anderson T, Mc Bean J, Osteen K. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87: 4782-4781.
  - 27 Oosterlynk D, Cornillie F, Waer M, Vandeputte M, Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium *Fertil Steril* 1991; 56: 45-51.
  - 28 Hernández C, Vadillo F, Jimenez L, Tlapanco R, Gonzalez M, Ramos C. El líquido peritoneal de mujeres con endometriosis promueve la adhesión celular *Perinatol Reprod Hum* 2002; 16: 163-171.
  - 29 Hernández C, Vadillo F, Tlapanco R, Arriaga L, Cerbulo A, González M. Alteración de la respuesta inmunológica sistémica en asociación con endometriosis, empleando un modelo de estudio animal. *Ginec Obstet Mex* 2002; 70: 171-181
  - 30 Berkkanoglu M, Arici A, *Immunology and Endometriosis AJRI* 2003; 50:48-59
  - 31 Hsu C, Lin Y, Wang S, Huang K, Immunomodulation in women with endometriosis receiving GnRHa. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 993-998.
  - 32 Ishimaru T, Khaleque N, Fujishita A, Kitajima M, Masuzaki H. Hepatocyte growth factor may be involved changes to the peritoneal mesothelium adjacent to pelvic endometriosis. *Fertil Steril* 2004; 81 suplemento 1 : 810-818.
  - 33 Hernández C, Vadillo F, Beltran J, Farina M, Avila M, Bustos H. Inducción de la síntesis de óxido nítrico en células mononucleares en cultivo utilizando líquido peritoneal de mujeres con endometriosis, en relación al porcentaje de linfocitos T y células NK identificado en dicho ambiente. *Gine Obstet Mex* 2001; 69: 12-23
  - 34 The practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and Infertility. *Fertil Steril* 2004; 81: 1441-1446