



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

“Evaluación de la receptividad endometrial por medio de la correlación entre el patrón de distribución del flujo sanguíneo endometrial y sub-endometrial, la cuantificación de los niveles de estradiol y la tasa de embarazo en ciclos de FIV-TE y PETE”

Tesis

Que para optar por el título de

Especialista en

Biología de la Reproducción Humana

PRESENTA

Autor: Dr. Luis Miguel Campos Olmedo

Asesor: Dr. Gerardo Velázquez Cornejo



HOSPITAL ESPAÑOL

MÉXICO D.F. AGOSTO DE 2013

HOSPITAL ESPAÑOL DE MEXICO

CLINICA DE REPRODUCCION ASISTIDA HISPAREP



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.

Evaluación de la receptividad endometrial por medio de la correlación entre el patrón de distribución del flujo sanguíneo endometrial y sub-endometrial, la cuantificación de los niveles de estradiol y la tasa de embarazo en ciclos de FIV-TE y PETE.

Autor:

Luis Miguel Campos Olmedo

Residente Segundo año de Biología de la Reproducción

Asesor:

Dr. Gerardo Velazquez Cornejo

Tabla de Contenido

I. HIPOTESIS.....	4
II. JUSTIFICACION.....	4
III. INTRODUCCION.....	5
IV. MARCO TEORICO.....	6
<i>IV.1.1 Causas de Infertilidad.....</i>	6
<i>IV.1.2 Estudio por factores.....</i>	8
IV.2 Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).....	10
<i>IV.2.1 Técnicas de Mediana y Alta complejidad.....</i>	11
IV.2.2 Regímenes de estimulación ovárica.....	11
IV.2.3 Captura de ovocitos.....	11
IV.2.4 Fertilización.....	11
IV.2.5 Transferencia de Embriones	12
IV.2.6 Ciclos de Preparación endometrial y transferencia de embriones (PETE).....	12
IV.3 Epidemiología de la Infertilidad en México.....	13
IV.4 El Endometrio como órgano.....	14
IV.4.1 Anatomia.....	15
IV.4.2 Compartimento estromal.....	16
IV.4.3 Compartimento vascular.....	17
IV.4.4 Angiogenesis en el Endometrio humano.....	17
IV.4.5 CELULAS INMUNES RESIDENTES.....	18
IV.5 REGULACION HORMONAL DEL ENDOMETRIO HUMANO.....	19
IV.6 FUNCIONALIDAD DEL ENDOMETRIO.....	21
IV.6.1 Receptividad endometrial.....	22

<i>IV.6.1.1 Marcadores de receptividad endometrial</i>	23
IV.6.1.2 Diálogo Endometrio-Embrión.....	24
IV.6.1.3QUIMOQUINAS.....	26
IV.7 ULTRASONOGRAFIA EN EL ESTUDIO DEL ENDOMETRIO.....	27
IV.7.1 El doppler como prueba diagnóstica predictora de implantación	30
V. BJETIVO	32
VI.MATERIAL Y METODO	32
VII.RESULTADOS	33
VIII. CONCLUSIONES	38
IX. BIBLIOGRAFIA	39
ANEXO GRAFICOS	41

I.- HIPOTESIS

“La presencia de vasos endometriales y subendometriales se correlaciona positivamente con la tasa de embarazo y también con niveles de estradiol entre 1000 y 3000 pg/mL en ciclos de FIV-TE y de 500 a 1000 pg/mL en ciclos de PETE”.

II.- JUSTIFICACION

Se han descrito una gran cantidad de marcadores de receptividad endometrial; bioquímicos, histológicos y sonográficos.

La ecografía transvaginal es un procedimiento de rutina en las clínicas de reproducción asistida (RA), siendo un método sencillo de control de crecimiento folicular y endometrial. La determinación de la vascularidad endometrial y subendometrial ya ha sido descrita como marcador de implantación endometrial, con resultados alentadores, siendo de fácil aplicación y medición y sin incrementar los costos de los tratamientos de reproducción asistida (TRA).

III.-INTRODUCCION

La infertilidad es una alteración que ha existido desde el inicio propio de la vida, al menos así podría pensarse. Existen datos históricos registrados, como el ya conocido ejemplo de Abraham y Sara (Génesis 1:28), así como en el Nuevo Testamento (Lucas) el caso de Isabel prima de María, la madre de Jesús, quien logro embarazarse a una edad avanzada, después de muchos años sin concebir. En la antigua Mesopotamia al varón le era permitido adquirir una segunda mujer cuando la primera era estéril. En la Grecia clásica, la esterilidad

era producto de la cólera de los dioses. Ya incluso en algunas tribus bárbaras nórdicas se consideraba el compromiso del varón.

En la actualidad la infertilidad es concebida cada vez más como un problema mayor, en algunos países es considerada ya como un trastorno serio de la salud y que trae consigo problemas psicológicos y sociales importantes que tienen o tendrán un gran impacto, como són la inversión de la pirámide poblacional y con ella graves trastornos económicos para dicha sociedad.

La reproducción asistida tiene grandes antecedentes históricos y ha avanzado a pasos agigantados en las últimas décadas. Sin embargo, desde el primer embarazo logrado por fecundación in-vitro (FIV) en los 70's por Edwards y Steptoe, no se ha logrado aún entender el proceso de implantación el cual sigue en un obscurantismo a los ojos científicos.

Con la llegada del FIV y técnicas más avanzadas como la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI), la transferencia intratubaria de gametos (GIFT), y de cigotos (ZIFT) y más recientemente PICSI (ICSI con preselección de espermias) las tasas de embarazo oscilan desde 20 hasta 40-60% de éxito. A pesar de haber logrado dominar el proceso de fecundación, aún no se ha llegado a ese 90 o 100% de éxito, lo cual en gran medida se le atribuye al proceso de implantación, esto es, no se ha identificado el factor principal que permite lograr que una vez que la fecundación se llevo a cabo de manera exitosa, exista una penetración fisiológica del embrión en el endometrio y que este lleve un embarazo a término. Por lo tanto no se ha identificado un marcador, que revele un endometrio que logrará una implantación y un finalmente un bebe en casa.

El endometrio sigue siendo un gran misterio en cuanto a la reproducción se refiere. Existen diversos marcadores de implantación endometrial, (bioquímicos, histológicos, inmunohistoquímicos, imagenológicos), sin embargo ninguno ha demostrado ser el mejor. La mayoría de dichos marcadores son complejos y costosos. En los tratamientos de reproducción asistida, en la mayoría de los casos, generalmente nos limitamos en medir el desarrollo endometrial mediante la valoración sonográfica de su grosor, ya que es un marcador sencillo y práctico de realizar, y que no incrementa los ya de por si altos costos de este tipo de tratamientos. Existen otras aplicaciones del ultrasonido en la valoración de la madurez endometrial, que pueden ayudar a identificar un endometrio con mejores características o peores (según el caso) y que no incrementan los costos del mismo, tal es el caso del empleo del doppler color, power doppler y doppler pulsado. De todas las anteriores, la valoración del flujo sub-endometrial y endometrial por doppler color ha presentado resultados prometedores en otras latitudes sin que requiera entrenamiento especial para su aplicación.

IV.-MARCO TEORICO

La infertilidad es generalmente definida la incapacidad de concebir un embarazo después de un año de coito a intervalos regulares sin ningún método anticonceptivo. La infertilidad afecta aproximadamente a 10-15% de las parejas. La fecundabilidad es la probabilidad de lograr un embarazo por ciclo y la fecundidad es la probabilidad de lograr un hijo vivo por ciclo.(1) Contrario a la percepción popular la incidencia de la infertilidad ha permanecido relativamente sin cambios en las últimas tres décadas. Sin embargo la evaluación y tratamiento de la infertilidad ha cambiado dramáticamente durante dicho tiempo. Son tres los desarrollos importantes que han tenido el mayor impacto. El primero fue la introducción de la fertilización in vitro (FIV) y otras técnicas de reproducción asistida (TRA). Las TRA han provisto los medios de estudio de los procesos reproductivos y han mejorado el pronóstico de un gran número de parejas infértiles, particularmente en aquellas en que su infertilidad es

secundaria se relaciona a daño tubario severo y factor masculino. El segundo son los cambios demográficos y sociales que han tenido como resultado mayor proporción de mujeres que intentan embarazarse en edades mayores cuando son inherentemente cuando son biológicamente menos fértiles. El tercero es la mayor difusión y por tanto preocupación pública sobre la infertilidad y tratamientos modernos, consecuentemente las parejas infértiles buscan atención médica, evaluación y tratamientos con mayor frecuencia.(2)

IV.1.1 Causas de Infertilidad

La causas principales de infertilidad son: disfunción ovulatoria 20-40%, patología tuboperitoneal (30-40%), factor masculino (30-40%), factor uterino y cervical 10%.

La evaluación de la infertilidad está diseñada para aislar y examinar la integridad de cada componente reproductivo.(1 y 2)

La evaluación debe iniciar con una historia clínica y examen físico cuidadosos, que con frecuencia identifican síntomas o signos que sugieren una causa específica y ayudan a enfocar la evaluación a los factores más probablemente responsables. En las mujeres se debe incluir:

- Embarazos, paridad, resultados obstétricos, complicaciones asociadas.
- Duración del ciclo y características, inicio y severidad de dismenorrea.
- Frecuencia coital y disfunción sexual.
- Duración de la infertilidad y resultados de evaluaciones y tratamientos previos.
- Cirugías previas, indicaciones y resultados, enfermedades actuales o previas, episodios de enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), exposición a enfermedades de transmisión sexual.
- Alteraciones previas en el Papanicolaou.
- Medicamentos y alergias.
- Toxicomanias
- Historia familiar de defectos al nacimiento, retraso mental, menopausia precoz y alteraciones reproductivas.
- Síntomas de enfermedad tiroidea, dolor abdominal o pélvico, galactorrea, hirsutismo o dispareunia.

Examen Físico:

- Peso e índice de masa corporal (IMC)
- Crecimiento tiroideo, nódulos o hipersensibilidad.
- Galactorrea o secreciones por el pezón.
- Signos de exceso de andrógenos.
- Hipersensibilidad pélvica o abdominal, crecimiento orgánico o masas.
- Anormalidades vaginales o cervicales, secreciones o descargas.
- Masas, hipersensibilidad o modularidad a nivel de fondo de saco vaginal.

Estudios Básicos

- Papanicolaou
- Serologías para enfermedades de transmisión sexual en la pareja:
 - Chlamydia
 - VDRL (Venereal Disease Research Laboratories) para sífilis
 - Antígenos de superficie y central de hepatitis B
 - Anticuerpos contra hepatitis C
 - Anticuerpos contra citomegalovirus en la mujer.

IV.1.2 Estudio por factores

- Factor Masculino:
 - La evaluación y tratamiento de la infertilidad en el varón debe dirigirse inicialmente con un estudio de espermatozoides (EBD) como paso inicial, acompañado con una adecuada historia clínica del varón. En base a los resultados se realizarán estudios adicionales en caso necesario para definir el origen de alguna alteración.
 - El estudio básico del semen debe realizarse con una muestra obtenida por masturbación en un periodo de tiempo no mayor a

una hora, y debe analizarse en base a los criterios establecidos por las guías de la OMS de 2010 que incluyen los siguientes parámetros:

- Volumen ≥ 1.5
 - Ph 7.2 como valor menor
 - Macroscópicamente debe evaluarse también color, viscosidad licuefacción y viscosidad, deben ser reportados como normales o anormales.
 - Microscópicamente:
 - Concentración espermática de 15 millones por mililitro o más.
 - Motilidad espermática progresiva (MP) de 32% o más.
 - Vitalidad $\Rightarrow 58\%$
 - Morfología $\Rightarrow 4\%$ de formas normales
 - Otros: celularidad y presencia de bacterias.
-
- Factor ovárico: Se evalúa la función ovulatoria
 - Historia menstrual: ciclicidad regular
 - Temperatura basal: elevación de 1 grado centígrado, en la fase lutea.
 - Concentración de progesterona sérica, medición en el día 21-24 del ciclo, un nivel menor de 3ng/ml implica anovulación, 7-8 es positiva de ovulación.
 - Concentración sérica de LH
 - Biopsia endometrial: Búsqueda de endometrio secretor.
 - Ultrasonido endovaginal.
 - Factor cervical:

- Estudio de la interacción del semen y moco cervical.
- Factor uterino:
 - Alteraciones Müllerianas
 - Lesiones intracavitarias: pólipos o miomas, sinequias.
 - Lesiones extracavitarias que comprometan la cavidad uterina: Miomas, adenomiosis, tumores.
 - Empleo de métodos de estudio como son: Histerosalpingografía, Histerosonografía, Histeroscopia.
- Factor tuboperitoneal.
 - Oclusión tubaria
 - Adherencias
 - Empleo de métodos de estudio como son: Histerosalpingografía, laparoscopia, histeroscopia, fimbrioscopia, hidrolaparoscopia.

Una vez que la pareja ha sido estudiada y diagnosticada deberá recibir un tratamiento adecuado y personalizado para cada caso. En algunos casos se puede corregir la causa subyacente de infertilidad con métodos farmacológicos o quirúrgicos y posteriormente recibir manejo conservador para intentar lograr un embarazo de forma natural, o bien someterse a tratamientos especializados de reproducción asistida.(1)

IV.2 Técnicas de Reproducción Asistida (TRA)

Son todas aquellas técnicas que tienen como objetivo lograr un embarazo mediante métodos clínicos, farmacológicos, quirúrgicos y de laboratorio, se clasifican en base a la complejidad de las mismas. Para fines de este trabajo se definen únicamente las de mediana y alta complejidad.

IV.2.1 Técnicas de Mediana y Alta complejidad

Son aquellas técnicas que involucran la manipulación directa de gametos en laboratorio las cuales son:

Fertilización In-Vitro, que consiste en hiperestimulación ovárica controlada con gonadotropinas exógenas, seguimientos con ultrasonido transvaginal, fertilización en laboratorio, y transferencia embrionaria transcervical.

Inyección intracitoplásmica de espermias (ICSI), que es el empleo de muestra espermática, para obtener e inyectar un solo espermatozoide a nivel intracitoplásmico del ovocito previamente seleccionado para ser fecundado.

MESA: Aspiración espermática de epidídimo microquirúrgica

TESE: Extracción espermática por biopsia testicular

Eclosión asistida o Assisted Hatching

Diagnóstico Genético Preimplantación o PGD.

IV.2.2 Regímenes de estimulación ovárica

El esquema de estimulación ovárica ideal es aquel que ofrezca bajas tasas de cancelación, minimice el costo por medicamentos, riesgos y efectos secundarios, requiera mínima monitorización para conveniencia práctica y maximice las tasas de embarazo único. Existen diversos esquemas y estrategias de estimulación ovárica:

- Ciclo natural: Consiste en la extracción de un óvulo de un ciclo ovulatorio natural, requiere monitoreo y detección de elevación del pico de LH sérico.
- Citrato de clomifeno: Consiste en la administración de citrato de clomifeno iniciando el día 3 del ciclo por 5-8 días, induce el desarrollo de dos o más folículos en mujeres normo-ovuladoras (normorrespondedoras).
- Estimulación con gonadotropinas exógenas: consiste en el desarrollo multifolicular idealmente mayor de 3. Los esquemas pueden ser por medio de empleo de agonistas o recientemente de antagonistas de Hormona liberadora de gonadotropinas para inhibición hipofisiaria. Los tipos de gonadotropinas exógenas son menotropinas, folitropinas urinarias y recombinantes.(2)

IV.2.3 Captura de ovocitos

Se realiza generalmente 34-36 horas después de la administración de gonadotropinas coriónica humana (hCG) o disparo (día 11-13 del ciclo). Se

realiza con lavado vaginal con solución salina esteril, se emplea guía ultrasonográfica endovaginal, y se punciona a través del fondo de saco vaginal con una aguja calibre 16-17 para penetrar cada folículo y aspirarlo (presión de vacío de 100-120mmHg).

IV.2.4 Fertilización

Se puede llevar a cabo mediante inseminación convencional o por ICSI ante alteraciones conocidas o sospechadas del factor masculino. Mas recientemente se cuenta con la técnica de preselección espermática para inyección intracitoplásmica mediante una placa de hialuronato, a la cual se adherirán los espermatozoides mejor capacitados y de mejores cualidades y por tanto fisiológicamente normales.

La obtención de espermatozoides se puede realizar mediante muestra en fresco obtenida por masturbación, descongelada, por aspiración de epidídimo o biopsia testicular, y en casos especiales por estimulación por vibración o electroeyaculación. En todos los casos de origen homólogo (pareja de la paciente) o autólogo.

IV.2.5 Transferencia de Embriones

Actualmente la transferencia de embriones se realiza en el día 3 de desarrollo embrionario o en algunos casos en estadio de Blastocisto, se debe individualizar cada caso para tomar esta decisión. Se realiza mediante el empleo de un catéter vía transcervical y con guía sonográfica transabdominal.

IV.2.6 Ciclos de Preparación endometrial y transferencia de embriones (PETE).

Este tratamiento se emplea para aquellas pacientes que recibirán embriones criopreservados y que se descongelarán una vez completada la preparación del endometrio, o bien pacientes que recibirán embriones de donación. La preparación endometrial se puede llevar a cabo mediante un ciclo natural espontaneo, ciclo natural modificado, este último consistente en empleo de hCG para asegurar la fecha exacta de ovulación y en ocasiones soporte de fase lútea con progesterona. En los dos casos anteriores sin intervenir o interviniendo de forma mínima en el desarrollo endometrial. Por otra parte existe la preparación endometrial con el empleo de estrógenos, que puede ser administrado vía oral (valerato de estradiol), transcutánea (parches de etinilestradiol) o vaginal, o de manera combinada. La forma más común es mediante la administración de valerato de estradiol de 2mg a dosis escalonadas de 2, 4, 6 y hasta 8mg/día. En las pacientes con ciclos regulares se recomienda la aplicación de agonista de GnRH de depósito de 3.75mg en la fase lútea media en el ciclo previo. Lo anterior con la finalidad de prevenir la

pulsatilidad de gonadotropinas hipofisarias y cambios endometriales no controlados, que provoquen pérdida de la ventana implantatoria endometrial. Una vez logrado el desarrollo endometrial adecuado (al menos 8mm de grosor endometrial) medido por US endovaginal, se podrá iniciar la administración de progesterona, esta puede ser micronizada, a una dosis estándar de 600mg día, por vía vaginal u oral. El inicio de progesterona debe ser 3 días previos a la transferencia de embriones de día 3, o 5-6 días previos en embriones en estadio de Blastocisto, con la finalidad de conferirle al endometrio una ventana de implantación cronológicamente acorde al día de desarrollo embrionario de los embriones a transferir.(1y2)

IV.3 Epidemiología de la Infertilidad en México

En 2010, la población de México alcanzó los 112.3 millones de habitantes, de los cuales poco más de la mitad era mujer (51.2%). A pesar de que el volumen actual de la población nacional representa 38.3 por ciento más del observado en 1990 (81.2 millones), la velocidad a la que crece se reduce lentamente. Entre 1990 y 2000 la población total se incrementó a un ritmo de 1.9 por cada cien, mientras que entre 2000 y 2010 la tasa de crecimiento total se redujo a 1.4 por cada cien.

De acuerdo con los datos observados, en 2010 poco más de una cuarta parte de la población nacional es menor de 15 años (33.1 millones; 29.4%) y menos de la quinta parte es adolescente o joven (15a 24 años) (21.0 millones; 18.7%). Si bien en conjunto suman cerca de la mitad de la población total, su peso específico en la estructura por edad de la población empieza a disminuir, mientras que los grupos de adultos jóvenes (25 a 44 años), adultos maduros (45 a 59 años) y adultos

Mayores (60 años y más) crecen en el tiempo, reafirmando la tendencia al envejecimiento poblacional que experimenta el país.

En la pirámide de población es posible observar cómo, entre 1990 y 2010, el crecimiento de la población infantil es menor que el de la población mayor de 20 años de edad, lo cual se refleja en el

gradual ensanchamiento de la parte central y superior de la misma, donde se concentra la población adulta y adulta mayor. Un factor a resaltar es que en el país, en 1990, la población femenina es más numerosa que la masculina a partir de los 14 años. Este mismo efecto se nota a partir de los 17 años en 2010.

En México, el artículo 4° de la Constitución Política estipula, entre otros aspectos, la igualdad jurídica de hombres y mujeres, y establece el derecho de toda persona a la salud y a decidir de manera libre, responsable e informada sobre el número y espaciamiento de sus hijos. En este sentido, la disminución en el tamaño de la descendencia es la manifestación más concreta de la apropiación de este derecho.

Indicadores:

- *Tasas específicas de fecundidad.* Es el resultado del cociente de los nacimientos ocurridos entre mujeres en edades fértiles (15-49) durante un periodo de referencia, entre el total de mujeres de dichas edades, en el mismo periodo. Aunque es posible obtener tasas por edad simple, generalmente las tasas se estiman para grupos quinquenales de edad, de tal forma que se cuenta con siete tasas específicas que abarcan todo el periodo reproductivo. De manera convencional, las tasas específicas se expresan por mil y se interpretan como el número de nacimientos observados por cada mil mujeres en un grupo de edad determinado.

- *Tasa Global de Fecundidad (TGF).* Es una medida resumen de la fecundidad que se obtiene de la suma de las tasas específicas. Cuando éstas son quinquenales, la suma de las tasas se multiplica por cinco, de tal forma que el dato refleja, para un solo año, la estimación media de los cinco años considerados en cada grupo de edad. La tasa global de fecundidad se interpreta como el número promedio de hijos que una mujer tendría a lo largo de su vida fértil, bajo las condiciones de mortalidad y fecundidad observadas en la población al momento del análisis.

En el país la fecundidad ha experimentado un descenso acelerado desde mediados de la década de los setenta y durante los últimos años. En 1992 la tasa de nacimientos entre las mujeres mexicanas se redujo a 3.35 hijos y a 2.24 en 2009. Sin duda, uno de los determinantes de este descenso ha sido el uso de la tecnología anticonceptiva.

En México existen limitaciones para conocer con precisión la incidencia global de la infertilidad. A pesar del alto índice de crecimiento poblacional, hay datos que permiten suponer que el 15 % es una cifra que se aproxima a la realidad y que la prevalencia aumenta por las tensiones del mundo moderno, la tendencia a posponer embarazos para edades más avanzadas, el empleo indiscriminado de técnicas anticonceptivas, la mayor incidencia de enfermedades de transmisión sexual, automedicación, obesidad, dietas muy restrictivas, ejercicios extenuantes, exposición a tóxicos ambientales, tabaquismo, alcoholismo, drogadicción, etc.(3)

IV.4 El Endometrio como órgano

El endometrio humano es la mucosa que tapiza la cavidad uterina. Es un órgano regulado hormonalmente, con cambios periódicos que son base del ciclo menstrual en humanos y primates superiores. Tiene como finalidad su preparación para adquirir estado receptivo para la implantación embrionaria y gestación. Puede sufrir alteraciones patológicas como la endometriosis, hiperplasia, y cáncer. En la actualidad aún se emplea el fechado endometrial

con los criterios de Noyes (1950) y aún se desconoce la etiología clara de la endometriosis descrita por von Rokitanski (1860). El cáncer endometrial se ha convertido en el más común de los cánceres del aparato genital en EE.UU. y Europa (Evans 1995) y es el cuarto en incidencia en la mujer después del cáncer de mama, pulmón y colon. Por lo anterior se hace necesaria la investigación del endometrio con nuevas tecnologías para mejorar las posibilidades diagnósticas y terapéuticas.(4)

IV.4.1 Anatomía

El endometrio está constituido por un compartimento epitelial, estromal y vascular, con una población de células inmunitarias. Todo ello en dos regiones, denominadas funcionalis y basalis. La funcionalis se transforma y regenera cada mes y la basalis permanece y constituye la base para regenerar el endometrio.

Compartimento epitelial

El epitelio endometrial constituye una mono capa de células cuboides polarizadas que tapizan la cavidad uterina, presenta un componente luminal y otro glandular. Actúa como barrera para proporcionar protección contra los patógenos que acceden hasta la cavidad, y permite permitiendo la implantación embrionaria, que es su función primordial.

Este epitelio está regulado por hormonas esteroideas ováricas, que inducen cambios morfológicos y bioquímicos cíclicos que ayudan a mantener un microambiente adecuado para la implantación. Controla en este proceso la adhesión del embrión sobre el estroma y los vasos endometriales, actuando como primer mediador del diálogo entre el embrión y el endometrio. El endometrio luminal varía su morfología según la fase del ciclo menstrual en un proceso denominado “transformación de la membrana plasmática y citoesqueleto “ La célula epitelial en respuesta a los estrógenos desarrolla unas microvellosidades (mv) largas y unas cortas uniones estrechas en la membrana lateral más apical. El cinturón de actina es prominente y los desmosomas son comparativamente más numerosos. Durante la fase secretora, los microvillis disminuyen y las protuberancias apicales se hacen más prominentes en el lumen uterino.(4)

Otras estructuras vistas en microscopía electrónica son los pinópodos o uterodomas, que parecen actuar en la modulación del ambiente uterino, absorbiendo por endocitosis el líquido endometrial del lumen para hacer coalescer las paredes endometriales además de otras funciones secretoras. Por lo cual se consideran marcadores de receptividad endometrial.

El endometrio glandular forma las glándulas endometriales que proliferan en la fase secretora temprana como glándulas largas y tortuosas que aumentan progresivamente conforme el ciclo avanza. Tienen secreción de moléculas necesarias para la nutrición e implantación del blastocisto como la glicodelina. Las características ultra estructurales asociadas son acumulación de glucógeno citoplásmico subnuclear, mitocondrias gigantes y desarrollo de canales nucleares.

IV.4.2 Compartimento estromal

El estroma endometrial es un tejido conectivo compuesto por células y matriz extracelular, compuesto mayormente por fibroblastos que está implicado en la remodelación de la matriz extracelular en el ciclo menstrual, principalmente en la fase lútea mediante la decidualización, que es una serie de cambios morfológicos, bioquímicos y génicos de los fibroblastos en respuesta a la exposición a los estrógenos y progesterona, dirigidos a regular la implantación mediante el control de la invasión del trofoblasto en el útero. Esta se lleva a cabo en el día 6 a 7 después del aumento de la progesterona, las células estromales sufren un cambio pasando de células pequeñas y compactas a grandes y poligonales con núcleo vesicular bien definido, aparato de Golgi desarrollado y laminillas paralelas de retículo endoplasmático. Comienzan a producir y secretar PRL e IGFBP-1 como moléculas definitorias de decidualización. Producen además FGF, EGF, proteínas de la matriz extracelular como laminina, fibronectina y heparán IV. La reacción decidual perivascular aparece el día 23 y alcanza la superficie epitelial al día 25 a 26 del ciclo.(4)

IV.4.3 Compartimento vascular

La arquitectura vascular intrauterina está compuesta por una intrincada red que comienza en el miometrio. Las arterias uterinas forman las arterias arcuatas, las cuales dan lugar a las arterias radiales que, al atravesar el espesor del miometrio, llegan a la unión endometrio-miometrio donde se diferencian en arterias basales, las cuales a su vez forman una red anastomótica de donde salen las arterias espirales, que son terminales y mantienen la capa basal.

La ramificación de las arterias espirales ocurre en la capa funcional. Justo debajo de la superficie se introducen en un plexo subepitelial prominente que desemboca en sinuosas venas. Cada arteriola espiral da suministro a un área de superficie endometrial de 4-8 mm². La angiogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vascularización preexistente. En los tejidos adultos tiene lugar en los procesos de cicatrización

en heridas y fracturas. En el aparato reproductor femenino sufre una excepción dada su ciclicidad en el endometrio. La angiogénesis se induce durante el desarrollo del folículo ovárico hasta la formación del cuerpo lúteo, en el desarrollo endometrial, en la implantación y placentación durante la gestación y en el tejido mamario en la lactancia. Además el crecimiento vascular inapropiado está asociado con estados patológicos como el crecimiento de tumores, retinopatías, endometriosis, hemangiomas, fibrosis, artritis reumatoide. Este proceso es regulado por un balance entre factores angiogénicos y antiangiogénicos. Los primeros están asociados a dos familias de proteínas caracterizadas por su capacidad de fijar heparina, que son factor de crecimiento fibroblásticos (FGF) y factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). La angiopoyetina-1 (Ang-1) es un factor angiogénico que interacciona con las células endoteliales a través del receptor TIE-2. Es necesaria para el desarrollo normal de nueva vasculatura. Existe el Ang-2 que se considera como antagónico del Ang.1 y el TIE-2. Se han identificado 1(agonista),2 y 3(antagonistas) en el ratón y Ang-4 (agonista) en el humano.

IV.4.4 Angiogenesis en el Endometrio humano

Hay 3 estados cruciales en los que hay angiogénesis en el endometrio: durante la menstruación para la reparación del lecho vascular, durante la fase proliferativa de crecimiento endometrial rápido y durante la fase secretora cuando las arterias espirales tienen crecimiento significativo. La reparación post-menstrual se produce en la zona superficial de la capa basal. El crecimiento vascular de la fase proliferativa sucede en la capa funcional en la cual, bajo la influencia de los estrógenos, el endometrio cuadruplica su grosor.

La angiogénesis en el endometrio humano no ocurre por la vía clásica, que consiste en la migración y proliferación de células endoteliales, rotura de la lámina basal y fusión de brotes endoteliales, sino que se produce por los mecanismos no clásicos de intususcepción (crecimiento por adición de tabiques celulares dentro de los vasos establecidos) y elongación. El vaso por tanto no se agrieta y el flujo no se interrumpe. El mecanismo de elongación domina la fase proliferativa, mientras que la intususcepción es el proceso principal durante la fase secretora temprana y media. La angiogénesis está regulada por muchos factores como el óxido nítrico (ON), las metaloproteasas de la matriz (MMPs) y factores de crecimiento donde se incluye el FGF, el EGF y el que juega el papel más importante en la angiogénesis, el VEGF. La expresión de este ha sido descrita durante el ciclo menstrual, el origen de la inmensa mayoría del VEGF endometrial es glandular, se secreta apicalmente y es improbable que tenga función angiogénica en el endometrio humano. Algunos estudios relacionan la expresión del VEGF en el endometrio humano

con marcadores conocidos de angiogénesis y con la proliferación de células endoteliales. Se ha visto que durante la fase proliferativa, la proporción de capilares que expresan VEGFR-2 es mucho más alta que en la fase secretora. Parece evidente que la angiogénesis se activa de forma significativa durante la fase proliferativa del ciclo menstrual. El origen de la angiogénesis endometrial (mediante intususcepción o elongación) proviene de células de dentro del torrente vascular. En soporte a esta hipótesis está la demostración de que algunos leucocitos circulantes como los neutrófilos, expresan constitutivamente VEGF en gránulos específicos que son liberados cuando estas células se activan. Es posible que el VEGF observado en el endometrio humano esté localizado en los leucocitos intravasculares, los cuales tienen un papel importante en la angiogénesis al secretar VEGF directamente a las células endoteliales intravasculares, lo que induce angiogénesis endometrial(5)

IV.4.5 CELULAS INMUNES RESIDENTES

El sistema inmune constituye en los mamíferos un mecanismo adaptado de defensa, capaz de protegerlo de la invasión de organismos infecciosos, y sus productos tóxicos, células anómalas y extrañas. Dentro de este sistema de vigilancia hay dos categorías: la inmunidad natural, mediada por células que responden de forma inespecífica, y la inmunidad adquirida, mediada por linfocitos capaces de sintetizar receptores de superficie o secretar proteínas específicas (anticuerpos) que se unen a las moléculas extrañas, respetando al mismo tiempo las moléculas del propio organismo (tolerancia). La respuesta adquirida se divide en dos clases: La humoral que resulta de la generación de anticuerpos, y la celular, que supone la generación de células citotóxicas encargadas de provocar la lisis celular de las células extrañas o propias infectadas por agentes externos.

Todas las células del sistema inmunitario proceden de células primordiales pluripotenciales a través de dos líneas principales de diferenciación: la línea linfóide, que da lugar a la formación de los linfocitos y la línea mieloide, que conduce a la formación de fagocitos (monocitos/macrófagos y granulocitos polimorfonucleares).

El endometrio humano contiene células del sistema inmunológico que son relevantes para la fisiología endometrial, especialmente en la regulación de la respuesta inmune local para la protección del tracto genital frente a infecciones y para evitar el rechazo inmunológico durante la implantación embrionaria. La población leucocitaria encontrada en el endometrio normal supone entre un 10-15% de la celularidad del estroma, fluctúa cíclicamente y es máxima en la fase secretora tardía y premenstrual (Bulmer y Johnson, 1985) esta población está formada fundamentalmente por células natural killer uterinas (NKu), macrófagos y linfocitos T.

La población mayoritaria de células inmunes residentes durante el periodo preimplantatorio son las NKu (King,2000) que se caracterizan inmunológicamente por ser CD56+, CD16- y CD3-. Estas células se localizan durante este periodo en la proximidad de las glándulas endometriales y de las arteriolas espirales (King,2000). Se ha especulado sobre su posible regulación hormonal aunque, ninguno de los receptores de estrógenos y progesterona han podido ser identificados en ellas.

Los linfocitos T están implicados en inmunosupresión y en promover la proliferación de células de la placenta. Han sido localizadas en tres lugares distintos: intraepitelial, intersticial, y en agregados linfoides de la región basal del endometrio. Los linfocitos T (CD8+, células supresoras/citotóxicas) se incrementan de LH+4 a LH+7. Se piensa que los macrófagos (fenotipo: CD68+, CD14+, MHC clase II+) también están implicados en la inmunosupresión, y la presentación de antígenos CD68+ se incrementa de LH+10 a LH+13.

Los macrófagos son por excelencia las células presentadoras de antígenos a los linfocitos T Hellper. Se originan en la médula ósea, gracias a la intervención del factor estimulador de colonias (CSF). Los monocitos, al salir de la médula ósea, circulan por el torrente sanguíneo, donde permanecen 24hrs, tras las cuales abandonan los vasos, pasan a los tejidos, y ahí se convierten en macrófagos. Al penetrar en los tejidos, donde permanecen 60 o más días, algunos de los monocitos se convierten en células fagocitarias. Presentan además una amplia función secretora. Se han descrito más de 100 moléculas diferentes secretadas por los macrófagos, entre ellas: enzimas proteolíticas (colagenasas, elastasa, lisozima), hidrolasas ácidas(ribonucleasas, fosfatasas, lipasas), lípidos bioactivos (tromboxano, leucotrienos, y PGE2), inhibidores de enzimas (inhibidores de plasmina b2, microglobulina), componentes de complemento, proteínas de ligación (fibronectina) citoquinas y quimoquinas. Muchas de estas moléculas desempeñan un papel fundamental en la implantación embrionaria, en concreto, en la invasión del embrión del endometrio materno. Los monocitos y los macrófagos tisulares constituyen la fuente principal de IL-1. El incremento de la síntesis de IL-1 contribuye al aumento de la respuesta inmune. La activación de las células T y B es, probablemente **No se encuentran entradas de índice.e**, la función biológica más característica de la IL-1, ya que, tanto los linfocitos T, como los B, poseen receptores para la IL-1. La ocupación de estos receptores cuando se activan los receptores propios del antígeno inducirá la proliferación de ambos tipos de células, y al incremento de la respuesta inmunitaria. Las citoquinas no son solo importantes en la respuesta inmune, sino también en la regulación de la homeostasis endometrial y en su funcionamiento. (6)

IV.5 REGULACION HORMONAL DEL ENDOMETRIO HUMANO

El útero es órgano diana de estrógenos y progesterona, la ciclicidad menstrual de los primates superiores se debe a ambas. La proliferación endometrial es regulada por los estrógenos y estos a su vez regulan la vascularización. Los progestágenos contrarrestan las acciones proliferativas de los estrógenos reduciendo receptores, aumentando la tasa de metabolismo de estradiol a compuestos inactivos (estrone y metabolitos sulfatados) y la interferencia con las acciones transcripcionales de los estrógenos. El E2 circula en la sangre unido a proteínas y libre, para ejercer su efecto es captado por un transportador intracelular, que lo transporta al núcleo donde se encuentra el receptor con la subsecuente transmisión al ADN y producción de ARNm y síntesis protéica, obteniéndose una respuesta celular.

La acción de los estrógenos está mediada por la presencia de receptores en los tejidos diana, se reconocen dos tipos a y b, pertenecen a la subgrupo A de la subfamilia 3 de receptores nucleares, el a tiene mayor afinidad por los E2, tienen afinidades distintas por ligandos como raloxifeno y tamoxifen (SERMs). A parte de la acción genómica existe una no genómica debido a receptores de membrana, responsable de flujo de iones, descarga de vesículas secretoras o activación de proteín-quinasas.

La proliferación endometrial está regulada por E2 y estos regulan su vascularización. REa y REb se localizan en epitelio glandular y células del estroma endometrial durante el ciclo menstrual, siendo superior la expresión de REa (300 veces superior en fase proliferativa). Presenta disminución importante en su expresión durante la fase secretora en la capa funcional no así el REb. La población mayoritaria de células inmunes residentes durante el periodo preimplantatorio son las NK uterinas (natural killer), se encuentran en la proximidad de las glándulas endometriales y arteriolas espirales. Su presencia es máxima durante la implantación y decidualización. Este efecto se ha estudiado en los ratones ERKO, los b-ERKO tiene úteros similares a los tipos normales con disminución de grosor.

Los E2 regulan la proliferación endometrial promoviendo producción de factores de crecimiento como el factor tipo Insulina (IGF.1), de transformación (TGF-B) y epidérmico (EGF).

La progesterona juega un papel central en los procesos reproductivos asociados con el inicio y mantenimiento de la gestación. Los receptores de la progesterona codificados por el mismo gen se transcriben como dos isoformas; RPA y RPB. Los animales con la mutación del gen (RPKO) presentan comportamiento sexual anómalo, anovulación, disfunción uterina, y alteración de la formación de la glándula mamaria. Los RP's son mediadores para la ruptura folicular inducida por el pico de LH.

Los RPKO presentan implantación embrionaria defectuosa y alteración de la deciduización, dicho defecto se debe a la alteración del RPA.

La progesterona presenta otro modo de acción no genómico al igual que el E2. Se trata de un receptor que no activa transcripción, al ser activado bloquea la actividad adenilciclasa y la producción de AMPc.

Los estrógenos son el estímulo proliferativo primario para el epitelio endometrial que es inhibido por la progesterona. La mutación de los RPA y RPB resulta en hiperplasia del epitelio glandular y luminal.

Muchos más compuestos secretados por el endometrio son regulados por las acciones de los esteroides como las mucinas, el componente secretor de IgA, la proteína endometrial asociada con la progesterona, la proteína plasmática A asociada al embarazo (PPAP-A), la prolactina, la uteroglobina, el Ca-125, las citoquinas, péptidos opioides (endorfina y leucoencefalina), enzimas como diamina oxidasa, activador de plasminógeno, relaxina y renina, todos estos productos actúan de forma auto/paracrina en el proceso de implantación y son modulados por P y E2. (7)

IV.6 FUNCIONALIDAD DEL ENDOMETRIO

El endometrio es un órgano activo y dinámico cuya función primordial es hacer posible la implantación del embrión y el desarrollo fetal y su existencia constituye la condición sine qua non para la continuidad de la especie en los mamíferos.

Tiene dos funciones básicas: el desarrollo temporal de su capacidad de adhesión que permite la implantación del embrión, proceso denominado receptividad endometrial, y su participación activa en el diálogo inicial con el embrión que llevará al proceso de adhesión e invasión que dará lugar a la placentación, el desarrollo fetal y finalizará con el parto.

IV.6.1 Receptividad endometrial

Delimita un periodo de tiempo conocido como ventana de implantación, en la que es posible la adhesión del blastocisto al endometrio materno. El epitelio luminal adquiere su receptividad por la presencia de P endógena o exógena tras el estímulo con 17 β -estradiol E2. Dicha ventana se abre en el día 4-5 tras la ovulación y se cierra en el día 9-10. Durante este periodo en la membrana plasmática de las células endometriales se producen cambios morfológicos y bioquímicos originados por modificaciones génicas conocidos como "la transformación de la membrana plasmática".

IV.6.1.1 Marcadores de receptividad endometrial

Se han estudiado las integrinas, familia de moléculas de adhesión celular. La activación de las integrinas induce su agrupación, se produce la activación de las señales intracelulares. A continuación se forman las adhesiones focales donde las integrinas se unen al cito esqueleto intracelular y filamentos de actina, para continuar así la transducción de señales. Las integrinas B3, a4, a1 se definieron como marcadores diagnósticos de receptividad endometrial. El grupo del Dr. Balasch demostró la existencia de una clara disociación entre la expresión temporal de las integrinas a1 y B3 con la expresión de pinópodos, y no encontraron diferencias de expresión de estos marcadores entre mujeres fértiles e infértiles.

Las mucinas son el mayor constituyente del moco y actúan en términos generales como moléculas de antiadhesión, son una familia de proteínas altamente glicosiladas, de elevado peso molecular (>200kDa), que se encuentran en la superficie de las células epiteliales de distintos tejidos. Formadas por esqueleto protéico a modo de fibra que contiene regiones altamente glicosiladas y regiones sin glicosilar. Las mucinas asociadas a la superficie celular pueden actuar como barrera entre la membrana celular y el medio externo; actúan como pantalla para microorganismos toxinas y ataque proteolítico.(8)

MUC1 actúa como barrera física para la implantación del embrión. Los niveles de MUC1 se elevan con la progesterona durante la ventana de implantación. Se ha demostrado con inmunofluorescencia indirecta y microscopía confocal que en los sitios de implantación el embrión induce un clivaje o rotura específica de la MUC1 en la zona del epitelio endometrial al que se va adherir.

La osteopontina, el receptor de la integrina avB3, ha sido detectada durante la fase receptiva en el epitelio glandular endometrial.

Se han descrito además leukemia inhibitory factor (LIF) y la leptina como participantes en los ratones Knockout, otros factores también descritos son HB-EGF (heparinbinding EGF likegrowth factor, lactoferrina o el gen homeobox 10 (HOX 10) como posibles moléculas implicadas en la receptividad endometrial.

IV.6.1.2 Diálogo Endometrio-Embrión

En la especie humana, en condiciones naturales solo 35% de los embriones consiguen su implantación. Las causas de que no se logre una implantación, se comparten entre el embrión (30% de los blastocistos son anómalos morfológicamente in vivo), diálogo defectuoso entre el embrión y el endometrio materno. Este porcentaje es aún mayor en mujeres sometidas a ciclos de reproducción asistida, la alteración endometrial propia de los tratamientos farmacológicos utilizados junto con la mayor incidencia de alteraciones

cromosómicas embrionarias altera el diálogo inicial entre el embrión y el endometrio.

La implantación consta de 3 fases entre el 6º y 7º día tras la ovulación en un ciclo natural. Aposición en la que el blastocisto se orienta hacia una zona determinada de la superficie luminal de la cavidad endometrial donde posteriormente se fijará, Adhesión donde el trofoectodermo del blastocisto contacta directamente con el epitelio endometrial y, en la invasión el embrión induce la rotura de la membrana epitelial y penetra en el estroma endometrial decidualizado.

El estudio de la relación entre el sistema inmune y el sistema reproductor ha permitido demostrar la función de determinadas citoquinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión en los órganos del tracto reproductor. El proceso de implantación embrionaria presenta muchas similitudes con el proceso de migración leucocitaria, ya que el leucocito en su migración a través del endometrio presenta unas fases similares al embrión cuando atraviesa el epitelio endometrial e incluso comparten la funcionalidad de determinados grupos de moléculas como integrinas, tetraspaninas y selectinas.(9)

Fase de aposición

En esta fase o también llamada de orientación es la menos estudiada y tiene lugar entre los días 5-6 postovulación, cuando el blastocisto tiene un tamaño aproximado de 300-400µ de diámetro. El blastocisto humano permanece libre en lumen uterino, que se ha estrechado haciéndose prácticamente virtual. El blastocisto se posiciona habitualmente en una zona determinada del útero que depende de la especie, en seres humanos es el fundus y el tercio superior de la cara posterior. Esto es importante porque determina la localización de la placenta. El disco embrionario (masa celular interna) que dará origen al embrión, se posiciona en un lugar específico, en la región donde el trofoblasto se vuelve invasor al contrario del ratón.

La salida del embrión de la zona pelúcida (ZP) o “eclosión” es un requisito importante para la implantación. El embrión es capaz de salir de la zona pelúcida *in-vitro* o en lugares ectópicos, lo que indica que no necesita la interacción con el endometrio en este proceso. Sin embargo, cabe destacar que en condiciones *in vitro* o fuera del endometrio, la salida se retrasa al menos un día en comparación con las condiciones intraútero. Esta rotura no implica capacidad de implantación instantánea, sino que debe ser adquirida en un periodo que oscila entre minutos y horas.

Se desconoce todavía cómo el blastocisto llega a su lugar final de implantación, pero se cree que puede estar relacionado con la presencia de receptores de quimoquinas en su superficie como el CCR2 (receptor de MCP-1) o CCR5 (receptor de RANTES) y, puesto que el endometrio secreta multitud de

quimoquinas en el momento de la implantación, se piensa que el blastocisto podría ser atraído por estas quimoquinas hacia el sitio de implantación.(9)

Fase de adhesión

En el proceso de implantación, la fase de adhesión implica la unión de dos organismos que son genética e inmunológicamente distintos, concretamente de las superficies apicales de sus epitelios (endometrial y trofoectodermo). Dicha adhesión está mediada por la inducción esteroidea y/o embrionaria de moléculas de adhesión en la superficie celular del epitelio luminal durante la ventana de implantación.

Las moléculas de adhesión implicadas en la adhesión célula-célula y en la adhesión célula-MEC son cruciales para la unión del blastocisto al endometrio materno. Así pues, estas primeras interacciones que mencionábamos anteriormente podrían venir seguidas de eventos de adhesión mediados por integrinas, cadherinas y selectinas. La expresión de las cadherinas y selectinas también ha sido descrita en el epitelio endometrial y en el trofoblasto (MacMalman y cols., 1996). Una de las selectinas descritas como fundamentales para el proceso de implantación es la L-selectina. La existencia de sus ligandos en el endometrio ha sido demostrada, así como la existencia de L-selectina en células trofoblásticas del embrión humano.(9)

Fase de invasión

El siguiente paso es la penetración del blastocisto a través del epitelio endometrial y la invasión del estroma por parte del trofoblasto. En la especie humana, el blastocisto se adhiere a la monocapa epitelial e induce una reacción apoptótica paracrina mediada por el sistema Fas-Fas ligando (Galán y cols., 2000] que permite al blastocisto atravesar la barrera epitelial. Posteriormente, el blastocisto se embebe en el estroma y el sitio de entrada en el epitelio es rápidamente cubierto por fibrina, sobre la cual las células epiteliales crecen de nuevo. En la especie humana, la placentación es hemocorial, para ello el trofoblasto invadirá el estroma y formará las vellosidades coriales en contacto con las lagunas de sangre maternas, garantizándose le supervivencia fetal. Este proceso necesita una regulación muy precisa para prevenir posibles invasiones patológicas por exceso, como ocurre en los casos de placenta áceta o, por defecto, como es en el caso de la preeclampsia.(9)

El control de este proceso invasivo es mediado por diversas proteasas que degradan MEC, entre ellas las serinproteasas, metaloproteasas y colagenasas. Entre las serinproteasas más relevantes nos encontramos con los Activadores del Plasminógeno Uro quinasa (uAP) y de tejido) tAP), que catalizan a

conversión del plasminógeno a plasmina, con una amplia actividad proteolítica capaz de degradar directamente la matriz extracelular.

Las metaloproteasas de matriz (MMP) son una familia de endopeptidasas dependientes del zinc que poseen actividad proteolítica contra muchos de los componentes de la MEC. Son secretadas como proenzimas inactivas y se activan tras cortar una región de su zona amino terminal. De acuerdo con su especificidad por un sustrato, se distinguen tres grupos: colagenasas, gelatinasas y estromalinas. En concreto, las MMPs 2 y 9 se producen durante el período implantatorio.

El proceso de invasión se caracteriza por el cambio del trofoblasto a un fenotipo invasivo mediante la expresión de un repertorio específico de integrinas. El trofoblasto extravellado pierde la polarización de la integrina CL6 34 (receptor de laminina) y comienza a migrar mientras secreta proteasas para digerir la MEC [Bischof y Campana, 1997]. Una vez que el blastocisto ha atravesado la membrana basal, la migración del trofoblasto necesita la expresión de integrinas $\alpha 5$ y $\beta 1$. Esta migración se encuentra estimulada por el factor de crecimiento similar a insulina II (IGF-II) y por la proteína de unión al factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGFBP-I), mientras que puede ser inhibida por el factor de crecimiento transformante-43 (TGF-13).

Otro tipo de moléculas importantes en el proceso de invasión y en general, en toda la implantación, son las citoquinas. Estas proteínas están en relación directa con las proteínas invasivas citadas en este apartado que, a su vez, se encuentran reguladas hormonalmente. Las interleucinas IL-1, IL-1 β e IL-1 α , así como otras quimoquinas, son importantes para el proceso de invasión, puesto que atraen distintos grupos de células linfocitarias, según su función.

La progesterona es la hormona que mayor control ejerce sobre las moléculas de adhesión en el endometrio humano, especialmente sobre las integrinas. Las citoquinas y factores de crecimiento también presentan una regulación sobre estas moléculas de adhesión.

Por último, otros factores importantes en la fase de invasión son las galectinas, que juegan un papel importante en la adhesión célula-célula, migración y quimiotaxis. Además, son importantes mediadores de la inflamación han sido caracterizados como defensa frente microorganismos. Las galectinas 1, 3 y están incrementadas en la fase secretora. La expresión de galectina 9 se activa durante la ventana de implantación y se incrementa en la decidua temprana.(9)

IV.6.1.3QUIMOQUINAS

Este grupo de moléculas se encuentra dentro de la familia de las citoquinas y su descubrimiento y caracterización data de apenas 10 años. Las quimoquinas se caracterizan porque además de su actividad autocrina/paracrina propia de las citoquinas, poseen la interesante capacidad de ejercer quimiotaxis, es decir,

atracción sobre distintos tipos celulares. Son capaces de estimular el reclutamiento de leucocitos, al actuar como mediadores secundarios en el proceso de la inflamación, inducidos por mediadores pro inflamatorios primarios como la IL-1 o el TNF-3. Las quimoquinas son reguladas hormonalmente de manera primordial por las propias citoquinas. De acuerdo con la posición de una de sus cisteínas, estas moléculas se clasifican en cuatro grupos principales denominados CC, CXC, XC y CX3C.

La importancia de las quimoquinas radica en parte, en su relativa especificidad en el reclutamiento de determinados tipos de leucocitos que dependen del estatus fisiopatológico, como la menstruación, en distintas patologías ginecológicas como el parto pretérmino o la endometriosis.

Estas moléculas actúan mediante su unión a receptores específicos que pertenecen a la superfamilia de las proteínas de membrana. Estos tienen siete dominios transmembrana, un dominio extracelular con uno o varios sitios de glicosilación y un dominio citoplasmático, por el que se unen a proteínas G. La principal función de dichos receptores es la de transmitir información del exterior al interior de la célula. Su unión, y con ello su actividad biológica, está relacionada con una secuencia tripeptídica ELR [glutamato-leucina-arginina].

Muchos de estos receptores se han relacionado con patologías específicas, como es el caso del receptor CCR5, implicado en el asma, nefritis y SIDA, o el receptor CCR2, relacionado con arterioesclerosis. (9)

Las quimoquinas se activan mediante las interacciones célula-célula entre leucocitos o bien entre endotelio vascular-leucocitos. Estas interacciones regulan las propiedades de adhesión de las integrinas leucocitarias. Se cree que las quimoquinas son responsables de la formación de urópodos [modificaciones del citoesqueleto Ca²-dependientes que favorecen la migración celular), así como de la regulación de la expresión y redistribución de moléculas de adhesión como las integrinas.

La IL-8, recientemente renombrada CXCL8, es un potente factor quimioatrayente y activador de neutrófilos. Pertenece a la subfamilia 3 o quimoquinas CXC. Es producida por una gran variedad de células como monocitos, macrófagos, neutrófilos, fibroblastos, células endoteliales y linfocitos T, en respuesta a estímulos proinflamatorios como la IL-1, TNF- α , LPS y virus.

La MCP-1, también conocida como CCL2, es el miembro mejor estudiado de la subfamilia 2 o quimoquinas CC. Existe un solo gen que codifica una proteína monomérica de 76 aa, secretada en dos formas de 9 y 13 da, ambas con idéntica actividad in vitro. MCP-1 actúa de forma selectiva sobre poblaciones de monocitos, macrófagos, linfocitos T y basófilos, mediante la unión a sus receptores específicos.

RANTES [“Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted”], ahora denominada CCL5, también pertenece a la subfamilia 3 o quimoquinas CC. Los receptores de RANTES no son específicos, ya que comparten aproximadamente el 30% de la secuencia de aminoácidos con los receptores de IL-S tipo 1 y tipo II. RANTES, al igual que IL-B y MCP-1 parece desempeñar funciones importantes en la mediación de procesos inmunológicos e inflamatorios en distintas localizaciones.

Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1 1 o CXCL1 2 es una quimoquina miembro de la familia CXC que atrae tanto a linfocitos 8 como 1, su papel en la infección linfocitaria por el virus del SIDA ha sido exhaustivamente caracterizado. Estudios realizados en ratones deficientes en SDF-1 y su receptor CXCR4 demuestran su papel significativo en la linfopoyesis, así como en el desarrollo neural y cardiaco.(9)

IV.7 ULTRASONOGRAFIA EN EL ESTUDIO DEL ENDOMETRIO

La ecografía representa una herramienta en el estudio del endometrio, permite evaluar tamaño, textura, volumen y vascularización, es aplicable al endometrio cíclico fisiológico y estimulado o bien en la detección de patología.

Mediante el doppler color podemos obtener un mapa vascular de la zona de interés. En este sentido cabe señalar que el powerdoppler, proporciona información más precisa a la hora de analizar la perfusión endometrial y sus cambios cíclicos.(10)

La ecografía en escala de grises 2D constituye en la actualidad la herramienta de uso rutinario en el estudio del endometrio y nos proporciona información sobre su tamaño, textura y existencia de patología endocavitaria. Se deben emplear sondas de alta frecuencia de 7.5MHZ y su estudio debe hacerse por vía endovaginal.

En cuanto al empleo del doppler podemos obtener doppler pulsado, color, power doppler, power doppler 3D, el doppler pulsado permite obtener una onda en la que se representan las velocidades de la sangre a lo largo del ciclo cardiaco, como la estimación de la velocidad depende del ángulo de insonación, lo ideal es que el ángulo se aproxime a 0 grados para que la estimación sea lo más precisa posible. En ginecología podemos utilizar el doppler pulsado para estimar velocidades a nivel de la arteria uterina, arcuatas, radiales e incluso espirales, si bien, en los pequeños vasos de trayecto no rectilíneo es preferible utilizar índices para evitar el sesgo producido por el ángulo de insonación.(11)

Doppler color. El doppler color detecta la velocidad y el sentido de movimiento de los hematíes y los transforma en color, que varía según el sentido de los hematíes (rojo cuando se acerca al transductor; azul cuando se aleja). El brillo del color se relaciona con la frecuencia. Presenta grandes ventajas, ya que es simultánea la imagen en modo B y nos orienta sobre el sentido del flujo. El principal inconveniente es que depende del ángulo de insonación

El powerdoppler (angio-Doppler o Doppler color energía), al representar las variaciones producidas en la amplitud (energía) de la onda, no depende de la velocidad de la sangre ni de su sentido, como en el caso del doppler color; sino del número de células existentes en el vaso sanguíneo.

Cálculos de flujo vascular: Al estimar el flujo de sangre (flujo=velocidad de la sangre por área del vaso) que transcurre por un punto, existen dificultades por la distensibilidad de los vasos, varia el área y el trayecto tortuoso hace que no se obtenga una determinación fiable de la velocidad. Esto es válido en el endometrio donde los vasos son de pequeño calibre.(12)

La introducción del doppler transvaginal hizo posible la medición del flujo de la arteria uterina, en algún momento se consideró que la resistencia de las arterias uterinas reflejarían la receptividad uterina. Aunque los resultados de embarazo tendieron a ser más pobres en pacientes con índices de impedancia medios más altos, el valor predictivo de usar un índice de resistencia específico o índice de pulsatilidad variable al valorar la receptividad endometrial aparentemente es limitado. Una explicación es que el mayor compartimento uterino es el miometrio y no el endometrio y por tanto, mucha de la sangre que pasa por dicho compartimento nunca llega al endometrio. Un acercamiento más lógico sería evaluar la vascularización alrededor del endometrio directamente en un intento de valorar la receptividad endometrial.(12)

El grosor y volúmen endometrial, biopsia y morfología endometrial no han resultado de utilidad para predecir la implantación embrionaria. Estudios como el de Friedler y col en el que se analizó el papel de la ecografía en la evaluación de la receptividad endometrial, incluyó 4256 ciclos, en 16 de los 22 estudios publicados no se encontró diferencia significativa en las tasas de embarazo en cuanto al grosor endometrial, y en 13 de los 22 no hubo diferencia en los ciclos en que se logro embarazo según la morfología endometrial (trilaminar vs hiperecócico).

Contart y cols evaluaron el grosor endometrial y doppler endometrial (el día de la administración de gonadotropina corionica humana) de pacientes de ICSI. El endometrio fue dividido en 4 cuadrantes dependiendo del sitio donde se observaron vasos subendometriales evidenciados por doppler y calificaron los resultados en 4 grados:

Grado I señal doppler en un solo cuadrante

Grado II señal doppler en dos cuadrantes

Grado III señal doppler en tres cuadrantes

Grado IV señal doppler en cuatro cuadrantes

En todos los grados el grosor endometrial fue el mismo (9.5mm).

En 2008 El-Toukhy y colaboradores evaluaron las características ecográficas del endometrio en pacientes sometidas a descongelación y transferencia de embriones criopreservados. Las tasas más bajas de embarazo se reportaron cuando el grosor endometrial era de <7 o >=14mm, presentando las mejores tasas de implantación (30%) cuando el grosor endometrial se encontró entre 7 y 13 mm.(13)

IV.7.1 El doppler como prueba diagnóstica predictora de implantación

El uso del doppler para evaluación de endometrio en infertilidad ha sido reportado desde 1998, los estudios publicados a la fecha han reportado resultados discordantes. Las posibles explicaciones a esta discordancia en los resultados incluyen diferentes métodos para medir flujo subendometrial, no ha habido estandarización en la técnica y que las medidas de la resistencia de la arteria uterina se han realizado en diferentes momentos del ciclo menstrual o de tratamiento.(14 y15)

Tabla 3. Características de los estudios revisados de doppler e implantación embrionaria en pacientes sometidas a TRA

Estudio	Año	Diseño del estudio	Tamaño de muestra	Doppler realizado	Día del examen	Control factores de confusión	Resultados		Valor p
							Embarazo Si	Embarazo No	
Ozturk y col(7)	2004	Prospectivo observacional	53	IP	Basal, día 10, hCG	Edad, paridad, FSH basal, #ET	2.11 ± 0.53	3.01 ± 1.25	0.01
Puerto y col(12)	2003	Observacional	240	IP y VS	Transferencia embrionaria	Factores embrionarios	2.6 ± 0.7	2.6 ± 0.6	NS
De Chaud y col(13)	2008	Cohorte prospectiva	112	IP y VS	hCG, aspiración folicular, transferencia embrionaria	NO	68% flujo + <3	32% flujo - ≥ 3	0.01 NS
Schild y col (23)	2001	Cohorte prospectiva + 35 mujeres/ciclos anteriores	135	IP	Recuperación ovocitos, hCG	NO	1.21 ± 0.27	1.12 ± 0.28	NS
Steer y col (26)	1992	Cohorte prospectiva	82	IP	hCG	> 3 embriones G1/G2	2.08 ± 0.4	2.62 ± 0.85	0.007
Aytoz y col (27)	1997	Cohorte prospectiva	70	IP	hCG	Solo pacientes ICSI, calidad de embriones transferidos	2.33 ± 0.4	2.28 ± 0.41	NS
Chien y col (30)	2002	Cohorte prospectiva	623	IP y VS	Transferencia embrionaria	IMC, edad, etiología, ciclos anteriores, #ET, factores embrionarios	2.68 ± 0.64	2.76 ± 0.6	NS
Contart y col(31)	2000	Observacional	185	IP y VS	hCG	NO	Cuatro cuadrantes endometriales evaluados		NS

Applebaum y col definieron como área subendometrial el halo hipoecóico claramente delimitado entre el miometrio y endometrio. Los autores describieron 3 zonas de presencia de vasos sanguíneos en el endometrio que podrían estar relacionadas con la implantación:

Zona 1; vasos sanguíneos que penetran el área externa hipoecóica que rodea el endometrio (subendometrial)

Zona 2 vasos sanguíneos que penetran el área hiperecóica endometrial pero no entran en la zona hipoecóica interna

Zona 3: vasos sanguíneos que penetran la zona hipoecóica interna.(15 y 16)

En 2007 Gao y cols reportaron las tasas de embarazo con evaluación de doppler endometrial dividiendo a las pacientes en 3 grupos

Grupo A flujo subendometrial menor de 2 ramas

Grupo B 3-4 ramas

Grupo C 5 o más ramas

Encontraron peores resultados en las pacientes en el grupo A

(17 Y 21).

Con respecto a la forma de adquisición de imágenes hay que obtener un corte sagital puro del endometrio, el espesor endometrial se determina en dicho corte, el límite de la medición es la unión endometrio-miometrio.(18) En dicha unión se identifica un área delgada hipoecóica entre el endometrio y el miometrio, el cual se ha descrito como el halo subendometrial o la zona de unión del miometrio. Estudios histológicos han confirmado que el halo subendometrial representa la capa más interna del miometrio, y comparado con la más externa, consiste en un compartimento distinto de músculo empaquetado apretadamente con vascularidad incrementada.

Considerando que el flujo vascular al endometrio debe atravesar esta área, la vascularización en la región subendometrial debe estar relacionada con la perfusión endometrial y finalmente con la función.(19,20 Y 21)

V. OBJETIVO:

Determinar si es posible evaluar indirectamente la receptividad endometrial por medio de la correlación entre la valoración del patrón de distribución del flujo sanguíneo endometrial y subendometrial, la cuantificación de estradiol y la tasa de embarazo en ciclos de FIV-TE y PETE.

VI. MATERIAL Y METODO

A todas las pacientes bajo tratamiento, se les realizó valoración de doppler subendometrial, con conteo de número de vasos adyacentes a la línea endometrial basal y capas suprayacentes alrededor del día 8 del ciclo (fase proliferativa) y el día del disparo con hCG o análogo y niveles séricos de estradiol, en los ciclos de FIV/ICSI y el día de inicio de progesterona en los casos de PETE. Se realizará análisis comparativo en 3 grupos etarios: <35 años, 35-40 años, >40 años, y la correlación que guarda con la tasa de embarazo.

Se incluyeron a todas las paciente que acudan a la Clinica de Reproducción Asistida del Hospital Español (Hisparep), durante el periodo comprendido entre los meses de Enero y Junio de 2013 y a quienes se les realice un ciclo de FIV-TE o PETE.

Los Criterios de inclusión son:

1. Edad comprendida entre 20 y 40 años
2. Que no tengan ciclos previos de tratamiento con FIV-TE o PETE
3. Que cumplan con los requisitos clínicos y paraclínicos para someterse a tratamientos de reproducción asistida.
4. Que se haya realizado la transferencia embrionaria
5. Sin enfermedades generales como diabetes, hipertensión arterial, hipotiroidismo, cancer, ni alteraciones a nivel uterino que podrían presentar alteraciones en el doppler color como son:
 - a. Miomas.
 - b. Adenomiosis.
 - c. Cicatrices uterinas previas.
6. Que hayan leído y firmado el consentimiento informado correspondiente.

La obtención de resultados se llevo a cabo dependiendo del tipo de tratamiento.

VI.1FIV-TE (Fertilización In-Vitro con Transferencia de Embriones)

En este grupo de pacientes se realizó esquema de estimulación ovárica controlada con menotropinas y folitropina beta (MERAPUR/GONAL-F). Se empleo antagonista de inicio día 7-9 del ciclo o en presencia de folículos de 14mm o más. Empleo de gonadotropina corionica humana urinaria y recombinante (Pregnyl/Ovidrel), con los criterios habituales para seleccionar el día del disparo.

Durante el tratamiento se realizó la medición de estradiol basal (día 1-3 del ciclo) y el día del disparo, en unidades de pg/mL, mediante equipo miniVIDAS® de laboratorio Bio- Merieux, mediante la técnica ELFA (análisis enzimo – fluorescente). Con una especificidad del 100% y sensibilidad del 95% para progesterona y estradiol.

En este grupo de pacientes el seguimiento folicular y endometrial se realizó con un equipo de ultrasonido Phillips HD3 mediante un transductor endovaginal de alta resolución de 7.5Mhz. El seguimiento folicular se realizó de acuerdo a los estándares de medición habituales y el seguimiento del grosor y doppler color endometrial se llevó a cabo con la siguiente técnica: El primer paso consistió en obtener un corte totalmente longitudinal del útero en el cual se pudiera observar una línea endometrial continua desde el cérvix hasta el fondo uterino. Se realizó medición del grosor endometrial en región en que se apreciara mayor espesor y se realizó doppler color durante el ultrasonido basal, a mitad del seguimiento folicular y finalmente durante el último día de seguimiento folicular (día del disparo) se realizó la última medición doppler. Para la aplicación del doppler color se ajustó la imagen a dos aumentos y se ajustó la ganancia doppler color a un 60% en todas las pacientes dado que menor ganancia mostró ser insuficiente y a mayor se presentaron gran cantidad de artefactos. Se apreció la pulsatilidad de vasos endometriales y subendometriales, identificando topográficamente esta última región como el halo hipocogénico periendometrial. El tiempo de insonación fue de máximo 3-5 ciclos cardiacos.

VI.2 PETE (Preparación Endometrial y Transferencia de embriones)

En este grupo de pacientes realizó preparación endometrial con aplicación de agonista GnRH de depósito (Gonapeptyl depot/Lucrin depot 3.75mg) en fase lútea media del ciclo previo (día 22-23 del ciclo). Posteriormente al iniciar el ciclo se comenzó la administración de valerato de estradiol (VE/Primogyn 2mg) a dosis creciente empezando 2mg/día iniciando el día 2 o 3 del ciclo durante 3 días, continuando 4mg/día 3 días y así sucesivamente hasta lograr un grosor endometrial de 8mm o más. Las dosis no excedieron de 8mg/día. Una vez logrado el grosor endometrial deseado alrededor del día 12-16 del ciclo se inició progesterona micronizada a dosis de 600/día en administración vaginal.

Se midió el estradiol basal antes del inicio de VE (día 1-3 del ciclo) en unidades de pg/mL, mediante equipo miniVIDAS® de laboratorio Bio- Merieux, mediante la técnica ELFA (análisis enzima – fluorescente), tomando un control de niveles de estradiol sérico al lograr el espesor endometrial de 8mm o más (previo al inicio de progesterona). Este último control de estradiol sérico fue enviado a laboratorio de Referencia, ya que el equipo miniVIDAS no tiene sensibilidad para detectar niveles séricos de valerato de estradiol.

La medición del grosor endometrial y la determinación de la vascularidad endometrial y subendometrial con doppler color se realizó con la misma técnica empleada en las pacientes de FIV-TE. El grosor endometrial se midió en todos los seguimientos endometriales y la vascularidad se midió en el ultrasonido basal, en el día 8-10 y durante el último seguimiento (día en que se determinó el inicio de progesterona).

En ambos grupos se registraron los seguimientos en hojas de foliculograma y seguimiento endometrial dependiendo del caso, y en ambos grupos se dio soporte lúteo con progesterona micronizada (600mg/día), y aplicación de gel

vaginal con progesterona al 8% o bien aplicación semanal de progesterona de depósito de 200mg. Se realizó determinación de β -hCG 14 días después de la transferencia y en los casos positivos se realizó nueva determinación 7 días después para confirmar embarazo. En los casos positivos se realizó ultrasonido endovaginal de control 7 días después de la última cuantificación de β -hCG para corroborar la presencia de Frecuencia cardiaca del embrión.

Una vez finalizado cada ciclo se condensaron los resultados en hoja de cálculo Microsoft Excel 2010, recolectando nombre de la paciente, edad, diagnóstico, estradiol basal y el día del disparo/inicio de progesterona (E2f), número de vasos subendometriales basales (SE b), finales, es decir el día de disparo de hCG en ciclos de FIV/ICSI o inicio de progesterona en ciclos de PETE (SE f), al igual que los endometriales (VEb y f), ovocitos capturados y fecundados y fracción beta (registrada como positiva=1, negativa=0), presencia de frecuencia cardiaca fetal.

VII RESULTADOS

Se incluyeron un total de 30 pacientes en el estudio, la media de la edad fue de 35.2 años, 16 pacientes de 35 años o más (51%), y 14 pacientes menores de 35 años (49%), los diagnósticos se distribuyeron de la siguiente manera: 10 pacientes con factor tuboperitoneal, 2 pacientes con factor neuroendócrino, 9 factor masculino, 6 pacientes con baja reserva ovárica, 2 con endócrino ovárico y 1 con inexplicable.

Existieron 2 pacientes en quienes no se realizó transferencia por mala fecundación y 2 por mala calidad embrionaria. Por lo que fueron excluidas al final del estudio

Se dividieron en dos brazos de estudio:

- En el primer brazo se incluyeron a las pacientes a las que se les realizó un ciclo en fresco de FIV-TE, un total de 13 pacientes
 - En este grupo de pacientes la media de la dosis total de gonadotropinas exógenas fue de 2800.
 - La administración de progesterona se inició el día de la punción folicular, que consistió en progesterona micronizada a una dosis/día de 600mg.
- El segundo brazo fueron las pacientes de ciclo de preparación endometrial y transferencia de embriones, un total de 13 pacientes.
 - En este grupo de pacientes el tratamiento se llevó a cabo con valerato de estradiol a una dosis diaria final de 8mg.
 - La administración de progesterona se inició una vez logrado el grosor endometrial deseado alrededor del día 12-16 del ciclo en los casos de embriones vitrificados y el día de la punción folicular en los ciclos de ovodonación.

En los ciclos de PETE el porcentaje total de embarazos fue de 38.46%, con el mismo porcentaje de Ultrasonidos con frecuencia cardíaca embrionaria presente. En los ciclos de FIV-TE la tasa de embarazos fue menor, un total de 15.38% de los casos.

Del grupo de pacientes de PETE, el porcentaje de pacientes que lograron desarrollar 2 o más vasos endometriales finales de las pacientes que lograron embarazo fue de 80% y 20% 1 vaso subendometrial o ninguno, en tanto que en el grupo que no logró embarazo 75% desarrollaron 2 o más vasos subendometriales. En tanto en el grupo de FIVTE, los resultados fueron similares, de las pacientes que lograron embarazo 100% lograron desarrollar 2 o más vasos subendometriales, mientras que de las pacientes que no lograron embarazo 90% desarrollo 2 o más vasos subendometriales finales. En ambos casos se obtuvo una p de 1.00, por lo cual no hubo diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto al desarrollo de vasos endometriales finales se distribuyeron los resultados de la siguiente manera:

Del grupo de preparación endometrial las pacientes que lograron embarazo presentaron en un 40% desarrollo de 2 o más vasos endometriales finales y 60% menos de 2, en tanto que de las que no lograron embarazo solamente

12.5% lograron el desarrollo de 2 o más vasos endometriales finales. Se obtuvo una p de .510 con la prueba exacta de Fischer siendo estadísticamente no significativa

Del grupo de FIV-TE en las pacientes que lograron embarazo 100% desarrollaron al menos 1 vaso subendometrial, mientras que ninguna presentó 2 o más vasos endometriales finales. En las que no lograron embarazo 54.5% desarrollaron 2 o más vasos endometriales finales y 45.5% 1 o menos. Se obtuvo una p de .462 con prueba exacta de Fischer.

Al comparar el comportamiento de los vasos endometriales y subendometriales finales en relación con los niveles séricos de estradiol encontramos los siguientes resultados:

- En los ciclos de PETE
 - Las pacientes con niveles de estradiol sérico menor de 500pg/dL presentaron 2 o más vasos subendometriales un total de 9 pacientes que corresponde a un 69%, mientras que solo 2 pacientes presentaron 1 o menos vasos (31% de los casos).
 - Las pacientes con estradiol sérico final de 500 o más presentaron una distribución igual en las que presentaron 1 o menos vasos subendometriales y 2 o más siendo 1 paciente en cada caso (50% y 50%).
 - En relación con el número de vasos endometriales, un total de 9 pacientes presentaron 1 o menos vasos subendometriales con niveles séricos de estradiol (valerato), y 2 pacientes presentaron 2 o más vasos endometriales. En las pacientes con niveles séricos de estradiol de 500 o más, la distribución fue de 1 paciente con 2 o más vasos y 1 con 1 o menos.
- En los ciclos de FIV-TE
 - En relación con los vasos subendometriales finales, en las pacientes que mantuvieron niveles séricos de estradiol menor de 3000pg/dl 1 presentó 1 o menos vasos subendoendometriales y 8 presentaron 2 o más vasos subendometriales. En las pacientes que presentaron niveles de 3000 o más 4 pacientes presentaron 2 o más vasos subendometriales y ninguna presentó una menor cantidad.
 - En relación a los vasos endometriales, en pacientes que presentaron niveles menores de 3000pg/dL 5 pacientes(38%)

presentaron al menos 1 vaso subendometrial, y 4 (30.76%) presentaron 2 o más vasos subendometriales. La proporción de pacientes que presentaron 1 o menos y 2 o más vasos subendometriales en las pacientes con niveles de 3000pg/dl de estradiol o más fue de 2 y 2 pacientes.

Finalmente al estudiar la relación que guardaron los niveles séricos de estradiol con las pruebas de embarazo positivas en ambos grupos, se encontraron los siguientes resultados.

- En los ciclos de FIV-TE
 - Las pacientes que presentaron niveles séricos de estradiol menores a 3000pg/dl que tuvieron prueba de embarazo positiva fue un total de 2 (15.36%), mientras que 7 no lograron embarazo.
 - En las pacientes que mantuvieron niveles superiores a 3000pg/dl ninguna logró embarazo
- En los ciclos de PETE
 - 11 pacientes presentaron niveles de valerato de estradiol menor de 500 de las cuales 4 lograron prueba de embarazo positiva, mientras que de las que presentaron niveles de 500 o más 1 sola logró embarazo y 1 presentó prueba negativa.

Las tablas y gráficos de resultados se adjuntan en el anexo de graficos.

VIII CONCLUSIONES

En el estudio realizado con la finalidad de esta tesis, encontramos una relación entre el número de vasos endometriales y subendometriales con las pruebas de embarazo positivas que si bien no fue estadísticamente significativa, fue mayor la cantidad de embarazos a mayor número de vasos endometriales y subendometriales.

En ambos grupos la tasa de embarazo fue mayor en las pacientes que presentaron 2 o más vasos endometriales, y en una menor proporción en las que presentaron 2 o más vasos subendometriales. No hubo diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos.

Se encontró una relación estrecha entre los niveles séricos de estradiol y las pruebas positivas de embarazo, siendo más frecuente el embarazo en niveles séricos menores de estradiol, sin ser estadísticamente significativa.

Existió mayor tendencia a presentar mayor cantidad de vasos endometriales y sobre todo subendometriales con niveles séricos de estradiol más cercanos a los niveles fisiológicos, así como también en relación a pruebas de embarazo positivas.

IX BIBLIOGRAFIA

1.-Pérez P Efraín. Aspectos básicos en infertilidad. En:Pérez P Efrain. Atención Integral de la Infertilidad. México:Panamericana; 2011.p. 1-7.

2.-Speroff Leon, Fritz Mark. Chap. IV, Infertility. In: Speroff Leon, Fritz Mark. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.Philadelphia,PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2011.p 1138-1187.

3.- CONAPO. Niveles y tendencias de fecundidad. En: Perfiles de Salud Reproductiva. República Mexicana. 2012; 25-30.

4.-Simón Carlos. El endometrio humano. En:El endometrio humano desde la investigación a la clínica. Madrid España: Panamericana;2009. p 1-10.

- 5.-Gargett CE and Rogers, PAW. Human endometrial angiogenesis. *Reproduction* 2001; 121; 181-186.
- 6.-King A. Uterine leukocytes and decidualization. *Hum Reprod Update* 2000; :28-36
- 7.-Critchey HOD and Healey DL. Effects of oestrogen and progesterone on the endometrium. In: Fraser IS, Jansen R, Lobo R (eds). *Oestrogens in clinical practice*. New York: Churchill Livingstone 1998; 145-161.
- 8.-Cervero A, Horcajadas JA, Martín J, Pellicer A y Simón C. The leptin system during human endometrial receptivity and preimplantation development. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2442-2451.
- 9.-Dominguez F, Yanez-Mo M, Sánchez-Madrid F y Simón C. Embryonic implantation and leukocyte transemthelial migration: diferente processes with similar players? *FASEB J* 2005;19:1056-1060.
- 10.-Noyes RW, Herting AJ, Rock J. Dating the endometrial biopsy (1950), *Fertil Steril*, 1:3-25.
- 11.-Raine.Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR (2004). Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power doppler angiography. *Hum Reprod* 19:330-338.
- 12.-Puerto B, Creus M, Carmona F, Civico S, Vanrell JA, Balasch J. Ultrasonography as a predictor of embryo implantation after in vitro fertilization: a controlled study. *Fertil Steril* 2003;79:1015-1022.
- 13.-Dechaud H, Besueille E, Bousquet PH, Reifftmann L, Hamamah S and Hedon B. Optimal timing of ultrasonographic and Doppler evaluation of uterine receptivity to implantation. *RBM Online* 2008; 16 (3):368-375
- 14.-Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF). *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 1990; 41:146-152.
- 15.-Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996; 2:323-35.
- 16.-Salle B, Bied-Damon V, Benchaib M, Desperes S, Gaucherand P and Rudigoz RC. Preliminary report of an ultrasonography and colour Doppler uterine score to predict uterine receptivity in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod* 1998; 13:1669-1673.

17.- Smith SK. Angiogenesis and implantation. Hum Reprod 2000; 15 (Supl 6): 59-66

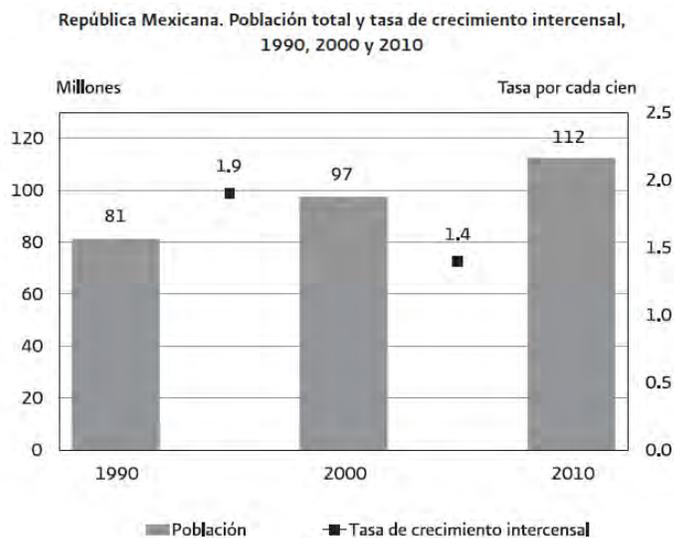
18.- Sterzic K, Hutter W, Grab D, Rosenbusch B, Sasse V, Terinde R. Doppler sonographic findings and their correlation with implantation in an in vitro fertilization program. Fertil Steril 1991; 52:825-828.

19.-Steer CV, Campbells, Tan SL, Crayford T, Mills C, Mason BA. The use of transvaginal color flow imaging after in vitro fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. Fertil Steril 1992; 57:372-376

20.-Aytoz A, Ubaldi F, Tournaye H, et al. The predictive value of uterine artery blood flow measurements for uterine receptivity in an intracytoplasmic sperm injection program. Fertil Steril 1997; 68: 935-937.

21.-Chien LW, Au HK, Chen PL, Xiao J, Tzeng CR. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. Fertil Steril 2002; 78:245-251.

ANEXO GRAFICOS



Fuente: Estimaciones del CONAPO con base en el Censo de Población y Vivienda 1990, 2000 y 2010.

Imagen 1

tasa de crecimiento poblacional

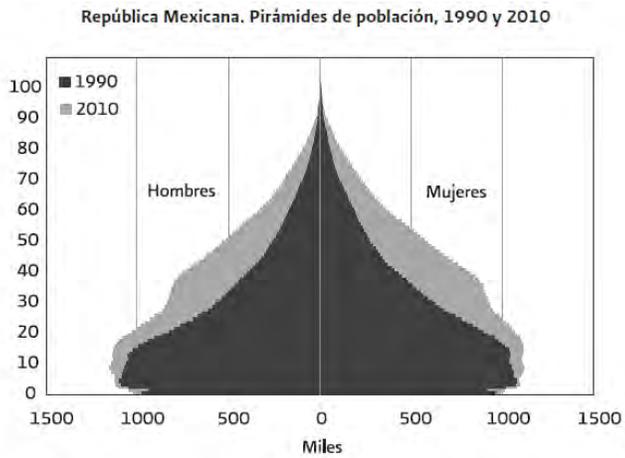


Imagen 2

Pirámides poblacionales



Imagen 3

Ultrasonido Phillips Hd 11xe



Imagen 4

Equipo Minividas casa Bio-Mereux

Tabla 1

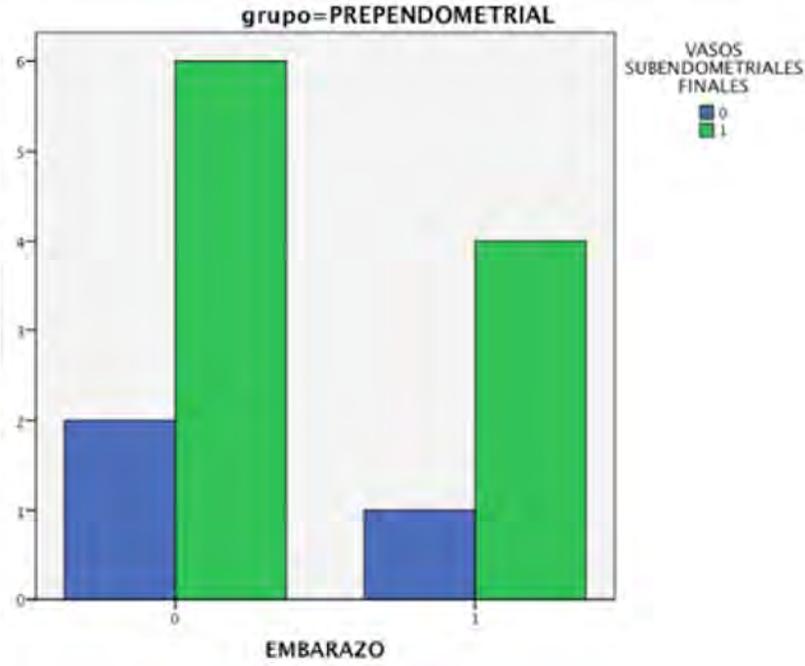
Tabla de contingencia EMBARAZO * VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES * grupo

grupo				VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES		Total
				0	1	
PREPENDOMETRIAL	EMBARAZO	0	Recuento	2	6	8
			% dentro de EMBARAZO	25,0%	75,0%	100,0%
			% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	66,7%	60,0%	61,5%
			% del total	15,4%	46,2%	61,5%
	1	Recuento	1	4	5	
		% dentro de EMBARAZO	20,0%	80,0%	100,0%	
		% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	33,3%	40,0%	38,5%	
		% del total	7,7%	30,8%	38,5%	
	Total	Recuento	3	10	13	
		% dentro de EMBARAZO	23,1%	76,9%	100,0%	
% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES		100,0%	100,0%	100,0%		
% del total		23,1%	76,9%	100,0%		
FIVICSI	EMBARAZO	0	Recuento	1	10	11
			% dentro de EMBARAZO	9,1%	90,9%	100,0%
			% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	100,0%	83,3%	84,6%
			% del total	7,7%	76,9%	84,6%
	1	Recuento	0	2	2	
		% dentro de EMBARAZO	0,0%	100,0%	100,0%	
		% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	0,0%	16,7%	15,4%	
		% del total	0,0%	15,4%	15,4%	
	Total	Recuento	1	12	13	
		% dentro de EMBARAZO	7,7%	92,3%	100,0%	
% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES		100,0%	100,0%	100,0%		
% del total		7,7%	92,3%	100,0%		
Total	EMBARAZO	0	Recuento	3	16	19
			% dentro de EMBARAZO	15,8%	84,2%	100,0%
			% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	75,0%	72,7%	73,1%
			% del total	11,5%	61,5%	73,1%
	1	Recuento	1	6	7	
		% dentro de EMBARAZO	14,3%	85,7%	100,0%	
		% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES	25,0%	27,3%	26,9%	
		% del total	3,8%	23,1%	26,9%	
	Total	Recuento	4	22	26	
		% dentro de EMBARAZO	15,4%	84,6%	100,0%	
% dentro de VASOS SUBENDOMETRIALES FINALES		100,0%	100,0%	100,0%		
% del total		15,4%	84,6%	100,0%		

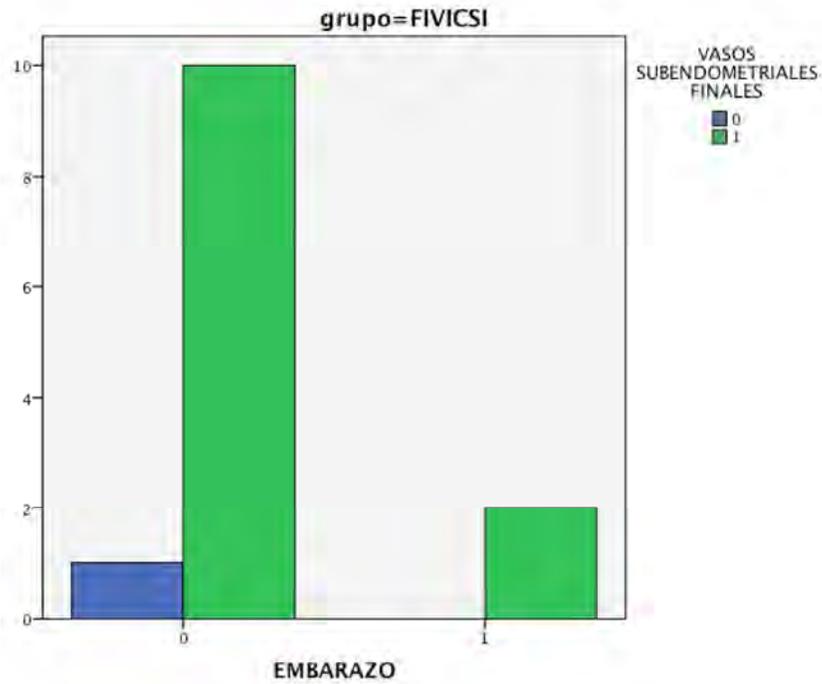
Vasos subendometriales finales y prueba de embarazo positiva



GRAFICA 1
Distribución de Diagnósticos

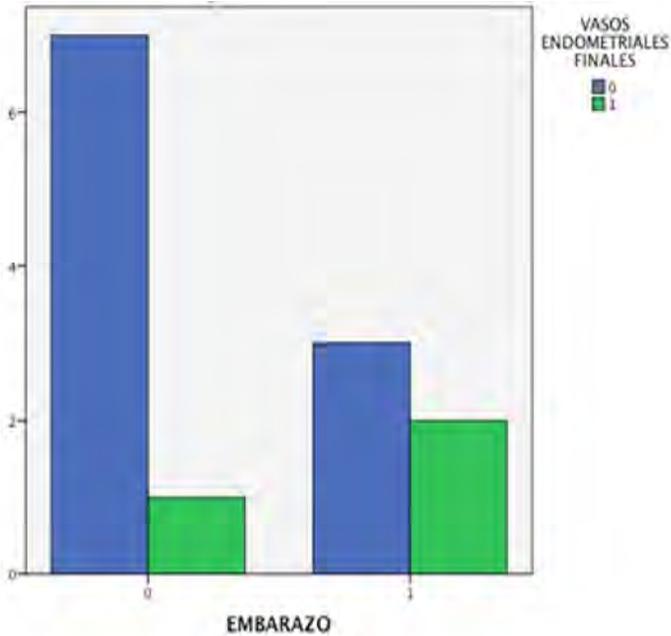


Grafica 2
Vasos Subendometriales y embarazo en PETE



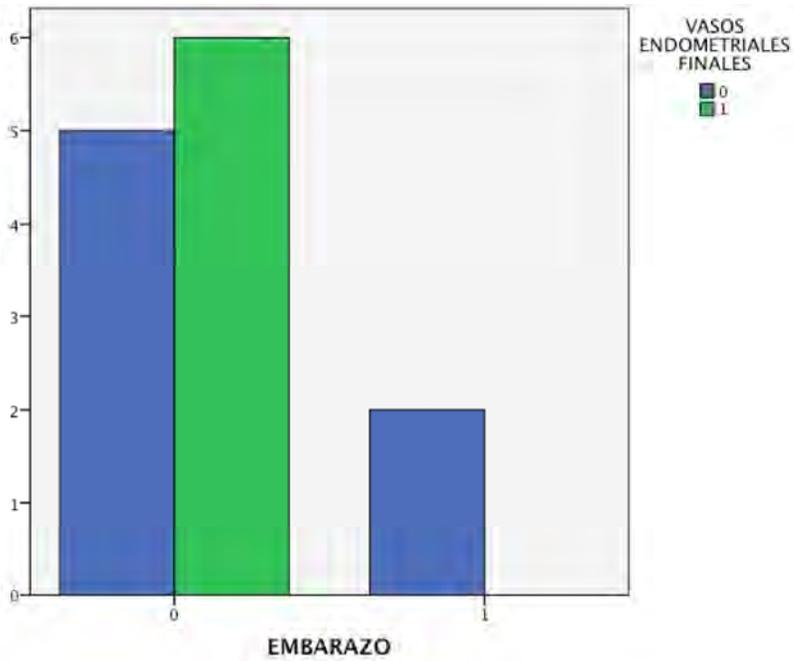
Grafica 3

Vasos subendometriales y embarazo en FIV-TE



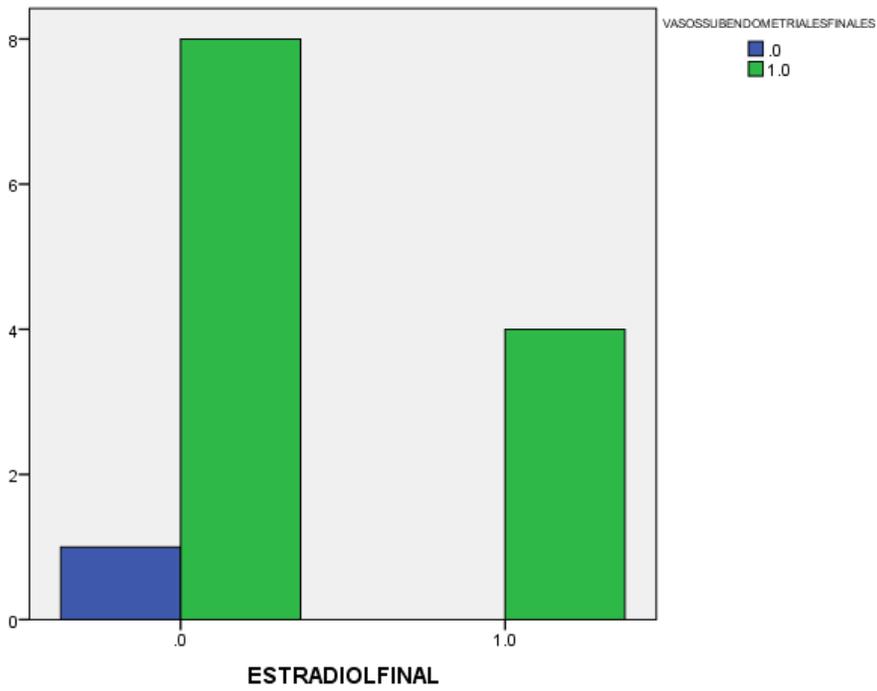
Grafica 4

Vasos endometriales finales y embarazo en PETE



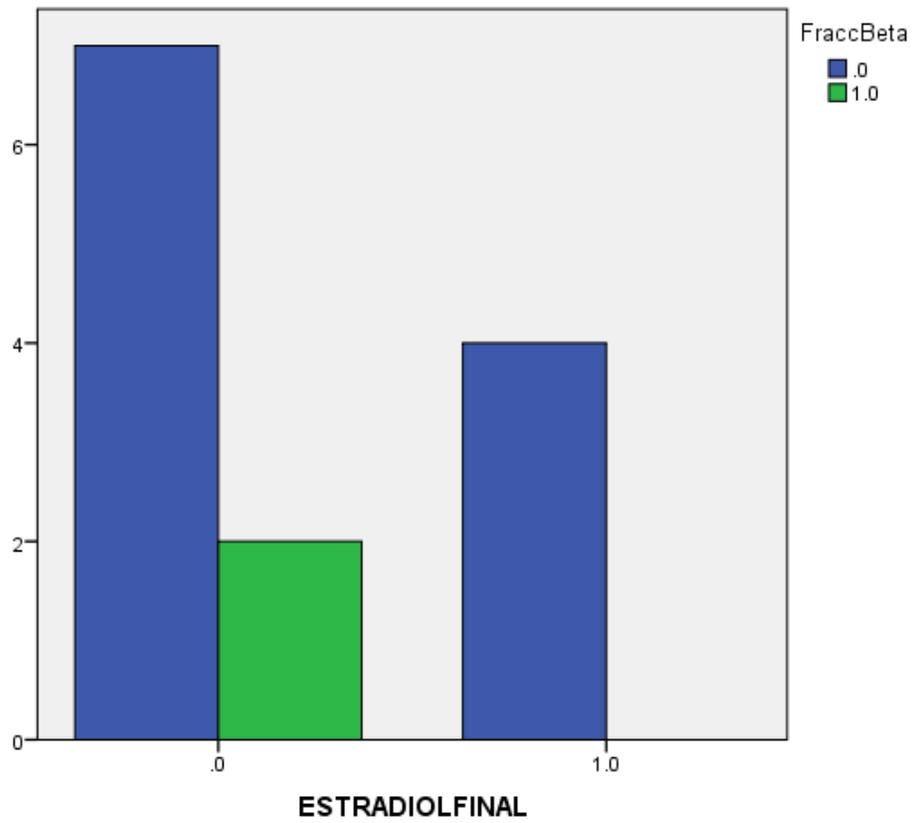
Grafica 5

Vasos endometriales finales y embarazo en FIV-TE



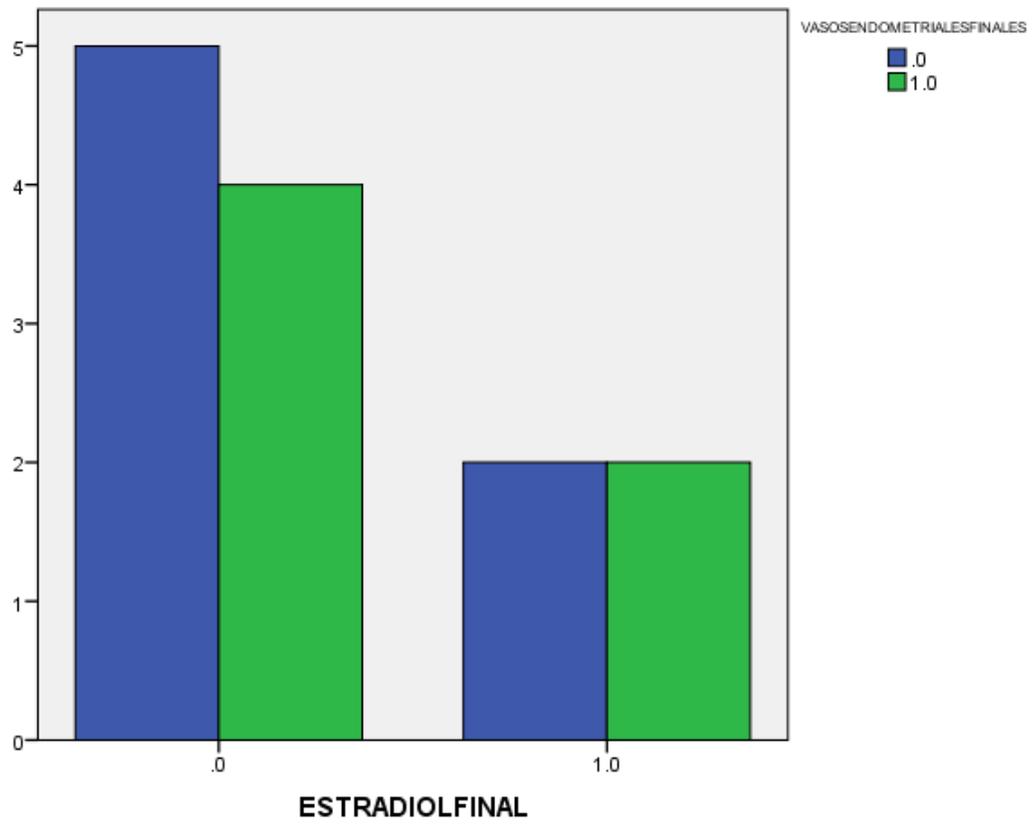
Grafica 6

Vasos endometriales finales y estradiol final en PETE



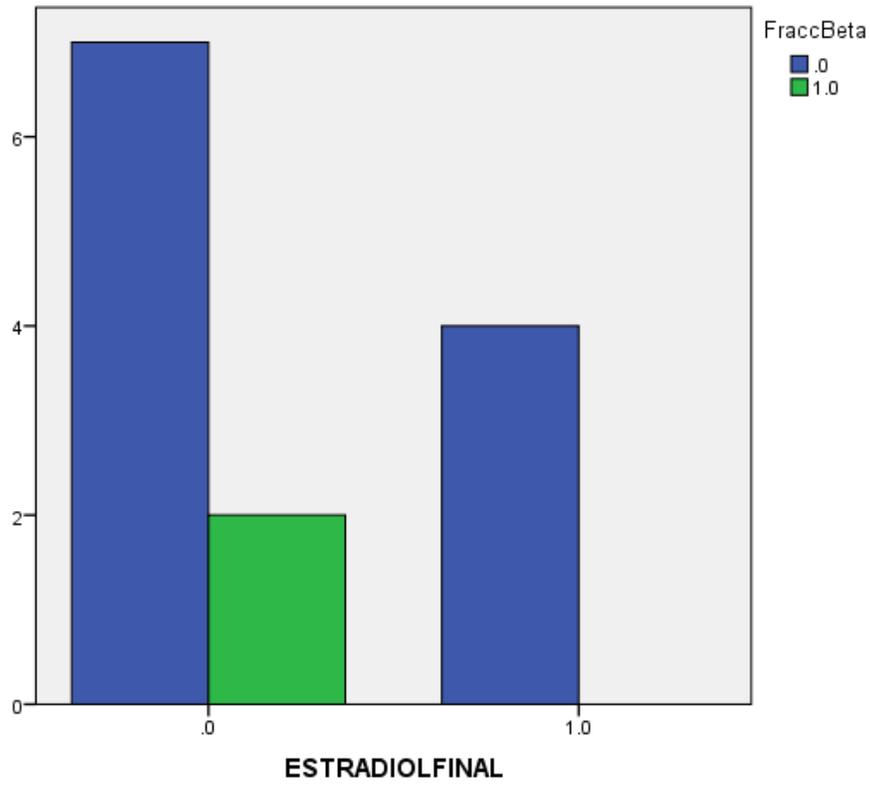
Grafica 7

Estradiol final y prueba de embarazo positiva en PETE



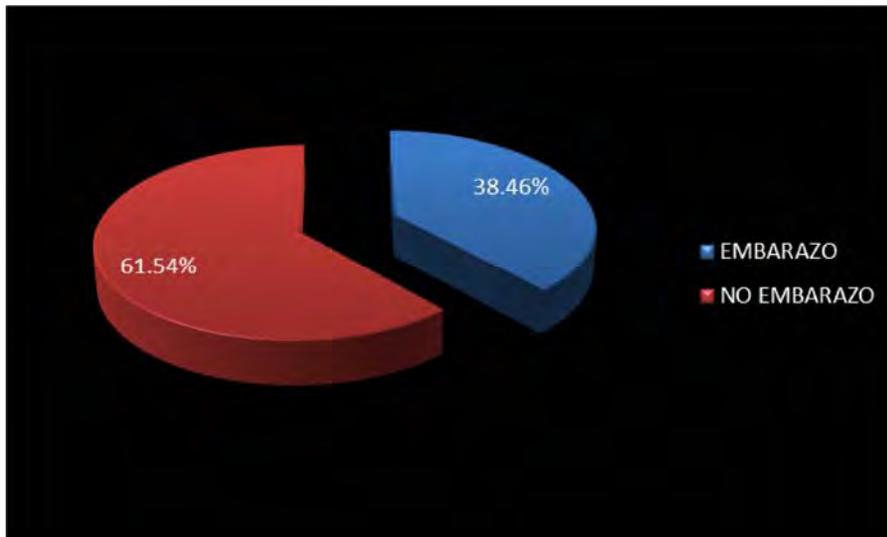
Grafica 8

Estradiol Final y Vasos Endometriales finales en FIV-TE



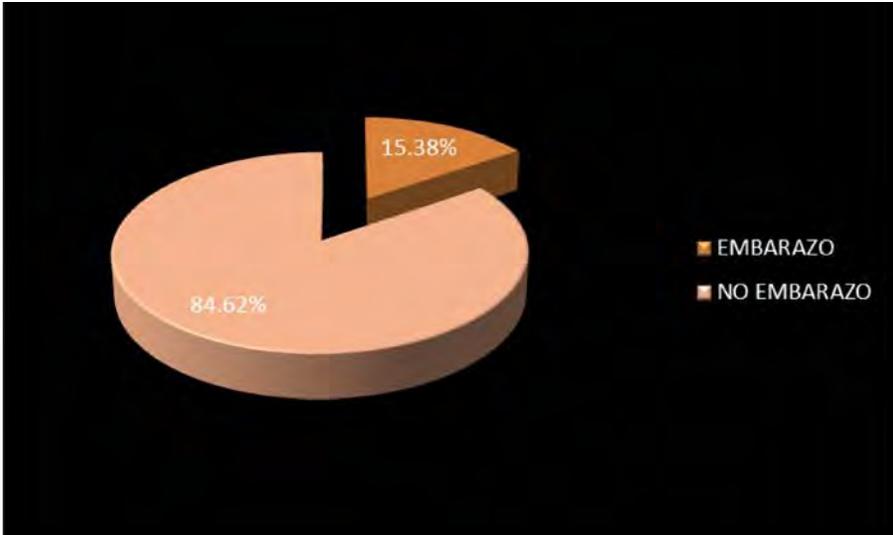
Grafica 9

Estradiol final y pruebas de embarazo positiva en PE-TE



Grafica 10

Pruebas de Embarazo positivas en PETE



Grafica 11

Pruebas de Embarazo positivas en FIV-TE