

**ESTUDIO COMPARATIVO, RANDOMIZADO, CIEGO, DEL
EFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO CON ANÁLOGOS DE
GNRH FRENTE A PLACEBO EN PACIENTES ESTÉRILES
DIAGNOSTICADAS DE ENDOMETRIOSIS QUE REALIZAN
TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN IN VITRO**



VNIVERSITAT ID VALÈNCIA

Facultat de **M**edicina i **C**irurgia

Elisabet Rodríguez Tárrega

Licenciada en medicina

Directoras de la tesis:

Dra. Ana Monzó Miralles

Dra. Patrocinio Polo Sánchez

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Programa de Doctorado 3042 Medicina

Valencia, 2016

**ESTUDIO COMPARATIVO, RANDOMIZADO, CIEGO, DEL
EFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO CON ANÁLOGOS DE
GNRH FRENTE A PLACEBO EN PACIENTES ESTÉRILES
DIAGNOSTICADAS DE ENDOMETRIOSIS QUE REALIZAN
TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN IN VITRO**

Elisabet Rodríguez Tárrega

Licenciada en medicina

Directoras de la tesis:

Dra. Ana Monzó Miralles

Dra. Patrocinio Polo Sánchez

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Programa de Doctorado 3042 Medicina

Valencia, 2016



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Facultat de Medicina i Cirurgia

Dra. Ana Monzó Miralles, Profesora Asociada del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia y Jefa de Sección de Ginecología-Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado: **“ESTUDIO COMPARATIVO, RANDOMIZADO, CIEGO, DEL EFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO CON ANÁLOGOS DE GNRH FRENTE A PLACEBO EN PACIENTES ESTÉRILES DIAGNOSTICADAS DE ENDOMETRIOSIS QUE REALIZAN TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN IN VITRO”** ha sido realizado íntegramente por Dña. Elisabet Rodríguez Tárrega bajo mi dirección. Dicha memoria esta concluida y reúne todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa como **TESIS DOCTORAL** ante un tribunal.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en

Valencia, Mayo de 2016.

Fdo. Dra. Ana Monzó Miralles

Dra. Patrocinio Polo Sánchez, Doctora en Medicina y Cirugía y Médico adjunto de la Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado: "**ESTUDIO COMPARATIVO, RANDOMIZADO, CIEGO, DEL EFECTO DEL PRE-TRATAMIENTO CON ANÁLOGOS DE GNRH FRENTE A PLACEBO EN PACIENTES ESTÉRILES DIAGNOSTICADAS DE ENDOMETRIOSIS QUE REALIZAN TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN IN VITRO**" ha sido realizado íntegramente por Dña. Elisabet Rodríguez Tárrega bajo mi dirección. Dicha memoria esta concluida y reúne todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa como **TESIS DOCTORAL** ante un tribunal.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en

Valencia, Mayo de 2016.

Fdo. Dra. Patrocinio Polo Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Deseo dedicar unas palabras de agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado haciendo posible que este proyecto de investigación se llevara a cabo.

A la Dra Ana Monzó por su apoyo incondicional, paciencia y confianza, porque sin ella nada de esto hubiera sido posible, gracias de todo corazón Ana.

A la Dra Patri Polo por su ayuda, por mostrar siempre interés en mi progreso y darme palabras de ánimo cuando las necesitaba.

Al Dr Ramiro Quiroga, por comprenderme y estar siempre ahí, contestando a la primera llamada.

A todo el equipo de Reproducción del Hospital La Fe por su trabajo diario, especialmente a nuestra enfermera Pilar Palacios, por su colaboración y buen trato con las pacientes.

A los biólogos y personal de laboratorio por su labor. A Pedro Fernández, siempre dispuesto a ayudarme.

A Cristina Ventura, monitora del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, que ha supervisado este ensayo clínico, asegurando que se realizaba con las máximas garantías de calidad y seguridad.

A todos mis compañeros de residencia por haber compartido tantas cosas, sobre todo a mi guardia, que son mi segunda familia.

A mis amigos, por entender la importancia de este proyecto y mi dedicación a él.

A mi familia, especialmente a mis padres, a los que les debo todo, porque sin ellos no hubiera conseguido llegar hasta aquí.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Endometriosis: concepto y definición histórica.....	3
1.2. Patogenia y factores implicados.....	3
1.2.1. Teorías.....	3
1.2.2. Factores patogénicos.....	6
1.2.3. Papel de microRNA.....	8
1.2.4. Proceso de formación de implantes endometriósicos.....	9
1.3. Epidemiología	13
1.4. Aspectos clínicos de la endometriosis	13
1.4.1. Formas de presentación y sintomatología.....	13
1.4.2. Tipos de lesiones	14
1.4.3. Diagnóstico	18
1.4.4. Clasificación	20
1.5. Endometriosis y esterilidad	22
1.5.1. Relevancia de la endometriosis en la esterilidad humana	22
1.5.2. Mecanismos de esterilidad	22
1.6. Resultado de las técnicas de reproducción asistida en pacientes con endometriosis	27
1.6.1. Tasas de implantación y gestación.....	27
1.6.2. Alteraciones ovocitarias y embrionarias.....	31
1.7. Tratamiento de la esterilidad asociada a endometriosis	36
1.7.1. Tratamiento médico	36
1.7.2. Tratamiento quirúrgico.....	37
1.7.3. Técnica de reproducción asistida sin tratamiento previo.....	39
1.7.4. Tratamientos previos a una técnica de reproducción asistida	40
1.7.5. Nuevos fármacos para el tratamiento de la endometriosis	45
1.8. Análogos de GnRH.....	46
1.8.1. GnRH y análogos. Mecanismo de acción	46
1.8.2. Efectos de los análogos de GnRH sobre la fisiopatología de la endometriosis	48
1.8.3. Efectos de los análogos de GnRH sobre la esterilidad asociada a endometriosis	54

ÍNDICE

2. JUSTIFICACIÓN	67
3. HIPÓTESIS DE TRABAJO	71
4. OBJETIVOS	75
4.1. Objetivo principal.....	75
4.2. Objetivos secundarios.....	75
5. MATERIAL Y MÉTODOS	79
5.1. Diseño del estudio.....	79
5.2. Ámbito de realización.....	79
5.3. Duración del estudio.....	79
5.4. Pacientes.....	80
5.4.1. Selección de pacientes.....	80
5.4.2. Criterios de inclusión.....	81
5.4.3. Criterios de exclusión.....	81
5.5. Clasificación de las pacientes en función de la endometriosis.....	82
5.6. Valoración del seminograma.....	83
5.7. Procedimientos.....	86
5.7.1. Asignación al grupo de tratamiento.....	86
5.7.2. Tratamiento previo al ciclo de FIV/ICSI.....	86
5.7.3. Tratamiento de FIV/ICSI.....	87
5.7.4. Seguimiento de las pacientes.....	97
5.8. Métodos estadísticos.....	98
5.8.1. Cálculo del tamaño muestral.....	98
5.8.2. Análisis estadístico.....	99
5.9. Definición de las variables de resultados.....	99
5.9.1. Variables en relación con las características basales de las pacientes.....	100
5.9.2. Variables en relación con la endometriosis.....	100
5.9.3. Variables en relación con el ciclo FIV/ICSI.....	101
5.9.4. Otras variables.....	104
6. RESULTADOS	107
6.1. Características basales de las pacientes.....	109
6.2. Variables en relación con la endometriosis.....	110
6.3. Variables del ciclo de FIV/ICSI.....	113
6.3.1. Variables relacionadas con la estimulación ovárica.....	113
6.3.2. Variables relacionadas con la punción folicular y fecundación.....	115

ÍNDICE

6.3.3. Variables relacionadas con la calidad embrionaria y transferencia embrionaria.....	117
6.3.4. Variables relacionadas con los resultados del ciclo de tratamiento.....	120
6.4. Análisis de subgrupos y regresión logística	125
6.5. Acontecimientos adversos	125
6.6. Resumen de resultados	125
7. DISCUSIÓN.....	129
7.1. Limitaciones del estudio.....	129
7.2. Resultados de las TRA en pacientes con endometriosis.....	130
7.2.1. Tasas de implantación y gestación.....	131
7.2.2. Calidad ovocitaria, embrionaria y tasas de fecundación	135
7.2.3. Efecto de la presencia de endometriomas en los resultados de FIV/ICSI	139
7.3. Efectos de los agonistas de GnRH sobre la esterilidad asociada a endometriosis.....	140
8. CONCLUSIONES	149
9. BIBLIOGRAFÍA.....	153

LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

AA: acontecimiento adverso
AAG: acontecimiento adverso grave
ADN: ácido desoxirribonucleico
AEMPS: Agencia Española de Medicamento y Producto Sanitario
AHO: anticonceptivos hormonales orales
AMH: hormona antimülleriana
ARN/RNA: ácido ribonucleico
ARNm: ARN mensajero
ASEBIR: Asociación para el estudio de la Biología de la Reproducción
ASMR: *American Society for Reproductive Medicine*
BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro
 β -hCG: subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana
CC: células del cúmulo
CEEc: células endometriales ectópicas
CEEu: células endometriales eutópicas
CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica
CGM: células de la granulosa murales
CO₂: dióxido de carbono
COC: complejo cúmulo-ovocito
COX: ciclooxigenasa
COX-2: ciclooxigenasa-2
CRD: cuaderno de registro de datos
DE: desviación estándar
EE: embarazo ectópico
EOC: estimulación ovárica controlada
EOD: esterilidad de origen desconocido
ERO: especies reactivas de oxígeno

LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS.

FIV: fecundación in vitro

FSH: hormona folículo estimulante

GnRH: hormona liberadora de gonadotrofinas

GnRHa: agonista de la hormona liberadora de gonadotrofinas

hCG: gonadotrofina coriónica humana

hMG-HP: gonadotrofina menopáusica humana altamente purificada

IA: inseminación artificial

IC: intervalo de confianza

ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IGFBP: insulin-like growth factor-binding protein

IL: interleuquina

IMC: índice de masa corporal

LH: hormona luteinizante

miRNA: microRNA

MI: metafase I

MII: metafase II

MMPs: metaloproteinasas

NK: natural killer

NO: óxido nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: Odds Ratio

PAR-1: protease activated receptor 1

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

P I: profase I

PGE₂: prostaglandina E₂

PGs: prostaglandinas

PIGF: factor de crecimiento placentario

PR: motilidad progresiva (espermatozoides)

RANTES: *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*

REL: retículo endoplásmico liso

LISTADO DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS.

REM: recuperación de espermatozoides móviles

RFA: recuento de folículos antrales

RIA: radioinmunoanálisis

RN: recién nacido

RNV: recién nacido vivo

SG: saco gestacional

SHO: síndrome de hiperestimulación ovárica

TGF: factor de crecimiento transformante

TIMPs: inhibidor tisular de metaloproteinasas

TNF: factor de necrosis tumoral

TRA: técnicas de reproducción asistida

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

VEGF: receptor del factor de crecimiento endotelial vascular

8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de las teorías etiopatogénicas de la endometriosis	4
Figura 1.2. Esquema de los procesos que favorecen y permiten la formación de los implantes endometriósicos	12
Figura 1.3. Imagen en la que se observan lesiones rojas en ligamento uterosacro	14
Figura 1.4. Imágenes en las que se observan lesiones típicas en el peritoneo parietal	15
Figura 1.5. Imagen en la que se observa una lesión blanca.....	15
Figura 1.6. Imágenes que muestran endometriomas ováricos y su contenido "achocolatado"	16
Figura 1.7. Imágenes que muestran la exéresis de un nódulo endometriósico en pared vesical	17
Figura 1.8. Imagen ecográfica en la que se observa un nódulo endometriósico en el tabique rectovaginal.	18
Figura 1.9. Imagen ecográfica en la que se observa una endometriosis ovárica.	19
Figura 1.10. Imagen de resonancia magnética donde se observa un nódulo endometriósico en la pared vesical	20
Figura 1.11. Clasificación revisada de la endometriosis de la ASRM.....	21
Figura 1.12. Protocolo de actuación del Hospital Universitari i Politècnic La Fe ante paciente con esterilidad asociada a endometriosis.	37
Figura 1.13. Esquema sobre el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal.....	47
Figura 1.14. Esquema del mecanismo de acción de los agonistas de GnRH sobre	

LISTA DE FIGURAS

la proliferación de las células del endometrio eutópico y ectópico de pacientes con endometriosis.....	49
Figura 1.15. Esquema resumen de los mecanismos de actuación de los agonistas de GnRH sobre la endometriosis.....	53
Figura 5.1. Algoritmo de inclusión de pacientes en el ensayo clínico	80
Figura 5.2. Esquema de pauta de pre-tratamiento	87
Figura 5.3. Imagen del estereomicroscopio binocular con el que se localizaron los complejos cúmulo-corona-ovocito tras la punción folicular.	89
Figura 5.4. Imagen de un preembrión humano mostrando fecundación normal con dos pronúcleos.....	90
Figura 5.5. Imagen del microscopio con el que se realizó la técnica de microinyección.....	91
Figura 6.1. Esquema resumen de resultados del ciclo FIV/ICSI en ambos grupos	107
Figura 6.2. Esquema resumen de los resultados de gestaciones en el grupo de estudio	108
Figura 6.3. Esquema resumen de los resultados de gestaciones en el grupo control	108
Figura 6.4. Gráfico que muestra las tasas de gestación en ambos grupos con embriones frescos	120
Figura 6.5. Gráfico que muestra las tasas de gestación en ambos grupos con embriones frescos + embriones congelados.....	121

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Tabla resumen de estudios que encuentran peores tasas de implantación y gestación con TRA en pacientes con endometriosis.....	28
Tabla 1.2. Tabla resumen de estudios que no encuentran peores tasas de implantación y gestación con TRA en pacientes con endometriosis	29
Tabla 1.3. Tabla resumen de estudios que investigan la tasa de fecundación en pacientes con endometriosis que se someten a FIV/ICSI.....	32
Tabla 1.4. Tabla resumen de algunos estudios que evalúan el ambiente folicular en pacientes con endometriosis.....	34
Tabla 1.5. Tabla resumen de estudios que investigan una posible disfunción en las células de la granulosa de pacientes con endometriosis.....	35
Tabla 1.6. Tabla resumen de estudios que investigan el efecto de los endometriomas sobre la calidad embrionaria.....	36
Tabla 1.7. Tabla resumen de estudios que investigan el efecto de la cirugía de los endometriomas sobre los resultados de las TRA	41
Tabla 1.8. Estudios publicados sobre el efecto de un pre-tratamiento con GnRHa previo a una TRA.....	59
Tabla 5.1. Criterios de inclusión en el estudio.....	81
Tabla 5.2. Criterios de exclusión	81
Tabla 5.3. Variables relacionadas con la endometriosis.....	82
Tabla 5.4. Valores de referencia límites (percentil 5 e intervalo de confianza al 95%) para las características seminales.....	83
Tabla 5.5. Nomenclatura relacionada con la calidad seminal	85

LISTA DE TABLAS

Tabla 5.6. Categorías de diagnóstico seminal.....	85
Tabla 5.7. Clasificación ovocitaria.....	93
Tabla 5.8. Ritmo de división embrionaria.....	94
Tabla 5.9. Clasificación embrionaria ASEBIR.....	95
Tabla 5.10. Visitas de seguimiento	98
Tabla 5.11-a. Definición de variables en relación con las características basales de las pacientes	100
Tabla 5.11-b. Definición de variables en relación con la endometriosis.....	101
Tabla 5.11-c. Definición de variables en relación con el ciclo de FIV/ICSI	104
Tabla 5.11-d. Definición de otras variables	104
Tabla 6.1. Características basales de las pacientes	109
Tabla 6.2-a. Variables relacionadas con la endometriosis	110
Tabla 6.2-b. Variables relacionadas con la endometriosis.....	110
Tabla 6.3. Distribución de las pacientes intervenidas en función del grado de endometriosis de la clasificación de la ASMR.....	112
Tabla 6.4. Distribución de las pacientes intervenidas en función del grado de endometriosis de la clasificación de la ASMR reagrupado	112
Tabla 6.5. Distribución de las pacientes en función del grado de endometriosis según la evaluación ecográfica de la enfermedad	112
Tabla 6.6. Distribución de las pacientes en función del grado de endometriosis reagrupado según la evaluación ecográfica de la enfermedad.....	113
Tabla 6.7. Número de ciclo FIV/ICSI por paciente.	113
Tabla 6.8. Variables relacionadas con la estimulación ovárica.....	114
Tabla 6.9. Tasas de cancelación de ciclo y causas.....	115

LISTA DE TABLAS

Tabla 6.10. Variables relacionadas con la punción folicular	116
Tabla 6.11. Diagnóstico seminal reagrupado en tres categorías	116
Tabla 6.12. Variables del seminograma.	117
Tabla 6.13. Embriones obtenidos, transferidos y congelados por grupo.....	118
Tabla 6.14-a. Gradación embrionaria según clasificación ASEBIR en ambos grupos ..	118
Tabla 6.14-b. Gradación embrionaria reagrupada según clasificación ASEBIR en ambos grupos.....	119
Tabla 6.14-c. Gradación embrionaria según clasificación ASEBIR de embriones vitrificados en ambos grupos.	119
Tabla 6.15. Pacientes a las que se les realiza transferencia de embriones frescos y/o vitrificados.....	120
Tabla 6.16. Tasas de gestación clínica por ciclo iniciado, por ciclo transferido y tasa de aborto	122
Tabla 6.17. Tasas de implantación con embriones en fresco y congelados.....	122
Tabla 6.18. Distribución de gestaciones única y gemelar en embarazos de trans- ferencia de embriones frescos en ambos grupos.....	123
Tabla 6.19. Distribución de RNV procedentes de gestaciones únicas y gemelares en ambos grupos	123
Tabla 6.20. Tasas de RNV en ambos grupos.....	124
Tabla 7.1. Resumen de resultados de ciclos de FIV/ICSI realizados en nuestro centro por cualquier causa de esterilidad.....	135

01

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ENDOMETRIOSIS: CONCEPTO Y DEFINICIÓN HISTÓRICA

La endometriosis se define como la presencia de tejido endometrial funcional fuera de la cavidad uterina, que induce una reacción inflamatoria local. Habitualmente estos implantes ectópicos están situados en la región pélvica, afectando el aparato genital, aunque han sido descritas otras localizaciones como intestino o vejiga, e incluso algunas localizaciones extraperitoneales, como pericardio, pleura y pared abdominal (Machairiotis et al., 2013).

Se trata de un proceso benigno pero invasivo, que tiende a progresar y recidivar, por lo que se considera una enfermedad crónica. Es dependiente de los estrógenos y suele manifestarse durante la edad fértil de la mujer.

Fue descrita por primera vez por el anatomopatólogo von Rokitansky en 1860 y nombrada inicialmente como "adenomioma". Más adelante, Sampson acuñó el término "endometriosis" y desarrolló la teoría de la "menstruación retrógrada" (Benagiano and Brosens, 2006).

1.2. PATOGENIA Y FACTORES IMPLICADOS

La patogenia de la endometriosis no está completamente establecida a pesar de haber sido una de las patologías ginecológicas más investigadas (Vercellini et al., 2014).

1.2.1. TEORÍAS

Se han postulado distintas teorías que intentan explicar el origen de la endometriosis (Burney and Giudice, 2012; Vinatier et al., 2001) (Figura 1.1). Se pueden clasificar en dos

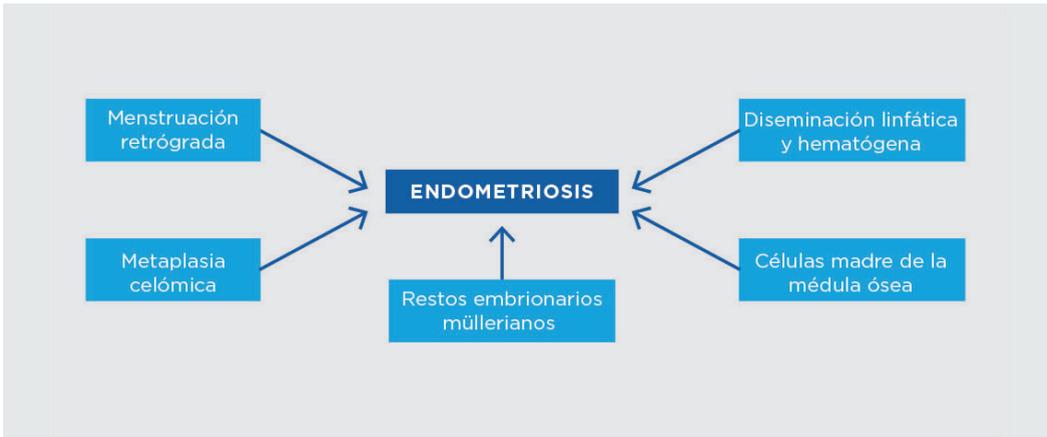


Figura 1.1. Esquema de las teorías etiopatogénicas de la endometriosis.

grupos según si defienden un origen de la endometriosis en tejidos distintos al útero o a partir del endometrio uterino:

1.2.1.1. TEORÍAS BASADAS EN UN ORIGEN NO UTERINO DE LA ENDOMETRIOSIS

TEORÍA DE LA METAPLASIA CELÓMICA

La endometriosis se originaría mediante un proceso de metaplasia en las células epiteliales celómicas que recubren el peritoneo pélvico (Meyer, 1919). Esta teoría fue propuesta en 1898 por Iwanoff y elaborada por Meyer en 1924. Está basada en el hecho de que el epitelio genital representa distintos grados de diferenciación del epitelio celómico, por lo que su poder de diferenciación frente a estímulos externos sería elevado (Vercellini et al., 2014). Esta teoría explicaría la aparición de endometriosis en cualquier localización de la cavidad abdominal y en la pleura (Foster et al., 1981), así como su diagnóstico en etapa prepuberal en algunos casos (Laufer, 2000).

TEORÍA DE LOS RESTOS EMBRIONARIOS MÜLLERIANOS

Von Recklinghausen (Von Recklinghausen, 1896) and Russell (Russell, 1899) propusieron que la endometriosis podía provenir de restos celulares embrionarios, lo que justificaría la existencia de endometrio ectópico. Recientemente se ha observado endometrio ectópico en autopsias de fetos femeninos, hecho que apoya esta teoría (Signorile et al., 2010). Un argumento que cuestionaría la teoría de los restos embrionarios es el momento de aparición de la endometriosis, ya que, teniendo en cuenta esta hipótesis,

la endometriosis debería aparecer inmediatamente tras la menarquia; sin embargo, la incidencia de esta patología es mayor en fases más tardías de la edad fértil.

TEORÍA DE LAS CÉLULAS MADRE DE LA MÉDULA ÓSEA

Se trata de la teoría más reciente. Defiende que las células madre circulantes provenientes de la médula ósea podrían diferenciarse en tejido endometrial en distintas localizaciones (Sasson and Taylor, 2008). Tanto esta teoría como las anteriores podrían explicar el extraño hallazgo de lesiones endometriósicas en varones (Giannarini et al., 2006).

1.2.1.2. TEORÍAS BASADAS EN UN ORIGEN ENDOMETRIAL DE LA ENDOMETRIOSIS

TEORÍA DE LA DISEMINACIÓN LINFÁTICA Y HEMATÓGENA DE CÉLULAS ENDOMETRIALES

Esta teoría es la más aceptada para explicar endometriosis en localizaciones alejadas del peritoneo. Se han hallado células endometriales en vasos sanguíneos y linfáticos (Halban, 1924; Sampson, 1925) que podrían desarrollar endometriosis en lugares a distancia y explicarían los casos de afectación torácica y otras localizaciones extraabdominales (Machairiotis et al., 2013).

TEORÍA DE LA IMPLANTACIÓN O MENSTRUACIÓN RETRÓGRADA

Actualmente se trata de la teoría más aceptada. Defiende que la implantación de las células endometriales en la superficie peritoneal se produce por migración de dichas células a través de las trompas de Falopio a la cavidad abdominal (Sampson, 1927). Se ha hallado sangre menstrual en el líquido peritoneal hasta en el 90% de mujeres sanas con trompas de Falopio permeables que se someten a una laparoscopia durante el periodo perimenstrual (Halme et al., 1984). Además, se ha demostrado la existencia de células viables en el flujo menstrual y que estas pueden crecer en la cavidad peritoneal. Estas evidencias apoyarían la teoría.

Otro argumento a favor sería la asociación existente entre endometriosis y la obstrucción del flujo menstrual que se ha visto en algunas malformaciones mullerianas (Olive and Henderson, 1987), que presentan una alta prevalencia de endometriosis. Incluso un compromiso sutil para la menstruación anterógrada puede predisponer a la

endometriosis, como se evidencia en mujeres con septo uterino (Nawroth et al., 2006) y estenosis cervical (Barbieri, 1998), en las que también se encuentra aumentada la prevalencia de esta enfermedad. Del mismo modo, la obstrucción yatrógena del tracto de salida del aparato genital en modelo animal, resulta en lesiones endometriósicas dentro de la cavidad peritoneal (D'Hooghe et al., 1994).

La distribución anatómica de las lesiones endometriósicas también apoya esta teoría. Los implantes superficiales se encuentran localizados con mayor frecuencia en el compartimento posterior de la pelvis y en la hemipelvis izquierda, lo que se explica por la acumulación del flujo menstrual retrógrado en el fondo de saco de Douglas por acción de la gravedad, y en la hemipelvis izquierda debido al obstáculo que supone el sigma para la difusión del flujo menstrual que proviene de la trompa izquierda, aumentando el intervalo de tiempo para que los fragmentos endometriales implanten en estas zonas (Al-Fozan and Tulandi, 2003; Dmowski and Radwanska, 1984). El útero en retroversión también se ha correlacionado con el hallazgo de endometriosis al permitir el flujo de la sangre menstrual desde el compartimento anterior al posterior (Jenkins et al., 1986).

Sin embargo, aunque se ha demostrado que la menstruación retrógrada sucede en la mayoría de mujeres, solo un pequeño porcentaje de ellas desarrolla endometriosis, lo que sugiere que existen otros factores implicados.

1.2.2. FACTORES PATOGÉNICOS

Entre los factores que intervienen en la aparición y mantenimiento de la endometriosis se encuentran factores genéticos, inmunológicos y hormonales.

1.2.2.1. FACTORES GENÉTICOS

Se ha comprobado que existen factores genéticos implicados en la susceptibilidad a padecer endometriosis, así como una mayor probabilidad de desarrollarla si existen familiares de primer grado afectados (Bischoff and Simpson, 2000; Saha et al., 2015; Simpson et al., 1980). Los resultados de un estudio poblacional realizado en gemelas sugieren que los factores genéticos contribuyen en un 47% en el desarrollo de endometriosis, mientras que los factores ambientales lo hacen en un 53% (Saha et al., 2015). Esta asociación no sigue un patrón claro de herencia mendeliana, sino que probablemente se trate de una herencia poligénica multifactorial.

Algunos estudios moleculares de ADN han encontrado alteraciones genéticas en las células endometriósicas, como pérdida de heterocigosidad en algunos cromosomas, mientras que no se hallaron en endometrio normal. Estas alteraciones pueden implicar la inactivación de algunos genes supresores tumorales, hecho que participaría en la proliferación y mantenimiento de los implantes endometriósicos, así como en la posible relación entre endometriosis y desarrollo de algunos tipos de cáncer de ovario (Bischoff and Simpson, 2000; Campbell and Thomas, 2001; Thomas and Campbell, 2000).

1.2.2.2. FACTORES INMUNOLÓGICOS

Por otro lado, hay evidencia sobre una posible alteración inmunitaria en estas pacientes, aspecto en el que se profundizará más adelante. A grandes rasgos, se ha observado una inmunidad celular deficiente, una menor actividad de las células natural killer (NK) y una resistencia de las células endometriales a la citotoxicidad de estas últimas. Estos cambios en el sistema inmune de pacientes con endometriosis, producen una disminución de reconocimiento y destrucción de las células endometriales ectópicas, que podría facilitar la persistencia de tejido endometrial en localizaciones anómalas. Además, los propios implantes endometriósicos secretan citoquinas que modulan su crecimiento y contribuyen a la supervivencia de estas lesiones en lugar de a su destrucción (Braun et al., 1994; Dmowski et al., 1994; Lebovic et al., 2001; Oosterlynck et al., 1991; Steele et al., 1984).

1.2.2.3. FACTORES HORMONALES

La endometriosis se desarrolla en la mayoría de los casos durante la edad reproductiva de la mujer y sufre una regresión tras la menopausia o tras ooforectomía, lo que indica que se trata de una enfermedad estrógeno dependiente.

Se han observado diferencias en cuanto a la expresión de receptores hormonales y enzimas que intervienen en el metabolismo estrogénico entre el endometrio de mujeres sin endometriosis, el endometrio eutópico de pacientes con endometriosis y el endometrio ectópico (Kitawaki et al., 2002). Además, en la sangre menstrual de pacientes con endometriosis se han hallado niveles altos de estradiol comparado con mujeres sanas, lo que sugiere que en las pacientes con endometriosis exista una producción local de estradiol a nivel del endometrio (Takahashi et al., 1989).

En el endometrio ectópico, la expresión del gen de la enzima aromatasa, responsable de la conversión de andrógenos en estrógenos, está aumentada; y la enzima 17- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2, que promueve la inactivación del estradiol convirtiéndolo en estrona, está disminuida, lo que tiene como consecuencia un aumento de estradiol local (Bulun et al., 2015; Rižner, 2009). A su vez, el estradiol estimula a la ciclooxigenasa 2 (COX-2), que aumenta la producción de la prostaglandina E₂ (PGE₂), que estimula la expresión del gen de la aromatasa en el tejido endometriósico y aumenta la producción de estradiol, estableciéndose así una retroalimentación positiva, que permite el crecimiento del implante (Burney and Giudice, 2012).

Por otra parte, se ha descubierto una resistencia a la progesterona en el endometrio de pacientes con endometriosis que también jugaría un papel en su fisiopatología (Burney and Giudice, 2012). Las lesiones endometriósicas presentan una disminución en la expresión de receptores de progesterona respecto al endometrio eutópico, así como ausencia del receptor B de progesterona (Attia et al., 2000). Además, se ha observado una alteración en la expresión de los genes de respuesta a la progesterona en fase lútea, que podría relacionarse con una transición incompleta del endometrio desde la fase proliferativa a la secretora, favoreciendo la supervivencia del endometrio y su implantación de forma retrógrada (Burney et al., 2007).

1.2.3. PAPEL DE MICRORNA

Los microRNA (miRNA) son moléculas de ARN monocatenario de unos 18-22 nucleótidos de longitud cuya función es regular la expresión génica a través de la unión a sus ARN mensajeros (ARNm) diana.

La expresión aberrante de miRNA se asocia a distintas enfermedades humanas, que incluyen enfermedades ginecológicas tanto benignas como malignas y problemas de esterilidad. Existe evidencia de una alteración en la expresión génica en pacientes con endometriosis (Hull et al., 2008). Algunos de estos genes son potenciales dianas de los miRNAs, habiéndose observado una regulación génica distinta en lesiones endometriósicas y endometrio eutópico (Arimoto et al., 2003). Por tanto, las alteraciones en la expresión de los miRNAs podrían tener un papel en la fisiopatología de la endometriosis, mediando en los procesos inflamatorios, de proliferación y apoptosis celular, remodelado de la matriz extracelular y angiogénesis que se producen en el

desarrollo de esta enfermedad (Braza-Boïls et al., 2015; Marí-Alexandre et al., 2016; Teague et al., 2010).

Por otro lado, los miRNA también parecen estar implicados en la esterilidad asociada a endometriosis, actuando sobre la función ovocitaria y embrionaria, así como sobre la receptividad endometrial y esteroidogénesis (Tang et al., 2007; Teague et al., 2010).

Actualmente, el papel de los miRNA como biomarcadores de la endometriosis no está bien definido, pero futuras investigaciones en este campo podrían abrir la puerta a nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas.

1.2.4. PROCESO DE FORMACIÓN DE IMPLANTES ENDOMETRIÓSCOS

Tras la llegada de células endometriales a la cavidad peritoneal, estas deben adherirse a la superficie peritoneal y a continuación se producen una serie de procesos que dan como resultado la formación, mantenimiento y progresión de las lesiones endometriósicas.

El hecho de que estos procesos sucedan en unas mujeres y no en otras, a pesar de estimarse que hasta el 90% de las mujeres presentan menstruación retrógrada, sugiere que en las pacientes con endometriosis existe una combinación de factores que predisponen al desarrollo de la enfermedad.

En primer lugar, se ha demostrado que el ambiente peritoneal de las pacientes con endometriosis está alterado, hecho que favorece la adhesión de las células endometriales a la superficie peritoneal, así como su crecimiento y supervivencia (Lebovic et al., 2001).

Los fragmentos endometriales viables que no son eliminados por el sistema inmune se adhieren a la superficie peritoneal e inician un proceso de invasión del tejido subyacente hasta desarrollar la lesión endometriósica. La matriz extracelular es una compleja estructura glicoproteica que sirve de soporte celular y funciona como un medio para el transporte de señales celulares que modulan procesos tan diferentes como la angiogénesis, la proliferación y migración celular, las respuestas inflamatorias e inmunológicas y los procesos de reparación tisular.

Las metaloproteinasas (MMPs) son enzimas proteolíticas que intervienen en el remodelado de la matriz extracelular (Amălinei et al., 2010). Diversos estudios han demostrado una expresión anómala de los sistemas de las MMPs y de sus inhibidores

TIMPs (*Tissue Inhibitor of Metalloproteinases*) en mujeres con endometriosis (Cho et al., 2013; Cominelli et al., 2014; Singh et al., 2013); de hecho, en un estudio reciente, se ha observado que en estas pacientes los estrógenos provocan un aumento de la actividad de la MMP-9 por medio de la activación de osteopontina, lo que se relaciona con el fenómeno de migración de las células endometriales (Yang et al., 2015).

También es conocido que el factor de necrosis tumoral α (TNF α) y la interleuquina 1 (IL-1) son activadores del sistema de las MMPs, lo que facilitaría la capacidad de invasión de las células endometriales. Diversos estudios han evidenciado un aumento de estas interleuquinas en líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis, lo que facilitaría una hiperactivación de las MMPs (Harada et al., 2001; Malutan et al., 2015). Por otra parte, el exceso de TNF α en el líquido peritoneal de las mujeres con endometriosis aumenta la producción de prostaglandinas por las células endometriales epiteliales, promoviendo la liberación de citoquinas inflamatorias y la adhesión del endometrio ectópico al peritoneo (Kim et al., 2013; Sakamoto et al., 2003).

Una vez el endometrio se une al peritoneo, debe establecerse una adecuada vascularización para la supervivencia del implante y el desarrollo de la enfermedad (Nap et al., 2004). Los neutrófilos y macrófagos activados en fases iniciales de la endometriosis, promueven la angiogénesis y las citoquinas que liberan amplían el estímulo para el crecimiento del tejido endometriósico. La angiogénesis está principalmente mediada por el VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor A*) y el PlGF (*Placental Growth Factor*), que se encuentran en mayores cantidades en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis (Filippi et al., 2015; Huang et al., 2013a; Laschke et al.; Lin et al., 2006). Son capaces de controlar la formación de vasos sanguíneos y su permeabilidad al interactuar con dos receptores específicos (VEGFR-1 y VEGFR-2). La mayoría de las funciones biológicas iniciadas por VEGF-A se transmiten a través del VEGFR-2, que tiene una localización exclusiva endotelial, mientras que el PlGF se une específicamente al VEGFR-1, que se encuentra en otras localizaciones del tejido. De esta forma el VEGF-A regularía la permeabilidad vascular y el PlGF contribuiría a la activación angiogénica amplificando la actividad del VEGF-A, estabilizando los vasos y movilizand o células madre progenitoras vasculares para asegurar la neoformación capilar (McLaren, 2000). Se ha visto que los estrógenos contribuyen a este efecto angiogénico (Zaitseva et al., 2004).

Por otro lado, en las pacientes con endometriosis existe una resistencia a la apoptosis que está mediada por la proteína BCL2 (B-cell lymphoma 2), cuya sobreexpresión conlleva una supervivencia aumentada de las células endometriales ectópicas, mientras que la proteína BAX, que es pro-apoptótica, se encuentra disminuida (Braun et al., 2007; Depalo et al., 2009; Harada et al.). El factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), que se encuentra aumentado en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis, también puede prevenir la apoptosis de células endometriales estromales en su tránsito a la cavidad peritoneal y facilita la adhesión de células endometriales estromales humanas en el peritoneo, favoreciendo la formación y mantenimiento de implantes endometriósicos (Dela Cruz and Reis, 2015; Young et al., 2014). En esta misma línea, la citoquina TECK/CCL25 aumenta la capacidad de invasión de las células del estroma endometrial y junto a los macrófagos, regula la función de los linfocitos T, contribuyendo de este modo a la inmunotolerancia existente en pacientes con endometriosis y favoreciendo así la progresión de la enfermedad (Li et al., 2014).

Por tanto, las células endometriales, con ayuda de las moléculas de adhesión, el estímulo hormonal, la acción de las metaloproteinasas (MMPs) y la disminución de la apoptosis, logran adherirse e iniciar su proceso de invasión y supervivencia en el peritoneo (Figura 1.2).

Como consecuencia, se produce un proceso de inflamación con acumulación de macrófagos activados, que expresan niveles aumentados de COX, produciéndose un aumento de la secreción de prostaglandinas, hecho que contribuye al mantenimiento de esta cascada inflamatoria local (Rakhila et al., 2013).

El líquido peritoneal es un medio que asegura la comunicación entre las células del sistema inmune y cuya función es mantener una correcta homeostasis y la integridad de la barrera mesotelial. Existen múltiples citoquinas y células encargadas de coordinar una respuesta inmune eficaz que permita eliminar noxas externas o fragmentos celulares no propios de la cavidad abdominal, como es el caso del tejido endometrial.

Sin embargo, en las pacientes con endometriosis se ha evidenciado una deficiente función de los mecanismos de inmunidad celular y humoral. Existe proliferación, activación y disfunción fagocitaria de los macrófagos en el líquido peritoneal de las pacientes estériles con endometriosis lo que desencadena una respuesta inflamatoria local con proliferación de linfocitos T y células natural killer (NK). Estas últimas son las responsables del reconocimiento y destrucción de las líneas celulares que han migrado

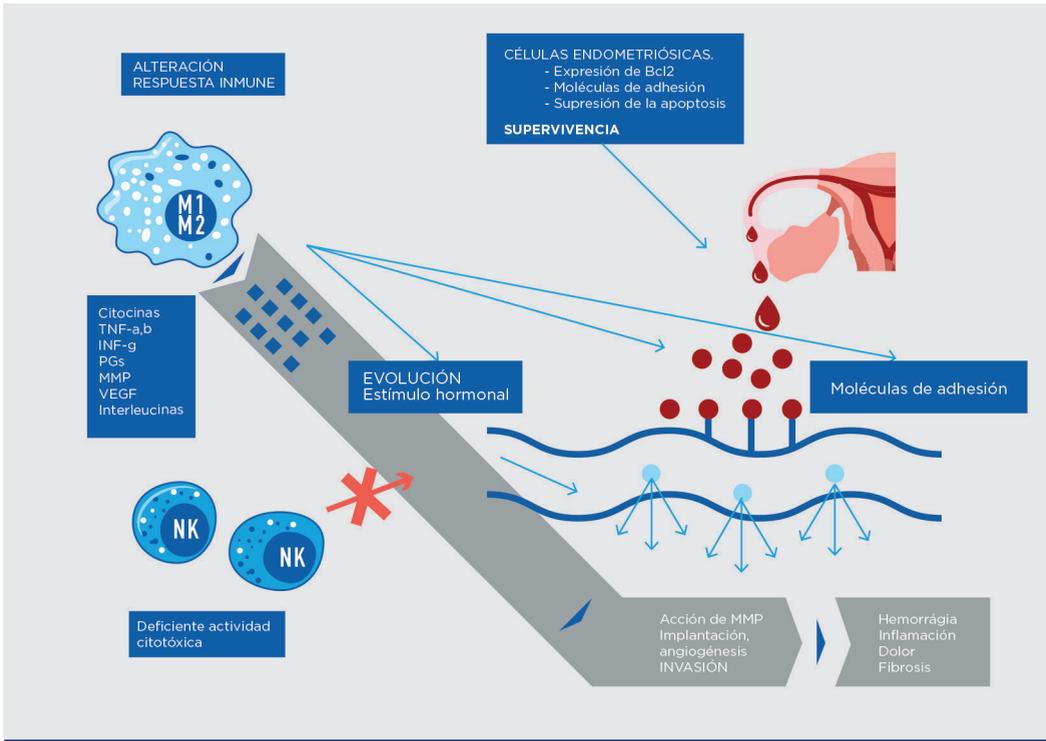


Figura 1.2. Esquema de los procesos que favorecen y permiten la formación de los implantes endometriósicos.

fuera de su medio habitual. En mujeres con endometriosis se ha demostrado una deficiente actividad citotóxica dependiente de células NK en el líquido peritoneal, lo que daría lugar a una deficiente depuración de los fragmentos endometriales presentes en el mismo (Kang et al., 2014; Oosterlynck et al., 1993). La activación de macrófagos produce un aumento de citoquinas (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, interferón γ , TNF α) que participan en la formación y progresión de la enfermedad (Barcz et al., 2012; Bergqvist et al., 2001; Capobianco, 2013). También se ha visto que la acumulación de factores prooxidantes como el hierro en la cavidad pélvica de pacientes con endometriosis, favorece el estrés oxidativo y activa el factor nuclear κ B (NF- κ B), aumentando la producción de prostaglandinas y con ello la inflamación y mantenimiento de la enfermedad (González-Ramos et al., 2012; Lousse et al., 2012).

Los niveles elevados de estradiol hallados en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis estimulan a la COX-2, que aumenta la producción de la prostaglandina

E2, quien a su vez estimula la expresión de la aromatasa en el tejido endometriósico y aumenta la producción de estradiol, estableciéndose una retroalimentación positiva que permite el crecimiento y mantenimiento del implante endometriósico (Attar and Bulun; Noble et al., 1997).

1.3. EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de la endometriosis en la población general es desconocida, pero se ha observado hasta en el 10% de las mujeres en edad reproductiva y casi en el 50% de las pacientes con esterilidad y adolescentes con dolor pélvico a las que se les realiza una laparoscopia (Cramer and Missmer, 2002; Eskenazi and Warner, 1997; Meuleman et al., 2009; Sangi-Haghpeykar and Poindexter, 1995).

En dos estudios más recientes, se han observado datos similares, por un lado en el estudio de cohortes ENDO (Buck Louis et al., 2011), se diagnosticó endometriosis hasta en un 41% de mujeres en edad fértil sometidas a cirugía, mientras que en la población general se observó una prevalencia del 11%. Mishra y cols en un estudio retrospectivo encontraron endometriosis en el 48% de pacientes con esterilidad (Mishra, 2015).

Como factores de riesgo para desarrollar endometriosis se han descrito: nuliparidad, menarquia temprana, menopausia tardía, ciclos menstruales cortos, índice de masa corporal bajo y malformaciones müllerianas; mientras que disminuirían el riesgo la multiparidad, periodos largos de lactancia y la menarquia tardía (Hediger et al., 2005; Missmer et al., 2004a; Olive and Henderson, 1987; Treloar et al., 2010). También se ha visto una prevalencia menor en mujeres afroamericanas que en caucásicas y asiáticas (Missmer et al., 2004b).

1.4. ASPECTOS CLÍNICOS DE LA ENDOMETRIOSIS

1.4.1. FORMAS DE PRESENTACIÓN Y SINTOMATOLOGÍA

La presentación clínica de la endometriosis puede variar desde lesiones mínimas en órganos pélvicos hasta una completa distorsión de la anatomía del aparato reproductor femenino a causa de endometriomas, implantes endometriósicos y adherencias, que pueden incluso afectar a órganos vecinos como vejiga, uréteres e intestino.

En cuanto a la sintomatología de la endometriosis, el síntoma principal es el dolor, apareciendo tanto en forma de dolor pélvico crónico como de dismenorrea. Otros síntomas relacionados serían la dispareunia, los problemas intestinales y las alteraciones menstruales, así como la esterilidad, que puede estar presente hasta en el 30-40% de las pacientes con endometriosis (Kennedy et al., 2005; Sinaii et al., 2008).

1.4.2. TIPOS DE LESIONES

1.4.2.1. LESIONES PERITONEALES

Se han descrito tres tipos de lesiones peritoneales (Nisolle et al., 1990):

Lesiones rojas (lesiones atípicas): lesiones “en llama”, recientes o activas. Se trata de lesiones glandulares, peritoneo petequiral y/o áreas de hipervascularización principalmente en peritoneo de ligamentos anchos y uterosacros (Figura 1.3).



Figura 1.3. Imagen en la que se observan lesiones rojas en ligamento uterosacro. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía del doctor Vicente Payá Amate.

Lesiones negras (lesiones típicas): lesiones antiguas o poco activas, de color negro o azulado que aparecen como resultado de la retención de los pigmentos de la sangre, proporcionando un color oscuro a la parte interna del tejido (Figura 1.4). Están formadas por glándulas, estroma, tejido cicatricial y detritus intraluminal.

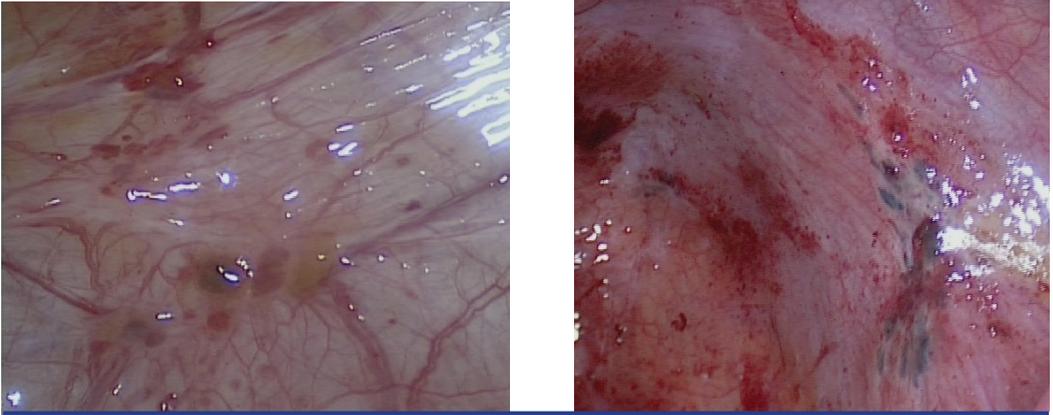


Figura 1.4. Imágenes en las que se observan lesiones típicas en el peritoneo parietal. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía del doctor Vicente Payá Amate.

Lesiones blancas: se trata de lesiones peritoneales gruesas, de aspecto blanco y opaco debido a la fibrosis que las constituye, y que presentan un contorno irregular estelar impreciso (Figura 1.5). En estas fibrosis, los elementos glandulares son poco frecuentes y tienen una apariencia poco activa. Son lesiones que corresponden a zonas cicatriciales de lesiones activas anteriores.



Figura 1.5. Imagen en la que se observa una lesión blanca. Servicio de Ginecología Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía del doctor Vicente Payá Amate.

1.4.2.2. ENDOMETRIOSIS OVÁRICA

La afectación ovárica abarca dos tipos de lesiones (Nisolle and Donnez, 1997):

Focos superficiales: pueden tener una apariencia macroscópica atípica con lesiones marrones, lesiones rojas, depósitos parduscos y adherencias en la superficie del ovario.

Endometriomas: formaciones quísticas de tamaño variable, también llamados “quistes de chocolate”, que aparecen como resultado de la acumulación de material tras hemorragias repetidas (Figura 1.6).

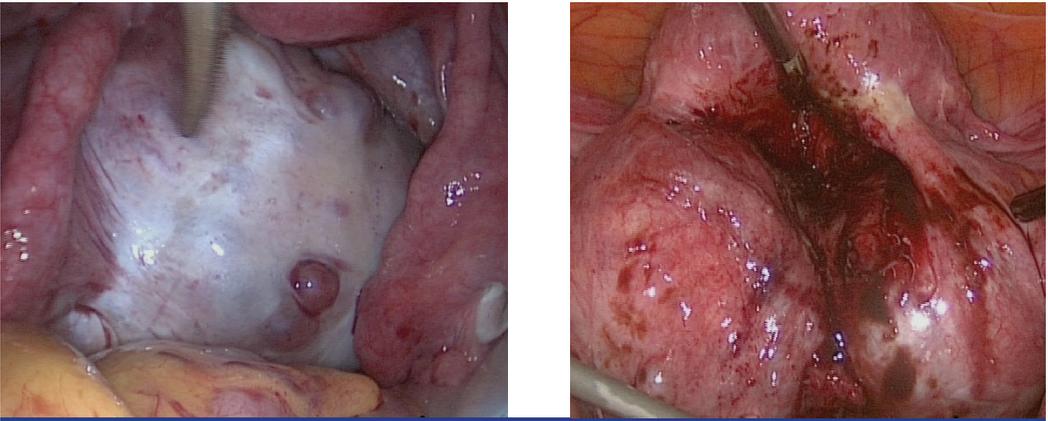


Figura 1.6. Imágenes que muestran endometriomas ováricos y su contenido “achocolatado”. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía del doctor Vicente Payá Amate.

1.4.2.3. ENDOMETRIOSIS INFILTRANTE PROFUNDA

La endometriosis se considera infiltrante cuando las lesiones alcanzan más de 5 mm de profundidad en el peritoneo y pueden estar situadas en el fondo de saco de Douglas, en el espacio vesicouterino y en otras regiones de la pelvis (Cornillie et al., 1990). Vercellini y cols. (Vercellini et al., 2004) reservan este término para lesiones ubicadas en el retroperitoneo en regiones distintas de la endometriosis común y comprometiendo órganos como intestino, uréteres, vejiga o región rectovaginal, pudiendo provocar dolor severo.

Puede dividirse en tres localizaciones anatómicas (Chapron et al., 2006):

Compartimento anterior: nódulos localizados en pared vesical (Kovoor et al.) (Figura 1.7) o ligamentos redondos (Gui et al., 2014).

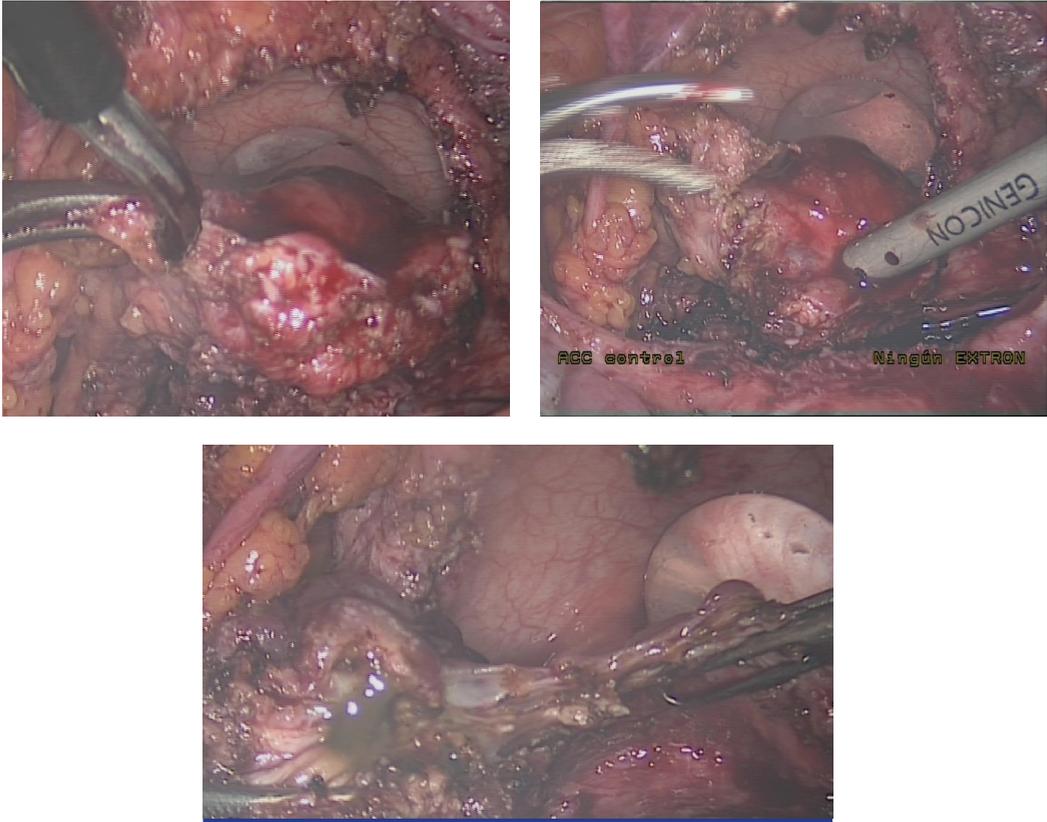


Figura 1.7. Imágenes que muestran la exéresis de un nódulo endometriósico en pared vesical. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía del doctor Vicente Payá Amate.

Pared pélvica lateral: puede existir afectación de uréteres, plexos nerviosos hipogástricos, espina ciática, ligamento sacroespinoso y en ocasiones, nervios profundos de la pelvis como el ciático o el pudendo (Ceccaroni et al., 2011).

Compartimento posterior: afectación de ligamentos uterosacos, parametrios, vagina, recto y tabique rectovaginal (Bonte et al., 2002; Ruffo et al., 2012) (Figura 1.8)

Por último, cabe destacar la posibilidad de encontrar endometriosis en localizaciones extrapélvicas como intestino delgado, sigma, ciego y apéndice (Pergialiotis et al., 2015).

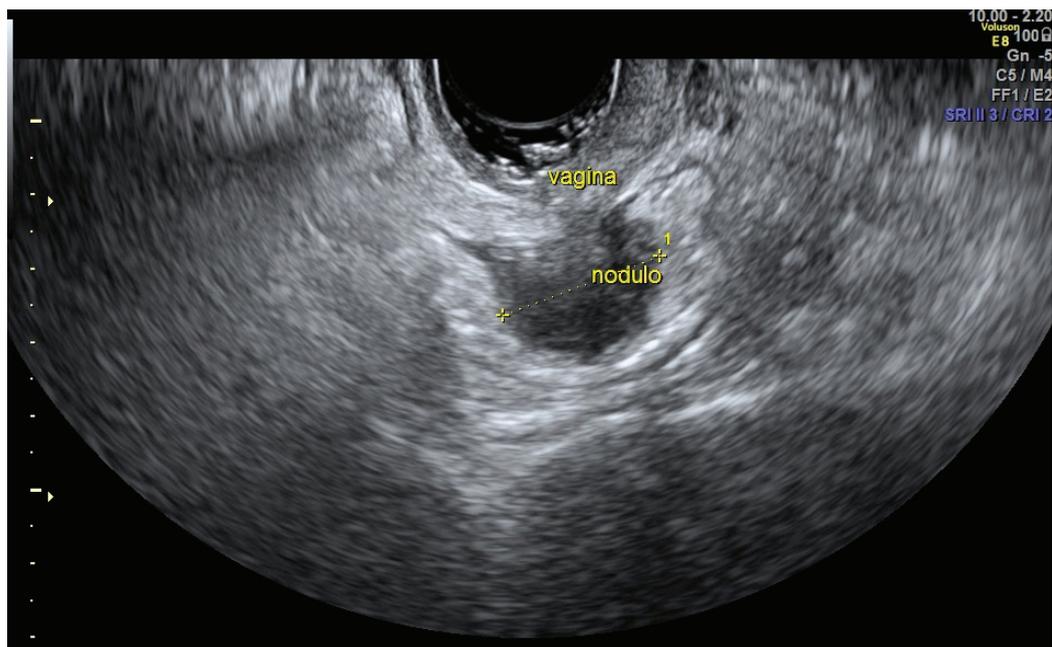


Figura 1.8. Imagen ecográfica en la que se observa un nódulo endometriósico en el tabique rectovaginal. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de la doctora Susana Martínez Cuenca.

1.4.3. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico suele ser tardío por la gran variedad clínica así como la posibilidad de evolución asintomática de la enfermedad, pudiendo demorarse varios años desde la aparición de los primeros síntomas (Spaczynski and Duleba, 2003).

Teniendo en cuenta que la endometriosis es una causa mayor de discapacidad y que afecta significativamente a la calidad de vida de las pacientes, este retraso en el diagnóstico puede empeorar el pronóstico de la enfermedad al suponer periodos de tiempo sin tratamiento, en los que la enfermedad puede progresar (Nnoaham et al., 2011).

La visión directa de las lesiones mediante laparoscopia asociada a estudio anatomopatológico se ha considerado como “gold standard” para el diagnóstico de endometriosis, pero se trata de un método invasivo y con costes asociados.

Actualmente existen métodos no invasivos, como las técnicas de imagen (ecografía transvaginal, resonancia magnética), que han mejorado su sensibilidad pero pueden no ser capaces de diagnosticar los estadios tempranos de la enfermedad (Figura 1.9 y 1.10).

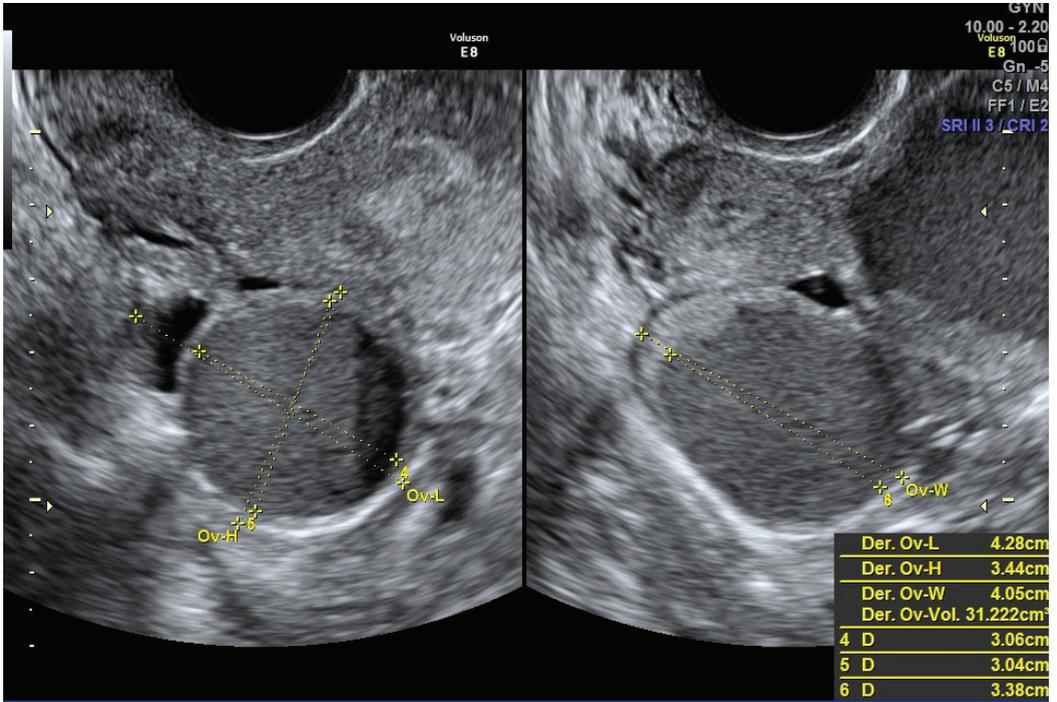


Figura 1.9. Imagen ecográfica en la que se observa una endometriosis ovárica. Servicio de Ginecología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de la doctora Susana Martínez Cuenca.

En cuanto a otros métodos diagnósticos, el CA125 es el marcador de referencia pero no es exclusivo de la endometriosis y en muchas ocasiones solo se detecta si se trata de estadios avanzados de la enfermedad, por este motivo las últimas investigaciones para mejorar el diagnóstico de la endometriosis se han centrado en encontrar otros biomarcadores específicos (Fassbender et al., 2015; Spaczynski and Duleba, 2003).



Figura 1.10. Imagen de resonancia magnética donde se observa un nódulo endometriósico en la pared vesical. Servicio de Radiología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe.

1.4.4. CLASIFICACIÓN

La clasificación de la endometriosis es importante para especificar el diagnóstico, así como para que los profesionales empleen los mismos términos y sea posible estandarizar comparaciones y realizar estudios de investigación.

En el momento actual, pese a sus limitaciones y a la aparición de nuevos sistemas de clasificación que han sido o están siendo validados, la clasificación más ampliamente utilizada es la de la American Society for Reproductive Medicine (ASMR), revisada en el año 1996 (Adamson, 2011; Canis et al., 1997).

Según esta clasificación, la endometriosis puede dividirse en 4 estadios, asignando una puntuación en función del tamaño, profundidad y localización de los implantes endometriósicos además de la presencia de adherencias asociadas (Figura 1.11).

Estadio I: mínima

Se asigna este estadio a pacientes que presentan una puntuación inferior o igual a 5 puntos. La afectación en este grupo suele incluir implantes endometriósicos peritoneales



SOCIEDAD AMERICANA SOCIETY PARA MEDICINA REPRODUCTIVA
CLASIFICACION REVISADA DE ENDOMETRIOSIS

Nombre paciente _____ Fecha _____

Grado I (Minimal) - 1-5 Laparoscopia _____ Laparotomia _____ Fotografia _____
 Grado II (Holt) - 6-15 Tratamiento recomendado _____
 Grado III (Moderate) - 16-40
 Grado IV (Severe) - >40
 Total _____ Pronóstico _____

PERITONEO	ENDOMETRIOSIS	< 1 cm	1-3 cm	>3 cm
	Superficial	1	2	4
	Profundo	2	4	6
OVARIO	D Superficial	1	2	4
	Profundo	4	16	20
	I Superficial	1	2	4
	Profundo	4	16	20
POSTERIOR SACO DE DOUGLAS OBLITERACION		< Parcial		Completo
		4		40
OVARIO	ADHESIONES	<1/2 Cierre	1/2-3/4 Cierre	>3/4 Cierre
	D Transparente	1	2	4
	Opaco	2	8	16
	I Transparente	1	2	4
	Opaco	4	8	16
TROMPA	D Transparente	1	2	4
	Opaco	4*	8*	16
	I Transparente	1	2	4
	Opaco	4*	8*	16

*Si las fimbrias de las trompas de falopio están completamente adheridas, se cambia el punto asignado a 16.
 Indicar la aparición de implantes superficiales tipo rojo(I), rojo, rojo-rosa, tipo llama, gota vesicular, vesículas claras), blancas (W), opacificaciones, defectos peritoneales, amarillo-anaranjado, o negros (B) negras, depósitos de hemosiderinas, azul]. Indicar el porcentaje total descrito como R ___% B ___% and N ___%. El total debe ser igual al 100%.

Endometriosis Adicional: _____ Patología asociada: _____

Para ser usado con
Trompas y Ovarios normales

I. R.



Para ser usado con y/o
Trompas y Ovarios anormales

I. R.



Figura 1.11. Clasificación revisada de la endometriosis de la ASRM (American Society for Reproductive Medicine). 1997.

superficiales, junto a la presencia o no de afectación ovárica superficial de pequeño tamaño y adherencias laxas limitadas.

Estadio II: leve

Se encuentran en este grupo pacientes con puntuación entre 6 y 15 puntos. En estos casos, además de las lesiones descritas anteriormente, pueden existir implantes peritoneales profundos.

Estadio III: moderada

Este estadio se asigna a pacientes que obtienen una puntuación entre 16 y 40 puntos. Pueden presentar obliteración parcial del fondo de saco de Douglas y endometriomas de mayor tamaño además de adherencias firmes.

Estadio IV: grave

En este grupo se incluyen las pacientes con puntuación superior a 40 puntos. Además de las lesiones ya descritas pueden presentar obliteración completa del fondo de saco de Douglas.

En el formulario de registro también se incluye una descripción del tipo de implante.

Cuando existe afectación de otros órganos como tracto urinario, intestino, cérvix, vagina, etc., se añade como endometriosis adicional.

1.5. ENDOMETRIOSIS Y ESTERILIDAD

1.5.1. RELEVANCIA DE LA ENDOMETRIOSIS EN LA ESTERILIDAD HUMANA

Como ya se ha señalado anteriormente, la endometriosis constituye una causa importante de esterilidad debido a su elevada prevalencia, la controversia existente a la hora de decidir cuál es el mejor tratamiento y los peores resultados obtenidos en las técnicas de reproducción asistida comparados con otras causas de esterilidad.

1.5.2. MECANISMOS DE ESTERILIDAD

Los mecanismos que contribuyen a la esterilidad en pacientes con endometriosis son controvertidos y parece que dependen, al menos parcialmente, del estadio de la enfermedad (Fadhlaoui et al., 2014).

1.5.2.1. AMBIENTE PERITONEAL Y ALTERACIONES INMUNITARIAS

Los efectos pro-inflamatorios e inmunológicos y el desarrollo de implantes endometriósicos, detallados en el apartado de patogenia, tienen como consecuencia final la formación de fibrosis, con inflamación, dolor pélvico y dispareunia, así como el desarrollo de adherencias, que a su vez se han relacionado con dificultad para la fecundación del ovocito por parte del espermatozoide.

1.5.2.2. AMBIENTE FOLICULAR Y FOLICULOGÉNESIS

El proceso de foliculogénesis se encuentra alterado en las pacientes con endometriosis, hecho que parece contribuir a una disfunción ovulatoria, con una calidad ovocitaria disminuida, disminución de la tasa de fecundación y embriones con menor potencial implantatorio, lo que conlleva menores tasas de implantación (Garrido, Pellicer, Remohí, & Simón, 2003; Pellicer et al., 2000).

Se ha observado un crecimiento folicular más lento en pacientes con endometriosis mínima o leve cuando se compara con pacientes con otras causas de esterilidad (Doody et al., 1988), así como un menor tamaño del folículo dominante en estas pacientes y una menor concentración de estradiol (Tummon et al., 1988).

Cahill y cols (Cahill et al., 1997) publicaron un estudio que comparaba la función folicular y la fecundación ovocitaria en ciclo natural de tres grupos de pacientes (esterilidad de causa tubárica, desconocida o asociada a endometriosis leve), concluyendo que existe una disfunción ovulatoria en las pacientes con endometriosis leve al observar una fase folicular más larga y una disminución de la concentración de LH en el líquido folicular, provocando esto una disminución en la tasa de fecundación.

Esta relación entre endometriosis y foliculogénesis alterada es difícil de establecer y algunos estudios no han encontrado diferencias en estas variables entre pacientes con y sin endometriosis (Mahmood and Templeton, 1991). No obstante, existen numerosos trabajos realizados en pacientes con endometriosis que se someten a técnicas de reproducción asistida en los que se evidencia dicha relación, como se detallará en otro apartado más adelante (Cahill et al., 1997; Trinder & Cahill, 2002).

Así como anteriormente se ha mencionado la existencia de un ambiente peritoneal alterado en pacientes con endometriosis, se ha evidenciado una alteración en el ambiente folicular de estas pacientes.

Por un lado, diversos estudios han mostrado un aumento de citoquinas en el líquido folicular, como IL-6 y TNF- α (Garrido et al., 2000; Lachapelle et al., 1996; Pellicer et al., 1998; Wunder et al., 2006) y por otro lado, existe una alteración en la función de las células de la granulosa (Cahill et al., 2003), aunque este tema se detallará en profundidad en el apartado de "Resultados de técnicas de reproducción asistida en pacientes con endometriosis".

Todo esto contribuye a la alteración de la foliculogénesis, con disminución de la calidad ovocitaria y de los embriones resultantes.

1.5.2.3. ADHERENCIAS

Las adherencias pélvicas presentes en pacientes con endometriosis producen una distorsión de la anatomía pélvica y, sobre todo en los estadios avanzados de endometriosis, pueden producir una disminución de la fertilidad. Los mecanismos por los que dichas adherencias contribuirían a la esterilidad en pacientes con endometriosis serían los siguientes: dificultad para la liberación del ovocito, bloqueo de la entrada de espermatozoides en la cavidad peritoneal y de la captación del ovocito por la trompa de Falopio cuando se produce la ovulación (Jacob, 2011).

1.5.2.4. OBSTRUCCIÓN Y DISFUNCIÓN TUBÁRICA

Las adherencias y la afectación de la pared tubárica por la endometriosis pueden producir obstrucción tubárica. Además, se ha relacionado la endometriosis con una disfunción tubárica ya que las sustancias proinflamatorias existentes en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis podrían tener un efecto inhibitorio de los cilios de la mucosa de las trompas de Falopio y, como consecuencia, afectar al transporte tubárico de gametos y embriones (Lyons et al., 2006).

1.5.2.5. DISMINUCIÓN DE RESERVA OVÁRICA

Existe controversia sobre si la endometriosis por sí misma disminuye la reserva ovárica o esta solo se ve afectada tras la cirugía de los endometriomas, pero parece ser que la

disminución de la reserva ovárica en las pacientes con endometriosis se debe a ambos motivos (Gizzo et al., 2015; Oral et al., 2015; Streuli et al., 2012).

En este sentido, Chang y cols (Chang et al., 2010) realizaron un trabajo en 20 pacientes con tumores ováricos benignos (endometriomas, teratomas y cistoadenomas mucinosos), a las que midieron los niveles de hormona antimülleriana (AMH) y calcularon el volumen ovárico mediante ecografía, antes y después de practicar una quistectomía laparoscópica, con el objetivo de valorar los cambios producidos sobre la reserva ovárica. Sus resultados sugieren que la reserva ovárica podría reducirse tras la cirugía, en mayor medida si se trata de endometriomas respecto a otro tipo de lesiones ováricas, aunque los niveles de AMH parecen recuperarse, al menos parcialmente, a los 3 meses de la intervención.

Posteriormente, fue publicado un estudio que incluyó a 1642 pacientes, que comparaba la reserva ovárica mediante medición de la AMH en 4 grupos de pacientes: un grupo control de pacientes sin endometrioma, pacientes con endometrioma, pacientes con antecedente de quistectomía previa por endometrioma y pacientes con endometrioma a las que se les realizó una quistectomía durante el periodo de estudio. Concluyeron que, tanto la presencia de endometrioma como la quistectomía, estaban asociados a una reducción significativa de la reserva ovárica, siendo el impacto negativo más importante si se trataba de endometriomas bilaterales que unilaterales (Hwu et al., 2011).

1.5.2.6. RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL ALTERADA

En las pacientes con endometriosis se produce una disfunción en el endometrio que parece contribuir al desarrollo de la enfermedad y también a la alteración de la implantación embrionaria.

Respecto a este tema, se han descrito distintas anomalías en la expresión de factores tisulares, angiogénicos y proteolíticos en el endometrio de mujeres con endometriosis (Gilbert-Estellés et al., 2007, 2003).

Por otro lado, se ha demostrado un aumento de la inmunorreactividad de apolipoproteína A-I en el epitelio luminal del endometrio eutópico y en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis, sugiriendo que esta proteína anti-implantatoria podría condicionar una menor receptividad endometrial (Brosens et al., 2010).

Por último, se han identificado anticuerpos IgG e IgA contra antígenos endometriales en mujeres con endometriosis que podrían ser responsables de una anormal receptividad endometrial limitando la implantación embrionaria (Lebovic et al., 2001).

Pese a que parece que exista una alteración en la receptividad endometrial en pacientes con endometriosis, hay resultados contradictorios en la literatura, como se detallará en el apartado de "Resultados de técnicas de reproducción asistida en pacientes con endometriosis".

1.5.2.7. CALIDAD OVOCITARIA Y EMBRIONARIA

Se ha observado una peor calidad ovocitaria en pacientes con endometriosis, que podría originar una disminución de la tasa de fecundación y embriones con menor potencial implantatorio.

En una investigación realizada en modelo animal, se comprobó una disminución en la calidad ovocitaria así como un menor número de embriones resultantes al inducir una endometriosis peritoneal (Cohen et al., 2015).

Por otro lado, un interesante estudio publicado recientemente examinó, mediante un microscopio electrónico de transmisión, ovocitos de pacientes con endometriosis mínima o leve que se sometían a FIV, comparándolos con pacientes control. Se observó que los ovocitos de las pacientes con endometriosis presentaban una estructura mitocondrial anormal y una masa mitocondrial disminuida. También se realizó un análisis de ADN mitocondrial mediante PCR en tiempo real que reveló que el número de copias de este ADN estaba reducido de forma significativa en los ovocitos de las pacientes con endometriosis, sugiriendo estos datos que la alteración estructural y funcional de las mitocondrias podría afectar a la fertilidad de estas pacientes (Xu et al., 2015).

1.5.2.8. AFECTACIÓN ESPERMÁTICA

Diversos estudios sugieren que la endometriosis afecta negativamente a los espermatozoides, habiéndose comprobado un aumento del daño en su ADN al ponerlos en contacto con líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, probablemente debido a las sustancias inflamatorias presentes en dicho líquido (Mansour et al., 2009).

En este sentido, el TNF- α puede causar daño en el DNA del espermatozoide, siendo este daño proporcional al tiempo de exposición, aumentando la peroxidación de la

membrana y la apoptosis celular (Said et al., 2005). Además, se ha observado una alteración de la interacción entre los espermatozoides y el epitelio del endosalpinx (Reeve et al., 2005), y el aumento de IL-1 y de la citoquina RANTES (*regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*) hallado en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis, parece afectar a la unión del espermatozoide con la zona pelúcida del ovocito y dificultaría la reacción acrosómica (Barbonetti et al., 2008; Sueldo et al., 1990).

1.6. RESULTADO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) constituyen el tratamiento de muchas causas de esterilidad, entre ellas la endometriosis. Los resultados obtenidos con las técnicas de reproducción asistida parecen ser algo peores en mujeres con endometriosis que en mujeres con otras causas de esterilidad.

1.6.1. TASAS DE IMPLANTACIÓN Y GESTACIÓN

Algunos estudios han demostrado una reducción significativa de las tasas de fecundación, implantación y gestación en estas pacientes cuando se comparan con pacientes con esterilidad de causa tubárica o de origen desconocido (Arici et al., 1996; Lin et al., 2012; Matson and Yovich, 1986; Mekaru et al., 2013; Pellicer et al., 1995; Pop-Trajkovic et al., 2014; Simón et al., 1994; Sung et al., 1997; Wardle et al., 1985) (Tabla 1.1).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, parece factible pensar que los resultados obtenidos con TRA en pacientes con endometriosis sean peores que en pacientes con otras causas de esterilidad. No obstante, no todos los autores están de acuerdo con esta hipótesis y existen diversos estudios que no encuentran estas diferencias (Bongioanni et al., 2011; Bukulmez et al., 2001; Check et al., 2010; Dmowski et al., 1995; Hickman, 2002; Huang HY, Lee CL, Lai YM, Chang MY, Chang SY, 1997; Inoue et al., 1992; Kawwass et al., 2015; Olivennes et al., 1995; Opøien et al., 2012; Polat et al., 2014; Tanbo et al., 1995) (Tabla 1.2).

1 / INTRODUCCIÓN

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Wardle y cols (Wardle et al., 1985)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	Menor tasa de fecundación en pacientes con endometriosis
Matson y cols (Matson and Yovich, 1986)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	Menor tasa de gestación por ciclo en pacientes con endometriosis grado III y IV
Simón y cols (Simón et al., 1994)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	Menor tasa de gestación por ciclo y por transferencia y menor tasa de implantación en pacientes con endometriosis
Pellicer y cols (Pellicer et al., 1995)	Evaluar los resultados de FIV en: 1° pacientes con endometriosis vs factor tubárico 2° a) pacientes con endometriosis que recibían ovocitos de donante sin endometriosis vs pacientes sin endometriosis que recibían ovocitos de donante sin endometriosis b) pacientes que recibían ovocitos de donante con endometriosis 3° pacientes con endometriosis vs sin endometriosis (valoración de desarrollo embrionario in vitro)	1° Menor tasa de gestación por ciclo, por transferencia y menor tasa de implantación 2° a) Misma tasa de gestación y desarrollo embrionario b) Menor tasa de implantación en pacientes receptoras de ovocitos de donantes con endometriosis 3° Menor n° de blastómeras en embriones de pacientes con endometriosis y mayor incidencia de detención del desarrollo embrionario
Arici y cols (Arici et al., 1996)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico vs esterilidad de origen desconocido (EOD)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico vs esterilidad de origen desconocido (EOD)
Sung y cols (Sung et al., 1997)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis y sin endometriosis receptoras de embriones provenientes de ovocito de donante sin endometriosis	Misma tasa de implantación y gestación
Lin y cols (Lin et al., 2012)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs pacientes con otras causas de esterilidad	Menor n° de ovocitos obtenidos, menor tasa de fecundación y gestación en pacientes con endometriosis
Mekaru y cols (Mekaru et al., 2013)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis grado I-II vs pacientes con otras causas de esterilidad	Menor respuesta ovárica en pacientes con endometriosis (mayor dosis de gonadotropinas requerida, menor n° embriones de buena calidad, menor tasa de gestación y RNV, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos)
Pop-Trajkovic y cols (Pop-Trajkovic et al., 2014)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis grado I-II vs grado III-IV vs factor tubárico	Mayor tasa de cancelación de ciclo, necesidad de dosis mayor de gonadotropinas, menor n° ovocitos obtenidos y menor tasa de gestación y RNV en endometriosis III-IV

Tabla 1.1. Tabla resumen de estudios que encuentran peores tasas de implantación y gestación con TRA en pacientes con endometriosis.

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Inoue y cols (Inoue et al., 1992)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs pacientes con otras causas de esterilidad	No diferencias en cuanto a tasa de embarazo ni diferencias en función del estadio de endometriosis
Dmowski y cols (Dmowski et al., 1995)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis (subdivididas en función del estadio de la enfermedad y la presencia o no de autoanticuerpos) vs pacientes con otras causas de esterilidad	Mismo n° de ovocitos, tasa de fecundación y tasa de embarazo por ciclo, no diferencias en función de estadio de endometriosis, pacientes con autoanticuerpos + menor tasa de gestación con mejoría tras administración de corticoides
Olivennes y cols (Olivennes et al., 1995)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	No diferencias en tasa de gestación
Tanbo y cols (Tanbo et al., 1995)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis peritoneal mínima vs EOD vs factor tubárico	No diferencias en tasa de gestación, menor tasa de división embrionaria en endometriosis y EOD
Huang y cols (Huang HY, Lee CL, Lai YM, Chang MY, Chang SY, 1997)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis intervenida mediante laparoscopia vs factor tubárico	No diferencias en tasa de gestación e implantación, pero necesidad de mayor dosis de gonadotropinas en endometriosis
Bukulmez y cols (Bukulmez et al., 2001)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs pacientes con otras causas de esterilidad	No diferencias en tasa de gestación e implantación
Hickman y cols (Hickman, 2002)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	No diferencias en tasa de fecundación, n° embriones transferidos, tasa de embarazo y de implantación
Check y cols (Check et al., 2010)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con reserva ovárica disminuida con endometriosis vs sin endometriosis	No diferencias en tasa de gestación
Bongioanni y cols (Bongioanni et al., 2011)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor tubárico	No diferencias en tasa de gestación e implantación pero mayor tasa de cancelación de ciclo en pacientes con endometriosis
Opøien y cols (Opøien et al., 2012)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con distintos grados de endometriosis vs factor tubárico	No diferencias en tasa de gestación y RNV, pero estadio I-II menor tasa de fecundación, estadio III-IV necesidad de mayor dosis de gonadotropinas y menor n° de ovocitos obtenidos. Estadios III-IV con endometrioma menor tasa de gestación y RNV que estadios III-IV sin endometrioma
Benaglia y cols (Benaglia et al., 2013)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriomas bilaterales y controles sin evidencia de endometriosis o endometriomas	No diferencias en tasa de implantación, de gestación ni de RNV, tampoco diferencias en calidad embrionaria.
Polat y cols (Polat et al., 2014)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis grado I-II vs III-VI vs factor tubárico	No diferencias en tasas de implantación, gestación clínica, aborto y RNV
Kawwass y cols (Kawwass et al., 2015)	Evaluar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis vs factor masculino	Tasas de gestación por transferencia y RNV menores en pacientes con endometriosis pero diferencia no significativa

Tabla 1.2. Tabla resumen de estudios que no encuentran peores tasas de implantación y gestación con TRA en pacientes con endometriosis.

Al existir resultados contradictorios en los distintos estudios, Barnhart y cols (Barnhart et al., 2002) intentaron resolver el conflicto realizando un meta-análisis de 22 estudios publicados y encontraron que la posibilidad de conseguir una gestación en mujeres con endometriosis era significativamente menor (odds ratio [OR] 0.56; 95% intervalo de confianza [IC] 95%, 0.44-0.70) que en la esterilidad de causa tubárica. El análisis multivariante también demostró una menor tasa de fecundación e implantación, así como un menor número de ovocitos obtenidos en mujeres con endometriosis. También encontraron estos autores que la tasa de gestación en mujeres con estadios avanzados de la enfermedad era menor que en los estadios iniciales (OR 0.60; IC 95% IC 0.42-0.87).

Posteriormente, Harb y cols (Harb et al., 2013) publicaron otro meta-análisis que incluyó 27 estudios, mostrando que las tasas de fecundación en los estadios I-II de endometriosis están disminuidas (riesgo relativo [RR] = 0.93, IC 95% 0.87-0.99, $p=0.03$) mientras que no hay diferencias en cuanto a tasa de implantación, tasa de gestación clínica ni de recién nacido vivo comparado con los controles. Sin embargo, los estadios III-IV de endometriosis sí se asocian a menor tasa de implantación (RR= 0.79, IC 95% 0.67-0.93, $p=0.006$) y gestación clínica (RR = 0.79, IC 95% 0.69-0.91, $p=0.0008$).

Por otro lado, algunas investigaciones han evidenciado marcadores de implantación alterados durante la ventana de implantación en pacientes con endometriosis, lo que apoyaría que estas pacientes presenten una receptividad endometrial alterada (Donaghay and Lessey, 2007; Lessey et al., 1994; Matsuzaki et al., 2010; Taylor et al., 1999; Wei et al., 2009).

Otra de las alteraciones halladas en pacientes con endometriosis hace referencia a la vía de hormonas esteroideas. Como ya se ha explicado en la sección de patogenia, los receptores de estrógenos en estas pacientes están regulados al alza (Lessey et al., 1988), mientras que existe una resistencia a la progesterona por una posible metilación aberrante que afecta a su receptor B (Wu et al., 2006). Todo ello contribuiría a una disminución de la receptividad endometrial (Revel, 2012).

Por último, Shen y cols (Shen et al., 2015) han publicado recientemente un estudio en el que compararon 28 pacientes con endometriosis con 26 controles (esterilidad de causa tubárica). La glucoproteína mucin-1 (MUC1) se ha relacionado con el éxito en la implantación embrionaria y estudios in vitro demuestran que su expresión se ve afectada por la progesterona y sus receptores. Estos autores analizaron la expresión de MUC1 y el receptor B de progesterona en muestras de endometrio, hallando que la expresión de

MUC1 estaba disminuida en el endometrio de pacientes con endometriosis, pudiendo atribuirse a variaciones en el receptor de progesterona.

1.6.2. ALTERACIONES OVOCITARIAS Y EMBRIONARIAS

Estas menores tasas de gestación e implantación observadas en pacientes con endometriosis se cree que están originadas en una mala calidad ovocitaria, que puede llevar a una menor tasa de fecundación. Esta mala calidad ovocitaria produciría embriones de peor calidad con una reducida capacidad para implantar, especialmente en endometriosis severa (Arici et al., 1996; Matson and Yovich, 1986; Simón et al., 1994).

La calidad ovocitaria depende del microambiente folicular. La existencia de un adecuado diálogo de señalización bidireccional entre las células del cúmulo (CC) y el ovocito, es un requisito para adquisición de la competencia tanto del ovocito como de las CC (Arici et al., 1996; Assou et al., 2010, 2008; O'Shea et al., 1985; Simón et al., 1994; Yovich et al., 1985) .

Las células de la granulosa obtenidas durante la punción ovárica y captación ovocitaria en los ciclos de FIV, pueden ser divididas en dos subpoblaciones: células del cúmulo (CC) y células de la granulosa murales (CGM). Las CC forman un grupo de células asociadas en íntima relación con el ovocito en el folículo antral y las CGM se alinean en la pared folicular. Las células de la granulosa juegan un papel importante en la diferenciación folicular, logrando óptimas condiciones para el desarrollo ovocitario, la ovulación, la fecundación y la implantación subsiguiente (Gasca et al., 2007). De hecho, la comunicación entre el ovocito y estas células ocurre durante el desarrollo folicular (Ouandaogo et al. 2012; Ouandaogo et al. 2011; Pellicer et al. 1998; Smith et al. 2002) y es esencial para la adquisición de la competencia de los ovocitos de mamíferos (Barcelos et al., 2009; Nakahara et al., 1998; Taya et al., 2000).

Por tanto, el estudio de la expresión de los genes que intervienen en la competencia del ovocito en las CC de los ovocitos maduros humanos puede ser utilizado como una forma de asesoramiento no invasivo de la calidad ovocitaria y como predicción de los resultados de la TRA (Fair, 2003; Hamamah et al., 2006; Makabe et al., 2006). La aromatasa P450 es una enzima limitante en la síntesis de estrógenos a partir de andrógenos, involucrada en la conversión de androstenediona y testosterona en estrona y estradiol, respectivamente. La aromatasa está presente en las células de la granulosa y juega un papel fundamental en la maduración folicular y el establecimiento de la

calidad ovocitaria (Hamel et al., 2008). Algunos estudios han mostrado un aumento de expresión de esta enzima en los implantes endometriósicos y en el tejido endometrial de pacientes con endometriosis (Noble et al., 1996). Sin embargo, Harlow y cols (Harlow et al., 1996) y Abreu y cols (de Abreu et al., 2006), mediante estudios in vitro en cultivos de células de la granulosa luteinizadas de mujeres con y sin endometriosis que realizaban estimulación ovárica, demostraron una disminución en la actividad de la aromataasa en las células de la granulosa de mujeres con endometriosis, lo que podría llevar a defectos de la esteroidogénesis en dichas células y un anormal funcionamiento de ovocito.

Diversos estudios han estudiado la tasa de fecundación en pacientes con endometriosis que se someten a FIV/ICSI, hallando la mayoría de ellos que se encuentra disminuida en estas pacientes (Bergendal et al., 1998; Hull et al., 1998; Norenstedt et al., 2001; Pal et al., 1998) (Tabla 1.3).

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Hull y cols (Hull et al., 1998)	Determinar la contribución de la disfunción ovocitaria y/o espermática en las tasas de implantación disminuidas tras FIV en pacientes con endometriosis	Tasa de fecundación y división embrionaria disminuidas en endometriosis tanto con semen conyugal como con semen de donante si se comparan con factor tubárico
Bergendal y cols (Bergendal et al., 1998)	Comparar resultados en FIV de pacientes con endometriosis vs factor tubárico	Tasa de fecundación disminuida en pacientes con endometriosis No diferencias en tasas de implantación y de gestación
Pal y cols (Pal et al., 1998)	Comparar resultados en FIV de pacientes con endometriosis grado I-II vs grado III-IV	Tasa de fecundación disminuida en endometriosis grado III-IV No diferencias en nº de ovocitos, tasa de implantación, gestación y aborto
Norenstedt y cols (Norenstedt et al., 2001)	Comparar resultados en ICSI de pacientes con endometriosis vs factor masculino	Tasa de división embrionaria disminuida en endometriosis EOC más larga y mayor dosis de gonadotropinas necesaria en endometriosis No diferencias en tasa de fecundación, implantación ni gestación

Tabla 1.3. Tabla resumen de estudios que investigan la tasa de fecundación en pacientes con endometriosis que se someten a FIV/ICSI.

En cuanto a las posibles causas de esta mala calidad ovocitaria, se ha especulado sobre la existencia de un ambiente intrafolicular inadecuado en las pacientes con endometriosis,

al haberse hallado una proporción de hormonas, citoquinas y otras sustancias, distinta en estas pacientes respecto a las mujeres sin endometriosis, así como una posible disfunción de las células de la granulosa (Goud et al., 2014) (Tabla 1.4).

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Pellicer y cols (Pellicer et al., 1998)	Estudiar el medio folicular en pacientes con endometriosis comparándolo con controles que se sometían a EOC	Niveles de progesterona aumentados en pacientes con endometriosis, mayores conforme aumenta la gravedad de la enfermedad. Niveles de testosterona disminuyen con la gravedad de la enfermedad. Niveles de progesterona aumentados en células de la granulosa en pacientes con endometriosis No diferencias en cuanto a calidad embrionaria
Garrido y cols (Garrido et al., 2000)	Estudiar las concentraciones de distintas citoquinas en medio folicular, suero y células de la granulosa en pacientes con y sin endometriosis en ciclo natural y ciclo con EOC	IL-6 aumentada en suero en pacientes con endometriosis en ciclo natural y disminuida en ciclo con EOC IL-6 aumentada en líquido folicular y células de la granulosa en endometriosis VEGF disminuido en líquido folicular en pacientes con endometriosis
Smith y cols (Smith et al., 2002)	Estudiar la concentración de cortisol en líquido folicular en pacientes con endometriosis grado I-II vs controles	Concentración de cortisol más baja en pacientes con endometriosis
Cunha-Filho y cols (Cunha-Filho et al., 2003)	Estudiar la concentración del insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) en líquido folicular de pacientes con endometriosis grado III-IV y pacientes sin endometriosis	Concentración de IGFBP-1 en líquido folicular menor en pacientes con endometriosis
Caccavo y cols (Caccavo et al., 2011)	Estudiar los niveles de anticuerpos antilaminina-1 en suero y líquido folicular en pacientes con endometriosis y pacientes con otras causas de esterilidad	Niveles de anticuerpos antilaminina-1 aumentados en endometriosis, que podrían afectar a la maduración ovocitaria No diferencias en resultados de FIV
Zhang y cols (Zhang et al., 2012)	Estudiar los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) en líquido folicular de pacientes con y sin endometriosis	Niveles de BDNF disminuidos en pacientes con endometriosis
Singh y cols (Singh et al., 2013)	Estudiar los niveles de MMP 2 y 9 y sus inhibidores tisulares en el líquido folicular de pacientes con y sin endometriosis	Niveles de MMP 2 y 9 aumentados e inhibidores tisulares disminuidos en endometriosis, que podrían asociarse a un pobre desarrollo ovocitario y embrionario Suplementos de progesterona mejoraban este desequilibrio

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Pauli y cols (Pauli et al., 2013)	Estudiar los niveles de retinoides en plasma y líquido folicular en pacientes con y sin endometriosis para ver su relación con la calidad embrionaria	Mayor porcentaje de embriones de buena calidad procedentes de folículos de mayor tamaño Mayor cantidad de retinoides en folículos de mayor tamaño Pacientes sin endometriosis tienen niveles medios más altos de retinoides en líquido folicular que pacientes con endometriosis, disminución de la síntesis de retinoides en endometriosis puede contribuir a la esterilidad en endometriosis

Tabla 1.4. Tabla resumen de algunos estudios que evalúan el ambiente folicular en pacientes con endometriosis.

Además de las alteraciones descritas en la tabla, se ha observado un desequilibrio entre sustancias oxidantes y antioxidantes en el líquido folicular de pacientes con endometriosis, que podría afectar a la calidad ovocitaria y embrionaria (Choi et al., 2015). En este mismo sentido, también se ha evidenciado una producción de cantidades aumentadas de especies reactivas de oxígeno (ERO) y óxido nítrico (NO) por los macrófagos y leucocitos presentes en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, que del mismo modo podría afectar a la calidad ovocitaria y embrionaria (Dong et al., 2001; Guérin et al.; Gupta et al., 2006; Liu et al., 2013; Osborn et al., 2002; Zeller et al., 1987). A este respecto, Luo y cols realizaron un estudio en el que analizaron el líquido peritoneal aspirado en fondo de saco de Douglas durante una cirugía laparoscópica en pacientes con endometriosis leve, daño tubárico o que se realizaron una esterilización tubárica. Posteriormente se cultivaron in vitro ovocitos y embriones de ratón con y sin líquido peritoneal de pacientes con endometriosis y se observaron efectos adversos sobre la fecundación ovocitaria y desarrollo embrionario (Luo et al., 2010).

Por otro lado diversos estudios han investigado una posible disfunción en las células de la granulosa de mujeres con endometriosis (Karita et al., 2011; Nakahara et al., 1998; Toya et al., 2000) (Tabla 1.5).

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Nakahara y cols (Nakahara et al., 1998)	Estudiar la apoptosis en las células de la granulosa en pacientes con y sin endometriosis	Mayor grado de apoptosis en las células de la granulosa de pacientes con endometriosis, elevándose conforme aumenta la gravedad de la enfermedad y siendo mayor en pacientes con endometriomas Menor desarrollo folicular y menor n° de ovocitos obtenidos en endometriosis
Toya y cols (Toya et al., 2000)	Estudiar si la foliculogénesis está alterada en pacientes con endometriosis, estudiando células de la granulosa de pacientes con endometriosis, factor tubárico, factor masculino y esterilidad idiopática	La endometriosis daña el ciclo celular de las células de la granulosa, lo que puede tener un efecto perjudicial sobre la foliculogénesis
Karita y cols (Karita et al., 2011)	Estudiar la expresión de los receptores de estrógenos y progesterona en las células de la granulosa en pacientes con endometriosis comparado con pacientes con factor tubárico	Mayor expresión de receptores en pacientes con endometriosis

Tabla 1.5. Tabla resumen de estudios que investigan una posible disfunción en las células de la granulosa de pacientes con endometriosis.

Por último, en cuanto a la relación entre la presencia de endometriomas y la calidad embrionaria, existe controversia en la literatura. Por un lado, algunos estudios que afirman que los endometriomas no la afectarían (Reinblatt et al., 2011; Suzuki et al., 2005). Sin embargo, numerosos trabajos han demostrado que los endometriomas empeoran la calidad embrionaria (Kumbak et al., 2008; Yanushpolsky et al., 1998) (Tabla 1.6).

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Suzuki y cols (Suzuki et al., 2005)	Evaluar el efecto de la endometriosis y la presencia de endometrioma sobre los resultados de FIV, comparando pacientes con endometriosis con y sin endometriomas y pacientes con esterilidad tubárica	La endometriosis disminuye el n° de ovocitos obtenidos pero no la calidad embrionaria ni la tasa de gestación, independientemente de la presencia de endometriomas
Reinblatt y cols (Reinblatt et al., 2011)	Estudiar el efecto de los endometriomas sobre la calidad embrionaria, comparando pacientes con endometriomas bilaterales, pacientes con esterilidad tubárica y pacientes con esterilidad masculina	La endometriosis no se asocia con una disminución en la calidad embrionaria
Yanushpolsky y cols (Yanushpolsky et al., 1998)	Estudiar el efecto de los endometriomas sobre la calidad ovocitaria y embrionaria y la tasa de gestación, comparando pacientes con endometriosis y endometriomas y pacientes con endometriosis sin endometriomas	El n° de ovocitos y la calidad embrionaria pueden verse afectados negativamente por los endometriomas Tasa de aborto precoz aumentada en pacientes con endometriomas

AUTORES	OBJETIVO	RESULTADOS
Kumbak y cols (Kumbak et al., 2008)	Estudiar si es el efecto ocupante de espacio del endometrioma, más que la endometriosis en sí misma, el que afecta los resultados de FIV, comparando pacientes con endometriomas con pacientes con quistes simples	El efecto negativo del endometrioma sobre la calidad embrionaria y la tasa de implantación se produce por la endometriosis y no por el efecto ocupante de espacio del endometrioma

Tabla 1.6. Tabla resumen de estudios que investigan el efecto de los endometriomas sobre la calidad embrionaria.

1.7. TRATAMIENTO DE LA ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

En las pacientes diagnosticadas de endometriosis que asocian esterilidad, se pueden realizar distintos abordajes (Benschop et al., 2010):

- Pauta expectante
- Tratamiento médico
- Tratamiento quirúrgico
- Técnica de reproducción asistida sin tratamiento previo
- Tratamientos previos a una técnica de reproducción asistida

A continuación, esquema sobre el protocolo de actuación del Hospital Universitari i Politècnic La Fe en pacientes con esterilidad asociada a endometriosis (Figura 1.12).

1.7.1. TRATAMIENTO MÉDICO

Incluye distintos fármacos que producen una situación de hipoestrogenismo con el fin de conseguir una disminución o inhibición de crecimiento de los implantes endometriósicos y/o endometriomas. Se han utilizado desde anticonceptivos hormonales orales (AHO) y progestágenos hasta análogos de la GnRH y otros fármacos como el danazol. Sin embargo, todavía no se ha demostrado que estos tratamientos mejoren la tasa de embarazo en mujeres con endometriosis, por lo que su uso va a depender de la necesidad de tratamiento por la presencia de sintomatología y no únicamente para

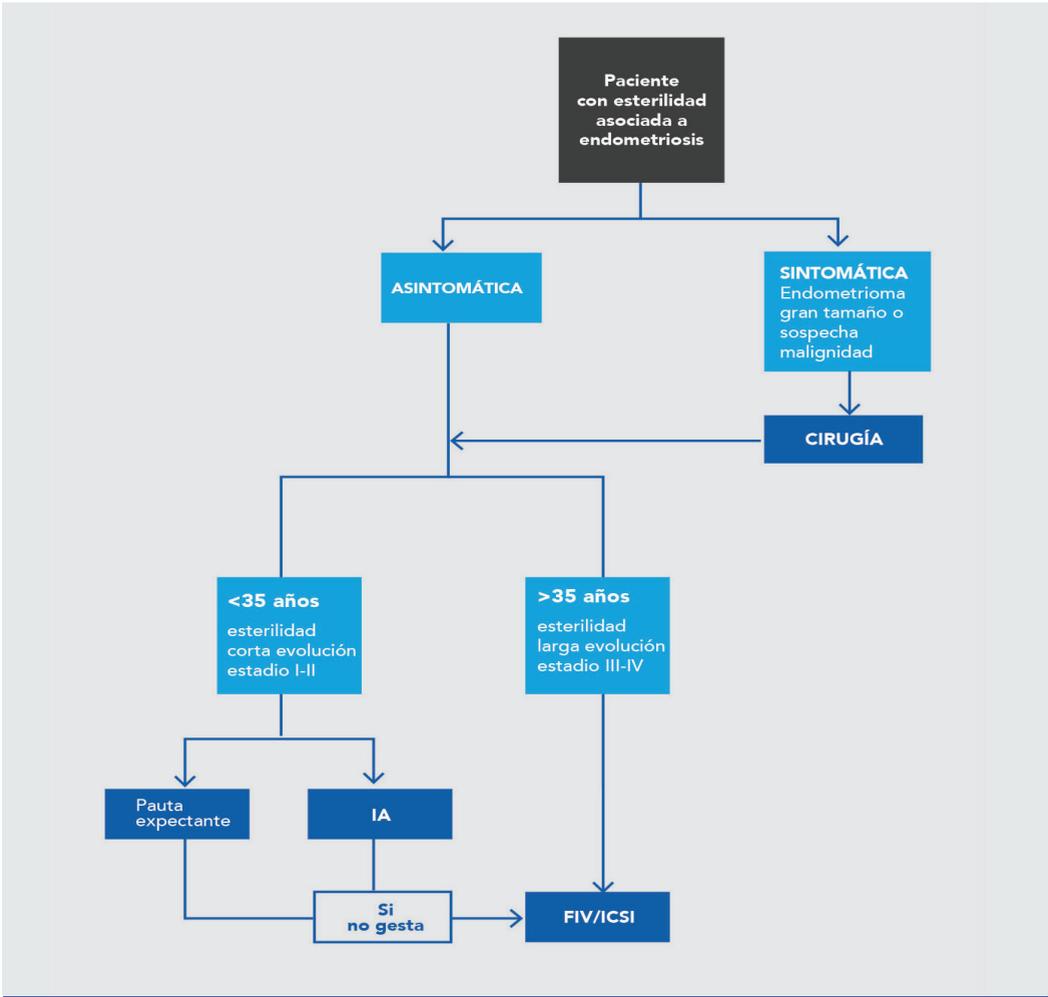


Figura 1.12. Protocolo de actuación del Hospital Universitari i Politècnic La Fe ante paciente con esterilidad asociada a endometriosis.

mejorar la fertilidad, ya que incluso podrían retrasar el acceso a la TRA sin llegar a aportar un beneficio y conllevan efectos secundarios (Dechaud et al., 2009; Johnson and Hummelshoj, 2013; Monzó-Miralles and Gilabert-Estellés, 2011).

1.7.2. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

El objetivo sería restaurar la anatomía normal de los ovarios, ya que al extirpar los endometriomas mejoraría el acceso a las trompas de Falopio y por tanto, podría

aumentar la tasa de gestación espontánea y tras una TRA, independientemente del estadio de la enfermedad. Así mismo, parece existir una mejoría en la respuesta a la estimulación ovárica tras la cirugía. Estos mejores resultados tras cirugía también podrían deberse a las modificaciones que se producirían sobre el ambiente inflamatorio presente en el líquido peritoneal. Por otro lado, la liberación de adherencias durante la cirugía podría disminuir síntomas como dolor y corregir defectos mecánicos que afectan a la función tubárica.

No obstante, la intervención quirúrgica también puede tener efectos negativos sobre la reserva ovárica y, como consecuencia, sobre la fertilidad de estas pacientes, por lo que el tratamiento quirúrgico continúa siendo controvertido, como se detallará más adelante (Benschop et al., 2010).

Por este motivo, en los casos en los que la posibilidad de gestación espontánea esté disminuida porque sea mayor de 35 años, se sospeche baja reserva ovárica, exista una cirugía ovárica previa, la esterilidad sea de larga evolución, existan alteraciones en las trompas o en el semen, no se deberá plantear la intervención quirúrgica para mejorar la tasa de embarazo, sino valorar iniciar una TRA directamente (de Ziegler et al., 2010a; Monzó-Miralles and Gilabert-Estellés, 2011).

En cuanto al tamaño del endometrioma a la hora de decidir realizar cirugía, algunos autores marcan el límite en 4-5 cm, con lo que ante endometriomas superiores a ese tamaño aconsejarían su exéresis, mientras que por debajo de 3 cm no se recomendaría. En las pacientes con endometriomas de tamaño intermedio, la decisión debería ser individualizada en función de los otros factores ya comentados. Sin embargo, en la actualidad todavía no se puede establecer una recomendación con la suficiente evidencia sobre el tamaño a partir del cual estaría indicada la cirugía del endometrioma, debido a la falta de estudios adecuados sobre este tema (Kaponis et al., 2015).

Si la decisión final es operar a la paciente, la intervención quirúrgica debe realizarse por un cirujano experto para obtener los mejores resultados.

Las técnicas quirúrgicas incluyen (Benschop et al., 2010):

- Drenaje del quiste y ablación de la cápsula
- Aspiración del endometrioma únicamente (laparoscópica o ecoguiada)

- Quistectomía (exéresis completa de la cápsula del endometrioma)
- Técnicas adicionales: exéresis o ablación de implantes endometriósicos y adhesiolisis.

1.7.3. TÉCNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA SIN TRATAMIENTO PREVIO

Como ya se ha comentado anteriormente, en determinados casos estaría indicado recurrir directamente a una TRA sin realizar un tratamiento previo de la endometriosis: edad mayor de 35 años, esterilidad de larga evolución, coexistencia de otras causas de esterilidad, baja reserva ovárica...

En algunos casos podría realizarse una inseminación artificial (IA), aunque la mayoría de autores recomiendan recurrir a FIV o ICSI directamente (Olive et al., 2003).

Algunos estudios afirman que la IA en pacientes con endometriosis estadio I y II aumenta la fertilidad comparado con conducta expectante o coitos programados, mientras que en estadios avanzados de endometriosis sería más adecuado indicar directamente FIV/ICSI (Monzó-Miralles and Gilabert-Estellés, 2011; Tummon et al., 1997).

Los resultados de FIV en pacientes con endometriosis parecen ser peores que en otras pacientes, aunque existe controversia sobre este tema. La FIV sería la técnica de elección en los estadios avanzados de endometriosis, cuando exista afectación tubárica o factor masculino y en caso de fracaso de otros tratamientos.

Realizar una FIV/ICSI puede suponer una ventaja adicional a la técnica en sí misma en pacientes con endometriosis, ya que se extraen los ovocitos y espermatozoides del ambiente peritoneal desfavorable existente en estas mujeres.

En cuanto al tipo de protocolo utilizado en la estimulación ovárica controlada, al comparar el protocolo largo con agonistas de la GnRH con el protocolo corto con antagonista, no se ha demostrado superioridad para ninguno de ellos en pacientes con endometriosis. Sin embargo, en algunos estudios se ha observado un número significativamente mayor de ovocitos metafase II y embriones con el protocolo largo con agonistas, a pesar de que las tasas de implantación y gestación fueran similares (Bastu et al., 2014; Pabuccu et al., 2007).

1.7.4. TRATAMIENTOS PREVIOS A UNA TÉCNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

En un intento de mejorar los resultados de las TRA en las mujeres con endometriosis se han propuesto diferentes estrategias previas a la realización del ciclo, con diferentes resultados, que se irán comentando en los siguientes apartados.

1.7.4.1. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Algunos criterios para considerar una intervención quirúrgica previa a una TRA serían: coexistencia con dolor, ausencia de cirugía ovárica previa, reserva ovárica conservada, endometriomas unilaterales, endometriomas mayores de 4 cm, con rápido crecimiento o en los que no se puede excluir malignidad.

Como se ha comentado previamente, el tratamiento quirúrgico podría mejorar los resultados reproductivos en las pacientes con endometriosis, pero también podría producir efectos negativos.

En este sentido, se ha observado que la cirugía puede aumentar la tasa de embarazo, estando esta mejoría relacionada con el estadio de la enfermedad (Cirpan et al., 2013; Jacobson et al., 2010).

Sin embargo, numerosos estudios afirman que la resección quirúrgica de los endometriomas previa al ciclo de FIV/ICSI podría afectar negativamente los resultados (Tabla 1.7).

Una revisión apoya estos resultados, afirmando que aunque los endometriomas pueden ser perjudiciales para la reserva ovárica por sí mismos, tras la cirugía la reserva ovárica será más baja, la respuesta ovárica a las gonadotropinas será menor, sin mejorar la calidad ovocitaria. Además la cirugía alarga el tiempo hasta conseguir embarazo, por lo que se reservaría solo para situaciones específicas como dolor pélvico y acceso difícil a los folículos (Ruiz-Flores and Garcia-Velasco, 2012).

Recientemente, la revisión de Somigliana y cols (Somigliana et al., 2015) concluye que los posibles riesgos del tratamiento conservador no justifican realizar una cirugía sistemáticamente antes de una FIV en pacientes con endometriomas de pequeño tamaño.

AUTORES	DISEÑO ESTUDIO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS
Ho y cols (Ho et al., 2002)	Retrospectivo	- 32 pacientes con endometriosis intervenida (quistectomía unilateral) a las que se les realizó un ciclo de FIV - Comparación de respuesta a la estimulación ovárica del ovario intervenido y ovario sano contralateral	- Menor respuesta a la estimulación ovárica en ovario intervenido - Concluyen que la cirugía de los endometriomas puede dañar la reserva ovárica
Aboulghar y cols (Aboulghar et al., 2003)	Prospectivo no randomizado	-85 pacientes con endometriosis grado IV intervenida a las que se les realizó un ciclo de FIV -comparación con 177 controles con esterilidad tubárica	- Mayor tasa de cancelación de ciclo por baja respuesta y menor tasa de gestación en pacientes con endometriosis grado IV intervenida
García-Velasco y cols (García-Velasco et al., 2004)	Retrospectivo	-189 pacientes con endometrioma, en 56 de ellas se realizó directamente ciclo de FIV y en 133 cirugía previa a FIV	- Menores niveles de estradiol el día de hCG en las pacientes intervenidas y mayor dosis total de gonadotrofinas requerida durante la EOC - No diferencias en tasa de gestación e implantación - Concluyen que la cirugía no mejora los resultados
Esinler y cols (Esinler et al., 2006)	Retrospectivo	-57 pacientes con endometriosis intervenida mediante laparoscopia a las que se les realizo un ciclo de ICSI: 34 pacientes con quistectomía unilateral y 23 con quistectomía bilateral - 99 controles con esterilidad tubárica	- Menor nº de ovocitos obtenidos en el grupo de endometriosis con quistectomía bilateral comparado con quistectomía unilateral y controles - No diferencias significativas en tasa de fecundación, nº embriones transferidos, tasa de gestación clínica y de implantación - Dentro del grupo de quistectomía unilateral menor nº de ovocitos del ovario intervenido al compararlo con el contralateral no intervenido
Bongioanni y cols (Bongioanni et al., 2011)	Retrospectivo	-1º: 254 pacientes con endometriosis ovárica (112 pacientes operadas y 142 no operadas) a las que se les realizó un ciclo de FIV, comparado con 174 controles con esterilidad tubárica. - 2º: comparación entre las pacientes con endometriosis operadas y las no operadas	- 1º: tasa de cancelación de ciclo significativamente más alta en pacientes con endometriosis, aunque no diferencias en tasa de implantación, gestación y RNV -2º: menor RFA en pacientes operadas y necesidad de mayor dosis total de gonadotrofinas en la EOC, aunque no diferencias en tasa de implantación, gestación y RNV
Benschop y cols (Benschop et al., 2010)	Meta-análisis	- incluyó 4 ensayos clínicos randomizados controlados, 312 pacientes - comparación de distintos tratamientos para los endometriomas (pauta expectante, tratamiento médico, quirúrgico o combinado)	- No evidencia a favor de que la cirugía de los endometriomas mejore la tasa de gestación clínica - La cirugía disminuye la respuesta ovárica a la estimulación

Tabla 1.7. Tabla resumen de estudios que investigan el efecto de la cirugía de los endometriomas sobre los resultados de las TRA.

A pesar de que tras lo descrito, parece evidente la relación entre resección quirúrgica de los endometriomas y disminución de la reserva ovárica, hay autores que afirman que la quistectomía laparoscópica cuidadosa podría no afectar a la respuesta ovárica a la estimulación.

Canis y cols (Canis et al., 2001) realizaron un estudio retrospectivo en el que compararon tres grupos de pacientes: 41 pacientes a las que se les había realizado resección quirúrgica laparoscópica de un endometrioma mayor de 3 cm, 139 pacientes con endometriosis pero que no presentaban endometrioma y 59 pacientes con esterilidad de origen tubárico. El número de ovocitos y embriones obtenidos no se vio significativamente disminuido por la quistectomía laparoscópica, sugiriendo que en manos expertas la cirugía puede utilizarse para el tratamiento de los endometriomas pero de forma cuidadosa para evitar daño ovárico.

Marconi y cols (Marconi et al., 2002) también compararon 39 pacientes con antecedente de quistectomía laparoscópica de un endometrioma y 39 pacientes control, tras realizar un ciclo de FIV se estudiaron los niveles de estradiol, la dosis de gonadotrofinas utilizadas, el número de folículos y ovocitos obtenidos, el número y calidad de los embriones transferidos y la tasa de gestación clínica, sin encontrarse diferencias entre los grupos excepto en la dosis de gonadotrofinas administrada, que fue mayor en el grupo de pacientes con endometriosis. Por tanto, concluyeron que la quistectomía laparoscópica de los endometriomas no afecta negativamente la respuesta ovárica en FIV. Existen otras técnicas distintas a la quistectomía para tratar los endometriomas, que parecen no afectar o afectar en menor medida a la reserva ovárica, aunque su eficacia es más discutida que la que se obtiene con la exéresis completa de la cápsula del endometrioma. Serían las siguientes:

Vaporización con láser de la cápsula endometriósica

Donnez y cols (Donnez et al., 2001) estudiaron 820 ciclos de FIV realizados en 374 pacientes, 85 de ellas con antecedente de endometrioma intervenido mediante vaporización láser de su pared y 289 controles con esterilidad tubárica, concluyendo que la intervención no empeora los resultados de FIV.

En la misma línea de investigación, Wyns y cols (Wyns and Donnez, 2003) analizaron 127 pacientes con endometriosis, 42 de ellas con endometriosis peritoneal y 85 con

endometriomas intervenidos mediante vaporización láser, con 328 controles, no hallándose tampoco diferencias.

Aspiración ecoguiada de los quistes endometriósicos

La aspiración de los quistes guiada por ecografía tampoco ha demostrado con claridad su utilidad, aunque se han descrito resultados favorables, como en el estudio de Dicker (Dicker et al., 1991) en el que se realizó esta técnica a 41 pacientes con endometrioma y se obtuvo un mayor número de ovocitos y embriones con un aumento de la tasa de embarazo por ciclo.

Aflatoonian y cols (Aflatoonian et al., 2013) publicaron un ensayo clínico aleatorizado en el que realizaron un tratamiento de los endometriomas recidivantes antes de realizar un ciclo de FIV en 20 pacientes, mediante aspiración del quiste e inyección de etanol, comparándolo con no proporcionar ningún tratamiento de los endometriomas previo a la FIV en otras 20 pacientes. Sus resultados sugirieron que la escleroterapia con etanol podría ser una estrategia efectiva de tratamiento de los endometriomas recidivantes previo a FIV, pero los datos no fueron estadísticamente significativos.

Suganuma y cols (Suganuma et al., 2002) compararon pacientes a las que se les había realizado cirugía laparoscópica o laparotómica del endometrioma, pacientes a las que se les había realizado aspiración de los quistes y pacientes que no habían recibido tratamiento, obteniéndose un menor número de ovocitos en las pacientes tratadas pero un aumento de la tasa de fecundación tras la aspiración de los quistes, concluyendo que el tratamiento quirúrgico no es necesario antes de la FIV pero que la aspiración de los endometriomas puede ser beneficiosa. Sin embargo, esta técnica puede asociarse a una mayor incidencia de infecciones y abscesos tubo-ováricos (Dicker et al., 1993; Yaron et al., 1994; Younis et al., 1997), así como favorecer adhesiones pélvicas, por lo que sólo debería ser ofrecida en aquellos casos en los que los endometriomas impidan la punción folicular durante la captación ovocitaria.

Por último, Guo y cols (Guo et al., 2012) publicaron un estudio más reciente en el que demostraron mejores resultados en cuanto a número de ovocitos obtenidos, mejor calidad embrionaria y mayores tasas de implantación y gestación clínica al combinar un tratamiento con un agonista de GnRHa y aspiración de endometriomas ecoguiada previo a FIV, respecto a únicamente la administración de análogos de GnRH y FIV.

Escleroterapia con etanol

La escleroterapia con etanol guiada por ecografía, ha sido ampliamente utilizada en Japón para el tratamiento de los endometriomas. Koike y cols (Koike et al., 2002) publicaron un estudio observacional sobre un pequeño grupo de pacientes, que sugería que no se afectaban los resultados reproductivos. Además, esta técnica ha sido utilizada para el tratamiento de endometriomas recurrentes antes de realizar FIV, sin observarse efectos perjudiciales sobre la reserva ovárica o la respuesta a la estimulación, por lo que podría ser una buena alternativa al tratamiento quirúrgico en los casos de endometriomas recurrentes antes de realizar una TRA (Yazbeck et al., 2009).

Sobre los casos de endometriosis profunda, existen pocos datos acerca de si la cirugía mejoraría los resultados de las TRA, pero algún estudio ha mostrado beneficio al extirpar los nódulos infiltrantes (Bianchi et al., 2009).

En cuanto a la seguridad de realizar una TRA en pacientes con endometriosis intervenida, no se ha evidenciado un aumento en la tasa de recurrencia tras realizar una estimulación ovárica controlada para FIV/ICSI en estas pacientes (Benaglia et al., 2010; Coccia et al., 2010; D'Hooghe et al., 2006).

1.7.4.2. TRATAMIENTO MÉDICO

Además de las estrategias quirúrgicas, se han ensayado diversos tratamientos médicos para intentar mejorar los resultados del FIV/ICSI en mujeres con endometriosis.

La administración de dichos tratamientos no ha demostrado un beneficio en cuanto a la obtención de gestación espontáneamente (Hughes et al., 2007; Lin et al., 2001) pero diversos estudios han mostrado que podría producirse una mejora con estos tratamientos si se realizan previo a FIV.

En un estudio randomizado, Kim y cols (Kim et al., 1997) compararon 42 pacientes con endometriosis y esterilidad de factor tubárico y 87 con esterilidad tubárica aislada y a cada grupo lo dividieron en dos subgrupos, administrándoles a uno de ellos corticoides y al otro no, demostrando que la prevalencia de autoanticuerpos era mayor en pacientes con endometriosis y que la inmunoterapia con corticoides mejoraba la tasa de gestación. Sin embargo, este estudio no ha sido replicado.

También se ha sugerido que el tratamiento con Danazol previo a la FIV podría mejorar los resultados, al mejorar la receptividad endometrial en pacientes con fallo repetido de FIV a pesar de obtenerse embriones de buena calidad (Tei et al., 1998).

Otro posible tratamiento médico previo a FIV serían los anticonceptivos orales, que podrían mejorar la tasa de gestación administrándose durante 6-8 semanas (de Ziegler et al., 2010b).

Finalmente, en varios estudios randomizados y no randomizados, se han investigado los efectos del pre-tratamiento prolongado con análogos de GnRH previo a una TRA (Tavmergen et al., 2007). La mayoría indican que dicho pretratamiento mejora las tasas de embarazo en las pacientes con endometriosis comparado con las pacientes que no lo reciben, como se describirá con mayor detalle en el apartado "*Efectos de los análogos de GnRH sobre la esterilidad asociada a endometriosis*".

1.7.5. NUEVOS FÁRMACOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENDOMETRIOSIS

Teniendo en cuenta los nuevos conocimientos sobre la fisiopatología de la endometriosis, existen potenciales dianas terapéuticas y se encuentran en marcha numerosas investigaciones para encontrar nuevos fármacos no hormonales, antiinflamatorios y antiangiogénicos que actúen sobre el desarrollo de la enfermedad.

En ese sentido, se ha estudiado en modelo animal el ISO-1, un antagonista específico del factor inhibidor de la migración de macrófagos, observándose una disminución del número, tamaño y diseminación de lesiones endometriósicas. El ISO-1 podría actuar inhibiendo la adhesión celular, el remodelado tisular, la angiogénesis, la inflamación y regulando el equilibrio entre factores pro y anti-apoptóticos (Khoufache et al., 2012).

Por otro lado, los compuestos antiangiogénicos serían una prometedora terapia para la endometriosis, por lo que varios estudios se centran en ellos (Muñoz-Hernando et al., 2015). Bevacizumab ha demostrado actividad in vitro contra las lesiones endometriósicas, pero sus efectos secundarios limitan su aplicación clínica (Ricci et al., 2011). El 2-metoxiestradiol también suprime el crecimiento de las lesiones pero presenta problemas farmacocinéticos. Otros factores antiangiogénicos endógenos como la endostatina y la angiostatina han sido estudiados en modelo animal (Nap et al., 2004).

Son necesarios más estudios para verificar la eficacia y seguridad de estos fármacos en el tratamiento de la endometriosis, pero podrían ser potenciales tratamientos para el futuro.

1.8. ANÁLOGOS DE GNRH

1.8.1. GNRH Y ANÁLOGOS. MECANISMO DE ACCIÓN

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es un decapeptido que actúa como regulador central de las funciones reproductivas. Es liberada de forma pulsátil por las neuronas hipotalámicas y tiene funciones autocrinas y paracrinas en todo el organismo, habiéndose hallado receptores de GnRH en numerosos tejidos extrahipofisarios. La liberación de GnRH está influida por el sistema catecolaminérgico (noradrenalina y dopamina), que a su vez parece estar influido por opioides endógenos.

Una vez liberada, se une a receptores específicos en la hipófisis, cuya activación guía a la síntesis y secreción de LH y FSH. En la mujer, la secreción de gonadotropinas por parte de la hipófisis está regulada principalmente por estradiol y progesterona, que producen una retroalimentación negativa, directa o a través de catecolestrógenos, sobre el eje hipotálamo-hipofisario, inhibiendo la liberación de gonadotropinas.

Las gonadotropinas estimulan la esteroidogénesis y gametogénesis en el ovario (Figura 1.13).

La liberación pulsátil de GnRH por parte del hipotálamo es esencial para el mantenimiento de la función ovárica. La administración continua de GnRH produce una desensibilización de la hipófisis con supresión de las gonadotropinas y de la esteroidogénesis ovárica.

La semivida corta de la GnRH (2-4 minutos) se debe a la rápida escisión de los enlaces entre algunos de sus aminoácidos. Si se alteran dichos aminoácidos, se pueden sintetizar análogos de la GnRH con distintas propiedades.

Los agonistas de la GnRH (GnRHa) se unen con gran afinidad al receptor de GnRH hipofisario y, tras un inicial aumento de las concentraciones de gonadotropinas (efecto de hiperproducción o *flare-up*), producen una desensibilización y regulación a la baja de la hipófisis, que origina un estado de hipogonadismo hipogonadotropo. La respuesta inicial se debe a desensibilización, mientras que la respuesta mantenida se debe a la

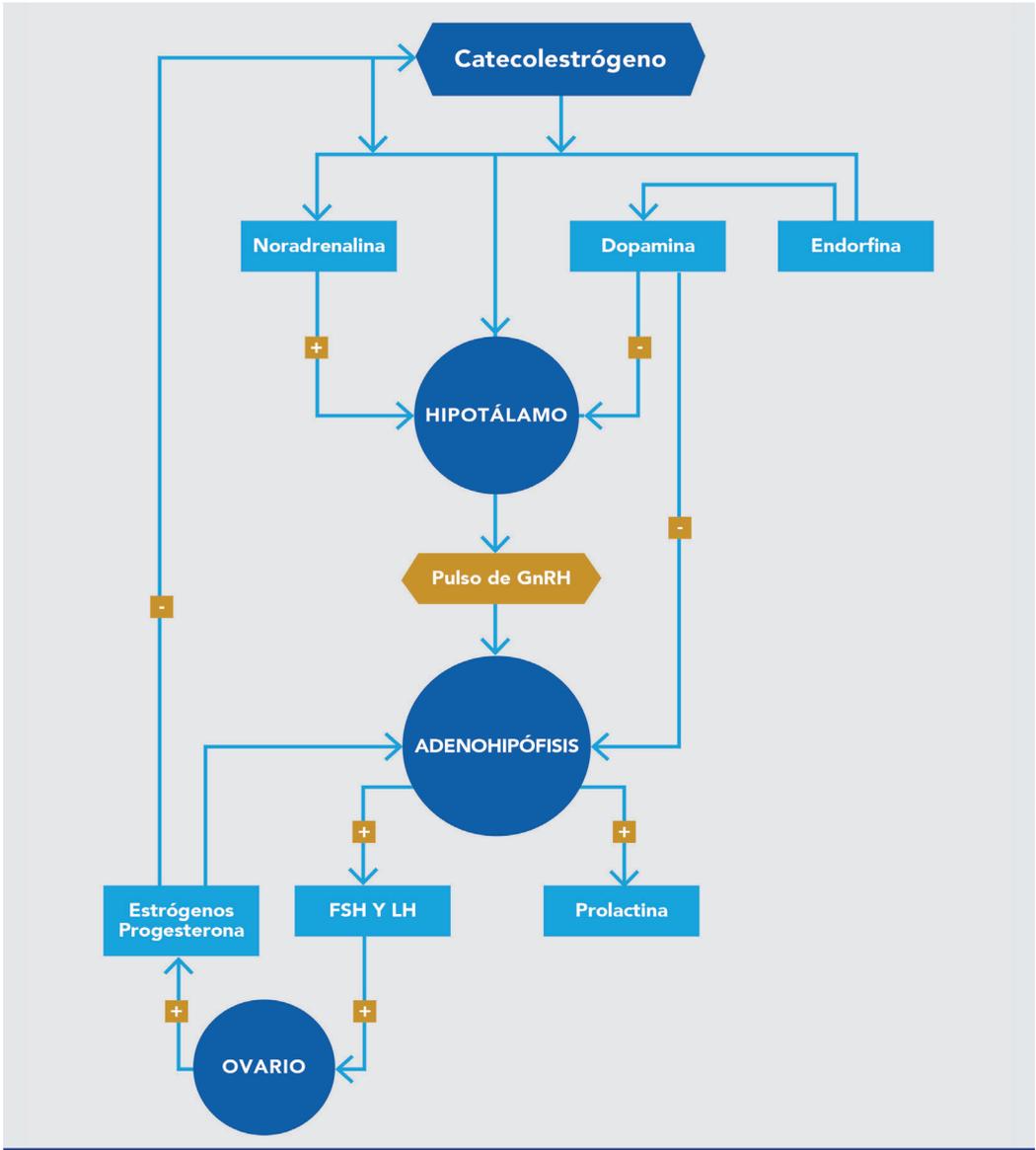


Figura 1.13. Esquema sobre el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Adaptado de Speroff L., Fritz M.A. *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. (2006).

pérdida de receptores y al desacoplamiento del receptor de su sistema efector. Existen fármacos agonistas que se administran por distintas vías: intramuscular, subcutánea e intranasal.

Los antagonistas de la GnRH se sintetizan realizando múltiples sustituciones de aminoácidos. Se unen al receptor de GnRH produciendo una inhibición competitiva de la GnRH endógena. Por tanto, causan una disminución inmediata de las concentraciones de gonadotropinas con efecto terapéutico inmediato (24-72 h), sin el efecto *flare-up* producido por los agonistas. Al tratarse de una inhibición competitiva, la reversión del efecto también es rápida al suspender el tratamiento. Los primeros antagonistas sintetizados producían efectos adversos por liberación de histamina pero actualmente se dispone de nuevos productos que son seguros al no producir dichos efectos.

Los análogos de la GnRH tienen distintas aplicaciones terapéuticas como tratamiento de enfermedades como endometriosis, miomas uterinos, pubertad precoz, esterilidad femenina y algunos cánceres. (Ortmann et al., 2002; Schultze-Mosgau et al., 2005; Speroff L., Fritz M.A. *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. Madrid: Lippincott Williams and Wilkins, 2006)

Además de la GnRH hipotalámica (GnRH I), una segunda forma de GnRH (GnRH II) ha sido descubierta más recientemente. Está codificada por un gen localizado en un cromosoma distinto al que codifica la GnRH I. La GnRH II está distribuida ampliamente en tejidos periféricos del tracto reproductor femenino y el sistema nervioso central, por lo que puede tener múltiples funciones. Se ha observado que ejerce un fuerte efecto antiproliferativo en tumores ováricos y endometriales (White et al., 1998).

1.8.2. EFECTOS DE LOS ANÁLOGOS DE GNRH SOBRE LA FISIOPATOLOGÍA DE LA ENDOMETRIOSIS

Es conocido que los implantes endometriósicos regresan tras inducir un hipoestrogenismo, siendo esta la base de la mayoría de los fármacos utilizados para el tratamiento de la endometriosis. Sin embargo, los efectos de los agonistas de GnRH parecen no estar únicamente mediados por la supresión de los esteroides gonadales, sino también a través de otros mecanismos (Hashin, 2012; Osuga, 2008).

1.8.2.1. EFECTO DIRECTO ANTIPROLIFERATIVO Y PROAPOPTÓTICO

Existe evidencia in vitro de que los agonistas pueden inhibir directamente la proliferación del endometrio, así como de varios tipos de células cancerígenas (Meresman et al., 2003a, 2003b). Estos efectos han convertido a los agonistas de GnRH en un fármaco importante para tratar la endometriosis.

Diversos estudios sugieren que estos fármacos inhiben la proliferación de células endometriales eutópicas y ectópicas en pacientes con endometriosis, además de promover su apoptosis y disminuir la expresión de VEGF, contribuyendo estas acciones a su eficacia en el tratamiento de la endometriosis (Huang et al., 2013b). El mecanismo por el que promoverían la apoptosis parece estar asociado con una regulación al alza de Bax y Fas ligando y una regulación a la baja de Bcl-2 (Bilotas et al., 2007; Tesone et al., 2008) (Figura 1.14).

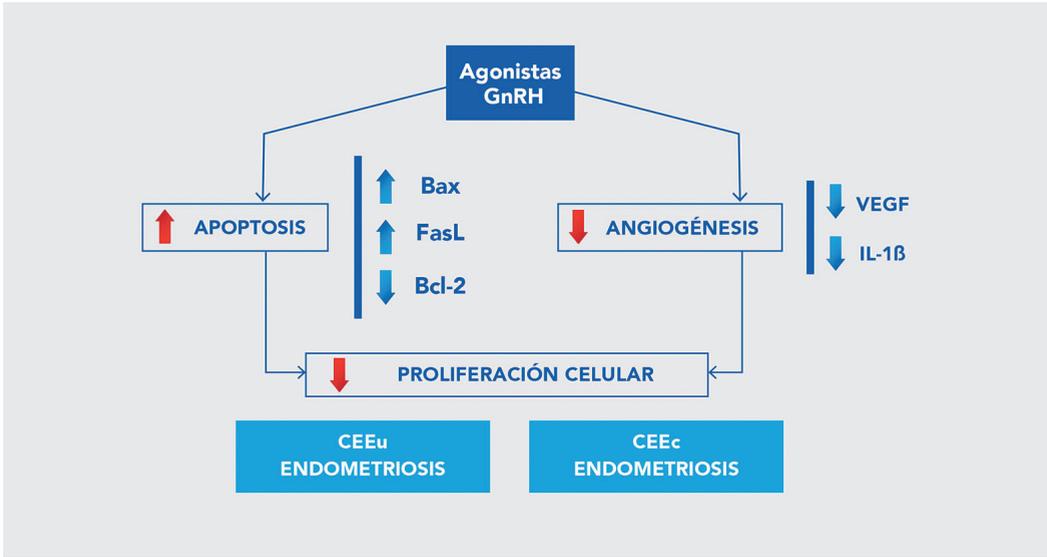


Figura 1.14. Esquema del mecanismo de acción de los agonistas de GnRH sobre la proliferación de las células del endometrio eutópico y ectópico de pacientes con endometriosis. CEEu: células endometrio eutópico, CEEc: Células de endometrio ectópico.

Imai y cols (Imai et al., 2000) obtuvieron endometrio eutópico y ectópico de 13 pacientes con endometriosis y de 8 controles. Observaron que la apoptosis era significativamente más baja en el tejido endometrial de las pacientes con endometriosis al compararlo con los controles y que, si incubaban el tejido con un GnRHa, la tasa de apoptosis de las células endometriales de las pacientes con endometriosis aumentaba, siendo este efecto dosis dependiente; mientras que el endometrio de las pacientes control no se veía afectado. Ante estos resultados los autores concluyeron que los GnRHa pueden disminuir la resistencia a la apoptosis de las células endometriales de pacientes con endometriosis y que esto resultaría en una disminución de su supervivencia y

crecimiento, lo que podría explicar, al menos en parte, el efecto terapéutico de los GnRHa en la endometriosis.

Posteriormente, Morimoto y cols (Morimoto et al., 2005), cultivaron tres tipos de células del estroma endometrial (pacientes sin endometriosis y células endometriales eutópicas y ectópicas de pacientes con endometriosis) con distintas concentraciones de GnRH II, observándose que se producía apoptosis de dichas células de forma dosis dependiente. Además, se comprobó que las tasas de apoptosis entre los tres tipos celulares fueron significativamente diferentes, siendo mayores en el endometrio ectópico de pacientes con endometriosis. Este efecto se inhibía con un antagonista de GnRH I, lo que sugiere que el receptor de GnRH I media los efectos antiproliferativos de ambas GnRH (I y II), mientras que el receptor de GnRH II podría ser co-funcionante.

Por otro lado, se han identificado funciones del receptor de GnRH I independientes de GnRH II, ya que, aunque ambas formas de GnRH actúan sobre el activador de plasminógeno tipo urokinasa, el inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1, MMP-2, MMP-9 y el inhibidor tisular de MMP-1, se ha visto que el antagonista de GnRH I cetorelix inhibe el efecto de GnRH I pero no el de GnRH II sobre la expresión de estas moléculas (Chou et al., 2003, 2002). Además, los efectos antiproliferativos de GnRH II sobre el endometrio humano y las células del cáncer de ovario son independientes del receptor de GnRH I; Gründker y cols (Gründker et al., 2002) observaron que una línea celular de carcinoma endometrial era positiva para receptores de GnRH II y negativa para receptores de GnRH I, la GnRH II tenía un efecto inhibitorio sobre la proliferación de dicha línea celular, mientras que triptorelina (agonista GnRH I) no presentaba tal efecto. Ambas formas de GnRH ejercen sus efectos uniéndose a ambos tipos de receptores, pero GnRH I tiene mayor afinidad por el receptor GnRH I y GnRH II mayor afinidad por el receptor GnRH II.

Como ejemplo de la acción de los GnRHa sobre las moléculas que intervienen en el mantenimiento de la matriz extracelular, un estudio prospectivo randomizado demostró que las concentraciones inhibidor tisular de MMP-1 estaban disminuidas en pacientes con endometriosis y que se restauraban con el tratamiento con GnRHa (Sharpe-Timms et al., 1998).

Por otro lado, se ha comprobado una menor expresión de ARN mensajero de GnRH II en las células endometriales de pacientes con endometriosis que en las células de pacientes sin endometriosis, dado el efecto antiproliferativo de GnRH II, este hallazgo

es consistente con que las células endometriales de las pacientes con endometriosis tengan aumentada su actividad proliferativa. Además, la inflamación asociada con las lesiones endometriósicas juega un papel en la fisiopatología de la endometriosis, los niveles de IL-1 β aumentados en el líquido peritoneal de estas pacientes incrementan la IL-8 y COX-2, en relación con el desarrollo de la enfermedad. GnRH II parece suprimir la secreción de IL-8 y COX-2 mediada por IL-1 β en las células endometriósicas. Este hecho implicaría otro mecanismo por el que GnRH II inhibiría el desarrollo de la endometriosis, ya que está disminuida tanto su expresión como la expresión de receptores de GnRH I y II en el endometrio eutópico y ectópico de mujeres con endometriosis (Morimoto et al., 2005).

1.8.2.2. EFECTO ANTIANGIOGÉNICO

Recientes estudios informan de que los agonistas de GnRH disminuyen la producción de VEGF y algunas citoquinas relacionadas (VEGF-A, IL-1 β) en cultivos de células endometriales eutópicas. Esto supone una inhibición de la angiogénesis, proceso fundamental en el proceso de desarrollo del tejido endometrial (Tesone et al., 2008).

1.8.2.3. DISMINUCIÓN DE EXPOSICIÓN A MIDKINA Y TROMBINA

La inhibición de la ovulación y de sangrado producida por el tratamiento con agonistas de la GnRH, disminuye la exposición de las lesiones endometriósicas a midkina y trombina.

La midkina es un factor de crecimiento presente en el líquido folicular que parece estar involucrado en la proliferación de las células endometriósicas.

La trombina se produce en el proceso de coagulación. Ella y su receptor específico, PAR-1 (*protease-activated receptor 1*) son factores importantes en la inflamación y proliferación celular involucrados en la fisiopatología de la endometriosis (Osuga, 2008).

1.8.2.4. EFECTO INMUNOMODULADOR

Los agonistas de la GnRH parecen regular a la baja la respuesta inmune celular y humoral, así como producir un aumento progresivo en la actividad y número de células NK en pacientes con endometriosis (Seli and Arici, 2003).

También se ha visto que los GnRHa suprimen los niveles de autoanticuerpos que se asocian con la endometriosis (Kennedy et al., 1990).

Así mismo, se ha observado una disminución de proteínas inflamatorias en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis que recibieron GnRHa durante 6 meses antes de realizar una laparoscopia, al compararlas con pacientes con endometriosis a las que no se les administró GnRHa (Ferrero et al., 2009).

1.8.2.5. EFECTO INHIBIDOR DE CONTRACCIONES UTERINAS

Por otro lado, parece existir una disfunción uterina en las pacientes con endometriosis que juega un papel en el desarrollo de la enfermedad. Esta disfunción sería el resultado de un hiperestrogenismo en la zona de unión endometrio-miometrio (Leyendecker et al., 2009). Las evidencias que apoyan este hecho son:

En las pacientes con endometriosis y adenomiosis se ha observado un hiperestrogenismo en sangre menstrual comparado con controles y con sangre periférica (Takahashi et al., 1989).

La expresión de aromatasa P450 está aumentada en el tejido adenomiótico y en el endometrio eutópico y ectópico de mujeres con endometriosis (Kitawaki et al., 1997).

El gen *Cyr61*, que es estrógeno-dependiente, está sobreexpresado en el endometrio eutópico de pacientes con endometriosis, en lesiones ectópicas y endometriosis experimental (Absenger et al., 2004).

La actividad peristáltica del miometrio subendometrial puede estar aumentada por niveles periféricos elevados como los que se encuentran durante la EOC, la intensidad de esta actividad peristáltica en mujeres con endometriosis se parece a la de mujeres durante la EOC aunque sus niveles de estradiol periférico estén dentro del rango normal (Kunz et al., 1998).

El hiperperistaltismo producido por la producción local de estrógenos constituiría un trauma mecánico con aumento de descamación de fragmentos de endometrio basal que contribuiría a la diseminación de dichos fragmentos a la cavidad peritoneal. Estos microtraumatismos activarían el mecanismo de "daño tisular y reparación", que resulta en la activación de COX-2 y producción de PGE2, que activa la aromatasa P450, produciendo un aumento de la producción de estrógenos locales que a su vez

producirá mayor hiperperistaltismo, continuándose el proceso (Leyendecker et al., 2009; Morimoto et al., 2005).

Los agonistas de GnRH inhibirían las contracciones uterinas y bloquearían el estrés mecánico sobre el endometrio durante la menstruación inhibiendo así la activación del mecanismo de "daño tisular y reparación" (Hashin, 2012).

Por todo lo anterior, se podría concluir que los agonistas de GnRH parecen ser efectivos en reducir el crecimiento de células endometriales no únicamente debido a sus efectos endocrinos sobre la hipófisis, sino también por efecto directo sobre las propias células endometriales mediante los mecanismos descritos (Figura 1.15).

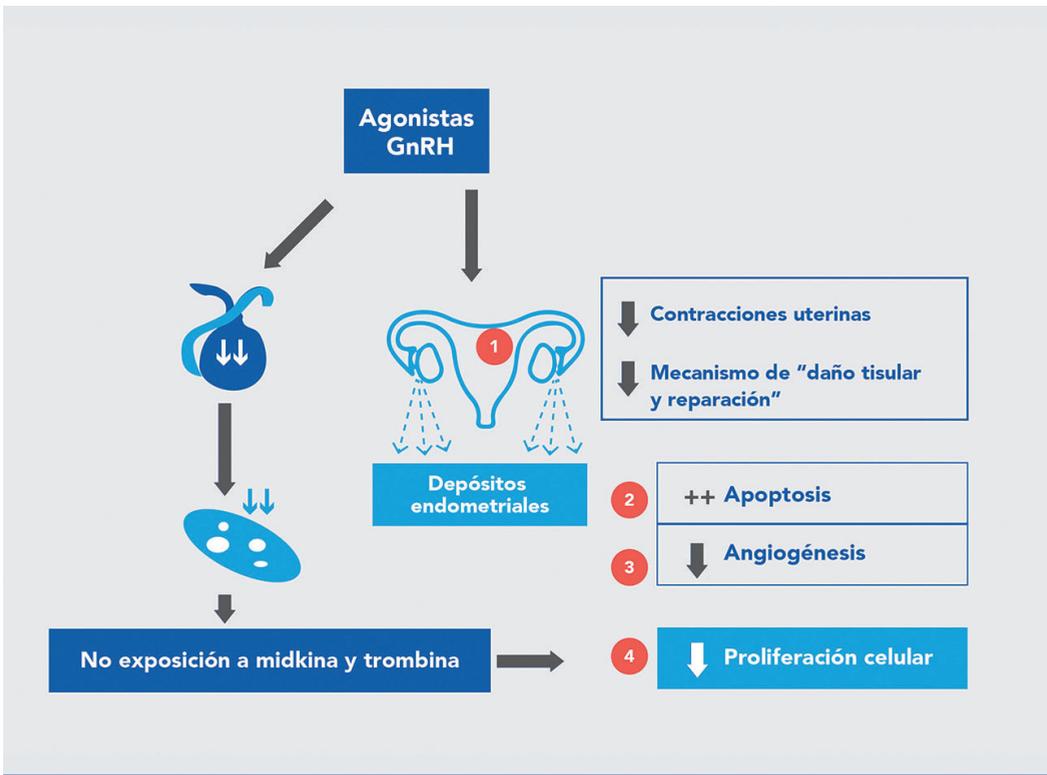


Figura 1.15. Esquema resumen de los mecanismos de actuación de los agonistas de GnRH sobre la endometriosis. Adaptado de Hashin, 2012.

1.8.3. EFECTOS DE LOS ANÁLOGOS DE GNRH SOBRE LA ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

Algunos estudios han mostrado que el tratamiento prolongado con análogos de la GnRH unos meses antes de la FIV mejora las tasas de implantación y gestación (Surrey, 2015) (Tabla 1.8).

Ya en 1990 se publicaron dos casos de pacientes con esterilidad asociada a endometriosis moderada y severa sintomática que fueron tratadas con GnRHa con mejoría del dolor y a las que posteriormente se les realizó un ciclo de FIV, quedando las dos embarazadas (Dale et al., 1990).

Dicker y cols (Dicker et al., 1990) seleccionaron a 31 mujeres con endometriosis moderada y severa que se habían realizado un ciclo de FIV sin conseguir embarazo y les administraron GnRHa, obteniéndose mayor número de ovocitos y embriones transferidos y mayor tasa de embarazo clínico por ciclo.

También Remorgida y cols (Remorgida et al., 1990) encontraron un efecto beneficioso sobre las tasas de gestación al administrar un pre-tratamiento con GnRHa en 20 pacientes con endometriosis grado I-II, pero en este caso previo a una transferencia intratubárica de gametos en lugar de FIV. Las compararon con 40 pacientes también diagnosticadas de endometriosis grado I-II a las que no se les administró GnRHa o se les administró únicamente formando parte del protocolo largo de estimulación ovárica. Aunque se observó una tendencia a obtener mayores tasas de gestación en el grupo de pre-tratamiento, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

En el mismo sentido, 21 pacientes fueron sometidas a un protocolo de análogos de GnRH durante al menos 60 días previo a la estimulación ovárica para FIV mientras que 11 pacientes únicamente los recibieron desde la fase lútea media anterior. La respuesta de estradiol, el número de ovocitos obtenidos y fecundados y de embriones transferidos fueron similares pero la tasa de gestación clínica por transferencia fue superior en el grupo que había recibido GnRHa durante al menos 60 días, por lo que los autores afirman que la supresión prolongada de la función ovárica antes de la estimulación ovárica podría salvar algunas causas de esterilidad en pacientes con endometriosis (Nakamura et al., 1992).

Siguiendo con el estudio de la eficacia del pre-tratamiento con GnRHa, Curtis y cols (Curtis et al., 1993) realizaron un estudio retrospectivo comparando tres grupos de pacientes. En el primer grupo se analizaron 228 ciclos en pacientes con esterilidad tubárica, en el segundo 37 ciclos en pacientes con endometriosis grado I y II, y en el tercer grupo se analizaron 55 ciclos en mujeres con endometriosis grado III y IV. Todas ellas recibieron busarelina, un análogo de GnRH durante al menos 6 semanas y aunque la tasa de fecundación por ovocito fue menor en el tercer grupo, la tasa de fecundación y de embarazo por transferencia no fueron distintas entre los grupos, por lo que los autores concluyeron que el pre-tratamiento con GnRHa permite a las pacientes con endometriosis alcanzar tasas de éxito similares a las de pacientes con esterilidad de causa tubárica.

Por otro lado, Marcus y cols (Marcus and Edwards, 1994) publicaron un estudio que incluyó 84 pacientes con endometriosis grado III y IV, 15 de ellas recibieron tratamiento con GnRHa entre 2 y 7 meses previo a FIV resultando la tasa de embarazo por transferencia mayor en las pacientes que habían recibido el tratamiento. A 20 pacientes de los controles, tras el ciclo de FIV también se les realizó un nuevo ciclo de FIV con pre-tratamiento con GnRHa.

Chedid y cols (Chedid et al., 1995) analizaron retrospectivamente el uso de GnRHa frente a citrato de clomifeno previo a una TRA, mostrando superioridad el GnRHa en cuanto a resultados.

Así mismo, un estudio prospectivo realizado sobre 18 pacientes con endometriosis que recibieron análogos de GnRH durante 6 meses mostró que este tratamiento unido a una técnica de reproducción asistida inmediatamente después, alcanzaba mayores tasas de embarazo (Ruiz-Velasco and Allende, 1998).

Lamentablemente, estos estudios no eran randomizados y/o controlados por lo que el valor verdadero de la terapia con análogos de la GnRH previa a la FIV en mujeres con endometriosis necesita aún ser valorado. Existen únicamente tres ensayos clínicos randomizados que estudian este tema, tal y como se describirá a continuación.

Por un lado, Dicker y cols (Dicker et al., 1992) realizaron un estudio prospectivo randomizado para investigar el pre-tratamiento con GnRHa previo a FIV en pacientes con endometriosis. En él, 35 pacientes con endometriosis recibieron GnRHa durante 6 meses y fueron comparadas con 32 pacientes que se sometieron a la EOC sin pre-

tratamiento. Los resultados obtenidos mostraban una tasa de gestación clínica por ciclo iniciado significativamente mayor en las pacientes con pre-tratamiento con GnRHa (25% vs 3,9%). Además, no se encontraron diferencias significativas en la tasa de aborto.

Surrey y cols (Surrey et al., 2002) realizaron otro ensayo clínico randomizado, que incluyó 51 pacientes con endometriosis, a 25 de ellas se les administraron GnRHa durante 3 meses previo a EOC y FIV y a las 26 restantes no se les administraron GnRHa y se les realizó directamente la EOC y FIV. A pesar de que había un porcentaje mayor de pacientes con endometriosis avanzada en el grupo de GnRHa, se obtuvo una tasa de embarazo significativamente mayor en este grupo (80% vs 53.9%), así como una tendencia hacia tasas de implantación mayores (42.7% vs 30.4%).

Por último, Rickes y cols (Rickes et al., 2002), investigaron el pre-tratamiento con GnRHa en pacientes con endometriosis estadio II-IV antes de una TRA (hasta 3 ciclos en cada paciente). Se incluyeron 110 pacientes intervenidas de endometriosis, que se randomizaron a dos grupos. En el primer grupo, 55 pacientes recibieron GnRHa mensualmente durante 5-6 meses, mientras que las 55 pacientes del segundo grupo no recibieron tratamiento. Posteriormente, cada grupo fue dividido en dos subgrupos en función de la TRA realizada (FIV/ICSI o IA). Aunque en las pacientes con endometriosis estadio II la tasa de embarazo fue comparable en ambos grupos, las tasas de embarazo fueron significativamente más altas en mujeres estadio III o IV que fueron tratadas (82% vs 40%).

Más recientemente, Sallam y cols (Sallam et al., 2006) realizaron un meta-análisis que combinó los resultados de estos tres estudios. Mostró que un tratamiento de 3-6 meses con análogos de GnRH previos a una FIV aumentaba 4 veces la probabilidad de embarazo clínico en mujeres con endometriosis (OR 4,28, IC 95%: 2,0; 9,15). Además, el número de ovocitos obtenido fue significativamente mayor en las mujeres que habían recibido el pre-tratamiento en dos de los estudios incluidos (Dicker et al., 1992; Surrey et al., 2002). Los resultados sobre la tasa de aborto fueron dudosos por la heterogeneidad de los datos de los estudios. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la dosis de gonadotropinas necesaria en estos dos estudios, mientras que solo en uno de ellos (Surrey et al., 2002) se informaba de la duración de la EOC, sin hallarse diferencias significativas entre ambos grupos. No obstante, estos resultados se concluyeron a partir de 165 pacientes y 78 embarazos, incluidos en estos 3 ensayos clínicos, en los que no se trataba específicamente a pacientes con endometriomas. Además, la tasa de

gestación múltiple, embarazo ectópico, malformaciones fetales y complicaciones con SHO, no fueron informadas en ninguno de estos estudios.

Posteriormente, Ma y cols (Ma et al., 2008) publicaron un estudio prospectivo no randomizado, realizado en pacientes chinas con endometriosis grado III y IV que se sometieron a FIV, a las que dividieron en tres grupos. En las pacientes del grupo 1 se realizó el protocolo estándar con GnRHa durante 7-10 en la fase lútea media, a las pacientes del grupo 2 se les administró un tratamiento con GnRHa durante 2 meses y a las del grupo 3 durante 3 meses. Las pacientes de los grupos 2 y 3 necesitaron dosis mayores de gonadotropinas durante la EOC y esta fue de mayor duración. En el grupo 3 se obtuvo un menor número de ovocitos y embriones que en los otros grupos y la tasa de implantación fue mayor en el grupo 2 que en el 1. Con estos datos, los autores concluyeron que el tratamiento con GnRHa durante 2 meses previo a FIV tiende a aumentar la tasa de implantación comparado con el protocolo estándar o un tratamiento con GnRHa de 3 meses de duración, en un subgrupo de pacientes chinas con endometriosis III-IV.

Por otro lado, Tamura y cols (Tamura et al., 2014) publicaron un estudio piloto sobre el pre-tratamiento con tres dosis de GnRHa (buserelina) previo a FIV. Se administró este tratamiento en 11 pacientes con endometriosis grado III-IV, y se comparó con 12 controles a las que no se les administraron las 3 dosis previas de GnRHa y se les realizó directamente una FIV con protocolo largo. Se observó una tendencia a conseguir mayores tasas de implantación y gestación aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, mientras que el número de folículos maduros, ovocitos obtenidos y tasa de fecundación fueron similares.

En la misma época, Van der Houwen y cols (Van Der Houwen et al., 2014) publicaron un estudio retrospectivo de pacientes con endometriosis grado III y IV, 68 de las cuales habían recibido un tratamiento con GnRHa durante 3-6 meses previo a un ciclo de FIV/ICSI, mientras que 45 no recibieron el GnRHa y directamente se les realizó FIV/ICSI. Se observó un efecto favorable pero no significativo en la tasa de gestación tras valorar de forma conjunta los ciclos en fresco y criopreservados (OR 1,62, IC 95% 0,60; 4,38).

1 / INTRODUCCIÓN

AUTORES	DISEÑO ESTUDIO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS
Remorgida y cols (Remorgida et al., 1990)	Prospectivo randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 6 meses en 20 pacientes con endometriosis grado I-II previo a transferencia intratubárica de gametos - Comparación con 40 controles con endometriosis grado I-II que no recibieron GnRHa o recibieron GnRHa como parte del protocolo largo de EOC 	<ul style="list-style-type: none"> - Tendencia a tasas de gestación mayores con 6 meses de pre-tratamiento con GnRHa comparado con los controles, diferencia no significativa
Dicker y cols (Dicker et al., 1992)	Prospectivo randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 6 meses en 35 pacientes - Comparación con 32 controles 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación clínica por ciclo iniciado significativamente mayor con el tratamiento (25% vs 3,9%) - No diferencias en tasa de aborto
Nakamura y cols (Nakamura et al., 1992)	Retrospectivo	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa \geq 60 días antes de la EOC y FIV en 21 pacientes - Comparación con 11 pacientes que recibieron GnRHa como parte del protocolo largo de EOC desde la fase lútea previa 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación clínica superior en el grupo de tratamiento (67 vs 27%) - N° ovocitos y embriones similares en ambos grupos - Mayor dosis de gonadotrofinas requeridas en la EOC
Curtis y cols (Curtis et al., 1993)	Retrospectivo	<ul style="list-style-type: none"> - Tres grupos de pacientes a los que se les administró GnRHa \geq 6 semanas previo a FIV: - 228 ciclos en pacientes con esterilidad tubárica - 37 ciclos en pacientes con endometriosis grado I-II - 55 ciclos en pacientes con endometriosis grado III-IV 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de implantación y gestación similares entre grupos, por lo que el GnRHa mejoraría las tasas en pacientes con endometriosis igualándolas a las de pacientes con otra causa de esterilidad
Marcus y cols (Marcus and Edwards, 1994)	Prospectivo semirandomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa durante 2-7 meses previo a FIV en 15 pacientes con endometriosis grado III-IV - Comparación con 69 controles sin pre-tratamiento, 20 de los controles pasaron al grupo de tratamiento tras el primer ciclo de FIV 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación significativamente mayor en el grupo de tratamiento
Chedid y cols (Chedid et al., 1995)	Retrospectivo	<ul style="list-style-type: none"> - Pacientes con endometriosis grado I-II y III-IV divididas en 3 grupos de pre-tratamiento: - GnRHa 3 meses - GnRH 3 semanas - Citrato de clomifeno 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación y RNV mayores con GnRHa pero diferencia no significativa - Tasa de transferencia embrionaria significativamente mayor con GnRHa
Ruiz-Velasco y cols (Ruiz-Velasco and Allende, 1998)	Prospectivo no randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 6 meses en 18 pacientes con endometriosis previo a FIV o IA 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación elevada (57,1%)

AUTORES	DISEÑO ESTUDIO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS
Fabregues y cols (Fábregues et al., 1998)	Prospectivo randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 4 meses previo a FIV en 30 pacientes con endometriosis leve, esterilidad tubárica y EOD - Comparación con 30 pacientes que recibieron GnRHa como parte del protocolo largo de EOC desde la fase lútea previa 	<ul style="list-style-type: none"> - No diferencias en tasa de implantación ni gestación clínica - No diferencias en nº de ovocitos y embriones obtenidos - % de ovocitos MII significativamente mayor en el grupo que no recibió el pre-tratamiento con GnRHa
Surrey y cols (Surrey et al., 2002)	Prospectivo randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 3 meses previo a FIV en 25 pacientes con endometriosis - Comparación con 26 controles 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación significativamente superior con GnRHa (80% vs 53,9%) - Tendencia a mayor tasa de implantación con GnRHa
Rickes y cols (Rickes et al., 2002)	Prospectivo randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 6 meses en 55 pacientes con endometriosis previo a FIV o IA (hasta 3 ciclos) - Comparación con 55 controles 	<ul style="list-style-type: none"> - Tasa de gestación significativamente superior con GnRHa (82% vs 40%) en endometriosis III y IV
Sallam y cols (Sallam et al., 2006)	Meta-análisis (3 estudios prospectivos randomizados: Dicker, Surrey y Rickes)	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 3-6 meses en pacientes con endometriosis previo a FIV 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor tasa de gestación cínica con GnRHa
Ma y cols (Ma et al., 2008)	Prospectivo no randomizado	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 3 meses en pacientes con endometriosis previo a FIV - GnRHa 2 meses en pacientes con endometriosis previo a FIV - GnRHa dentro del protocolo largo de EOC en pacientes con endometriosis previo a FIV 	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor tasa de implantación en pacientes con endometriosis grado III-IV con 2 meses de pre-tratamiento con GnRHa
Tamura y cols (Tamura et al., 2014)	Prospectivo- estudio piloto	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 3 meses en 11 pacientes con endometriosis grado III-IV - Comparación con 12 controles 	<ul style="list-style-type: none"> - Tendencia a mayores tasas de implantación y gestación con el pre-tratamiento con GnRHa
Van der Houwen (Van Der Houwen et al., 2014)	Retrospectivo	<ul style="list-style-type: none"> - GnRHa 3-6 meses en 68 pacientes con endometriosis grado III-IV previo a FIV - Comparación con 45 pacientes con endometriosis grado III-IV a las que se les realizó FIV sin pre-tratamiento 	<ul style="list-style-type: none"> - Tendencia a mayores tasas de gestación con GnRHa, diferencia no significativa
Söritsa y cols (Söritsa et al., 2015)	Retrospectivo	<ul style="list-style-type: none"> - 121 pacientes con endometriosis I-II: 76 recibieron GnRHa 3-6 meses y 45 no lo recibieron - GnRHa en 58 pacientes con endometriosis III-IV 	<ul style="list-style-type: none"> - No diferencias significativas en tasa de gestación, parto y aborto entre las pacientes con endometriosis I-II que recibieron GnRHa y las que no lo recibieron

Tabla 1.8. Estudios publicados sobre el efecto de un pre-tratamiento con GnRHa previo a una TRA.

En contraste a los estudios mencionados anteriormente, únicamente dos estudios concluyeron que el pre-tratamiento con GnRHa antes de FIV no aumentaba la tasa de gestación.

Por un lado, el estudio prospectivo de Fabregues y cols (Fábregues et al., 1998), informó de que el tratamiento con GnRHa durante 4 meses en pacientes con esterilidad tubárica, inexplicada y endometriosis leve, no aumentaba la tasa de embarazo por transferencia al compararlo con pacientes a las que se les administraba GnRHa dentro del protocolo largo convencional en la EOC.

Por otro lado, Sõritsa y cols (Sõritsa et al., 2015) publicaron recientemente un estudio retrospectivo de 5 años de duración con 179 pacientes con endometriosis intervenida, que valoraba los resultados de FIV tras laparoscopia asociada o no a un tratamiento de 3-6 meses con GnRHa. Dividieron las pacientes en dos grupos según si la endometriosis era grado I-II o III-IV, a su vez las pacientes del grupo de endometriosis grado I-II se dividieron en dos subgrupos según si habían recibido o no el tratamiento con GnRHa, mientras que todas las pacientes con endometriosis grado III-IV fueron tratadas con GnRHa. Algunas pacientes (18,4% de todas las que consiguieron un embarazo) gestaron espontáneamente antes de llegar a realizarse el ciclo de FIV. Al resto de pacientes se les realizó uno o dos ciclos de FIV. La tasa de gestación fue similar en las pacientes de todos los grados de endometriosis y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a tasa de embarazo, parto y aborto entre las pacientes con endometriosis grado I-II que habían recibido GnRHa y las que no lo recibieron, tanto si gestaron espontáneamente o tras FIV. Por tanto, los autores concluyen que la utilidad de los GnRHa en pacientes estériles con endometriosis I-II es cuestionable y se necesitarían más estudios sobre el tema, mientras que su efecto en endometriosis III-IV no pudo valorarse al no incluir el estudio pacientes con estos grados de endometriosis que no hubiesen sido tratadas con GnRHa.

La conclusión que se extrae de los estudios publicados hasta la actualidad es que parece que un pre-tratamiento con GnRHa antes de realizar FIV/ICSI podría mejorar los resultados en cuanto a tasa de implantación y gestación en pacientes con endometriosis. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados no son prospectivos y/o randomizados, y no informan de otras variables como tasa embarazo múltiple, ectópico, malformaciones fetales o SHO, por lo que serían necesarios más estudios

metodológicamente adecuados que ayuden a aclarar si realmente el pre-tratamiento con GnRHa es beneficioso en estas pacientes.

1.8.3.1. EFECTOS DE LOS ANÁLOGOS DE GNRH SOBRE LA ENDOMETRIOSIS PROFUNDA

En las pacientes con endometriosis profunda, la cirugía parece mejorar significativamente las tasas de embarazo obtenidas con FIV (Bianchi et al., 2009). Sin embargo, Matalliotakis y cols (Matalliotakis et al., 2007) observaron que las pacientes con endometriosis avanzada y cirugía previa respondían peor a las gonadotrofinas que mujeres con esterilidad de origen tubárico aunque las tasas de implantación, embarazo y recién nacido vivo sean similares.

El tratamiento con GnRHa previo a la cirugía en endometriosis severa parece conseguir que esta resulte más fácil, pero realizar esta combinación de tratamientos podría demorar el embarazo.

1.8.3.2. USO ACTUAL DE LOS ANÁLOGOS DE GNRH EN ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

En la actualidad, las recomendaciones sobre el tratamiento con GnRHa en pacientes con endometriosis y esterilidad serían las siguientes (Hashin, 2012):

- No se recomienda su uso como supresión de la ovulación para mejorar la fertilidad
- Se utilizan para la supresión ovárica en el protocolo largo de EOC en pacientes que se someten a FIV/ICSI
- Se ha propuesto su uso como pre-tratamiento de 3-6 meses antes de realizar FIV/ICSI
- Se ha propuesto su uso como un intervalo de supresión hipofisaria previo a la intervención laparoscópica en endometriosis profunda para facilitar la cirugía
- Se ha propuesto su uso durante 3 meses consecutivos en casos de endometrioma ovárico recurrente con cirugía previa, antes de realizar una FIV

- No presenta un efecto beneficioso en cuanto a tasas de embarazo su uso tras la cirugía del endometrioma.

1.8.3.3. POSIBLES MECANISMOS IMPLICADOS EN LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS ANÁLOGOS DE GNRH SOBRE LA ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

Además de los mecanismos ya descritos de los análogos de GnRH sobre la fisiopatología de la endometriosis, a continuación se describen otros posibles mecanismos responsables de los efectos positivos del pre-tratamiento con GnRHa en pacientes con endometriosis que se someten a una TRA.

Taketani y cols (Taketani et al., 1992) observaron que los niveles aumentados de IL-1 y TNF- α hallados en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, disminuían con el tratamiento con danazol y con GnRHa. Estos autores concluyeron que los efectos embriotóxicos del líquido peritoneal de pacientes con endometriosis se vuelven indetectables tras el tratamiento con GnRHa.

En la misma línea, en el estudio piloto de Tamura y cols (Tamura et al., 2014) ya comentado con anterioridad, se evaluó el efecto de los GnRHa sobre las concentraciones intrafoliculares de TNF- α , marcadores de estrés oxidativo como la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) y antioxidantes como la melatonina. Para ello, administraron 3 dosis de GnRHa a 11 pacientes con endometriosis grado III-IV previo a la realización de una FIV y las compararon con 12 controles a las que se les realizó una FIV con protocolo largo, sin administración previa de GnRHa. Demostraron una disminución de TNF- α y 8-OHdG en el líquido folicular de las pacientes que habían recibido el pre-tratamiento con GnRHa, así como un aumento de melatonina en estas pacientes.

Por otro lado, la supresión parcial sobre los endometriomas ováricos producida por GnRHa podría restaurar la expresión de $\alpha\beta 3$, un marcador de receptividad endometrial, en el endometrio eutópico de mujeres con endometriosis, lo que mejoraría las tasas de implantación (Lessey, 2000).

Sin embargo, los mecanismos por los que el pre-tratamiento prolongado con GnRHa mejora las tasas de embarazo en mujeres con endometriosis no está completamente dilucidado. Parece que los GnRHa suprimen los factores tóxicos que se encuentran en el líquido peritoneal de estas pacientes y que podrían resultar perjudiciales para los

ovocitos y embriones aunque también podrían restaurar la receptividad endometrial (Tavmergen et al., 2007).

Se necesitan nuevos estudios prospectivos randomizados que investiguen el mecanismo de acción de los GnRH α , así como esta mejora en las tasas de embarazo, las tasas de recién nacido vivo y potenciales complicaciones del tratamiento.

02

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de la esterilidad femenina en la actualidad representa un desafío clínico y conlleva elevados costes económicos. Cuando la endometriosis representa la causa de esta esterilidad el reto es aún mayor, ya que se trata de una enfermedad de elevada prevalencia, con unas consecuencias para la paciente no únicamente relacionadas con la esterilidad, ya que asocia frecuentemente sintomatología grave asociada, como dolor pélvico crónico, con los costes socioeconómicos y psicológicos derivados de él.

La endometriosis es una enfermedad cuya fisiopatología no está completamente dilucidada y para la que no se dispone de tratamiento curativo, por lo que es un tema en constante investigación. Los tratamientos sintomáticos actuales son muy variados y presentan efectos secundarios, siendo difícil establecer un protocolo de manejo adecuado de estas pacientes. Por un lado, la cirugía de la endometriosis no está exenta de morbilidad, presenta una tasa de recidiva elevada y en muchas ocasiones no soluciona toda la sintomatología. Por otro lado, la mayoría de tratamientos médicos actúan suprimiendo la función ovárica, lo que representa un problema al tratarse de mujeres en edad fértil que en algún momento van a presentar deseo genésico, por lo que dichos tratamientos resultarían incompatibles. Además, el tratamiento de la endometriosis, puede demorar la búsqueda de gestación, hecho que empeora aún más las posibilidades que tienen estas pacientes de conseguir un embarazo, al presentar frecuentemente esterilidad originada por la enfermedad en sí misma, que requerirá una técnica de reproducción asistida.

A pesar de los avances conseguidos en las técnicas de reproducción asistida, la evidencia actual parece indicar que los resultados de dichas técnicas en las pacientes con endometriosis son inferiores a los obtenidos en pacientes con otras causas de esterilidad. Por este motivo, encontrar un pre-tratamiento que permita mejorar estos resultados se ha convertido en un reto y numerosos grupos de trabajo han investigado sobre este tema.

Hasta el momento actual, el único pre-tratamiento que parece mejorar los resultados de FIV en pacientes con endometriosis es la administración previa de análogos de la GnRH durante 3-6 meses. Estos fármacos parecen actuar no únicamente mediante su mecanismo clásico reconocido, que era producir un hipoestrogenismo por supresión hipofisaria. Más recientemente se han hallado otros posibles mecanismos por los que los GnRHa tendrían efecto directo sobre el crecimiento de las células endometriales y regularían el ambiente inflamatorio folicular y peritoneal presente en las pacientes con endometriosis. Al actuar sobre el desarrollo y progresión de la enfermedad y crear un ambiente más favorable para ovocitos y embriones, sería de esperar que mejoraran la calidad ovocitaria y embrionaria así como las tasas de fecundación y gestación.

Sin embargo, los estudios publicados presentan sesgos de selección y metodológicos. Por este motivo, ante la falta de estudios con un diseño adecuado, se puede afirmar que no existe suficiente evidencia en la actualidad para establecer recomendaciones sólidas sobre el pre-tratamiento con GnRHa.

El presente estudio pretende contribuir a aumentar la evidencia científica que permita recomendar o no el pre-tratamiento con agonistas de GnRH antes de realizar una FIV en pacientes con endometriosis.

Además, en este estudio se tienen en cuenta otras variables de las que no informan los estudios publicados hasta la fecha, como tasa embarazo múltiple, o acontecimientos adversos como embarazos ectópicos, malformaciones fetales o síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

03

HIPÓTESIS DE TRABAJO

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La administración de un análogo de GnRH durante los tres meses previos a la realización de una FIV en pacientes con endometriosis puede mejorar la respuesta ovárica a la estimulación y las tasas de implantación y de gestación clínica.

04



OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar el efecto de la administración de un análogo de GnRH comparado con un placebo, durante los tres meses previos a la realización de una FIV en pacientes con endometriosis sobre la tasa de gestación clínica.

4.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Evaluar posibles diferencias entre los dos grupos en:

- Tasa de implantación
- Tasa de aborto
- Tasa de parto
- Tasa de gestación múltiple
- Variables relacionadas con la estimulación ovárica
 - Número de días de estimulación ovárica controlada
 - Dosis total de gonadotrofinas requeridas durante la EOC
 - Estradiol el día hCG (pg/ml)
 - Grosor endometrial (mm)
 - Diámetro del folículo mayor
 - Número de folículos totales
 - Número de folículos de diámetro >16 mm
- Variables relacionadas con calidad ovocitaria y embrionaria
 - Número de ovocitos obtenidos, totales, metafase II e inmaduros
 - Número total de embriones

4 / OBJETIVOS

- Número de embriones transferidos
- Número de embriones criopreservados
- Clasificación embrionaria ASEBIR

05

MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Con la finalidad de dar respuesta a la hipótesis planteada, se diseñó un ensayo clínico. Por tanto, fue un estudio prospectivo, randomizado, ciego y controlado de la administración de un agonista de GnRH frente a placebo. Fue llevado a cabo en mujeres diagnosticadas de endometriosis que realizaron un tratamiento mediante FIV/ICSI.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitari i Politènic La Fe.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) autorizó la realización de este estudio y fue registrado en ClinicalTrials.gov con el identificador NCT01581359.

5.2. ÁMBITO DE REALIZACIÓN

Unidad de Reproducción Humana Asistida del Hospital Universitari i Politènic La Fe de Valencia.

5.3. DURACIÓN DEL ESTUDIO

El periodo de inclusión de pacientes fue de 36 meses a partir del inicio del estudio en marzo de 2012. El periodo de seguimiento fue de un máximo de 12 meses para cada paciente desde el inicio del estudio. El estudio finalizó en marzo de 2016.

5.4. PACIENTES

5.4.1. SELECCIÓN DE PACIENTES

De las 239 pacientes que recibieron información sobre el ensayo clínico, fueron seleccionadas 200 pacientes que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, aceptaron su participación en el estudio y firmaron el consentimiento informado. A partir de ese momento fueron aleatorizadas en dos grupos (grupo control y grupo de estudio) y el ciclo de FIV o ICSI se inició tres meses después.

Posteriormente se excluyeron 17 pacientes por los siguientes motivos:

- 6 por retirada voluntaria
- 7 por violación del protocolo
- 2 por fallo de selección
- 2 por acontecimientos adversos (AA)

Finalmente fueron incluidas en el análisis estadístico un total de 183 pacientes, 91 de ellas pertenecían al grupo de estudio (grupo 1) y 92 al grupo control (grupo 2). (Figura 5.1).



Figura 5.1. Algoritmo de inclusión de pacientes en el ensayo clínico.

5.4.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los criterios de inclusión se muestran en la Tabla 5.1.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN
Mujeres infértiles diagnosticadas de endometriosis mediante cirugía en el año previo a su inclusión en el estudio con signos de enfermedad residual y/o por la existencia de un endometrioma ovárico en ecografía vaginal susceptibles de tratamiento mediante FIV o ICSI
IMC <28 Kg/m ²
Edad menor de 40 años
Firma de consentimientos informados para la práctica de una FIV y para la participación en este estudio

Tabla 5.1. Criterios de inclusión en el estudio.

5.4.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Los criterios de exclusión fueron los siguientes (Tabla 5.2.).

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
FSH día 2 ^o -5 ^o del ciclo >12 UI/L
Hepatopatía (GOT>80 UI/L)
Patología renal (creatinina >130 nmol/L)
Otra patología relevante que contraindique una gestación

Tabla 5.2. Criterios de exclusión.

5.5. CLASIFICACIÓN DE LAS PACIENTES EN FUNCIÓN DE LA ENDOMETRIOSIS

Se recogieron distintos datos relacionados con la endometriosis en cada paciente (Tabla 5.3).

VARIABLES RELACIONADAS CON LA ENDOMETRIOSIS
Endometriosis intervenida o no
Número de cirugías
Tiempo transcurrido desde la última intervención quirúrgica
Presencia de endometrioma en momento de la inclusión en el estudio
Número de endometriomas
Presencia de endometriomas bilaterales
Diámetro del endometrioma de mayor tamaño

Tabla 5.3. Variables relacionadas con la endometriosis.

Las pacientes fueron divididas según la clasificación de la ASMR en 4 grados de endometriosis: mínima (I), leve (II), moderada (III) y severa (IV).

La media de tiempo transcurrido entre la intervención quirúrgica y el inicio del estudio fue de 36,96 meses (rango 3-228 meses), por lo que en el momento de la inclusión en el estudio las pacientes se reevaluaron ecográficamente considerando:

- Endometriosis mínima (I) : se consideró endometriosis mínima si no se observaban endometriomas o existían endometriomas unilaterales menores o iguales a 1 cm
- Endometriosis leve (II): si existían endometriomas unilaterales de tamaño entre 1 y 3 cm
- Endometriosis moderada (III): si los endometriomas eran unilaterales pero mayores de 3 cm o bilaterales pero menores de 3 cm

- Endometriosis severa (IV): si existían endometriomas bilaterales mayores de 3 cm, unilaterales mayores de 5 cm y/o signos de sospecha de endometriosis profunda

5.6. VALORACIÓN DEL SEMINOGRAMA

Los resultados del seminograma fueron clasificados y diagnosticados teniendo en cuenta los criterios de la OMS de 2010 (Tabla 5.4 y 5.5).

PARÁMETROS	VALORES DE REFERENCIA
Volumen de semen (ml)	1.5 ml (1.4–1.7)
Número total de espermatozoides/eyaculación	39 millones (33–46)
Concentración de espermatozoides/ml	15 millones/ml (12–16)
Motilidad total (progresiva y no progresiva, %)	40% (38–42)
Motilidad progresiva (%)	32% (31–34)
Vitalidad (espermatozoides vivos, %)	58% (55–63)
Morfología (formas normales, %)	4% (3.0–4.0)
REM (recuperación de espermatozoides móviles)	3 millones

Tabla 5.4. Valores de referencia límites (percentil 5 e intervalo de confianza al 95%) para las características seminales. Adaptado de “WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010”.

En las muestras de semen utilizadas en el presente estudio se obtuvieron únicamente los siguientes diagnósticos:

- Normozoospermia
- Azoospermia
- Oligozoospermia moderada y severa
- Astenozoospermia moderada y severa
- Oligoastenozoospermia moderada y severa

Sólo se diagnosticó un caso de azoospermia y el ciclo fue cancelado por baja respuesta ovárica a la estimulación.

DIAGNÓSTICO	DEFINICIÓN
Aspermia	ausencia de semen
Astenozoospermia	% espermatozoides con motilidad progresiva (PR) por debajo del valor límite de referencia - moderada: PR entre 20-32% - severa: PR <20%
Astenoteratozoospermia	% espermatozoides con PR y morfológicamente normales por debajo del valor límite de referencia
Azoospermia	ausencia de espermatozoides en el eyaculado en fresco, pero observados tras centrifugación
Hematospermia	presencia de eritrocitos en el eyaculado
Leucospermia	presencia de leucocitos en el eyaculado por encima del valor umbral
Necrozoospermia	bajo % de espermatozoides vivos y alto % de inmóviles en el eyaculado
Normozoospermia	n° total de espermatozoides y % de espermatozoides con PR y morfológicamente normales, igual o por encima de los valores límite de referencia
Oligoastenozoospermia	n° total de espermatozoides y % de espermatozoides con PR por debajo de los valores límite de referencia - moderada: 10-15 mill/ml y PR entre 20-32% - severa: 0.1-10 mill/ml y PR <20%
Oligoastenoteratozoospermia	n° total de espermatozoides y % de espermatozoides con PR y morfológicamente normales por debajo de los valores límite de referencia

DIAGNÓSTICO	DEFINICIÓN
Oligoteratozoospermia	n° total de espermatozoides y % de espermatozoides morfológicamente normales por debajo de los valores límite de referencia
Oligozoospermia	n° total de espermatozoides por debajo de los valores límite de referencia - moderada: 10-15 mill/ml - severa: 0,1-10 mill/ml
Teratozoospermia	% de espermatozoides morfológicamente normales por debajo de los valores límite de referencia

Tabla 5.5. Nomenclatura relacionada con la calidad seminal. Adaptado de "WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.

Para facilitar el análisis de los resultados, los diagnósticos mencionados se reagruparon en tres categorías (Tabla 5.6).

CATEGORÍAS DE DIAGNÓSTICO SEMINAL	DIAGNÓSTICOS INCLUIDOS
Semen normal	- normozoospermia
Factor masculino moderado	- oligozoospermia moderada - astenozoospermia moderada - oligoastenozoospermia moderada
Factor masculino severo	- oligozoospermia severa - astenozoospermia severa - oligoastenozoospermia severa - azoospermia

Tabla 5.6. Categorías de diagnóstico seminal.

5.7. PROCEDIMIENTOS

5.7.1. ASIGNACIÓN AL GRUPO DE TRATAMIENTO

El método de asignación al grupo de tratamiento se realizó mediante aleatorización a grupo de intervención o no según bloques permutados con sobre cerrado. La responsable de la randomización fue la investigadora principal y las tres inyecciones subcutáneas mensuales fueron administradas en la consulta por la enfermera asignada al estudio.

El grupo de tratamiento al que pertenecían las pacientes era ciego para los clínicos que realizaban los procedimientos de estimulación ovárica, punción folicular y transferencia embrionaria y para los embriólogos que realizaron las técnicas de FIV o de ICSI.

5.7.2. TRATAMIENTO PREVIO AL CICLO DE FIV/ICSI

El estudio se realizó en 2 grupos de pacientes:

- Grupo 1 o de estudio
- Grupo 2 o de control

Las pacientes del grupo 1 recibieron una inyección subcutánea de agonista de GnRH (Fármaco de estudio: Gonapeptyl Depot 3.75 mg - Acetato de triptorelina, Ferring S.A.U., Alemania) los días 1, 28 y 56 después de un ciclo menstrual espontáneo o inducido con estroprogestativos orales.

Las pacientes del grupo 2 recibieron una inyección subcutánea con el mismo dispositivo de administración, y con el mismo volumen de suero fisiológico, según el mismo esquema que las pacientes del grupo 1 (Fármaco control: Placebo – Suero fisiológico). La estimulación ovárica se inició el día 80 (\pm 3 días) en los dos grupos (Figura 5.2).

La medicación del estudio o el placebo fueron proporcionados por el Servicio de Farmacia, que registraba sistemáticamente el nombre comercial, la cantidad y el número del lote suministrado en cada visita a cada paciente, en un fichero en el cual figuraba la identidad de cada paciente, el número de randomización y el grupo al cual era asignada.



Figura 5.2. Esquema de pauta de pre-tratamiento. GnRHa: agonista de GnRH, EOC: estimulación ovárica controlada.

El cumplimiento en la aplicación de los fármacos del estudio estuvo garantizado por ser administrados por un miembro del equipo investigador en el propio hospital.

5.7.3. TRATAMIENTO DE FIV/ICSI

A excepción de la asignación de pacientes a un grupo de tratamiento, todos los procedimientos de estimulación ovárica, punción folicular, fecundación y cultivo de gametos y embriones, así como de transferencia embrionaria se realizaron de acuerdo con los protocolos habituales del centro.

5.7.3.1. ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA

Las pacientes fueron tratadas con gonadotropinas (hMG-HP: Menopur, Ferring S.A.U., Madrid; FSH recombinante: Puregon, MSD Barcelona o Gonal, Merck, Madrid; o una combinación de ambas), asociadas a antagonistas de GnRH (0,25 mg de Ganirelix – Orgalutran, MSD, Madrid o 0,25 mg de Cetorelix –Cetrotide, Merck, Madrid) a partir del 6º día de estimulación o de la visualización de al menos un folículo de diámetro igual

o mayor a 14 mm. La dosis inicial de gonadotropinas se calculó en función de los niveles basales de FSH u hormona antimülleriana (AMH), edad, IMC y recuento de folículos antrales (RFA) al inicio de la estimulación ovárica y en ningún caso fue superior a 300 UI/día. Esta dosis diaria de gonadotropinas se ajustó en función de la respuesta ovárica observada hasta una dosis máxima diaria de 450 UI/día.

Se realizaron controles de crecimiento folicular cada uno a cuatro días con valoración de estradiol en sangre circulante mediante radioinmunoanálisis (RIA) y medición del número y diámetro de los folículos por ecografía vaginal.

La inducción de la ovulación se realizó con una dosis de 250 mcg de gonadotropina coriónica humana (hCG) (Ovitrelle 250 mcg, Merck, Madrid), cuando se observaron al menos tres folículos de diámetro medio mayor o igual a 16mm, y al menos uno de ellos mayor de 17 mm.

5.7.3.2. PUNCIÓN FOLICULAR

Treinta y seis horas después de la administración de hCG se procedió a la punción-aspiración folicular transvaginal guiada por ecografía bajo sedación para recuperar los complejos cúmulo-corona-ovocito (COC). La punción se realizó a través del fondo de saco vaginal posterior utilizando una aguja de punción de diámetro 17 G conectada a un sistema de aspiración (160–180 mmHg) que termina en un tubo colector del líquido folicular.

El líquido de los tubos fue vertido en placas Petri grandes (90 mm. Comercial Lambda. Ref. P101) atemperadas a 37°C. Mirando por un estereomicroscopio binocular se localizaron los complejos cúmulo-corona-ovocitos aspirados en cada tubo (Figura 5.3).

Estos complejos recuperados tras la punción folicular se dejaron entre 2 y 4 horas en incubadores del laboratorio de Embriología a 37°C y 5% CO₂ con medio tamponado y posteriormente medio enriquecido, hasta su posterior inseminación o microinyección.

5.7.3.3. FIV/ICSI

TÉCNICA DE FIV CLÁSICA

Pasadas las 2-4 horas de incubación, los complejos COC fueron inseminados in vitro con espermatozoides previamente capacitados en el laboratorio de Andrología.



Figura 5.3. Imagen del estereomicroscopio binocular con el que se localizaron los complejos cúmulo-corona-ovocito tras la punción folicular. Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de Pedro Fernández Colom.

La capacitación de espermatozoides se realizó mediante la técnica "swim-up". Tras la licuefacción de la muestra seminal durante 30-60 minutos, se añadió medio de cultivo IVF (Medicult) en proporción 1:1. La mezcla se centrifugó durante 10 minutos y el sobrenadante fue eliminado. Sobre los sedimentos formados en los tubos se añadió (~0,1 ml por tubo) cuidadosamente medio de cultivo G-IVF Plus (Ref, 10136; Vitrolife) y se dejaron en el incubador (37°C, aire con 6% CO₂) durante 15-90 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación se recogieron entre 0,2 y 0,4 ml de los sobrenadantes que se utilizaron para realizar la FIV o la ICSI.

El varón recogía la muestra de semen el mismo día de la punción folicular para ser procesada, aunque también era posible que el semen estuviera congelado y se descongelara y procesara para la técnica de reproducción.

La inseminación de los complejos cúmulo-corona-ovocito se realizó en gotas de unos 200 microlitros de medio enriquecido (Universal IVF, MediCult. N° producto: 1030; o medio G-IVF Plus Ref, 10136; Vitrolife) sumergidas en aceite mineral. Se inseminaron 1 o varios cúmulos por microgota ajustando la concentración total entre 50.000 y 200.000 espermatozoides móviles progresivos totales (dependiendo de las características de

la muestra de semen). Una vez denudados se depositaron en microgotas de cultivo nuevas (Medio Universal IVF. MediCult; o medio G-IVF Plus (Ref, 10136; Vitrolife).

Al día siguiente (16-18 horas después de haber inseminado los complejos COC) se valoró la fecundación, retirando mediante acción mecánica las células de granulosa que rodeaban los ovocitos e identificando la presencia de dos pronúcleos (uno de origen paterno y otro de origen materno) y dos corpúsculos polares (Figura 5.4).

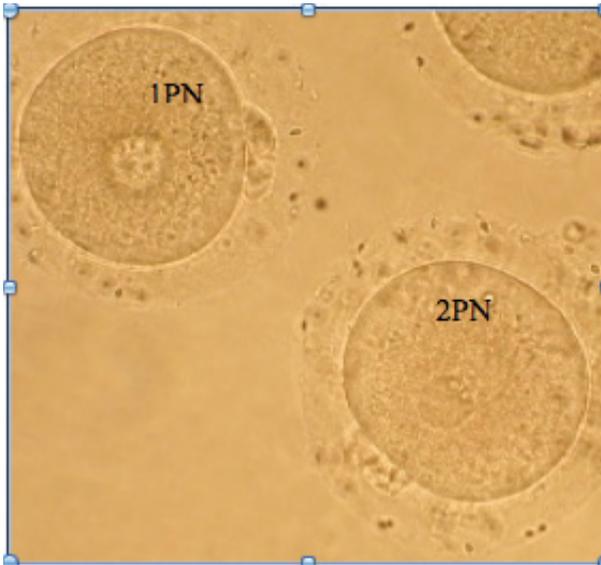


Figura 5.4. Imagen de un preembrión humano mostrando fecundación normal con dos pronúcleos. Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de Pedro Fernández Colom.

TÉCNICA DE ICSI

Tras las 2-4 horas de incubación de los COC se procedió a la decumulación, que consiste en retirar todas las células de la granulosa que rodean al ovocito.

La decumulación se realizó mediante acción enzimática con hialuronidasa (SynVItroHydase. Origio Ref. 15115001A) en primer lugar y mecánica después con pipetas estiradas de distintos calibres. Los ovocitos decumulados se clasificaron como metafase I, metafase II, profase I o atrésicos. Sólo se microinyectaron los ovocitos MII. La microinyección consiste en la introducción forzada de un espermatozoide en un ovocito en estadio nuclear MII.

Para realizar la técnica de microinyección se utilizó un microscopio Nikon DIAPHOT de contraste de fases equipado con una óptica de Hoffman (Hoffman Modulation Contrast. Greenvale N.Y.) y una pletina LINKAM Scientific mantenida a 37°C, que están unidos a dos micromanipuladores hidráulicos (Narishige MM 188) (Figura 5.5).

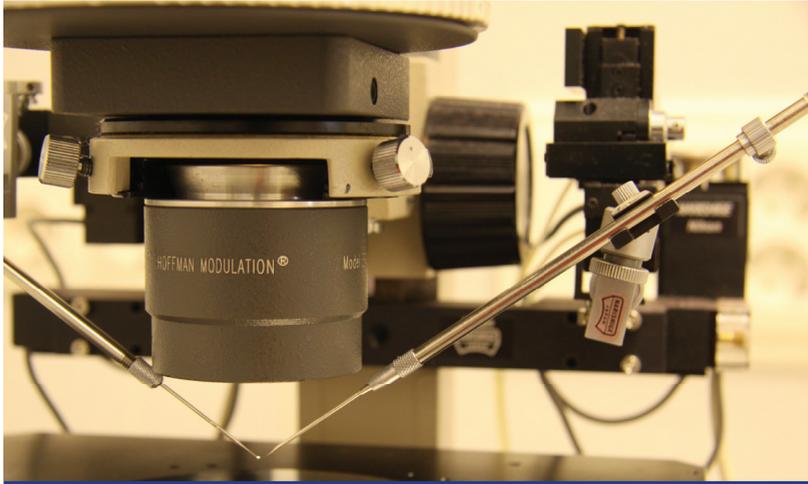


Figura 5.5. Imagen del microscopio con el que se realizó la técnica de microinyección. Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de Pedro Fernández Colom.

A estos micromanipuladores se conectan sistemas que en su extremos tienen unos soportes metálicos donde se sitúan las micropipetas de sujeción del ovocito (Humagen holding. ref. 10-MPH-95) y la de microinyección (Humagen ICSI ref 10-MIC-B). Los ovocitos se colocaron en microgotas de 5-10 microlitros de medio tamponado, junto a microgotas en las que se habían colocado los espermatozoides en medio con polivinilpirrolidona (PVP Medium. Ref. 10890001A. MediCult Media). Todas estas gotas se mantuvieron bajo aceite mineral (Ovoil. Ref 10029. Vitrolife). Con la aguja de sujeción se mantuvo fijo al ovocito y con la de ICSI se inmovilizó un espermatozoide con un golpe seco en la pieza intermedia, y fue cargado y microinyectado en el citoplasma del ovocito. Terminada la microinyección los ovocitos microinyectados se pasaron a medio de cultivo con los nutrientes adecuados (G1 PLUS Ref. 10128 Vitrolife).

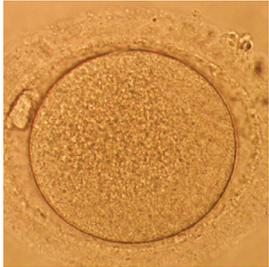
Al día siguiente (16-18 horas después) se valoró la fecundación identificando la presencia de dos pronúcleos (uno de origen paterno y otro de origen materno) y dos corpúsculos polares.

Se calculó para cada paciente la tasa de fecundación.

Tras observar la fecundación, los cigotos (embriones con dos pronúcleos) normalmente fecundados fueron pasados a placas de cultivo con microgotas con medio G1 PLUS y se dejaron en el incubador a 6% CO₂ y 37°C. Permanecieron en ese medio hasta día +2 (48 horas después de la punción) o día +3 (72 horas después de la punción), momento en que fueron transferidos. Algunos fueron congelados siguiendo el protocolo habitual del laboratorio.

CLASIFICACIÓN OVOCITARIA

Los ovocitos obtenidos en las pacientes del estudio fueron clasificados según los criterios de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción), "Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos" (Tabla 5.7).

TIPO DE OVOCITO	DESCRIPCIÓN	IMAGEN
Ovocito metafase II (MII)	Ovocito maduro o preovulatorio, haploide. Presenta corpúsculo polar, lo que indica la reanudación de la meiosis. El corpúsculo polar permanece conectado con el huso meiótico mediante un puente citoplasmático un tiempo después de su extrusión. Tiene aspecto redondeado, ooplasma claro y granulación homogénea. Las células del cúmulo están expandidas y filantes y la corona es radial.	
Ovocito metafase I (MI)	Ovocito inmaduro, haploide. No tiene corpúsculo polar, el huso y los cromosomas están alineados en los polos. Su aspecto es redondeado, con citoplasma claro y granulación homogénea. Los metafase I tempranos pueden presentar granulación central. Las células del cúmulo y la corona están menos expandidas y no son filantes. Los metafase I tardíos pueden presentar células del cúmulo luteinizadas.	

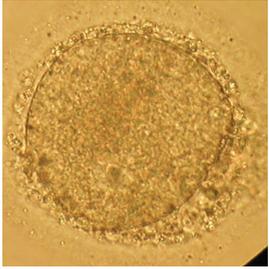
TIPO DE OVOCITO	DESCRIPCIÓN	IMAGEN
Ovocito profase I (PI)	Ovocito inmaduro, diploide. No tiene corpúsculo polar. Presenta vesícula germinal con nucléolos refráctiles. Tiene aspecto irregular oscuro en su zona central y ooplasma granular. Las células del cúmulo y corona están compactadas.	
Ovocito atrésico	Ovocito que se descarta. Puede presentar el corpúsculo polar extruido o la vesícula germinal, o ninguno de ellos. Se caracteriza por tener un ooplasma irregular, oscuro, multivesiculado y de aspecto degenerado.	

Tabla 5.7. Clasificación ovocitaria. Imágenes de la Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de Pedro Fernández Colom.

Se define un ovocito maduro óptimo, como aquel que ha de tener una forma redondeada, envuelto por una zona pelúcida clara y uniforme con un grosor de alrededor de 20µm, el citoplasma translúcido y libre de inclusiones, y la presencia de un corpúsculo polar de tamaño apropiado.

CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA

Se evaluaron distintos parámetros morfológicos embrionarios según los “Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos”: número de células o blastómeras y ritmo de división (Tabla 5.8), tamaño, forma, multinucleación, porcentaje de fragmentación, grado de compactación, anillo acitoplasmático, presencia de vacuolas y zona pelúcida.

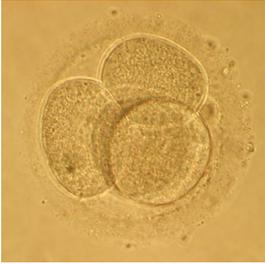
IMAGEN	DESCRIPCIÓN
<p data-bbox="235 223 297 251">D +1</p> 	<p data-bbox="419 320 1147 429">Entre 25 y 27 horas en algunos embriones se produce la primera división mitótica, observándose 2 células. El embrión debe tener 2 células a las 30 horas de la FIV o ICSI.</p>
<p data-bbox="235 547 297 575">D +2</p> 	<p data-bbox="419 649 1108 758">Entre 40 y 44 horas después de la fecundación se espera que el embrión de buena calidad se haya dividido en 4 células.</p>
<p data-bbox="235 875 297 902">D +3</p> 	<p data-bbox="419 1021 1018 1048">A las 67-71 horas el embrión debe tener 8 células</p>

Tabla 5.8. Ritmo de división embrionaria. Imágenes de la Unidad de Reproducción del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, cortesía de Pedro Fernández Colom.

La categorización embrionaria se realizó tras múltiples observaciones realizadas a lo largo del desarrollo preimplantacional. Para el sistema de gradación se empleó la opción de 4 categorías divididas en función del potencial implantatorio esperado (Tabla 5.9). La asignación de un embrión a una categoría dependió de las variables morfológicas que se han comentado previamente.

CATEGORÍA	DEFINICIÓN
A	Embrión de óptima calidad con máxima capacidad de implantación
B	Embrión de buena calidad con elevada capacidad de implantación
C	Embrión regular con una probabilidad de implantación media
D	Embrión de mala calidad con una probabilidad de implantación baja

Tabla 5.9. Clasificación embrionaria ASEBIR.

5.7.3.4. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La transferencia embrionaria se realizó 2 o 3 días después de la microinyección. El número de embriones transferidos se consensuó con los biólogos de forma individual para cada paciente en función de las características clínicas, reproductivas y personales de cada una de ellas, teniendo en cuenta su consentimiento. En todos los casos se transfirieron un máximo de 2 embriones, excepto en 1 paciente en la que se transfirieron 3 embriones.

La transferencia embrionaria se llevó a cabo en el quirófano adyacente al laboratorio, mediante un catéter a través del canal cervical guiado por ecografía transabdominal, previa visualización e irrigación de cérvix con medio de cultivo y evitando una manipulación excesiva.

Los embriones viables restantes fueron vitrificados.

5.7.3.5. VITRIFICACIÓN EMBRIONARIA

La vitrificación se realizó en un sistema cerrado de pajuelas (Cryotip®, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) con el medio VitrificationFreeze Kit® (Irvine Scientific, Santa Ana, USA). En cada pajuela se vitrificaron de dos a tres embriones.

La placa de vitrificación (placa Petri, Soria Genlab®, Madrid, España) constó de una gota de medio de equilibrado y 4 gotas de medio de vitrificación. En primer lugar los embriones se pusieron en contacto con el medio equilibrado (Irvine Scientific, Santa Ana, USA) durante 8 minutos. A continuación, se dejaron 5-10 segundos en cada una de las gotas del medio de vitrificación. En la última gota los embriones se cargaron en

el Cryotip con ayuda de un sistema de boca, se selló por ambos extremos y se introdujo rápidamente en nitrógeno líquido, en un máximo de 90 segundos.

5.7.3.6. FASE LÚTEA

El soporte de la fase lútea se realizó con la administración de 200 mg de progesterona natural micronizada (Progeffik cápsulas 200 mg, Laboratorios Effik, Madrid o Utrogestan cápsulas 200 mg, SEID, Barcelona) cada 12 horas por vía vaginal a partir del día de la punción folicular.

5.7.3.7. DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

El diagnóstico bioquímico de gestación se realizó mediante la determinación de β -hCG en suero u orina 15 días después de la transferencia embrionaria.

El diagnóstico ecográfico de la gestación se realizó a las 5-6 semanas de amenorrea. Se consideró gestación clínica si se observaba saco gestacional y embrión con latido cardíaco.

5.7.3.8. CAUSAS DE CANCELACIÓN

Se cancelaron los ciclos que mostraron el crecimiento de menos de 3 folículos o aquellos en los que se observaba el crecimiento de más de 20 folículos preovulatorios siguiendo los criterios habituales de cancelación del centro.

No se realizó transferencia embrionaria en las pacientes con niveles de estradiol >3500 pg/ml por riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), vitrificando los embriones para transferencia en ciclo posterior no estimulado.

5.7.3.9. TRANSFERENCIA DE EMBRIONES VITRIFICADOS

Los embriones que habían sido vitrificados por ser sobrantes o no haberse podido realizar la transferencia embrionaria durante el ciclo estimulado, se transfirieron posteriormente mediante un ciclo con sustitución hormonal.

Se administró terapia estrogénica en dosis crecientes para la proliferación endometrial con valerato de estradiol (Meriestra, Novartis, Barcelona) 2 mg/día los días 1-4 de ciclo, 4 mg/día los días 5-8 de ciclo y 6 mg/día a partir del día 9 de ciclo que se mantenía

de forma ininterrumpida. Se realizaban controles ecográficos del endometrio y de estradiol sérico. Tras alcanzar un endometrio adecuado se inició la suplementación con progesterona a dosis de 600 mg/día vía vaginal.

Para la desvitrificación se utilizó VitrificationThaw Kit® (Irvine Scientific, Santa Ana, USA). Antes de empezar con la desvitrificación se preparó una placa estéril con: 2 gotas de Thawing solution, 2 gotas de Dilution Solution y 3 gotas de Whashing solution. El Cryotip se introdujo en agua destilada a 37°C, se secó con una gasa estéril y se cortó por la zona de sellado de ambos extremos. Se conectó el Cryotip a un sistema boca y se descargaron los embriones en la placa estéril y se fueron pasando por cada gota, durante un total de 9 minutos. Finalmente los embriones se pasaron a una placa de cultivo nueva 35x10mm, Falcon®, Oxnard, USA) adecuado al día de la vitrificación hasta el día en el que se realizó la transferencia embrionaria (2, 3 o 5 días después del inicio de administración de progesterona, según el día en que habían sido vitrificados los embriones).

5.7.4. SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES

El periodo de seguimiento fue de un máximo de 12 meses para cada paciente desde su inicio en el estudio.

5.7.4.1. CONTROL CLÍNICO

Se realizó control clínico en cada visita de seguimiento, y en cada fase del estudio se evaluaron las variables correspondientes, que quedaron registradas en el cuaderno de recogida de datos y en la historia clínica de cada paciente.

Los parámetros de seguridad que se evaluaron en el estudio fueron:

- Síntomas referidos por la paciente, estuvieran o no relacionados con el medicamento del ensayo.
- Toma de medicaciones concomitantes
- Presencia de acontecimientos adversos (AA) y acontecimientos adversos graves (AAG).

Los datos fueron monitorizados por el Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, por personal específico destinado a tal fin.

5.7.4.2. CRONOGRAMA DE LAS VISITAS DE SEGUIMIENTO

Se realizaron 6 o 7 visitas en cada paciente, como se detalla en la Tabla 5.10.

VISITA 1	Información, verificación de criterios de inclusión/exclusión, firma consentimiento
VISITA 2	Randomización. Administración de la primera dosis de GnRHa/placebo. Día 0
VISITA 3	Administración de la segunda dosis de GnRHa/placebo. Día 28
VISITA 4	Administración de la tercera dosis de GnRHa/placebo. Día 56
VISITA 5	Inicio del tratamiento de estimulación ovárica para FIV. Día 80±3
VISITA 6	Confirmación de gestación
VISITA 7	Seguimiento final de la gestación. Puede ser no presencial

Tabla 5.10. Visitas de seguimiento.

5.8. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

5.8.1. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se calculó el tamaño de muestra necesario para obtener un incremento en la tasa de gestación clínica de un 20% a un 40%, aceptando un 80% de probabilidad de encontrar una diferencia y tomando 5% como nivel de significación estadística. El tamaño muestral necesario fue de 90 pacientes por grupo.

Para la randomización se realizó la asignación aleatoria a grupo de intervención o no según bloques permutados (tamaño del bloque 5).

5.8.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información se recogió en un cuaderno de registro de datos (CRD) diseñado específicamente para este estudio. Se creó una base de datos para contener la información de los CRD de las pacientes incluidas. Previo a la informatización de los datos se realizó una revisión exhaustiva de los CRD de datos para asegurar al máximo la fiabilidad del registro.

Se calculó la frecuencia de cada una de las variables investigadas expresando el resultado en media aritmética y desviación estándar para las variables de carácter continuo y frecuencias absolutas y relativas para las categóricas.

Todas las variables se ajustaron a una distribución normal (test Kolmogorov-Smirnoff). Las comparaciones de variables de carácter continuo se realizaron mediante la prueba de la t de Student. Para el estudio de asociación entre variables de carácter categórico se calculó la significación de diferencia mediante la prueba de la Chi-Cuadrado. Las pruebas de hipótesis se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

Se realizó un análisis de subgrupos y un análisis de regresión logística con el fin de comprobar si existían variables predictoras asociadas al resultado de la variable principal tasa de gestación clínica.

Se empleó el programa IBM SPSS Statics versión 17 para Windows. Los valores se midieron como media e intervalos de confianza del 95%. Se consideró significativa una $p < 0,05$. Los datos se analizaron por intención de tratar y también por protocolo.

5.9. DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES DE RESULTADOS

La variable principal del estudio era la tasa de gestación clínica por ciclo iniciado, que se define como el número de embarazos diagnosticados ecográficamente/número de ciclos FIV/ICSI iniciados.

Se analizaron también variables secundarias, que se definen en las Tablas 5.11-a, 5.11-b, 5.11-c y 5.11-d.

5.9.1. VARIABLES EN RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS BASALES DE LAS PACIENTES

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Edad paciente	Edad de la paciente en años en el momento de comenzar el ciclo de estimulación ovárica
Edad varón	Edad de la pareja en años en el momento de comenzar el ciclo de estimulación ovárica
Años de esterilidad	Número de años durante los cuales la pareja ha intentado conseguir una gestación
Índice de Masa Corporal (IMC)	Peso (Kg)/ talla (m) ²
FSH basal	Determinación de FSH entre 2° y 5° día de ciclo expresado en UI/L

Tabla 5.11-a. Definición de variables en relación con las características basales de las pacientes.

5.9.2. VARIABLES EN RELACIÓN CON LA ENDOMETRIOSIS

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
N° cirugías	N° de cirugías a las que se ha sometido la paciente por su endometriosis
Tiempo transcurrido desde la última cirugía	Meses transcurridos desde la última cirugía por endometriosis hasta la inclusión de la paciente en el estudio
Grado de endometriosis (clasificación ASMR)	Grado de endometriosis que padece cada paciente según la clasificación de la American Society for Reproductive Medicine (ASMR)
Grado de endometriosis (clasificación ecográfica)	Grado de endometriosis que padece cada paciente según la reevaluación ecográfica en el momento de inclusión en el estudio

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Presencia de endometrioma	Presencia de al menos un endometrioma en uno o ambos ovarios comprobado ecográficamente
N° endometriomas	N° total de endometriomas por paciente
Tamaño del endometrioma mayor	Tamaño en mm del endometrioma de mayor tamaño en cada paciente
Endometriomas bilaterales	Presencia de al menos un endometrioma en cada ovario comprobado ecográficamente

Tabla 5.11-b. Definición de variables en relación con la endometriosis.

5.9.3. VARIABLES EN RELACIÓN CON EL CICLO FIV/ICSI

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Seminograma	Características del semen según criterios de la OMS
Semen normal	N° total de espermatozoides y % de espermatozoides con motilidad progresiva y morfológicamente normales, igual o por encima de los valores límite de referencia
Factor masculino moderado	Oligozoospermia moderada, astenozoospermia moderada y oligoastenozoospermia moderada
Factor masculino severo	Oligozoospermia severa, astenozoospermia severa, oligoastenozoospermia severa y azoospermia
Días estimulación	Días transcurridos desde el inicio de administración de gonadotropinas hasta el día de hCG
Dosis total de gonadotropinas	Dosis total de hMG-HP ± FSH en UI administradas durante el ciclo
Folículos totales	N° total de folículos el día de hCG.
Folículos >16 mm	N° folículos mayores de 16 mm el día de hCG.
Diámetro folículo mayor	Tamaño en mm del folículo mayor el día de hCG
Estradiol el día de hCG	Determinación de los niveles de estradiol sérico en pg/ml el día de hCG

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Grosor endometrial	Grosor que presenta el endometrio en mm el día de hCG
Tasa cancelación ciclo	Nº ciclos cancelados/ Nº ciclos iniciados
Cancelación ciclo por falta de respuesta ovárica	Nº ciclos cancelados por falta de desarrollo folicular tras varios días de estímulo
Cancelación ciclo por incumplimiento de tratamiento	Nº ciclos cancelados por errores en la administración del tratamiento o interrupción del mismo por parte de la paciente
Cancelación ciclo por riesgo de hiperestimulación ovárica	Nº ciclos cancelados por crecimiento de más de 20 folículos preovulatorios y/o niveles de estradiol >3500 pg/ml
Nº ovocitos totales	Nº total de ovocitos obtenidos por paciente tras la punción folicular
Nº ovocitos metafase II (MII)	Nº de ovocitos MII obtenidos por paciente tras la punción folicular
Nº ovocitos inmaduros	Nº de ovocitos metafase I (M I) y profase I (P I) por paciente tras la punción folicular
Tasa de fecundación FIV	Nº de ovocitos fecundados mediante técnica de FIV/ Total de ovocitos sometidos a FIV
Tasa de fecundación ICSI	Nº de ovocitos fecundados mediante técnica de ICSI/ Total de ovocitos sometidos a ICSI
Calidad de los embriones transferidos	Nº de embriones transferidos clasificados según los criterios de calidad embrionaria de ASEBIR (A, B, C, D)
Ciclos transferidos	Nº de ciclos en los que se realizó la transferencia de al menos un embrión

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Ciclos no transferidos	Nº de ciclos en los que se realiza punción folicular pero no se realiza transferencia
Nº embriones obtenidos	Nº total de embriones resultantes tras la técnica de FIV/ICSI
Nº embriones transferidos	Nº embriones transferidos por paciente
Nº embriones congelados	Nº embriones no transferidos que se vitrifican
Transferencia en día +2	Transferencia embrionaria 48h después de la punción folicular
Transferencia en día +3	Transferencia embrionaria 72h después de la punción folicular
Tasa de implantación	Nº de sacos gestacionales/ Nº de embriones transferidos
Gestación bioquímica	Determinación de β -hCG positiva sin desarrollo posterior de gestación clínica
Gestación clínica	Gestación con presencia de al menos un saco gestacional con embrión y latido fetal positivo observado por ecografía.
Tasa de gestación múltiple	Nº de gestaciones con dos sacos gestacionales/ Nº total de gestaciones
Tasa de aborto	Nº de gestaciones detenidas/ Nº gestaciones clínicas
Tasa de parto	Nº pacientes con al menos 1RNV/ Nº pacientes totales
Tipo parto	Finalización de la gestación mediante parto vaginal o mediante cesárea
Tasa de Recién nacido vivo (RNV)	Nº de RN vivos/ Nº total de ciclos iniciados
Tasa de Recién nacido (RN) sano	Nº de RN sanos tras 37 semanas de gestación, de más de 2500g de peso y sin malformaciones congénitas / Nº de ciclos iniciados
Tasa de RN prematuro	Nº de recién nacidos vivos antes de la semana 37 de gestación / Nº de ciclos iniciados

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Malformación en RNV	Malformación congénita detectada en el RN
Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO)	Nº casos diagnosticados de hiperestimulación leve, moderada y grave

Tabla 5.11-c. Definición de variables en relación con el ciclo de FIV/ICSI.

5.9.4. OTRAS VARIABLES

VARIABLE	DESCRIPCIÓN
Acontecimiento adverso (AA)	Cualquier aparición médica desfavorable en un paciente o paciente de ensayo clínico al que se administra una medicación y que no tiene necesariamente una relación causal con este tratamiento.
Acontecimiento adverso grave (AAG)	Cualquier acontecimiento adverso o reacción adversa que, a cualquier dosis, provoque la muerte, amenace la vida del sujeto, requiera la hospitalización del paciente o prolongue una hospitalización existente, provoque invalidez o incapacidad permanente importante, o dé lugar a una anomalía o malformación congénita.

Tabla 5.11-d. Definición de otras variables.

06



RESULTADOS

6. RESULTADOS

Fueron incluidas en el análisis estadístico 183 pacientes, 91 pertenecían al grupo de estudio y 92 al grupo control. En la figura 6.1 puede observarse un diagrama de flujo que resume los resultados de los ciclos FIV/ICSI.

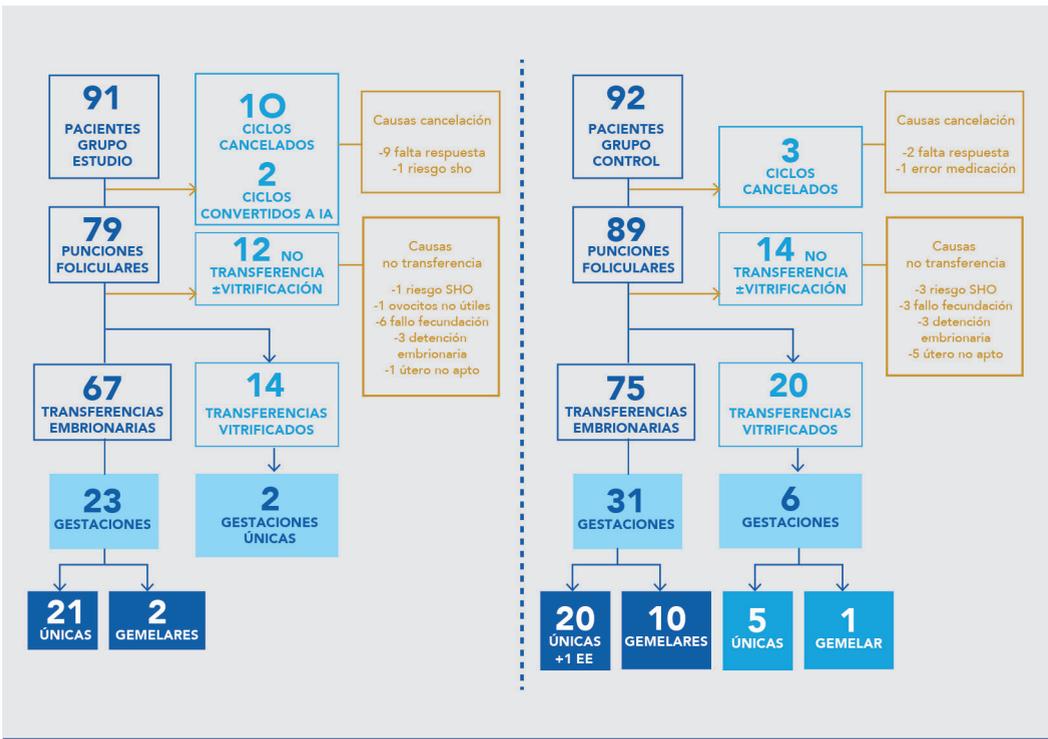


Figura 6.1. Esquema resumen de resultados del ciclo FIV/ICSI en ambos grupos. SHO: síndrome de hiperestimulación ovárica, EE: embarazo ectópico.

En las figuras 6.2 y 6.3 se detallan los resultados de gestaciones de cada grupo.

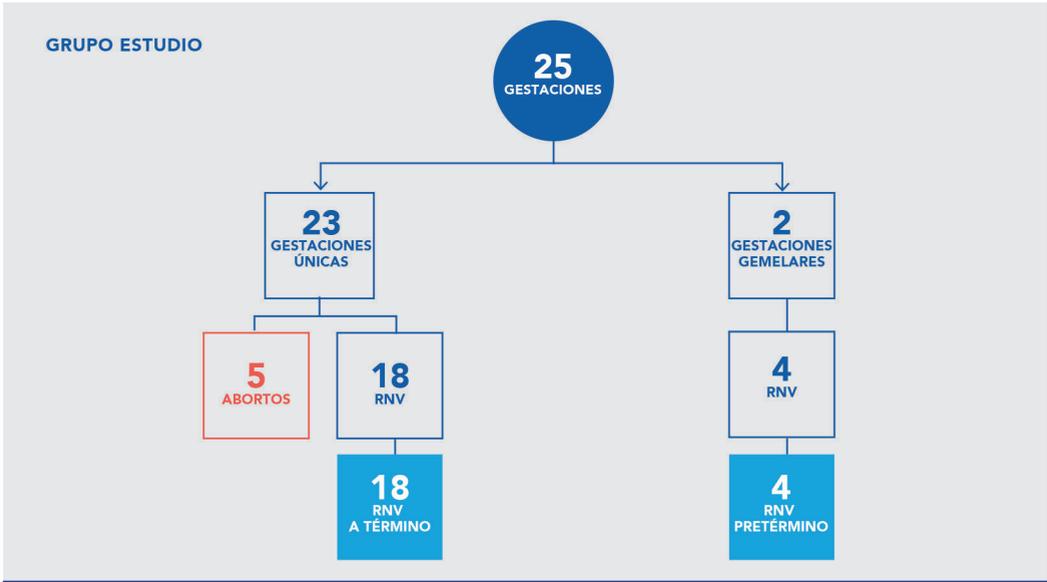


Figura 6.2. Esquema resumen de los resultados de gestaciones en el grupo de estudio.

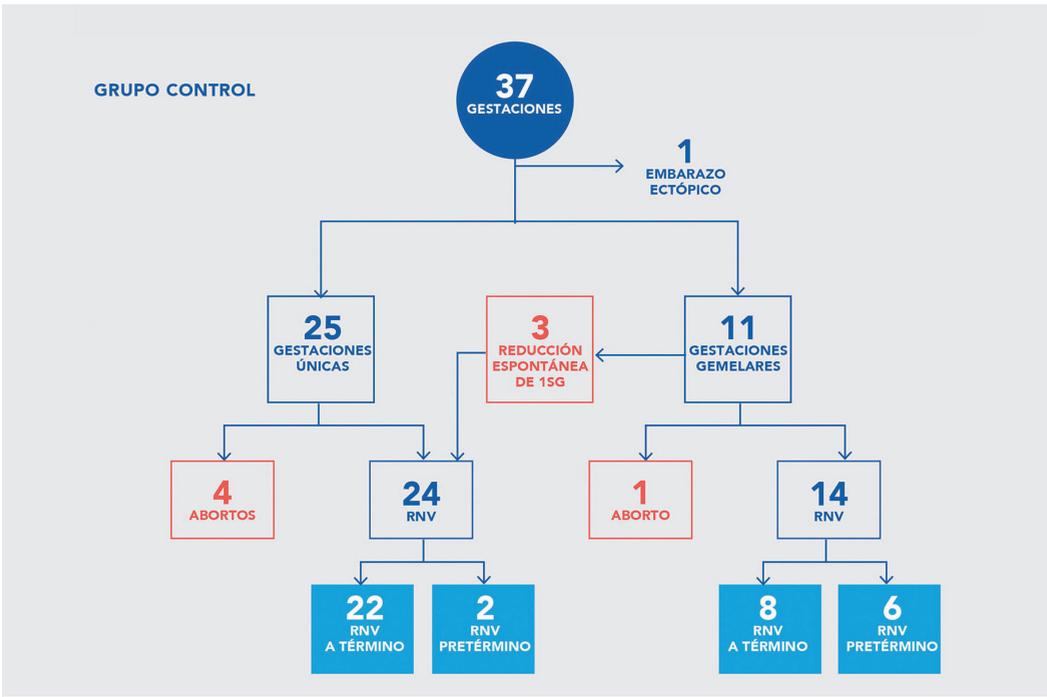


Figura 6.3. Esquema resumen de los resultados de gestaciones en el grupo control.

6.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LAS PACIENTES

La edad media de las pacientes en el grupo de tratamiento (grupo 1) fue de $33,86 \pm 3,08$ años (rango 26-39 años), mientras que la edad media de las pacientes del grupo placebo (grupo 2) fue de $33,72 \pm 3,25$ años (rango 22-39 años). En cuanto a la edad media de sus parejas, esta fue de $35,99 \pm 4,41$ años en el grupo de estudio y de $35,69 \pm 4,15$ años en el grupo control. En ningún caso estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

El IMC de las pacientes fue de $21,85 \pm 2,86$ kg/m² en el grupo de estudio y $22,42 \pm 2,78$ kg/m² en los controles, sin existir diferencias significativas.

Los valores de FSH basal en ambos grupos fueron similares, sin encontrar una diferencia estadísticamente significativa.

Por último, la media de años de esterilidad en el momento en que se incluyó a las pacientes en el estudio fue de $2,91 \pm 1,40$ en el grupo de estudio y $2,93 \pm 1,55$ en los controles.

En resumen, las características basales en las pacientes de ambos grupos fueron comparables (Tabla 6.1).

CARACTERÍSTICAS BASALES	GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
Edad mujer (años)	33,86 (3,08)	33,72 (3,25)	0,765
Edad varón (años)	35,99 (4,41)	35,69 (4,15)	0,636
IMC (kg/m²)	21,85 (2,86)	22,42 (2,78)	0,167
FSH basal (UI/l)	7,01 (1,91)	7,17 (1,81)	0,580
Duración de esterilidad (años)	2,91 (1,40)	2,93 (1,55)	0,914

Tabla 6.1. Características basales de las pacientes. Test T-student.

6.2. VARIABLES EN RELACIÓN CON LA ENDOMETRIOSIS

Se estudió la distribución por grupos de distintas variables relacionadas con la endometriosis (Tabla 6.2-a y 6.2-b).

VARIABLES RELACIONADAS CON LA ENDOMETRIOSIS		GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Endometriosis intervenida		65 (71,4%)	68 (73,9%)	0,706
Nº cirugías por paciente	1	52 (80,0%)	62 (91,2%)	0,235
	2 o más	13 (20,0%)	6 (8,8%)	
Presencia endometrioma		77 (84,6%)	74 (80,4%)	0,457
Nº endometriomas	1	51 (66,2%)	47 (63,5%)	0,726
	2 o más	26 (33,8%)	27 (36,5%)	
Endometriomas bilaterales		13 (16,9%)	17 (23,0%)	0,348

Tabla 6.2-a. Variables relacionadas con la endometriosis. Test Chi-Cuadrado.

VARIABLES RELACIONADAS CON LA ENDOMETRIOSIS		GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
Tiempo transcurrido desde la última cirugía (meses)		33,46 (35,47)	40,31 (42,90)	0,319
Tamaño medio del endometrioma más grande (mm)		24,76 (9,17)	25,84 (9,41)	0,480

Tabla 6.2-b. Variables relacionadas con la endometriosis. Test T-student.

Una proporción similar de pacientes había sido intervenida a causa de su endometriosis en ambos grupos (71,4% en el grupo 1 y 73,9% en el grupo 2, $p=0,706$).

Las pacientes no intervenidas, 26 en el grupo de estudio (28,6%) y 24 en el grupo control (26,1%), fueron diagnosticadas de endometriosis ecográficamente y por la clínica de dismenorrea y dolor pélvico.

De las pacientes intervenidas, se había sometido a más de una intervención quirúrgica por endometriosis el 20% de las pacientes del grupo de estudio y el 8,8% del grupo control, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,235$).

En cuanto al tiempo transcurrido desde la última cirugía hasta la inclusión en el estudio, la media fue de $33,46 \pm 35,47$ meses (rango 3-156 meses) en el grupo de tratamiento y de $40,31 \pm 42,90$ meses (rango 4-228 meses) en el grupo placebo, sin ser esta diferencia significativa ($p=0,319$).

Se valoró si las pacientes presentaban algún endometrioma en el momento de inclusión en el estudio, en el grupo 1 el 84,6% tenía al menos un endometrioma y en el grupo 2 el 80,4%, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,457$).

El 33,8% de pacientes con endometriomas en el grupo de estudio y el 36,5% en el grupo placebo presentaban más de un endometrioma.

Los endometriomas eran bilaterales en 13 pacientes del grupo de estudio (16,9%) y 17 pacientes del grupo control (23,0%), sin existir tampoco diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,348$).

El tamaño medio del endometrioma más grande fue similar en ambos grupos ($24,76 \pm 9,17$ mm en el grupo de estudio y $25,84 \pm 9,41$ mm en el grupo control, $p=0,480$).

Las pacientes intervenidas ($n=133$) fueron divididas según la clasificación de la ASMR en 4 grados de endometriosis. La distribución de las pacientes por grado de endometriosis en ambos grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,448$) (Tabla 6.3).

Al reagrupar a las pacientes en dos categorías (grado I-II y grado III-IV) tampoco se observaron diferencias significativas en la distribución de pacientes en ambos grupos ($p=0,436$) (Tabla 6.4).

Además, el total de pacientes incluidas en el estudio se dividió en 4 grados de endometriosis según la evaluación ecográfica de la enfermedad previo a la realización de la FIV. La distribución de las pacientes según el grado de endometriosis en ambos grupos tampoco mostró una diferencia significativa ($p=0,134$) (Tabla 6.5).

GRADO ENDOMETRIOSIS (CLASIFICACIÓN ASMR)	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Grado I (mínima)	1 (1,5%)	0 (0,0%)	0,448
Grado II (leve)	14 (21,5%)	12 (17,6%)	
Grado III (moderada)	25 (38,5%)	34 (50,0%)	
Grado IV (severa)	25 (38,5%)	22 (32,4%)	
Total	65 (100%)	68 (100%)	

Tabla 6.3. Distribución de las pacientes intervenidas en función del grado de endometriosis de la clasificación de la ASMR. Test Chi-Cuadrado.

GRADO ENDOMETRIOSIS (CLASIFICACIÓN ASMR)	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Grado I-II (mínima-leve)	15 (23,1%)	12 (17,6%)	0,436
Grado III-IV (moderada-severa)	50 (76,9%)	56 (82,4%)	
Total	65 (100%)	68 (100%)	

Tabla 6.4. Distribución de las pacientes intervenidas en función del grado de endometriosis de la clasificación de la ASMR reagrupado. Test Chi-Cuadrado.

GRADO ENDOMETRIOSIS (CLASIFICACIÓN ECOGRÁFICA)	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Grado I (mínima)	28 (30,8%)	33 (35,9%)	0,134
Grado II (leve)	42 (46,1%)	28 (30,4 %)	
Grado III (moderada)	19 (20,9%)	26 (28,3%)	
Grado IV (severa)	2 (2,2%)	5 (5,4%)	
Total	91 (100%)	92 (100%)	

Tabla 6.5. Distribución de las pacientes en función del grado de endometriosis según la evaluación ecográfica de la enfermedad. Test Chi-Cuadrado.

Del mismo modo, al reagrupar a las pacientes en dos estadios (grado I-II y grado III-IV) tampoco se observaron diferencias significativas en la distribución de pacientes en ambos grupos ($p=0,111$) (Tabla 6.6).

GRADO ENDOMETRIOSIS (CLASIFICACIÓN ECOGRÁFICA)	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Grado I-II (mínima-leve)	70 (76,9%)	61 (66,3%)	0,111
Grado III-IV (moderada-severa)	21 (23,1%)	31 (33,7%)	
Total	91 (100%)	92 (100%)	

Tabla 6.6. Distribución de las pacientes en función del grado de endometriosis reagrupado según la evaluación ecográfica de la enfermedad. Test Chi-Cuadrado.

Teniendo en cuenta las variables descritas en relación con la endometriosis, ambos grupos fueron comparables.

6.3. VARIABLES DEL CICLO DE FIV/ICSI

6.3.1. VARIABLES RELACIONADAS CON LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA

Se estudiaron distintas variables que se resumen en las tablas 6.7 y 6.8.

El ciclo de FIV/ICSI del estudio era el primer ciclo para el 69,2% de las pacientes del grupo control y el 72,5 % de las pacientes del grupo de estudio, sin encontrarse diferencias significativas ($p=0,891$) (Tabla 6.7).

CICLO DE LA PACIENTE	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
1° ciclo	66 (72,5%)	64 (69,6%)	0,891
2° ciclo	14 (15,4%)	15 (16,3%)	
3° ciclo	7 (7,7%)	6 (6,5%)	
> 3° ciclo	4 (4,4%)	7 (7,6%)	

Tabla 6.7. Número de ciclo FIV/ICSI por paciente. Test Chi-Cuadrado.

Otra de las variables estudiada fue el número de días de estimulación ovárica (días transcurridos desde que las pacientes comenzaban a administrarse las gonadotropinas hasta el día de hCG), siendo la media de $10,40 \pm 2,62$ días en el grupo de estudio y de $9,04 \pm 1,73$ días en el grupo control, obteniéndose una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$, IC 95% -2,009; -0,704).

También se analizó la dosis total de gonadotrofinas, variable que se define como la dosis total de gonadotropina menopáusica humana altamente purificada (hMG-HP) o hMG-HP + FSH recombinante consumida durante la EOC. El 95% de las pacientes recibieron únicamente hMG-HP, mientras que el 5% recibieron hMG-HP + FSH recombinante. La dosis total media de gonadotrofinas que recibieron las pacientes del grupo placebo fue de $2339,71 \pm 673,42$ UI, mientras que la dosis media recibida por las pacientes del grupo de tratamiento fue significativamente superior: $3027,94 \pm 974,15$ UI ($p < 0,001$, IC 95% -942,52; -433,95).

Los niveles de estradiol el día de administración de hCG fueron significativamente mayores en el grupo control comparados con el grupo de estudio ($2200,90$ pg/ml $\pm 806,88$ vs $1732,17$ pg/ml $\pm 889,59$ respectivamente, $p = 0,001$, IC 95% 204,62; 732,82).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en otras variables relacionadas con el ciclo de tratamiento como el grosor endometrial o el diámetro del folículo mayor. El número de folículos totales y de folículos de diámetro mayor de 16 mm fue similar en ambos grupos (Tabla 6.8).

VARIABLE	GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
Días estimulación	10,40 (2,62)	9,04 (1,73)	<0,001
Dosis total gonadotropinas (UI)	3027,94 (974,15)	2339,71 (673,42)	<0,001
Estradiol día hCG (pg/ml)	1732,17 (889,59)	2200,90 (806,88)	0,001
Grosor endometrial (mm)	10,99 (1,98)	11,04 (2,35)	0,887
Diámetro folículo mayor (mm)	21,30 (2,30)	21,45 (2,14)	0,676
n° folículos totales	13,19 (7,23)	13,41 (6,87)	0,852
n° folículos >16 mm	5,01 (2,32)	5,46 (2,79)	0,277

Tabla 6.8. Variables relacionadas con la estimulación ovárica. Test T-student.

En cuanto a los ciclos cancelados, en el grupo control se cancelaron 3 ciclos de EOC (tasa de cancelación del 3,3%) mientras que en el grupo de estudio fueron 10 los ciclos cancelados (tasa de cancelación del 11,0%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,042$, OR 3,66, IC 95% 0,974; 13,777). En la siguiente tabla se muestran las causas de cancelación de ciclo (Tabla 6.9).

CAUSAS DE CANCELACIÓN DE CICLO	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Incumplimiento de tratamiento	0 (0,0%)	1 (1,1%)	0,042
Falta de respuesta ovárica	9 (9,9%)	2 (2,2%)	
Riesgo de hiperestimulación ovárica	1 (1,1%)	0 (0,0%)	
Total de ciclos cancelados	10 (11,0%)	3 (3,3%)	

Tabla 6.9. Tasas de cancelación de ciclo y causas. Test Chi-Cuadrado.

Existió riesgo de hiperestimulación ovárica en 5 pacientes (2 del grupo de tratamiento y 3 del grupo control). En una de las del grupo de estudio se canceló el ciclo de EOC, mientras que en el resto sí se llegó a punción folicular pero no se realizó transferencia y los embriones fueron vitrificados.

Una paciente del grupo control que quedó gestante fue diagnosticada de síndrome de hiperestimulación ovárica tardía, requiriendo ingreso para medidas de soporte con resolución posterior.

6.3.2. VARIABLES RELACIONADAS CON LA PUNCIÓN FOLICULAR Y FECUNDACIÓN

El número de ovocitos totales obtenidos fue similar en ambos grupos. Se observó una tendencia a obtener un mayor número de ovocitos MII en el grupo control ($5,35 \pm 3,08$) que en el grupo de estudio ($4,47 \pm 3,03$), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,064$, IC 95% -0,053; 1,813). El número de ovocitos inmaduros fue significativamente superior en el grupo de estudio ($1,63 \pm 0,25$ vs $0,76 \pm 0,14$, $p=0,003$, IC 95% -1,439; -0,299) (Tabla 6.10).

VARIABLE	GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
n° ovocitos totales	7,30 (4,45)	7,66 (4,26)	0,594
n° ovocitos MII	4,47 (3,03)	5,35 (3,08)	0,064
n° ovocitos inmaduros (MI + P I)	1,63 (0,25)	0,76 (0,14)	0,003

Tabla 6.10. Variables relacionadas con la punción folicular. Test T-student.

Por otro lado, se analizaron distintas variables del seminograma. El diagnóstico seminal fue reagrupado en tres categorías:

- Semen normal
- Factor masculino moderado: incluía oligozoospermia moderada, astenozoospermia moderada y oligoastenozoospermia moderada
- Factor masculino severo: incluía oligozoospermia severa, astenozoospermia severa, oligoastenozoospermia severa y azoospermia

La distribución de las distintas categorías en ambos grupos fue similar, correspondiendo el mayor porcentaje a semen normal (49,5% en grupo 1 y 55,4% en grupo 2) (Tabla 6.11).

DIAGNÓSTICO SEMINAL	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Normal	45 (49,5%)	51 (55,4%)	0,719
Factor masculino moderado	26 (28,9%)	23 (25,6%)	
Factor masculino severo	20 (22,0%)	18 (19,6%)	

Tabla 6.11. Diagnóstico seminal reagrupado en tres categorías. Test Chi-Cuadrado.

La concentración de espermatozoides en fresco fue significativamente mayor en el grupo control ($56,60 \pm 37,52$ millones/ml vs $42,95 \pm 28,89$ millones/ml, $p=0,009$).

No se observaron otras diferencias significativas en el resto de parámetros del seminograma examinados (Tabla 6.12).

SEMINOGRAMA	GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
Concentración fresco (millones/ml)	42,95 (28,89)	56,60 (37,52)	0,009
Concentración capacitado (millones/ml)	35,94 (32,09)	37,94 (28,29)	0,66
Motilidad fresco (%)	34,59 (14,98)	37,17 (16,94)	0,30
Motilidad capacitado (%)	80,32 (16,91)	83,54 (11,36)	0,15
REM (millones/ml)	29,49 (26,83)	32,30 (24,22)	0,47

Tabla 6.12. Variables del seminograma. Test T-student.

Se realizó ICSI en 68 de las pacientes del grupo de estudio, FIV en 11 pacientes y en 2 pacientes se canceló la punción folicular y se realizó una IA por presentar un desarrollo monofolicular (no se obtuvo gestación en los dos ciclos de IA). En el grupo control, se realizaron 80 ciclos de ICSI y 9 de FIV.

La tasa de fecundación en ICSI fue de 78,15% en el grupo placebo y 71,84% en el grupo de tratamiento, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,088$).

La tasa de fecundación en FIV fue de $61,75\% \pm 33,45$ en el grupo control y de $62,50 \pm 17,67\%$ en el grupo de estudio, sin diferencias significativas ($p=0,979$).

6.3.3. VARIABLES RELACIONADAS CON LA CALIDAD EMBRIONARIA Y TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

En cuanto al número de embriones resultantes, la media fue significativamente mayor en el grupo control ($4,11 \pm 2,51$ vs $3,21 \pm 2,55$, $p=0,023$, IC 95% 0,12; 1,67). La media de embriones transferidos y criopreservados en ambos grupos no mostró diferencias significativas (Tabla 6.13).

VARIABLE	GRUPO DE ESTUDIO MEDIA (DE)	GRUPO CONTROL MEDIA (DE)	P VALOR
n° embriones obtenidos	3,21 (2,55)	4,11 (2,51)	0,023
n° embriones transferidos	1,81 (0,43)	1,82 (0,52)	0,835
n° embriones congelados	0,76 (1,67)	1,09 (1,69)	0,279

Tabla 6.13. Embriones obtenidos, transferidos y congelados por grupo. Test T-student.

En cuanto a la calidad embrionaria, se utilizaron los criterios de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) para clasificar los embriones obtenidos en el estudio en cuatro grados: A, B, C y D.

En ambos grupos el porcentaje mayor se correspondió con embriones de grado B (47,9% en el grupo 1 y 43,7% en el grupo 2). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la calidad embrionaria en ambos grupos. (Tabla 6.14-a).

CLASIFICACIÓN ASEBIR	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
A	21(17,4%)	38 (26,4%)	0,273
B	58 (47,9%)	63 (43,7%)	
C	35 (28,9%)	38 (26,4%)	
D	7 (5,8%)	5 (3,5%)	
Total	121 (100%)	144 (100%)	

Tabla 6.14-a. Gradación embrionaria según clasificación ASEBIR en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

Al reagrupar los embriones en sólo dos categorías (A+B y C+D), se observó que el mayor porcentaje de embriones era de buena calidad en los dos grupos (65,3% en el grupo de tratamiento y 70,1% en el grupo placebo). Tampoco se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 6.14-b).

CLASIFICACIÓN ASEBIR	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
A + B	79 (65,3%)	101 (70,1%)	0,404
C + D	42 (34,7%)	43 (29,9%)	
Total	121 (100%)	144 (100%)	

Tabla 6.14-b. Gradación embrionaria reagrupada según clasificación ASEBIR en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

Los embriones vitrificados que se transfirieron en un ciclo posterior no estimulado, también fueron clasificados según los criterios ASEBIR. La mayoría eran embriones de buena calidad y tampoco se encontraron diferencias entre ambos grupos (Tabla 6.14-c).

CLASIFICACIÓN ASEBIR	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
A	4 (12,5%)	2 (8%)	0,316
B	18 (56,3%)	12 (48%)	
C	8 (25,0%)	11 (44%)	
D	2 (6,3%)	0 (0%)	
Total	32 (100%)	25 (100%)	

Tabla 6.14-c. Gradación embrionaria según clasificación ASEBIR de embriones vitrificados en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

Se realizaron 142 transferencias de embriones en fresco, 67 (73,6%) en las pacientes del grupo de estudio y 75 (81,5%) en las pacientes del grupo control, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,135$).

Además, fueron realizadas 34 transferencias de embriones vitrificados, 14 (15,4%) en el grupo de estudio y 20 (21,7%) en el grupo control, diferencia no significativa (Tabla 6.15).

En el grupo de estudio, la transferencia embrionaria se realizó en el 70,6% de las pacientes en día +2 y en el 29,4% en día +3, mientras que en el grupo control la transferencia se realizó en día +2 en el 60% de las pacientes y en día +3 en el 40%, sin diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,264$).

TRANSFERENCIA EMBRIONARIA	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
Embriones frescos	67(73,6%)	75 (81,5%)	0,135
Embriones vitrificados	14 (15,4%)	20 (21,7%)	0,234

Tabla 6.15. Pacientes a las que se les realiza transferencia de embriones frescos y/o vitrificados. Test Chi-Cuadrado.

6.3.4. VARIABLES RELACIONADAS CON LOS RESULTADOS DEL CICLO DE TRATAMIENTO

Aunque las tasas de gestación fueron mayores en el grupo control, no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6.16, Figura 6.4 y 6.5). La tasa de gestación por ciclo iniciado fue del 25,3% en el grupo de tratamiento y del 33,7% en el grupo placebo, mientras que la tasa de gestación por ciclo transferido fue del 34,3% y 41,3% respectivamente.

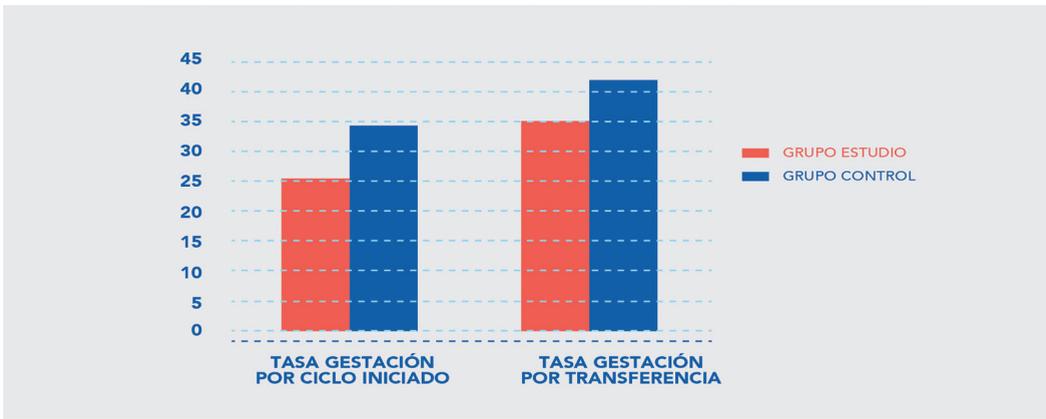


Figura 6.4. Gráfico que muestra las tasas de gestación en ambos grupos con embriones frescos.

Al tener en cuenta tanto ciclos en fresco como de embriones vitrificados, la tasa de gestación por paciente fue del 27,5% en el grupo de estudio y del 40,2% en el grupo placebo. La tasa de gestación por transferencia teniendo en cuenta tanto embriones frescos como congelados fue del 30,9% en el grupo de estudio y del 39,0% en el grupo control.

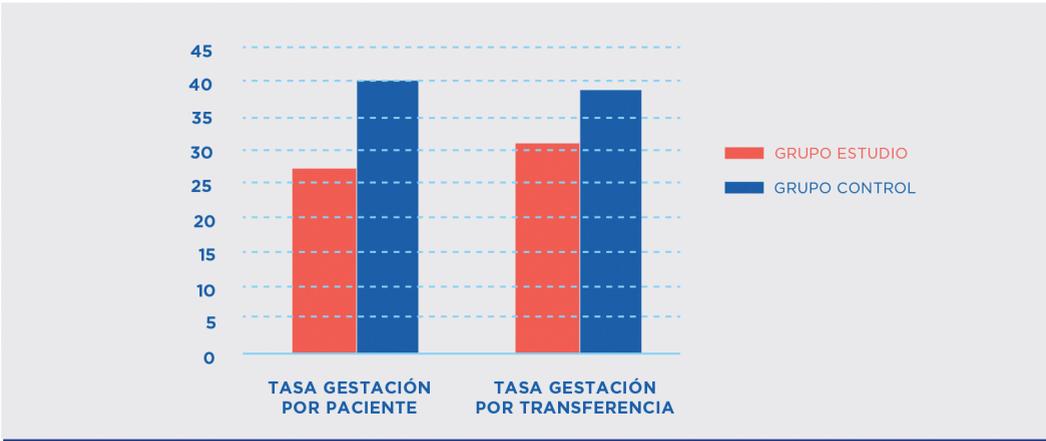


Figura 6.5. Gráfico que muestra las tasas de gestación en ambos grupos con embriones frescos + embriones congelados.

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la tasa de aborto, que fue del 13,5% en el grupo control y de 20,0% en el grupo de estudio ($p=0,496$).

Se diagnosticaron 6 embarazos bioquímicos (4 en el grupo de tratamiento y 2 en el grupo placebo). Estos embarazos no han sido incluidos en el recuento de gestación clínica.

En el grupo control una paciente fue diagnosticada de embarazo ectópico y recibió tratamiento quirúrgico.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a la tasa de implantación con embriones en fresco, que fue de un 28,5% en el grupo control y de 20,7% en el grupo de estudio. La tasas de implantación de embriones criopreservados fue de 35,0% en el grupo placebo mientras que la del grupo de tratamiento fue del 10,0%, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,531$).

En el grupo control se diagnosticó un porcentaje significativamente mayor de gestaciones gemelares que en el grupo de estudio tras transferencia de embriones en fresco (32,1% vs 8,7%, $p=0,039$, OR 3,71 IC 95% 0,897; 15,334).

VARIABLES	GRUPO DE ESTUDIO N/TOTAL (%)	GRUPO CONTROL N/TOTAL (%)	P VALOR
N° gestaciones y tasa de gestación por ciclo iniciado (embriones en fresco)	23/91 (25,3%)	31/92 (33,7%)	0,212
N° gestaciones y tasa de gestación por transferencia (embriones en fresco)	23/67 (34,3%)	31/75 (41,3%)	0,321
N° gestaciones y tasa de gestación por paciente (embriones en fresco + vitrificados)	25/91 (27,5%)	37/92 (40,2%)	0,144
N° gestaciones y tasa de gestación por transferencias totales (embriones en fresco + vitrificado)	25/81 (30,9%)	37/95 (39,0%)	0,253
Abortos y tasa de aborto	5/25 (20,0%)	5/37 (13,5%)	0,496

Tabla 6.16. Tasas de gestación clínica por ciclo iniciado, por ciclo transferido y tasa de aborto. Test Chi-Cuadrado.

VARIABLES	GRUPO DE ESTUDIO SG/EMBRIONES TRANSFERIDOS (%)	GRUPO CONTROL SG/EMBRIONES TRANSFERIDOS (%)	P VALOR
Tasa de implantación en fresco (SG/embriones transferidos en fresco)	25/121 (20,7%)	41/144 (28,5%)	0,262
Tasa de implantación con congelados (SG/embriones criopreservados transferidos)	2/20 (10,0%)	7/20 (35,0%)	0,531

Tabla 6.17. Tasas de implantación con embriones en fresco y congelados. Test Chi-Cuadrado.

N° SACOS GESTACIONALES	GRUPO DE ESTUDIO N/TOTAL (%)	GRUPO CONTROL N/TOTAL (%)	P VALOR
1	21/23 (91,3%)	21/31 (67,9%)	0,039
2	2/23 (8,7%)	10/31 (32,1%)	

Tabla 6.18. Distribución de gestaciones única y gemelar en embarazos de transferencia de embriones frescos en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

Del total de embarazos evolutivos tras transferencia tanto de embriones frescos como congelados, en el grupo de estudio el 90% resultaron en un RNV único y el 10% en dos RNV, mientras que en el grupo placebo el 77,4% finalizó con resultado de un RNV único y el 22,6% con resultado de dos RNV, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas en dicha distribución de RNV ($p=0,282$) (Tabla 6.19).

RNV	GRUPO DE ESTUDIO N (%)	GRUPO CONTROL N (%)	P VALOR
1	18 (90,0%)	24 (77,4%)	0,282
2	2 (10,0%)	7 (22,6%)	
Total embarazos evolutivos	20 (100%)	31 (100%)	

Tabla 6.19. Distribución de RNV procedentes de gestaciones únicas y gemelares en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

La tasa de gestación múltiple incluyendo todas las transferencias fue del 21,0%, siendo la del grupo de estudio del 8,0% y la del grupo placebo del 29,7%. En el grupo control hubo tres gestaciones de inicio gemelares en las que se produjo una reducción espontánea de uno de los sacos gestacionales continuando como gestación única. En todos los casos los embarazos múltiples fueron gemelares.

En la tabla 6.20 se puede observar un resumen de las tasas de RNV.

La tasa de parto (que tiene en cuenta pacientes con al menos 1 RNV) fue del 22,0% en el grupo de estudio y 33,7% en el grupo control, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,241$).

La tasa de RNV único fue del 19,8% en el grupo de tratamiento y del 26,1% en el grupo placebo, mientras que la tasa de RNV gemelar fue de 2,2% en el grupo de estudio y de 7,6% en el grupo control, no encontrándose tampoco en este caso diferencias significativas ($p=0,112$).

En cuanto a la tasa de RNV sano (se excluyeron RN pretérmino y malformados), fue de 18,7% en el grupo de estudio y de 31,5% en el grupo control.

Se diagnosticaron 4 RN pretérmino en el grupo de tratamiento y 8 en el grupo placebo, así como 2 RN con malformaciones (1 RN con paladar hendido en una paciente del grupo de tratamiento y 1 RN con transposición de grandes vasos en una paciente del grupo control).

VARIABLES	GRUPO DE ESTUDIO N/TOTAL (%)	GRUPO CONTROL N/TOTAL (%)	P VALOR
Tasa de parto (n° pacientes con al menos 1RNV/ n°pacientes totales)	20/91 (22,0%)	31/92 (33,7%)	0,241
Tasa de RNV único (n° RNV únicos/n° pacientes totales)	18/91 (19,8%)	24/92 (26,1%)	0,112
Tasa de RNV gemelar (n° embarazos gemelares/n° pacientes totales)	2/91 (2,2%)	7/92 (7,6%)	

Tabla 6.20. Tasas de RNV en ambos grupos. Test Chi-Cuadrado.

De los 20 nacimientos que se produjeron en el grupo de estudio, en 11 pacientes la vía de parto fue vaginal (55%) y se realizaron 9 cesáreas (45%), 2 de ellas en embarazo gemelar. En el grupo control hubo 31 nacimientos, 14 de ellos mediante parto vaginal (45,2%), siendo uno de ellos un parto gemelar y 17 mediante cesárea (54,8%), 6 de estas cesáreas se realizaron en embarazo gemelar.

El 59,1% de los RN fueron mujeres en el grupo de tratamiento y el 40,9% varones, mientras que en el grupo placebo los RN varones representaron el 60,5% y las mujeres el 39,5%.

El peso medio al nacimiento en el grupo de estudio fue de 2977g (rango 1800-3800g) y en el grupo control 2927g (rango 1350-4300g).

6.4. ANÁLISIS DE SUBGRUPOS Y REGRESIÓN LOGÍSTICA

Por último, se realizó un análisis estadístico de subgrupos teniendo en cuenta si las pacientes habían sido intervenidas o no y el grado de endometriosis, sin encontrar diferencias significativas para la variable principal en ninguno de ellos. También se llevó a cabo un análisis de regresión logística que incluyó aquellas variables relacionadas con la endometriosis que podían tener influencia sobre la probabilidad de gestación clínica (grado de endometriosis según la clasificación de la ASMR y según la clasificación ecográfica, endometriosis intervenida o no, n° de cirugías, tiempo transcurrido desde la cirugía, presencia de endometriomas, tamaño del endometrioma mayor, n° endometriomas y endometriomas bilaterales o no). Tampoco se encontró ninguna relación significativa.

6.5. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

En dos pacientes del grupo de estudio se produjo una reacción adversa no grave (erupción cutánea generalizada y reacción en el lugar de inyección) tras la administración de la primera dosis de tratamiento. En ambos casos se produjo una recuperación completa tras tratamiento con corticoides y ninguna de las pacientes requirió ingreso hospitalario.

Como ya se ha comentado en el subapartado de “Variables relacionadas con la estimulación ovárica”, existió riesgo de hiperestimulación ovárica en 5 pacientes y se diagnosticó síndrome de hiperestimulación ovárica tardía en una paciente.

6.6. RESUMEN DE RESULTADOS

A continuación se realizará un resumen de los resultados del estudio.

En primer lugar, las características basales de las pacientes y las variables en relación con la endometriosis fueron comparables entre ambos grupos.

El primer dato a destacar es que fueron necesarios más días de EOC en el grupo de tratamiento ($10,40 \pm 2,62$ vs $9,04 \pm 1,73$, $p < 0,001$, IC 95% -2,009; -0,704), así como mayor dosis total de gonadotropinas ($3027,94 \pm 974,15$ UI vs $2339,71 \pm 673,42$ UI, $p < 0,001$, IC 95% -942,52; -433,95), mientras que los niveles de estradiol el día de administración de hCG fueron inferiores ($1732,17$ pg/ml $\pm 889,59$ vs $2200,90$ pg/ml $\pm 806,88$, $p = 0,001$, IC 95% 204,62; 732,82). En concordancia con estos datos, la tasa de ciclos cancelados fue superior en el grupo de estudio (11,0% vs 3,3%, $p = 0,042$, OR 3,66, IC 95% 0,974; 13,777).

Otro dato a tener en cuenta de nuestros resultados, es el hecho de haberse observado una tendencia a obtener mayor número de ovocitos metafase II en el grupo placebo ($5,35 \pm 3,08$ vs $4,47 \pm 3,03$), aunque esta diferencia no fuera estadísticamente significativa ($p = 0,064$, IC 95% -0,053; 1,813). Por el contrario, en el grupo de estudio se obtuvo un número significativamente mayor de ovocitos inmaduros ($1,63 \pm 0,25$ vs $0,76 \pm 0,14$, $p = 0,003$, IC 95% -1,439; -0,299). Sin embargo, no hubo diferencias en cuanto a tasas de fecundación entre grupos.

Resulta también llamativo, que el número de embriones resultantes fuera significativamente mayor en el grupo control ($4,11 \pm 2,51$ vs $3,21 \pm 2,55$, $p = 0,023$, IC 95% 0,12; 1,67).

Sin embargo, no existieron diferencias significativas en las tasas de implantación ni de gestación clínica entre ambos grupos. A pesar de ello, en el grupo control se ha observado una tendencia a obtener mayores tasas de:

- implantación (28,5% en el grupo control y de 20,7% en el grupo de estudio),
- gestación clínica (por ciclo iniciado, 33,7% vs 25,3% y por transferencia 41,3% vs 34,3%)
- parto (33,7% vs 22,0%)

07

DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

El presente ensayo clínico se planteó para demostrar la hipótesis de que la administración de un agonista de GnRH durante los tres meses previos a la realización de una FIV en pacientes con endometriosis podría mejorar la respuesta ovárica a la estimulación y las tasas de implantación y de gestación clínica.

Para ello, se diseñó un estudio prospectivo, randomizado, ciego y controlado con placebo.

Las pacientes incluidas fueron aleatorizadas en dos grupos (grupo control y grupo de estudio). El grupo de estudio recibió una inyección mensual de acetato de triptorelina durante tres meses, mientras que el grupo control recibió tres inyecciones de suero fisiológico con la misma pauta. El ciclo de FIV o ICSI se inició 80 (+/-3) días después de la primera inyección según los protocolos habituales del centro.

La variable principal del estudio era tasa de gestación clínica por ciclo iniciado aunque se analizaron también otras variables relacionadas con la endometriosis, la estimulación ovárica controlada, calidad ovocitaria y embrionaria, tasas de implantación y de recién nacido vivo, entre otras.

Al contrario de lo esperado, esta hipótesis no ha sido confirmada y nuestro estudio demuestra que no existen diferencias significativas en los resultados que avalen del pre-tratamiento con GnRH.

7.1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Aunque en la mayoría de las pacientes el diagnóstico de endometriosis había sido confirmado histológicamente tras cirugía, en un 27,3% de las pacientes (28,6% en el grupo de estudio y 26,1% en el grupo control) el diagnóstico fue ecográfico siempre asociado a la clínica (esterilidad y dolor pélvico crónico). En estas últimas pacientes, al basarnos únicamente en la ecografía para diagnosticar endometriosis, no puede

establecerse un diagnóstico definitivo, ya que las lesiones ováricas podrían no ser realmente endometriomas ni tampoco puede excluirse la presencia de enfermedad adicional que solo podría ser evaluada quirúrgicamente. Por este motivo, algunas pacientes podrían haber sido erróneamente diagnosticadas y/o clasificadas. No obstante, el análisis estadístico mostró los mismos resultados cuando se realizó excluyendo las pacientes no intervenidas.

Además, se incluyeron en el estudio pacientes afectas de todos los grados de endometriosis y aunque después se analizaron los resultados por subgrupos, es posible que en alguno de ellos el tamaño de la muestra no resultara suficiente para encontrar diferencias estadísticamente significativas.

Por otro lado, la reserva ovárica de las pacientes fue valorada únicamente con la determinación de FSH basal y no se utilizaron los valores de AMH, a pesar de ser un marcador más específico de reserva ovárica. El motivo de no haber empleado este método para valorar la reserva ovárica fue el no disponer de una determinación estandarizada en el laboratorio de nuestro centro al inicio del estudio, por lo que no pudo obtenerse este dato en todas las pacientes. Posiblemente, si este dato hubiera estado disponible habrían sido excluidas pacientes con reserva ovárica disminuida que después presentaron una baja respuesta en la EOC y cuyos ciclos de estimulación fueron cancelados por este motivo. Teniendo en cuenta la tasa de cancelación de ciclo en las pacientes del grupo de estudio, que fue significativamente superior que en el grupo control (11,0% vs 3,3%), parece que en pacientes con respuesta subóptima el efecto supresor de los GnRHa sobre el ovario podría ser todavía más deletéreo.

Tampoco se ha incluido el recuento de folículos antrales (RFA) como variable en este estudio, debido a la variabilidad interobservador existente en la recogida de este dato.

7.2. RESULTADOS DE LAS TRA EN PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS

Ha sido publicado que los resultados obtenidos con las técnicas de reproducción asistida podrían ser peores en mujeres con endometriosis que en mujeres con otras causas de esterilidad, aunque existen estudios contradictorios en la literatura a este respecto.

7.2.1. TASAS DE IMPLANTACIÓN Y GESTACIÓN

Ya en 1985 fue publicado un estudio en el que se observó que la tasa de éxito tras FIV en pacientes con endometriosis era menor que en pacientes con daño tubárico (Wardle et al., 1985).

Entre los primeros autores que evidenciaron estos peores resultados en pacientes con endometriosis también se encuentran Matson y Yovich (Matson and Yovich, 1986), como muestra su estudio publicado en 1986, en el que compararon pacientes con esterilidad de origen tubárico y pacientes con endometriosis en distintos grados. Aunque se obtuvo el mismo número de ovocitos y la misma tasa de embarazo por ciclo entre las pacientes con esterilidad tubárica y endometriosis grado I y II, se alcanzó una menor tasa de embarazo por ciclo en las pacientes con endometriosis grado III y IV.

Otro interesante estudio retrospectivo fue publicado por Simón y cols (Simón et al., 1994), quienes también compararon pacientes con esterilidad tubárica y pacientes con esterilidad asociada a endometriosis. Estos autores concluyeron que las pacientes con endometriosis tienen en FIV menor tasa de embarazo tanto por ciclo como por transferencia y una menor tasa de implantación.

Siguiendo la misma línea de investigación, Arici y cols (Arici et al., 1996) realizaron un estudio retrospectivo de casos y controles en el que estudiaron 284 ciclos de FIV. De ellos, 89 fueron en pacientes con endometriosis, divididas en dos subgrupos en función del estadio de la enfermedad, 147 ciclos en pacientes con esterilidad de causa tubárica y 48 ciclos en pacientes con esterilidad de causa desconocida. No se obtuvo diferencia entre los grupos en cuanto a número y calidad de ovocitos, tasa de fecundación y número y calidad de embriones. Sin embargo, sí se observó una tendencia hacia una menor tasa de embarazo por transferencia en pacientes con endometriosis, así como una menor tasa de implantación aún más marcada en pacientes con endometriosis grado I y II. Ante esta menor tasa de implantación los autores comentan como posibles causas la presencia de una disfunción endometrial y un ambiente embriotóxico en estas pacientes.

Más recientemente, en un estudio de cohortes retrospectivo de 5 años de duración, se analizaron los resultados tras FIV en pacientes con endometriosis comparándolas con pacientes sin endometriosis. Los hallazgos fueron una tasa de embarazo menor en las primeras, principalmente causada por un menor número de ovocitos obtenidos y

menor tasa de fecundación, sin encontrar diferencias en función de la gravedad de la enfermedad (Lin et al., 2012).

Otro trabajo centrado en los resultados de FIV en pacientes con estadios iniciales de endometriosis concluye que la respuesta ovárica puede estar disminuida en estas mujeres aunque no han observado diferencias significativas en los resultados (Mekaru et al., 2013).

Así mismo, en un estudio comparativo entre pacientes con endometriosis grado I-II, grado III-IV y controles con esterilidad de origen tubárico, se observaron tasas de cancelación más altas en las pacientes con endometriosis grado III-IV, con mayor necesidad de dosis total de gonadotropinas y menor número de ovocitos obtenidos si se comparaban con los otros dos grupos. Por otro lado, la tasa de gestación clínica y de recién nacido vivo fue similar en los grupos I-II y en los controles, mientras que fue más baja en el grupo de pacientes con endometriosis grado III-IV, por lo que los autores concluyen que el estadio de la enfermedad afecta a los resultados en FIV (Pop-Trajkovic et al., 2014).

Lo que se deduce de estos estudios es que no queda claro si es la endometriosis y su severidad o la baja reserva ovárica derivada de la enfermedad o de los procedimientos quirúrgicos los responsables del menor número de ovocitos o tasas de fecundación y gestación.

Sin embargo, existen diversos estudios que muestran resultados reproductivos similares a otros diagnósticos de esterilidad al realizar una TRA en pacientes con endometriosis.

Inoue y cols (Inoue et al., 1992) realizaron un estudio retrospectivo que incluyó 2080 mujeres estériles, 1263 con endometriosis y 817 con esterilidad por otra causa. Concluyeron que no existen diferencias en cuanto a tasa de embarazo en pacientes con endometriosis o esterilidad de otro origen, ni diferencias en función del estadio de la endometriosis.

En esta línea de investigación, Dmowski y cols (Dmowski et al., 1995) publicaron otro estudio retrospectivo que incluyó 237 ciclos de FIV, 119 en pacientes endometriósicas y 118 en pacientes no endometriósicas. Las primeras fueron subdivididas en función del estadio y actividad de la enfermedad, así como por la presencia o no de autoanticuerpos. Se obtuvo el mismo número de ovocitos, tasa de fecundación y tasa de embarazo

por ciclo en los dos grupos, sin diferencias en cuanto a estadio o actividad de la enfermedad. No obstante, en las pacientes con autoanticuerpos positivos se observó una menor tasa de embarazo que mejoró tras administración de corticoides, por lo que estos autoanticuerpos podrían afectar a la implantación embrionaria.

Oliviennes y cols tampoco obtuvieron diferencias, en cuanto a tasa de embarazo, en un estudio retrospectivo de casos y controles que incluyó 360 ciclos en pacientes con endometriosis y 160 ciclos en pacientes con esterilidad tubárica (Oliviennes et al., 1995). Así mismo, un estudio comparativo entre pacientes con endometriosis peritoneal mínima y pacientes con esterilidad de origen desconocido no encontró diferencias en los resultados de FIV (Tanbo et al., 1995).

Por otro lado, Huang y cols compararon pacientes intervenidas por endometriosis que se sometieron a TRA con pacientes con esterilidad tubárica. En su estudio se obtuvieron los mismos resultados en ambos grupos pero las pacientes con endometriosis necesitaron mayor dosis de gonadotrofinas para alcanzar la misma respuesta que el otro grupo de pacientes (Huang et al., 1997).

De nuevo comparando pacientes con endometriosis y esterilidad tubárica, en un estudio retrospectivo de casos y controles se observó que las pacientes con endometriosis tenían una tasa de cancelación de ciclo más alta pero similares tasas de gestación e implantación (Bongioanni et al., 2011). Hickman también realizó un estudio retrospectivo que incluyó 149 ciclos de FIV, 31 en pacientes endometriósicas y 118 en pacientes con esterilidad tubárica y se obtuvo el mismo resultado en cuanto a tasa de fecundación, número de embriones transferidos, tasa de embarazo y tasa de implantación (Hickman, 2002).

Más adelante, Check y cols (Check et al., 2010) publicaron un trabajo realizado en pacientes con reserva ovárica disminuida, hallando como resultado que la presencia de endometriosis no empeoraba los resultados tras FIV.

En un estudio de cohortes que incluyó 2245 pacientes con distintos grados de endometriosis o esterilidad tubárica, se encontraron las mismas tasas de éxito con FIV en todos los grupos excepto en aquellas pacientes que tenían endometriomas, quienes sí obtuvieron tasas más bajas (Opøien et al., 2012).

Más recientemente, un estudio sobre 616 pacientes, 485 con endometriosis (72 pacientes con endometriosis grado I-II y 413 grado III-IV) y 131 controles con esterilidad tubárica, encontró similares tasas de implantación, gestación clínica, aborto y recién nacido vivo en los tres grupos (Polat et al., 2014).

Como ya se comentó en la introducción, dos meta-análisis han sido publicados en un intento de aclarar si realmente los resultados de las TRA son peores en pacientes con endometriosis. El meta-análisis de Barnhart (Barnhart et al., 2002) concluye que la tasa de fecundación, implantación y gestación en pacientes con endometriosis es menor que en pacientes con esterilidad tubárica y que la tasa de gestación es peor en pacientes con endometriosis avanzada respecto a endometriosis en estadios iniciales. Por otro lado, el meta-análisis de Harb (Harb et al., 2013), no encontró diferencias en tasa de implantación, gestación clínica ni de RNV en pacientes con endometriosis, aunque sí se asocian a menor tasa de fecundación los estadios iniciales de endometriosis y a menor tasa de implantación los estadios avanzados.

En base a las conclusiones de estos meta-análisis sigue sin aclararse el dilema de si la endometriosis empeora los resultados de las TRA. Puede que no sea el diagnóstico de endometriosis el que afecte directamente estos resultados sino que los factores determinantes sean el grado de endometriosis o la reserva ovárica, que a su vez estarían en relación con las cirugías previas, estando probablemente la reserva ovárica más disminuida en pacientes multiintervenidas. Por este motivo, podría resultar más correcto concluir que los resultados de las TRA pueden verse afectados en algunas pacientes con endometriosis, como aquellas con reserva ovárica disminuida por endometriosis más avanzada o multiintervenidas y no en todas ellas de forma genérica.

En cuanto a si el grado de endometriosis influye sobre los resultados, también existen estudios con resultados contradictorios en la literatura. Por un lado, algunos autores concluyen que el grado de endometriosis no ejerce un efecto negativo en las tasas de gestación al compararlo con controles con esterilidad de origen tubárico (Geber et al., 1995; Olivennes et al., 1995), mientras que otros apoyan la idea de que las pacientes con endometriosis grado III-IV presentan menores tasas de gestación y RNV tras una TRA (Azem et al., 1999).

En el presente estudio, no se observaron diferencias en la tasa de gestación clínica en función del grado de endometriosis.

En nuestro centro se realizan cerca de 2000 ciclos de FIV/ICSI al año. A continuación se exponen los resultados obtenidos en estos ciclos, realizados por cualquier causa de esterilidad, durante los años en los que se llevó a cabo el ensayo clínico (Tabla 7.1).

AÑO	Nº PUNCIÓNES FOLICULARES REALIZADAS	TASA IMPLANTACIÓN	TASA GESTACIÓN POR TRANSFERENCIA
2012	1591	19,5%	31,4%
2013	1851	21,0%	36,2%
2014	1982	20,4%	38,7%
2015	1885	19,9%	32,0%
Media	1827,2	20,2%	34,6%

Tabla 7.1. Resumen de resultados de ciclos de FIV/ICSI realizados en nuestro centro por cualquier causa de esterilidad.

Al comparar estas tasas de implantación y gestación por transferencia con las obtenidas en las pacientes con endometriosis como causa de esterilidad participantes en el ensayo clínico (tasa de implantación de 28,5% en el grupo control y de 20,7% en el grupo de estudio; tasa de gestación clínica por transferencia de 41,3% en el grupo control y 34,3% en el grupo de estudio) puede observarse que las tasas en pacientes con endometriosis que participaron en el estudio no son inferiores. Sin embargo, debe tenerse en consideración que pacientes con endometriosis y FSH basal superior a 12 UI/ml fueron excluidas del estudio.

7.2.2. CALIDAD OVOCITARIA, EMBRIONARIA Y TASAS DE FECUNDACIÓN

Además de menores tasas de implantación y gestación, también se ha descrito una calidad ovocitaria y embrionaria disminuida en pacientes con endometriosis, así como menores tasas de fecundación con las TRA.

Hull y cols, realizaron una investigación para determinar la contribución del ovocito y del espermatozoide a la tasa de fecundación disminuida en endometriosis leve y esterilidad desconocida, utilizando como control de la función ovocitaria pacientes

con esterilidad de origen tubárico y como control de la función espermática parejas que utilizaron semen de donante. Se observó que las tasas de éxito en endometriosis no se veían influidas por el tipo de espermatozoides, y los autores postularon la hipótesis de que la esterilidad asociada a la endometriosis podía deberse al menos en parte a una capacidad de fecundación disminuida del ovocito (Hull et al., 1998).

En la misma época, Bergendal y cols publicaron un estudio retrospectivo que incluyó 65 ciclos FIV en pacientes con endometriosis y 98 ciclos en pacientes con esterilidad de origen tubárico, observándose una tasa de fecundación disminuida en pacientes con endometriosis pero la misma tasa de implantación y de embarazo en los dos grupos (Bergendal et al., 1998).

Por otro lado, Pal y cols realizaron un estudio que incluyó 61 pacientes con endometriosis que fueron agrupadas en dos subgrupos en función del estadio de la enfermedad y a las que se les realizó un ciclo de FIV. Sus resultados mostraron el mismo número, madurez y calidad de los ovocitos, así como la misma tasa de implantación, de embarazo y de aborto en ambos grupos. Sin embargo, la tasa de fecundación estaba disminuida en el grupo de endometriosis que englobaba los grados III y IV, resultado que los autores explican por el posible impacto biológico adverso que la enfermedad avanzada tendría sobre los ovocitos (Pal et al., 1998).

Por último, un estudio retrospectivo sobre el resultado de la ICSI en pacientes con endometriosis y en parejas con esterilidad de causa masculina, evidenció que el proceso de estimulación ovárica era más largo y con una mayor necesidad de dosis de gonadotropinas en pacientes con endometriosis. También se observó que la tasa de división ovocitaria era menor; sin embargo, no hubo diferencias significativas en la tasa de implantación ni de embarazo (Norenstedt et al., 2001).

Se ha estudiado el ambiente intrafolicular en pacientes con endometriosis, hallando diferencias en concentraciones hormonales, citoquinas y otras sustancias que podrían explicar una disminución de calidad ovocitaria y embrionaria en estas pacientes.

Sobre las diferencias hormonales, algunos trabajos han descrito una mayor concentración de progesterona en las pacientes con endometriosis. En este sentido, un estudio de casos y controles evaluó el medio endocrino de los folículos en ciclos de estimulación ovárica de 24 pacientes con endometriosis y 26 controles. Como resultado, se obtuvieron unos niveles mayores de progesterona en el líquido folicular, siendo estas

concentraciones mayores conforme aumentaba la gravedad de la enfermedad, mientras que los niveles de testosterona disminuían. Este aumento de progesterona también se observó en las células de la granulosa de estas pacientes, pero no se demostraron diferencias en cuanto a la calidad embrionaria (Pellicer et al., 1998b). Estos autores formularon la hipótesis de que el patrón de secreción de progesterona podía estar relacionado con la liberación de citoquinas por el ovario o las células inmunitarias y para comprobarlo realizaron otro trabajo en el que midieron las concentraciones de interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) y factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) en el suero, el líquido folicular y las células de la granulosa de pacientes con endometriosis, encontrándose una concentración de IL-6 aumentada en suero en ciclos naturales y una disminución en ciclos de estimulación ovárica, viéndose esta interleucina también aumentada en el líquido folicular y en las células de la granulosa de estas pacientes. En cuanto a las concentraciones de VEGF, estas fueron bajas en el líquido folicular, mostrando todo ello un ambiente folicular distinto en los casos de endometriosis y sugiriendo que la esterilidad en estas pacientes puede relacionarse con alteraciones en el interior del ovocito que resultan en embriones de baja calidad y con una capacidad disminuida para implantar (Garrido et al., 2000).

En esta línea de investigación, el mismo grupo había publicado previamente otro trabajo que comparaba 20 mujeres con endometriosis con 18 controles a las que se les midieron las concentraciones de citoquinas en el suero, el líquido folicular y células de la granulosa cultivadas *in vitro*. Sus resultados también mostraron un aumento de la concentración de IL-6 en los ciclos de pacientes con endometriosis, por lo que los autores postularon que el medio endocrino, paracrino y autocrino es distinto en estas pacientes y puede estar relacionado con sus tasas de implantación más bajas (Pellicer et al., 1998a).

Siguiendo con el análisis de citoquinas en células de la granulosa, otra publicación comparó las concentraciones de IL-1 β , IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), mostrando un aumento para las cuatro citoquinas aunque solo fue significativo para el TNF- α (Carlberg et al., 2000).

También han sido estudiadas otras sustancias en líquido folicular, como el cortisol, encontrándose este en una concentración más baja en mujeres con endometriosis mínima y leve al compararla con controles, hecho que añade evidencia a la hipótesis de que la disfunción ovárica puede contribuir a la esterilidad en estas pacientes (Smith

et al., 2002). Incluso se han medido los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (*brain-derived neurotrophic factor, BDNF*) en líquido folicular, encontrándose disminuidos en pacientes con endometriosis y polimorfismo genético BDNF Met/Met y con peores resultados tras FIV (Zhang et al., 2012).

Así mismo se ha observado que la concentración de *insulin-like growth factor binding protein 1* (IGFBP-1) en el líquido folicular de mujeres con endometriosis moderada-severa es menor que en las pacientes sin endometriosis (Cunha-Filho et al., 2003).

Más recientemente, un estudio prospectivo de casos y controles en 340 pacientes estériles que se realizaron una FIV, analizó los niveles de metaloproteinasas 2 y 9 y sus inhibidores tisulares en el líquido folicular. Se observó un aumento de dichas metaloproteinasas en las pacientes con endometriosis así como una disminución de los inhibidores tisulares, lo que podría asociarse a un pobre desarrollo ovocitario y embrionario, viéndose también que los suplementos de progesterona en las mujeres que concibieron tras la FIV mejoraba este desequilibrio (Singh et al., 2013). También se ha visto una diferencia de anticuerpos antilaminina-1 en suero y líquido folicular entre pacientes con endometriosis y pacientes con esterilidad por otra causa, estando los niveles de anticuerpos aumentados en las primeras y siendo posible que su presencia en líquido folicular afecte a la maduración ovocitaria guiando a una disminución de fertilidad, pero sin haberse visto afectados los resultados de la FIV (Caccavo et al., 2011).

En el intento de encontrar la causa de esta peor calidad ovocitaria y embrionaria en pacientes con endometriosis, también se han analizado otras sustancias como los retinoides. Pauli y cols compararon los niveles de retinoides en plasma y líquido folicular de mujeres con y sin endometriosis para ver su relación con la calidad embrionaria. Se observó que el mayor porcentaje de embriones de buena calidad provenían de los folículos más grandes y el tamaño del folículo se relacionó con la cantidad de retinoides en líquido folicular, siendo esta mayor en los folículos más grandes. Las pacientes sin endometriosis tuvieron niveles medios más altos de retinoides en líquido folicular que las mujeres con endometriosis, por lo que los autores concluyeron que el ácido retinoico juega un papel importante en el desarrollo ovocitario y en la calidad embrionaria y que la síntesis disminuida de este compuesto puede contribuir a la disminución de fertilidad en pacientes con endometriosis (Pauli et al., 2013).

Además de este ambiente intrafolicular alterado en pacientes con endometriosis, también ha sido estudiada una posible disfunción de las células de la granulosa en estas pacientes.

Nakahara y cols publicaron un estudio retrospectivo que comparaba 58 pacientes con endometriosis y 45 mujeres sanas con esterilidad de factor masculino. Llegaron a la conclusión de que existe un mayor grado de apoptosis en las células de la granulosa en pacientes con endometriosis, aumentando conforme aumenta la gravedad de la enfermedad y siendo mayor en las pacientes que presentan endometriomas. Observaron también un menor desarrollo folicular y menor número de ovocitos obtenidos en estas pacientes, concluyendo los autores que esta enfermedad puede afectar negativamente al desarrollo folicular y la calidad ovocitaria a través de la apoptosis de las células de la granulosa (Nakahara et al., 1998).

Por otro lado, Toya y cols evidenciaron que la endometriosis daña el ciclo celular de las células de la granulosa pudiendo tener un efecto sobre la foliculogénesis y por tanto sobre la calidad ovocitaria (Toya et al., 2000).

Por último, un estudio prospectivo estudió la expresión de los receptores de estrógenos y progesterona en las células de la granulosa de estas pacientes, encontrando un aumento de la expresión de dichos receptores comparado con controles (Karita et al., 2011).

7.2.3. EFECTO DE LA PRESENCIA DE ENDOMETRIOMAS EN LOS RESULTADOS DE FIV/ICSI

Otro aspecto que ha generado controversia en la literatura es si la presencia de uno o varios endometriomas puede afectar la calidad embrionaria.

Por un lado, algunos estudios que afirman que los endometriomas no la afectarían. Suzuki y cols realizaron un estudio que comparaba 80 ciclos de FIV en pacientes con endometriosis que presentaban endometriomas, 248 ciclos de FIV en pacientes con endometriosis sin endometriomas y 283 ciclos en pacientes con esterilidad tubárica, y concluyeron que la endometriosis afecta el número de ovocitos obtenidos pero no la calidad embrionaria o la tasa de embarazo, independientemente de la presencia de endometriomas (Suzuki et al., 2005). También Reinblatt y cols compararon 13 pacientes con endometriomas bilaterales con 39 pacientes con esterilidad de origen tubárico

o masculino y concluyeron que la presencia de endometriomas no se asocia con una disminución en la calidad embrionaria (Reinblatt et al., 2011).

Por el contrario, numerosos trabajos han demostrado que los endometriomas sí afectan a la calidad embrionaria. Yanushpolsky y cols publicaron un estudio de casos y controles que comparaba 45 pacientes con endometriomas en el momento de la punción folicular y 57 pacientes sin endometriomas. Concluyeron que la presencia de endometriomas estaba asociada con tasas aumentadas de abortos tempranos y que el número de ovocitos obtenidos y la calidad embrionaria también podrían verse afectados negativamente (Yanushpolsky et al., 1998).

En la misma línea, Kumbak y cols demostraron que el efecto negativo del endometrioma sobre la calidad embrionaria y la tasa de implantación era resultado de la enfermedad en sí misma y no del efecto ocupante de espacio del endometrioma al comparar pacientes con endometriomas y pacientes con quistes simples de ovario y ver que los resultados eran peores en las pacientes con endometriomas (Kumbak et al., 2008).

En nuestro ensayo clínico, la presencia o no de endometriomas no afectó los resultados de FIV/ICSI, como pudo comprobarse al realizar el análisis estadístico por subgrupos y el análisis de regresión logística.

7.3. EFECTOS DE LOS AGONISTAS DE GNRH SOBRE LA ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

Los GnRHa parecen influir en la fisiopatología de la endometriosis produciendo un hipoestrogenismo y también ejerciendo un efecto antiproliferativo, proapoptótico, antiangiogénico, inmunomodulador e inhibidor de las contracciones uterinas, como ya se ha descrito anteriormente (Hashin, 2012; Osuga, 2008).

Diversos estudios han intentado dilucidar el efecto de la administración de estos fármacos previo a un ciclo de FIV/ICSI, así como su mecanismo de acción.

En base a la literatura publicada hasta el momento, parece que un pre-tratamiento con GnRHa previo a un ciclo de FIV/ICSI podría mejorar los resultados en cuanto a tasa de implantación y gestación en las pacientes con endometriosis. Este hecho tendría su explicación en el efecto que parecen ejercer los GnRHa sobre el ambiente inflamatorio

peritoneal e intrafolicular presente en las pacientes con endometriosis, del que se ha especulado que produce un efecto tóxico sobre los ovocitos, que a su vez afectaría a la calidad embrionaria y a la implantación pudiendo resultar en menores tasas de gestación. Al mejorar este estado inflamatorio, el pre-tratamiento con GnRH α podría permitir la obtención de un mayor número de ovocitos maduros, que resultarían en embriones de buena calidad, con mejores tasas de implantación y gestación (Ferrero et al., 2009; Tavmergen et al., 2007).

Sin embargo, resulta complicado alcanzar una conclusión sólida al comparar los estudios disponibles, ya que estos son heterogéneos en cuanto a la duración y forma del pre-tratamiento y con metodología en muchas ocasiones cuestionable. Además, algunos de estos estudios fueron publicados hace más de 20 años y la tecnología aplicada a la reproducción asistida ha evolucionado enormemente desde entonces, haciendo que los resultados de algunos de estos estudios ya no resulten comparables con los que se obtienen en la actualidad. Por tanto, la conclusión de que el pre-tratamiento con GnRH α previo a una TRA en pacientes con endometriosis mejora la tasa de gestación en estas pacientes parece, al menos, cuestionable.

Con el fin de investigar este hecho, diseñamos un ensayo clínico controlado con placebo para valorar el pre-tratamiento con GnRH α en este tipo de pacientes. Aunque en algunos estudios publicados la duración del tratamiento con GnRH α fue superior, para este estudio planteamos un pre-tratamiento de tres meses, sobre la base de que este periodo mejoraría el cumplimiento de las pacientes y sería suficiente para valorar el efecto de dicho fármaco, teniendo en cuenta algunos de los estudios publicados hasta el momento con esa duración y que sí mostraban mejores resultados con GnRH α .

De hecho, existe evidencia en la literatura de que el protocolo largo de estimulación ovárica con GnRH α podría mejorar la respuesta ovárica en pacientes con endometriosis si se compara con el protocolo corto con antagonistas de GnRH. Un ensayo clínico randomizado realizado en pacientes con endometriosis grado I y II mostró tasas de gestación e implantación similares al comparar ambos protocolos de estimulación ovárica, aunque con el antagonista se obtuvieron menor número de ovocitos totales y MII, así como menor número de embriones, tanto en pacientes intervenidas por endometriomas como en no intervenidas (Pabuccu et al., 2007). Bastu y cols (Bastu et al., 2014) encontraron resultados similares en un estudio retrospectivo en pacientes con endometriosis intervenida en el que comparaban ambos protocolos, observando un

mayor número de ovocitos MII y mayor número de embriones de buena calidad con el protocolo largo. Aunque no hubo diferencias significativas entre las tasas de gestación, al obtenerse mayor número de embriones que pudieron criopreservarse, los autores sugieren que podrían aumentar las posibilidades de gestación con ciclos posteriores de transferencia de congelados. Sin embargo, en otro estudio no se encontraron diferencias al comparar el protocolo largo y corto de estimulación en pacientes con endometriosis (Rodríguez-Purata et al., 2013).

También se han comparado ambos protocolos de estimulación en pacientes bajas respondedoras, habiéndose observado un menor número de ovocitos con el protocolo corto con antagonistas, así como niveles inferiores de estradiol y menor grosor endometrial, aunque las tasas de cancelación de ciclo y de gestación clínica fueran similares (Xiao et al., 2013). Albano y cols (Albano et al., 2000) encontraron resultados similares, con mayor número de ovocitos MII en el grupo que recibió el protocolo largo con GnRHa que en las pacientes del grupo de protocolo corto. Aunque algunos estudios no han encontrado diferencias en cuanto a tasa de gestación y RNV entre ambos protocolos de estimulación (Kolibianakis et al., 2006; Pu et al., 2011), el meta-análisis de Al-Inany (Al-Inany and Aboulghar, 2002) encontró menores tasas de gestación con el protocolo corto con antagonistas. Sin embargo, estas conclusiones no pueden generalizarse a las pacientes con endometriosis.

La conclusión que sí podría obtenerse en base a estos estudios, teniendo en cuenta que algunos han encontrado diferencias a favor del protocolo largo de estimulación con agonistas, es que el posible efecto de los GnRHa empezaría a aparecer poco tiempo después del inicio de su administración, lo que apoyaría que un pre-tratamiento de tres meses con GnRHa fuera suficiente para valorar su eficacia.

En referencia a los trabajos que muestran mejores resultados con el pre-tratamiento con GnRHa, cabe destacar que algunos de estos estudios son retrospectivos, existiendo únicamente 8 estudios prospectivos y de estos sólo 4 son randomizados, estudiando uno de ellos el tratamiento con GnRHa previo a transferencia intratubárica de gametos (Remorgida et al., 1990) y el resto previo a FIV o FIV y IA (Dicker et al., 1992; Rickes et al., 2002; Surrey et al., 2002).

Remorgida y cols (Remorgida et al., 1990) observaron una tendencia a obtener mayores tasas de gestación con el pre-tratamiento con GnRHa durante 6 meses, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Pero su estudio únicamente

incluyó pacientes con endometriosis grado I-II y la TRA realizada fue una transferencia intratubárica de gametos en lugar de FIV, por lo que no resulta un estudio comparable con el nuestro.

El primer estudio prospectivo randomizado sobre el tratamiento con GnRH previo a FIV fue el de Dicker y cols (Dicker et al., 1992), que administraron un pre-tratamiento de GnRHa durante 6 meses en 67 pacientes diagnosticadas de endometriosis mediante laparoscopia (35 en el grupo de tratamiento y 32 controles). En contraste con nuestro estudio, los controles no recibieron placebo, no existieron diferencias en cuanto a la dosis total de gonadotrofinas requerida en la EOC, se obtuvo un mayor nº de ovocitos y se transfirieron más embriones en el grupo de tratamiento. La tasa de gestación clínica por ciclo iniciado fue significativamente mayor en las pacientes con pre-tratamiento con GnRHa (25% vs 3,9%), aunque resulta muy llamativa la extremadamente baja tasa de gestación en el grupo control, lo que hace que los resultados sean difíciles de interpretar.

Por otro lado, el estudio de Surrey y cols (Surrey et al., 2002), aunque fue prospectivo y randomizado, tampoco fue controlado con placebo y se realizó en 25 pacientes y 26 controles, que habían sido diagnosticadas de endometriosis mediante cirugía entre 2 y 55 meses antes de realizar el ciclo de FIV. Se les administró GnRHa durante 3 meses. Estos autores encontraron una tasa de embarazo significativamente mayor en el grupo de tratamiento (80% vs 53.9%), así como una tendencia hacia tasas de implantación mayores (42.7% vs 30.4%). Cabe destacar que no se incluyeron pacientes con baja reserva ovárica o presencia de endometriomas y que en el grupo de tratamiento hubo mayor proporción de pacientes con endometriosis grado III-IV que en el grupo control, generando dudas sobre si este hecho podría haber afectado a los resultados o si el efecto beneficioso del pre-tratamiento con GnRHa podría ser más acusado en pacientes con endometriosis más severa. Además, no aportan datos sobre tasa de RNV. Al contrario que en el presente estudio, no se encontraron diferencias en los días de estimulación ovárica y dosis total de gonadotrofinas requeridas.

Por último, Rickes y cols (Rickes et al., 2002) valoraron el efecto del pre-tratamiento con GnRHa durante 5-6 meses inmediatamente después de la cirugía por endometriosis y previo a TRA (hasta 3 ciclos de IA o FIV/ICSI). Concluyeron que el pre-tratamiento era beneficioso en las pacientes con endometriosis III-IV al mejorar la tasa de embarazo acumulada tras los tres ciclos de TRA (82% vs 40%), mientras que en las pacientes con

endometriosis grado II la tasa de gestación no fue superior con el pre-tratamiento (50 vs 56%). Realmente en este estudio, se está valorando el efecto de la cirugía sumado al GnRHa, sin embargo, para nosotros era importante ver si el pre-tratamiento con GnRHa era beneficioso en pacientes diagnosticadas de endometriosis, aunque la cirugía se hubiese realizado tiempo atrás o no hubiesen sido operadas, ya que muchas pacientes que acuden a realizarse una TRA en nuestro centro han sido ya diagnosticadas y/o intervenidas en otro hospital y transcurre más tiempo hasta que inician el ciclo de tratamiento.

Sallam y cols (Sallam et al., 2006) publicaron un meta-análisis que incluyó estos tres estudios prospectivos y randomizados. La conclusión fue que la probabilidad de gestación clínica al administrar un tratamiento de 3-6 meses de GnRHa previo a FIV/ICSI aumentaba 4 veces (OR 4,28, IC 95%: 2,0; 9,15). El meta-análisis incluyó en total 165 pacientes. Como ya se ha comentado, la duración del pre-tratamiento con GnRHa fue distinta en los tres estudios (6 meses, 3 meses y 5-6 meses).

El resultado de este meta-análisis contrasta con los resultados de nuestro estudio, realizado sobre 183 pacientes, en el que no solo no hallamos esta mayor probabilidad de gestación al administrar 3 meses de pre-tratamiento con GnRHa, sino que la tendencia fue a obtener menores tasas de gestación en el grupo que recibió el pre-tratamiento al compararlo con el grupo al que se le administró placebo.

En cuanto al resto de estudios publicados hasta la fecha sobre este tema, ya se ha aclarado que no fueron metodológicamente adecuados, al no ser prospectivos y/o randomizados, además de realizarse algunos de ellos en una muestra reducida de pacientes, por lo que la interpretación de sus resultados podría estar sesgada.

Por otro lado existen dos estudios que, en línea con el nuestro, tampoco han mostrado mayores tasas de gestación con el pre-tratamiento con GnRHa, uno de ellos prospectivo randomizado (Fábregues et al., 1998), y otro retrospectivo (Sõritsa et al., 2015).

Fabregues y cols (Fábregues et al., 1998), no observaron diferencias significativas en las tasas de gestación e implantación tras un pre-tratamiento con GnRHa durante 4 meses. Este estudio se realizó en 30 pacientes con endometriosis y otras causas de esterilidad y 30 controles, a las pacientes se les administró el GnRHa durante 4 meses y a los controles GnRHa dentro del protocolo largo de EOC. Hay que tener en cuenta que no solo se administró el pre-tratamiento en pacientes con endometriosis, también en

pacientes con esterilidad de origen tubárico y de origen desconocido. También llama la atención en este estudio que se obtuvo un porcentaje significativamente mayor de ovocitos MII en el grupo control. En nuestro estudio también se observó una tendencia a obtener mayor número de ovocitos metafase II en el grupo control ($5,35 \pm 3,08$ vs $4,47 \pm 3,03$), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Recientemente, Söritsa y cols (Söritsa et al., 2015), concluyeron que el pre-tratamiento con GnRHa durante 3-6 meses en pacientes con endometriosis grado I-II es cuestionable, al no haber encontrado diferencias significativas en la tasa de gestación, sin poder valorar por el diseño de su estudio el efecto en endometriosis grado III-IV. En nuestro estudio incluimos pacientes de todos los grados de endometriosis, sin hallar diferencias significativas en cuanto a tasa de gestación clínica con el pre-tratamiento con GnRHa en ningún grado de endometriosis.

Tras analizar minuciosamente los estudios publicados y nuestros resultados, parece que la hipótesis de que el pre-tratamiento con GnRHa previo a FIV en pacientes con endometriosis puede ser rebatida.

Además de no haberse conseguido una mayor tasa de gestación clínica con el pre-tratamiento con GnRHa, se ha observado una tendencia a obtener peores resultados en el grupo tratado. Los resultados del presente estudio, en el que se necesitaron más días de estimulación y mayor dosis total de gonadotrofinas en el grupo de tratamiento, muestran que la supresión hipofisaria prolongada producida por los GnRHa sí afecta negativamente a la respuesta ovárica, en línea con lo ya observado en algunos trabajos en los que se necesitaron más dosis de gonadotrofinas con el pre-tratamiento (Ma et al., 2008; Nakamura et al., 1992) aunque algunos autores muestren datos contrarios (Rickes et al., 2002; Surrey et al., 2002). Por tanto, además de no mejorar los resultados reproductivos, el pre-tratamiento con GnRHa supone un coste económico adicional, no sólo por el coste del propio agonista, sino por aquel derivado del aumento de la cantidad de gonadotrofinas necesarias.

Aunque no es el objetivo de esta tesis, dentro del ensayo clínico que nos ocupa, fue realizado un subproyecto con 40 de estas pacientes para estudiar el efecto de los GnRHa sobre la expresión de la aromatasa en las células de la granulosa (Quiroga, 2015). Para ello se determinaron los niveles de expresión del gen CYP19A1 y los niveles de estradiol, testosterona y androstendiona en el líquido folicular. Los resultados mostraron que la expresión del gen de aromatasa en células de la granulosa en pacientes con

endometriosis no se afectaba por la administración de GnRHa durante los tres meses previos a la realización de una FIV. Además, los niveles de esteroides en líquido folicular fueron menores en las pacientes a las que se les había administrado el GnRHa, respecto a las que no lo recibieron, lo que apoya el resultado obtenido en este ensayo clínico al observarse una significativamente menor concentración sérica de estradiol el día de hCG en las pacientes que habían recibido el GnRHa (1732,17 pg/ml \pm 889,59 vs 2200,90 pg/ml \pm 806,88; $p=0,001$, IC 95% 204,62; 732,82), que a su vez estaría en concordancia con la peor respuesta ovárica observada.

De todo ello se concluye que, en el momento actual, y en base a los resultados mostrados, no se puede recomendar el pre-tratamiento con GnRHa en pacientes diagnosticadas de endometriosis a las que se les realiza un tratamiento de FIV/ICSI.

Se desconoce si este pre-tratamiento podría resultar beneficioso en algún subgrupo muy seleccionado de pacientes con endometriosis y qué características deberían reunir estas pacientes, sin existir actualmente ningún marcador diagnóstico que permita identificarlas. Se ha propuesto que las mejores candidatas para beneficiarse de un pre-tratamiento médico serían aquellas con una endometriosis avanzada o fallo de implantación (Surrey, 2015).

Tampoco se dispone de información sobre si un pre-tratamiento con GnRHa de duración menor a tres meses produciría algún beneficio al disminuir el efecto de frenado sobre la respuesta ovárica observado en este trabajo.

Por último, destacar que este es el primer estudio realizado con un tamaño muestral adecuado para valorar diferencias en tasa de gestación clínica, realizado por el mismo grupo de trabajo y en un único centro, en el que se concluye que el pre-tratamiento con GnRHa previo a FIV/ICSI no mejora los resultados reproductivos de las pacientes con endometriosis.

08



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

En base a los objetivos del estudio y los resultados obtenidos se concluye que:

- El pre-tratamiento de 3 meses con GnRHa no mejora la tasa de gestación clínica en pacientes con endometriosis a las que se les realiza un ciclo de FIV/ICSI.
- La tasa de cancelación de ciclo por baja respuesta es mayor cuando se utilizan GnRHa previos a la estimulación ovárica para FIV.
- El pre-tratamiento con GnRHa incrementa las dosis de gonadotropinas requeridas y los días de estimulación ovárica.
- Los niveles de estradiol el día de administración de hCG son significativamente menores en pacientes que reciben GnRHa.
- En las pacientes a las que se les administra el pre-tratamiento se obtiene un mayor número de ovocitos inmaduros y un menor número de embriones.
- No se debe recomendar el pre-tratamiento con GnRHa en pacientes con endometriosis antes de realizar FIV/ICSI con el fin de aumentar la tasa de gestación clínica.

09

BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aboulghar, M.A., Mansour, R.T., Serour, G.I., Al-Inany, H.G., Aboulghar, M.M.,** 2003. The outcome of in vitro fertilization in advanced endometriosis with previous surgery: a case-controlled study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 188, 371–5.
- Absenger, Y., Hess-Stumpp, H., Kreft, B., Krätzschar, J., Haendler, B., Schütze, N., Regidor, P.-A., Winterhager, E.,** 2004. *Cyr61*, a deregulated gene in endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.* 10, 399–407. doi:10.1093/molehr/gah053
- Adamson, G.D.,** 2011. Endometriosis classification: an update. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 23, 213–220. doi:10.1097/GCO.0b013e328348a3ba
- Aflatoonian, A., Rahmani, E., Rahsepar, M.,** 2013. Assessing the efficacy of aspiration and ethanol injection in recurrent endometrioma before IVF cycle: A randomized Clinical Trial. *Iran. J. Reprod. Med.* 11, 179–184.
- Al-Fozan, H., Tulandi, T.,** 2003. Left lateral predisposition of endometriosis and endometrioma. *Obstet. Gynecol.* 101, 164–6.
- Al-Inany, H., Aboulghar, M.,** 2002. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum. Reprod.* 17, 874–85.
- Albano, C., Felberbaum, R.E., Smitz, J., Riethmüller-Winzen, H., Engel, J., Diedrich, K., Devroey, P.,** 2000. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group. *Hum. Reprod.* 15, 526–31.
- Amălinei, C., Căruntu, I.D., Giușcă, S.E., Bălan, R.A.,** 2010. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 51, 215–28.

- Arci, A., Oral, E., Bukulmez, O., Duleba, A., Olive, D.L., Jones, E.E.,** 1996. The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil. Steril.* 65, 603–7.
- Arimoto, T., Katagiri, T., Oda, K., Tsunoda, T., Yasugi, T., Osuga, Y., Yoshikawa, H., Nishii, O., Yano, T., Taketani, Y., Nakamura, Y.,** 2003. Genome-wide cDNA microarray analysis of gene-expression profiles involved in ovarian endometriosis. *Int. J. Oncol.* 22, 551–60.
- Assou, S., Haouzi, D., De Vos, J., Hamamah, S.,** 2010. Human cumulus cells as biomarkers for embryo and pregnancy outcomes. *Mol. Hum. Reprod.* 16, 531–538. doi:10.1093/molehr/gaq032
- Assou, S., Haouzi, D., Mahmoud, K., Aouacheria, A., Guillemin, Y., Pantesco, V., Rème, T., Dechaud, H., De Vos, J., Hamamah, S.,** 2008. A non-invasive test for assessing embryo potential by gene expression profiles of human cumulus cells: a proof of concept study. *Mol. Hum. Reprod.* 14, 711–9. doi:10.1093/molehr/gan067
- Attar, E., Bulun, S.E.,** Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum. Reprod. Update* 12, 49–56. doi:10.1093/humupd/dmi034
- Attia, G.R., Zeitoun, K., Edwards, D., Johns, A., Carr, B.R., Bulun, S.E.,** 2000. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 2897–902. doi:10.1210/jcem.85.8.6739
- Azem, F., Lessing, J.B., Geva, E., Shahar, A., Lerner-Geva, L., Yovel, I., Amit, A.,** 1999. Patients with stages III and IV endometriosis have a poorer outcome of in vitro fertilization-embryo transfer than patients with tubal infertility. *Fertil. Steril.* 72, 1107–9.
- Barbieri, R.L.,** 1998. Stenosis of the external cervical os: an association with endometriosis in women with chronic pelvic pain. *Fertil. Steril.* 70, 571–3.

- Barbonetti, A., Vassallo, M.R.C., Antonangelo, C., Nuccetelli, V., D'Angeli, A., Pelliccione, F., Giorgi, M., Francavilla, F., Francavilla, S.,** 2008. RANTES and human sperm fertilizing ability: effect on acrosome reaction and sperm/oocyte fusion. *Mol. Hum. Reprod.* 14, 387–91. doi:10.1093/molehr/gan031
- Barcelos, I.D., Vieira, R.C., Ferreira, E.M., Martins, W.P., Ferriani, R.A., Navarro, P.A.,** 2009. Comparative analysis of the spindle and chromosome configurations of in vitro-matured oocytes from patients with endometriosis and from control subjects: a pilot study. *Fertil. Steril.* 92, 1749–52. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.05.006
- Barcz, E., Milewski, Ł., Dziunycz, P., Kamiński, P., Płoski, R., Malejczyk, J.,** 2012. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration. *Fertil. Steril.* 97, 1380–1386.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.03.057
- Barnhart, K., Dunsmoor-Su, R., Coutifaris, C.,** 2002. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 77, 1148–55.
- Bastu, E., Yasa, C., Dural, O., Mutlu, M.F., Celik, C., Ugurlucan, F.G., Buyru, F.,** 2014. Comparison of Ovulation Induction Protocols After Endometrioma Resection. *JSL S J. Soc. Laparoendosc. Surg.* 18, e2014.00128. doi:10.4293/JSL S.2014.00128
- Benagiano, G., Brosens, I.,** 2006. History of adenomyosis. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 20, 449–63. doi:10.1016/j.bpobgyn.2006.01.007
- Benaglia, L., Bermejo, A., Somigliana, E., Faulisi, S., Ragni, G., Fedele, L., Garcia-Velasco, J.A.,** 2013. In vitro fertilization outcome in women with unoperated bilateral endometriomas. *Fertil. Steril.* 99, 1714–9. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.01.110
- Benaglia, L., Somigliana, E., Vercellini, P., Benedetti, F., Iemmello, R., Vighi, V., Santi, G., Ragni, G.,** 2010. The impact of IVF procedures on endometriosis recurrence. *Eur J Obs. Gynecol Reprod Biol* 148, 49–52. doi:S0301-2115(09)00545-4 [pii] 10.1016/j.ejogrb.2009.09.007

- Benschop, L., Farquhar, C., van der Poel, N., Heineman, M.J.,** 2010. Interventions for women with endometrioma prior to assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst. Rev.* CD008571. doi:10.1002/14651858.CD008571.pub2
- Bergendal, A., Naffah, S., Nagy, C., Bergqvist, A., Sjöblom, P., Hillensjö, T.,** 1998. Outcome of IVF in patients with endometriosis in comparison with tubal-factor infertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 15, 530–4.
- Bergqvist, A., Bruse, C., Carlberg, M., Carlström, K.,** 2001. Interleukin 1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in endometriotic tissue and in endometrium. *Fertil. Steril.* 75, 489–95.
- Bianchi, P.H.M., Pereira, R.M.A., Zanatta, A., Alegretti, J.R., Motta, E.L.A., Serafini, P.C.,** 2009. Extensive Excision of Deep Infiltrative Endometriosis before In Vitro Fertilization Significantly Improves Pregnancy Rates. *J. Minim. Invasive Gynecol.* 16, 174–180. doi:10.1016/j.jmig.2008.12.009
- Bilotas, M., Barañao, R.I., Buquet, R., Sueldo, C., Tesone, M., Meresman, G.,** 2007. Effect of GnRH analogues on apoptosis and expression of Bcl-2, Bax, Fas and FasL proteins in endometrial epithelial cell cultures from patients with endometriosis and controls. *Hum. Reprod.* 22, 644–53. doi:10.1093/humrep/del423
- Bischoff, F.Z., Simpson, J.L.,** 2000. Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum. Reprod. Update* 6, 37–44. doi:10.1093/humupd/6.1.37
- Bongioanni, F., Revelli, A., Gennarelli, G., Guidetti, D., Delle Piane, L., Holte, J.,** 2011. Ovarian endometriomas and IVF: a retrospective case-control study. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 9, 81. doi:10.1186/1477-7827-9-81
- Bonte, H., Chapron, C., Vieira, M., Fauconnier, A., Barakat, H., Fritel, X., Vacher-Lavenu, M.-C., Dubuisson, J.-B.,** 2002. Histologic appearance of endometriosis infiltrating uterosacral ligaments in women with painful symptoms. *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 9, 519–24.
- Braun, D.P., Ding, J., Shaheen, F., Willey, J.C., Rana, N., Dmowski, W.P.,** 2007. Quantitative expression of apoptosis-regulating genes in endometrium from women

with and without endometriosis. *Fertil. Steril.* 87, 263–8. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.06.026

Braun, D.P., Muriana, A., Gebel, H., Rotman, C., Rana, N., Dmowski, W.P., 1994. Monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 61, 78–84.

Braza-Boils, A., Salloum-Asfar, S., Marí-Alexandre, J., Arroyo, A.B., González-Conejero, R., Barceló-Molina, M., García-Oms, J., Vicente, V., Estellés, A., Gilabert-Estellés, J., Martínez, C., 2015. Peritoneal fluid modifies the microRNA expression profile in endometrial and endometriotic cells from women with endometriosis. *Hum. Reprod.* 30, 2292–302. doi:10.1093/humrep/dev204

Brosens, J.J., Hodgetts, A., Feroze-Zaidi, F., Sherwin, J.R.A., Fusi, L., Salker, M.S., Higham, J., Rose, G.L., Kajihara, T., Young, S.L., Lessey, B.A., Henriot, P., Langford, P.R., Fazleabas, A.T., 2010. Proteomic analysis of endometrium from fertile and infertile patients suggests a role for apolipoprotein A-I in embryo implantation failure and endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.* 16, 273–85. doi:10.1093/molehr/gap108

Buck Louis, G.M., Hediger, M.L., Peterson, C.M., Croughan, M., Sundaram, R., Stanford, J., Chen, Z., Fujimoto, V.Y., Varner, M.W., Trumble, A., Giudice, L.C., 2011. Incidence of endometriosis by study population and diagnostic method: the ENDO study. *Fertil. Steril.* 96, 360–5. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.05.087

Bukulmez, O., Yarali, H., Gurgan, T., 2001. The presence and extent of endometriosis do not effect clinical pregnancy and implantation rates in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 96, 102–7.

Bulun, S.E., Monsivais, D., Kakinuma, T., Furukawa, Y., Bernardi, L., Pavone, M.E., Dyson, M., 2015. Molecular biology of endometriosis: from aromatase to genomic abnormalities. *Semin. Reprod. Med.* 33, 220–4. doi:10.1055/s-0035-1554053

Burney, R.O., Giudice, L.C., 2012. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil. Steril.* 98, 511–9. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.06.029

- Burney, R.O., Talbi, S., Hamilton, A.E., Vo, K.C., Nyegaard, M., Nezhat, C.R., Lessey, B.A., Giudice, L.C.,** 2007. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology* 148, 3814–26. doi:10.1210/en.2006-1692
- Caccavo, D., Pellegrino, N.M., Totaro, I., Vacca, M.P., Selvaggi, L., Depalo, R.,** 2011. Anti-laminin-1 antibodies in sera and follicular fluid of women with endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 24, 481–8.
- Cahill, D.J., Harlow, C.R., Wardle, P.G.,** 2003. Pre-ovulatory granulosa cells of infertile women with endometriosis are less sensitive to luteinizing hormone. *Am. J. Reprod. Immunol.* 49, 66–9.
- Cahill, D.J., Wardle, P.G., Maile, L.A., Harlow, C.R., Hull, M.G.,** 1997. Ovarian dysfunction in endometriosis-associated and unexplained infertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 14, 554–7.
- Campbell, I.G., Thomas, E.J.,** 2001. Endometriosis: candidate genes. *Hum. Reprod. Update* 7, 15–20. doi:10.1093/humupd/7.1.15
- Canis, M., Donnez, J.G., Guzick, D.S., Halme, J.K., Rock, J. a., Schenken, R.S., Vernon, M.W.,** 1997. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil. Steril.* 67, 817–821. doi:10.1016/S0015-0282(97)81391-X
- Canis, M., Pouly, J.L., Tamburro, S., Mage, G., Wattiez, A., Bruhat, M.A.,** 2001. Ovarian response during IVF-embryo transfer cycles after laparoscopic ovarian cystectomy for endometriotic cysts of >3 cm in diameter. *Hum. Reprod.* 16, 2583–6.
- Capobianco, A.,** 2013. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front. Immunol.* 4, 9. doi:10.3389/fimmu.2013.00009
- Carlberg, M., Nejaty, J., Fröysa, B., Guan, Y., Söder, O., Bergqvist, A.,** 2000. Elevated expression of tumour necrosis factor alpha in cultured granulosa cells from women with endometriosis. *Hum. Reprod.* 15, 1250–5.

- Ceccaroni, M., Clarizia, R., Cosma, S., Pesci, A., Pontrelli, G., Minelli, L.,** 2011. Cyclic sciatica in a patient with deep monolateral endometriosis infiltrating the right sciatic nerve. *J. Spinal Disord. Tech.* 24, 474–8. doi:10.1097/BSD.0b013e31820fc53b
- Chang, H.J., Han, S.H., Lee, J.R., Jee, B.C., Lee, B.I., Suh, C.S., Kim, S.H.,** 2010. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil. Steril.* 94, 343–349. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.02.022
- Chapron, C., Chopin, N., Borghese, B., Foulot, H., Dousset, B., Vacher-Lavenu, M.C., Vieira, M., Hasan, W., Bricou, A.,** 2006. Deeply infiltrating endometriosis: pathogenetic implications of the anatomical distribution. *Hum. Reprod.* 21, 1839–45. doi:10.1093/humrep/del079
- Check, J.H., Liss, J.R., Krotec, J.W., Choe, J.K., Brasile, D.,** 2010. The effect of endometriosis on pregnancy outcome following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) in women with decreased egg reserve. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 37, 108–9.
- Chedid, S., Camus, M., Smitz, J., Van Steirteghem, A.C., Devroey, P.,** 1995. Comparison among different ovarian stimulation regimens for assisted procreation procedures in patients with endometriosis. *Hum. Reprod.* 10, 2406–11.
- Cho, Y.J., Kim, N.H., Jeong, K.-A., Lee, J.Y., Moon, H.-S., Kim, H.-L., Chung, H.W.,** 2013. Association between MMP-2 and TIMP-2 gene polymorphisms and advanced-stage endometriosis in Korean women. *Am. J. Reprod. Immunol.* 69, 73–84. doi:10.1111/aji.12020
- Choi, Y.S., Cho, S., Seo, S.K., Park, J.H., Kim, S.H., Lee, B.S.,** 2015. Alteration in the intrafollicular thiol-redox system in infertile women with endometriosis. *Reproduction* 149, 155–62. doi:10.1530/REP-14-0438
- Chou, C.-S., Zhu, H., MacCalman, C.D., Leung, P.C.K.,** 2003. Regulatory effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) I and GnRH II on the levels of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1

in primary cultures of human extravillous cytotrophoblasts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 4781–90. doi:10.1210/jc.2003-030659

Chou, C.-S., Zhu, H., Shalev, E., MacCalman, C.D., Leung, P.C.K., 2002. The effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) I and GnRH II on the urokinase-type plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor system in human extravillous cytotrophoblasts in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 5594–603. doi:10.1210/jc.2002-020883

Cirpan, T., Akman, L., Yucebilgin, M.S., Terek, M.C., Kazandi, M., 2013. Reproductive outcome after surgical treatment of endometriosis--retrospective analytical study. *Ginekol. Pol.* 84, 1041–4.

Coccia, M.E., Rizzello, F., Gianfranco, S., 2010. Does controlled ovarian hyperstimulation in women with a history of endometriosis influence recurrence rate? *J. Womens. Health (Larchmt).* 19, 2063–9. doi:10.1089/jwh.2009.1914

Cohen, J., Ziyat, A., Naoura, I., Chabbert-Buffet, N., Aractingi, S., Darai, E., Lefevre, B., 2015. Effect of induced peritoneal endometriosis on oocyte and embryo quality in a mouse model. *J. Assist. Reprod. Genet.* 32, 263–70. doi:10.1007/s10815-014-0390-1

Cominelli, A., Gaide Chevronnay, H.P., Lemoine, P., Courtoy, P.J., Marbaix, E., Henriquet, P., 2014. Matrix metalloproteinase-27 is expressed in CD163+/CD206+ M2 macrophages in the cycling human endometrium and in superficial endometriotic lesions. *Mol. Hum. Reprod.* 20, 767–75. doi:10.1093/molehr/gau034

Cornillie, F.J., Oosterlynck, D., Lauweryns, J.M., Koninckx, P.R., 1990. Deeply infiltrating pelvic endometriosis: histology and clinical significance. *Fertil. Steril.* 53, 978–83.

Cramer, D.W., Missmer, S.A., 2002. The epidemiology of endometriosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 955, 11–22; discussion 34–6, 396–406.

Cunha-Filho JS, Lemos NA, Freitas FM, Kiefer K, Faller M, Passos EPCunha-Filho, J.S.L., 2003. Insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF binding protein-1 and -3

in the follicular fluid of infertile patients with endometriosis. *Hum. Reprod.* 18, 423–428. doi:10.1093/humrep/deg077

Curtis, P., Jackson, A., Bernard, A., Shaw, R.W., 1993. Pretreatment with gonadotrophin releasing hormone (GnRH) analogue prior to in vitro fertilisation for patients with endometriosis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 52, 211–6.

D'Hooghe, T.M., Bambra, C.S., Suleman, M.A., Dunselman, G.A., Evers, H.L., Koninckx, P.R., 1994. Development of a model of retrograde menstruation in baboons (*Papio anubis*). *Fertil. Steril.* 62, 635–8.

D'Hooghe, T.M., Denys, B., Spiessens, C., Meuleman, C., Debrock, S., 2006. Is the endometriosis recurrence rate increased after ovarian hyperstimulation? *Fertil. Steril.* 86, 283–90. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.01.016

Dale, P.O., Tanbo, T., Abyholm, T., 1990. Endometriosis-associated infertility treated by long-term gonadotropin-releasing hormone agonist administration and assisted fertilization. *J. In Vitro Fert. Embryo Transf.* 7, 180–1.

De Abreu, L.G., Romão, G.S., Dos Reis, R.M., Ferriani, R.A., De Sá, M.F.S., De Moura, M.D., 2006. Reduced aromatase activity in granulosa cells of women with endometriosis undergoing assisted reproduction techniques. *Gynecol. Endocrinol.* 22, 432–6. doi:10.1080/09513590600902937

De Ziegler, D., Borghese, B., Chapron, C., 2010a. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *Lancet (London, England)* 376, 730–8. doi:10.1016/S0140-6736(10)60490-4

De Ziegler, D., Gayet, V., Aubriot, F.X., Fauque, P., Streuli, I., Wolf, J.P., de Mouzon, J., Chapron, C., 2010b. Use of oral contraceptives in women with endometriosis before assisted reproduction treatment improves outcomes. *Fertil. Steril.* 94, 2796–2799. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.05.056

Dechaud, H., Dechanet, C., Brunet, C., Reyftmann, L., Hamamah, S., Hedon, B., 2009. Endometriosis and in vitro fertilisation: a review. *Gynecol. Endocrinol.* 25, 717–21. doi:10.3109/09513590903159599

- Dela Cruz, C., Reis, F.M., 2015.** The role of TGF β superfamily members in the pathophysiology of endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.* 31, 511–5. doi:10.3109/09513590.2015.1018166
- Depalo, R., Cavallini, A., Lorusso, F., Bassi, E., Totaro, I., Marzullo, A., Bettocchi, S., Selvaggi, L., 2009.** Apoptosis in normal ovaries of women with and without endometriosis. *Reprod. Biomed. Online* 19, 808–15.
- Dicker, D., Ashkenazi, J., Feldberg, D., Levy, T., Dekel, A., Ben-Rafael, Z., 1993.** Severe abdominal complications after transvaginal ultrasonographically guided retrieval of oocytes for in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil. Steril.* 59, 1313–5.
- Dicker, D., Goldman, G.A., Ashkenazi, J., Feldberg, D., Voliovitz, I., Goldman, J.A., 1990.** The value of pre-treatment with gonadotrophin releasing hormone (GnRH) analogue in IVF-ET therapy of severe endometriosis. *Hum Reprod* 5, 418–420.
- Dicker, D., Goldman, J.A., Feldberg, D., Ashkenazi, J., Levy, T., 1991.** Transvaginal ultrasonic needle-guided aspiration of endometriotic cysts before ovulation induction for in vitro fertilization. *J. In Vitro Fert. Embryo Transf.* 8, 286–9.
- Dicker, D., Goldman, J.A., Levy, T., Feldberg, D., Ashkenazi, J., 1992.** The impact of long-term gonadotropin-releasing hormone analogue treatment on preclinical abortions in patients with severe endometriosis undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 57, 597–600.
- Dmowski, W.P., Gebel, H.M., Braun, D.P., 1994.** The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 159, 7–14.
- Dmowski, W.P., Radwanska, E., 1984.** Current concepts on pathology, histogenesis and etiology of endometriosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 123, 29–33.
- Dmowski, W.P., Rana, N., Michalowska, J., Friberg, J., Papierniak, C., El-Roeiy, A., 1995.** The effect of endometriosis, its stage and activity, and of autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates. *Fertil. Steril.* 63, 555–62.

- Donaghay, M., Lessey, B.A.,** 2007. Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease. *Semin. Reprod. Med.* 25, 461–75. doi:10.1055/s-2007-991044
- Dong, M., Shi, Y., Cheng, Q., Hao, M.,** 2001. Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis. *J. Reprod. Med.* 46, 887–91.
- Donnez, J., Wyns, C., Nisolle, M.,** 2001. Does ovarian surgery for endometriomas impair the ovarian response to gonadotropin? *Fertil. Steril.* 76, 662–5.
- Doody, M.C., Gibbons, W.E., Buttram, V.C.,** 1988. Linear regression analysis of ultrasound follicular growth series: evidence for an abnormality of follicular growth in endometriosis patients. *Fertil. Steril.* 49, 47–51.
- Esinler, I., Bozdag, G., Aybar, F., Bayar, U., Yarali, H.,** 2006. Outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection after laparoscopic cystectomy for endometriomas. *Fertil. Steril.* 85, 1730–1735. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.10.076
- Eskenazi, B., Warner, M.L.,** 1997. Epidemiology of endometriosis. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 24, 235–58.
- Fábregues, F., Balasch, J., Creus, M., Cívico, S., Carmona, F., Puerto, B., Vanrell, J.A.,** 1998. Long-term down-regulation does not improve pregnancy rates in an in vitro fertilization program. *Fertil. Steril.* 70, 46–51.
- Fadhlaoui, A., Bouquet de la Jolinière, J., Feki, A.,** 2014. Endometriosis and Infertility: How and When to Treat? *Front. Surg.* 1, 1–6. doi:10.3389/fsurg.2014.00024
- Fair, T.,** 2003. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim. Reprod. Sci.* 78, 203–16.
- Fassbender, A., Burney, R.O., O, D.F., D’Hooghe, T., Giudice, L.,** 2015. Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. *Biomed Res. Int.* 2015, 130854. doi:10.1155/2015/130854

- Ferrero, S., Gillott, D.J., Remorgida, V., Anserini, P., Ragni, N., Grudzinskas, J.G.,** 2009. GnRH analogue remarkably down-regulates inflammatory proteins in peritoneal fluid proteome of women with endometriosis. *J. Reprod. Med.* 54, 223–31.
- Filippi, I., Carrarelli, P., Luisi, S., Batteux, F., Chapron, C., Naldini, A., Petraglia, F.,** 2015. Different Expression of Hypoxic and Angiogenic Factors in Human Endometriotic Lesions. *Reprod. Sci.* doi:10.1177/1933719115607978
- Foster, D.C., Stern, J.L., Buscema, J., Rock, J.A., Woodruff, J.D.,** 1981. Pleural and parenchymal pulmonary endometriosis. *Obstet. Gynecol.* 58, 552–6.
- Garcia-Velasco, J. a., Mahutte, N.G., Corona, J., Zúñiga, V., Gilés, J., Arici, A., Pellicer, A.,** 2004. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes: A matched, case-control study. *Fertil. Steril.* 81, 1194–1197. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.04.006
- Garrido, N., Navarro, J., Remohí, J., Simón, C., Pellicer, A.,** 2000. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum. Reprod. Update* 6, 67–74.
- Garrido, N., Pellicer, A., Remohí, J., Simón, C.,** 2003. Uterine and Ovarian Function in Endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* 21, 183–192. doi:10.1055/s-2003-41325
- Gasca, S., Pellestor, F., Assou, S., Loup, V., Anahory, T., Dechaud, H., De Vos, J., Hamamah, S.,** 2007. Identifying new human oocyte marker genes: a microarray approach. *Reprod. Biomed. Online* 14, 175–83.
- Geber, S., Paraschos, T., Atkinson, G., Margara, R., Winston, R.M.,** 1995. Results of IVF in patients with endometriosis: the severity of the disease does not affect outcome, or the incidence of miscarriage. *Hum Reprod* 10, 1507–1511.
- Giannarini, G., Scott, C.A., Moro, U., Grossetti, B., Pomara, G., Selli, C.,** 2006. Cystic endometriosis of the epididymis. *Urology* 68, 203.e1–3. doi:10.1016/j.urology.2006.01.017

- Gilabert-Estellés, J., Estellés, A., Gilabert, J., Castelló, R., España, F., Falcó, C., Romeu, A., Chirivella, M., Zorio, E., Aznar, J.,** 2003. Expression of several components of the plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in endometriosis. *Hum. Reprod.* 18, 1516–22.
- Gilabert-Estellés, J., Ramón, L.A., España, F., Gilabert, J., Vila, V., Réganon, E., Castelló, R., Chirivella, M., Estellés, A.,** 2007. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Hum. Reprod.* 22, 2120–7. doi:10.1093/humrep/dem149
- Gizzo, S., Vitagliano, A., Noventa, M., Litta, P., Saccardi, C., Quaranta, M., 2015. Surgery, endometriosis-related infertility and negative impact on ovarian reserve: “which came first, the hen or the egg?” An unresolved dilemma. *Arch. Gynecol. Obstet.* 292, 709–11. doi:10.1007/s00404-015-3792-0
- González-Ramos, R., Defrère, S., Devoto, L.,** 2012. Nuclear factor- κ B: a main regulator of inflammation and cell survival in endometriosis pathophysiology. *Fertil. Steril.* 98, 520–528. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.06.021
- Goud, P.T., Goud, A.P., Joshi, N., Puscheck, E., Diamond, M.P., Abu-Soud, H.M.,** 2014. Dynamics of nitric oxide, altered follicular microenvironment, and oocyte quality in women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 102, 151–159.e5. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.03.053
- Gründker, C., Günthert, A.R., Millar, R.P., Emons, G.,** 2002. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1427–30. doi:10.1210/jcem.87.3.8437
- Guérin, P., El Mouatassim, S., Ménézo, Y.,** 2001. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum. Reprod. Update* 7, 175–89.
- Gui, B., Valentini, A.L., Ninivaggi, V., Marino, M., Iacobucci, M., Bonomo, L.,** 2014. Deep pelvic endometriosis: don't forget round ligaments. Review of anatomy,

clinical characteristics, and MR imaging features. *Abdom. Imaging* 39, 622–32. doi:10.1007/s00261-014-0091-3

- Guo, Y.H., Lu, N., Zhang, Y., Su, Y.C., Wang, Y., Zhang, Y. Le, Sun, Y.P.**, 2012. Comparative study on the pregnancy outcomes of in vitro fertilization-embryo transfer between long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist combined with transvaginal ultrasound-guided cyst aspiration and long-acting gonadotropin-releasing hormone ag. *Contemp. Clin. Trials* 33, 1206–1210. doi:10.1016/j.cct.2012.07.009
- Gupta, S., Agarwal, A., Krajcir, N., Alvarez, J.G.**, 2006. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod. Biomed. Online* 13, 126–34.
- Halban, J.**, 1924. Hysteroadenosis metaplasica. *Wiene Klin. Wochens- chr* 37, p. 1205–1206.
- Halme, J., Hammond, M.G., Hulka, J.F., Raj, S.G., Talbert, L.M.**, 1984. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet. Gynecol.* 64, 151–4.
- Hamamah, S., Matha, V., Berthenet, C., Anahory, T., Loup, V., Dechaud, H., Hedon, B., Fernandez, A., Lamb, N.**, 2006. Comparative protein expression profiling in human cumulus cells in relation to oocyte fertilization and ovarian stimulation protocol. *Reprod. Biomed. Online* 13, 807–14.
- Hamel, M., Dufort, I., Robert, C., Gravel, C., Leveille, M.-C., Leader, A., Sirard, M.-A.**, 2008. Identification of differentially expressed markers in human follicular cells associated with competent oocytes. *Hum. Reprod.* 23, den048.
- Harada, T., Iwabe, T., Terakawa, N.**, 2001. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil. Steril.* 76, 1–10.
- Harada, T., Kaponis, A., Iwabe, T., Taniguchi, F., Makrydimas, G., Sofikitis, N., Paschopoulos, M., Paraskevidis, E., Terakawa, N.,.** 2004. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum. Reprod. Update* 10, 29–38.

- Harb, H.M., Gallos, I.D., Chu, J., Harb, M., Coomarasamy, a.**, 2013. The effect of endometriosis on in vitro fertilisation outcome: A systematic review and meta-analysis. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 120, 1308–1320. doi:10.1111/1471-0528.12366
- Harlow, C.R., Cahill, D.J., Maile, L.A., Talbot, W.M., Mears, J., Wardle, P.G., Hull, M.G.**, 1996. Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 426–9. doi:10.1210/jcem.81.1.8550788
- Hashin, H.A.**, 2012. Gonadotrophin-releasing hormone analogues and endometriosis: current strategies and new insights. *Gynecol. Endocrinology* 28, 314–321. doi:10.3109/09513590.2011.650751
- Hediger, M.L., Hartnett, H.J., Louis, G.M.B.**, 2005. Association of endometriosis with body size and figure. *Fertil. Steril.* 84, 1366–74. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.05.029
- Hickman, T.N.**, 2002. Impact of endometriosis on implantation. Data from the Wilford Hall Medical Center IVF-ET Program. *J Reprod Med* 47, 801–808.
- Ho, H.-Y., Lee, R.K.-K., Hwu, Y.-M., Lin, M.-H., Su, J.-T., Tsai, Y.-C.**, 2002. Poor response of ovaries with endometrioma previously treated with cystectomy to controlled ovarian hyperstimulation. *J. Assist. Reprod. Genet.* 19, 507–11.
- Huang, F., Cao, J., Liu, Q., Zou, Y., Li, H., Yin, T.**, 2013a. MAPK/ERK signal pathway involved expression of COX-2 and VEGF by IL-1 β induced in human endometriosis stromal cells in vitro. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 6, 2129–36.
- Huang, F., Zou, Y., Wang, H., Cao, J., Yin, T.**, 2013b. In vitro apoptosis effects of GnRHIII on endometrial stromal cells from patients with endometriosis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 6, 1603–9.
- Huang HY, Lee CL, Lai YM, Chang MY, Chang SY, S.Y.**, 1997. The outcome of in vitro fertilization and embryo transfer therapy in women with endometriosis failing to conceive after laparoscopic conservative surgery. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* May, 299–303.

- Hughes, E., Brown, J., Collins, J.J., Farquhar, C., Fedorkow, D.M., Vandekerckhove, P.,** 2007. Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* CD000155.
- Hull, M.G., Williams, J.A., Ray, B., McLaughlin, E.A., Akande, V.A., Ford, W.C.,** 1998. The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa. *Hum. Reprod.* 13, 1825–30.
- Hull, M.L., Escareno, C.R., Godsland, J.M., Doig, J.R., Johnson, C.M., Phillips, S.C., Smith, S.K., Tavaré, S., Print, C.G., Charnock-Jones, D.S.,** 2008. Endometrial-peritoneal interactions during endometriotic lesion establishment. *Am. J. Pathol.* 173, 700–15. doi:10.2353/ajpath.2008.071128
- Hwu, Y.-M., Wu, F.S.-Y., Li, S.-H., Sun, F.-J., Lin, M.-H., Lee, R.K.-K.,** 2011. The impact of endometrioma and laparoscopic cystectomy on serum anti-Müllerian hormone levels. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 9, 80. doi:10.1186/1477-7827-9-80
- Imai, A., Takagi, A., Tamaya, T.,** 2000. Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometrial cell apoptosis in endometriosis in vitro. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 182, 1142–6.
- Inoue, M., Kobayashi, Y., Honda, I., Awaji, H., Fujii, A.,** 1992. The impact of endometriosis on the reproductive outcome of infertile patients. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167, 278–82.
- Jacob, S.,** 2011. Endometriosis and subfertility. *World Clin Obstet. Gynecol* 1 (2), 168–77.
- Jacobson, T.Z., Duffy, J.M., Barlow, D., Farquhar, C., Koninckx, P.R., Olive, D.,** 2010. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane database Syst. Rev.* CD001398. doi:10.1002/14651858.CD001398.pub2
- Jenkins, S., Olive, D.L., Haney, A.F.,** 1986. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet. Gynecol.* 67, 335–8.

- Johnson, N.P., Hummelshoj, L.,** 2013. Consensus on current management of endometriosis. *Hum. Reprod.* 28, 1552–1568. doi:10.1093/humrep/det050
- Kang, Y.-J., Jeung, I.C., Park, A., Park, Y.-J., Jung, H., Kim, T.-D., Lee, H.G., Choi, I., Yoon, S.R.,** 2014. An increased level of IL-6 suppresses NK cell activity in peritoneal fluid of patients with endometriosis via regulation of SHP-2 expression. *Hum. Reprod.* 29, 2176–89. doi:10.1093/humrep/deu172
- Kaponis, A., Taniguchi, F., Azuma, Y., Deura, I., Vitsas, C., Decavalas, G.O., Harada, T.,** 2015. Current treatment of endometrioma. *Obstet. Gynecol. Surv.* 70, 183–95. doi:10.1097/OGX.000000000000157
- Karita, M., Yamashita, Y., Hayashi, A., Yoshida, Y., Hayashi, M., Yamamoto, H., Tana-be, A., Terai, Y., Ohmichi, M.,** 2011. Does advanced-stage endometriosis affect the gene expression of estrogen and progesterone receptors in granulosa cells? *Fertil. Steril.* 95, 889–94. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.12.026
- Kawwass, J.F., Crawford, S., Session, D.R., Kissin, D.M., Jamieson, D.J.,** 2015. Endometriosis and assisted reproductive technology: United States trends and outcomes 2000-2011. *Fertil. Steril.* 103, 1537–43. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.03.003
- Kennedy, S., Bergqvist, A., Chapron, C., D’Hooghe, T., Dunselman, G., Greb, R., Hummelshoj, L., Prentice, A., Saridogan, E., Koninckx, P., Matorras, R., Mueller, M., Garcia-Velasco, J.,** 2005. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum. Reprod.* 20, 2698–2704. doi:10.1093/humrep/dei135
- Kennedy, S.H., Starkey, P.M., Sargent, I.L., Hicks, B.R., Barlow, D.H.,** 1990. Antiendometrial antibodies in endometriosis measured by an enzyme-linked immunosorbent assay before and after treatment with danazol and nafarelin. *Obstet. Gynecol.* 75, 914–8.
- Khoufache, K., Bazin, S., Girard, K., Guillemette, J., Roy, M.-C., Verreault, J.-P., Al-Abed, Y., Foster, W., Akoum, A.,** 2012. Macrophage migration inhibitory factor antagonist blocks the development of endometriosis in vivo. *PLoS One* 7, e37264. doi:10.1371/journal.pone.0037264

- Kim, C.H., Chae, H.D., Kang, B.M., Chang, Y.S., Mok, J.E.,** 1997. The immunotherapy during in vitro fertilization and embryo transfer cycles in infertile patients with endometriosis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 23, 463–70.
- Kim, S.H., Kim, S.R., Ihm, H.J., Oh, Y.S., Chae, H.D., Kim, C.-H., Kang, B.M.,** 2013. Regulation of P21-activated kinase-4 by progesterone and tumor necrosis factor- α in human endometrium and its increased expression in advanced-stage endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98, E238–48. doi:10.1210/jc.2012-2969
- Kitawaki, J., Kado, N., Ishihara, H., Koshiha, H., Kitaoka, Y., Honjo, H.,** 2002. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 83, 149–55.
- Kitawaki, J., Noguchi, T., Amatsu, T., Maeda, K., Tsukamoto, K., Yamamoto, T., Fushiki, S., Osawa, Y., Honjo, H.,** 1997. Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biol. Reprod.* 57, 514–9.
- Koike, T., Minakami, H., Motoyama, M., Ogawa, S., Fujiwara, H., Sato, I.,** 2002. Reproductive performance after ultrasound-guided transvaginal ethanol sclerotherapy for ovarian endometriotic cysts. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 105, 39.
- Kolibianakis, E.M., Collins, J., Tarlatzis, B.C., Devroey, P., Diedrich, K., Griesinger, G.,** 2006. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 12, 651–71. doi:10.1093/humupd/dml038
- Kovoor, E., Nassif, J., Miranda-Mendoza, I., Wattiez, A.,** 2010. Endometriosis of bladder: outcomes after laparoscopic surgery. *J. Minim. Invasive Gynecol.* 17, 600–4. doi:10.1016/j.jmig.2010.05.008

- Kumbak, B., Kahraman, S., Karlikaya, G., Lacin, S., Guney, A.,** 2008. In vitro fertilization in normoresponder patients with endometriomas: comparison with basal simple ovarian cysts. *Gynecol. Obstet. Invest.* 65, 212–6. doi:10.1159/000112310
- Kunz, G., Noe, M., Herbertz, M., Leyendecker, G.,** 1998. Uterine peristalsis during the follicular phase of the menstrual cycle: effects of oestrogen, antioestrogen and oxytocin. *Hum. Reprod. Update* 4, 647–54.
- Lachapelle, M.H., Hemmings, R., Roy, D.C., Falcone, T., Miron, P.,** 1996. Flow cytometric evaluation of leukocyte subpopulations in the follicular fluids of infertile patients. *Fertil. Steril.* 65, 1135–40.
- Laschke, M.W., Giebels, C., Menger, M.D.,** 2011. Vasculogenesis: a new piece of the endometriosis puzzle. *Hum. Reprod. Update* 17, 628–36. doi:10.1093/humupd/dmr023
- Lafer, M.,** 2000. Premenarcheal Endometriosis Without an Associated Obstructive Anomaly: Presentation, Diagnosis, and Treatment. *Fertil. Steril.* 74, S15. doi:10.1016/S0015-0282(00)00764-0
- Lebovic, D.I., Mueller, M.D., Taylor, R.N.,** 2001. Immunobiology of endometriosis. *Fertil. Steril.* 75, 1–10.
- Lessey, B.A.,** 2000. Medical management of endometriosis and infertility. *Fertil. Steril.* 73, 1089–96.
- Lessey, B.A., Castelbaum, A.J., Sawin, S.W., Buck, C.A., Schinnar, R., Bilker, W., Strom, B.L.,** 1994. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79, 643–649. doi:10.1210/jcem.79.2.7519194
- Lessey, B.A., Killam, A.P., Metzger, D.A., Haney, A.F., Greene, G.L., McCarty, K.S.,** 1988. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 67, 334–40. doi:10.1210/jcem-67-2-334

- Leyendecker, G., Wildt, L., Mall, G.,** 2009. The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair. *Arch. Gynecol. Obstet.* 280, 529–38. doi:10.1007/s00404-009-1191-0
- Li, M.-Q., Wang, Y., Chang, K.-K., Meng, Y.-H., Liu, L.-B., Mei, J., Wang, X.-Q., Jin, L.-P., Li, D.-J.,** 2014. CD4+Foxp3+ regulatory T cell differentiation mediated by endometrial stromal cell-derived TECK promotes the growth and invasion of endometriotic lesions. *Cell Death Dis.* 5, e1436. doi:10.1038/cddis.2014.414
- Lin, K.C., Chen, H.F., Huang, P.T., Wu, M.Y., Ho, H.N., Yang, Y.S.,** 2001. Effectiveness of postoperative adjuvant therapy in improving reproductive outcome of endometriosis-associated infertility. *J. Formos. Med. Assoc.* 100, 466–70.
- Lin, X.-N., Wei, M.-L., Tong, X.-M., Xu, W.-H., Zhou, F., Huang, Q.-X., Wen, G.-F., Zhang, S.-Y.,** 2012. Outcome of in vitro fertilization in endometriosis-associated infertility: a 5-year database cohort study. *Chin. Med. J. (Engl).* 125, 2688–93.
- Lin, Y.-J., Lai, M.-D., Lei, H.-Y., Wing, L.-Y.C.,** 2006. Neutrophils and macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in a mouse model. *Endocrinology* 147, 1278–86. doi:10.1210/en.2005-0790
- Liu, F., He, L., Liu, Y., Shi, Y., Du, H.,** 2013. The expression and role of oxidative stress markers in the serum and follicular fluid of patients with endometriosis. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 40, 372–6.
- Lousse, J.-C., Van Langendonck, A., Defrere, S., Ramos, R.G., Colette, S., Donnez, J.,** 2012. Peritoneal endometriosis is an inflammatory disease. *Front. Biosci. (Elite Ed).* 4, 23–40.
- Luo, Q., Chen, X.-J., Ding, G.-L., Dong, M.-Y., Huang, H.-F.,** 2010. Downregulative effects of nitric oxide on oocyte fertilization and embryo development: possible roles of nitric oxide in the pathogenesis of endometriosis-associated infertility. *Cell. Physiol. Biochem.* 26, 1023–8. doi:10.1159/000323977

- Lyons, R. a, Saridogan, E., Djahanbakhch, O.,** 2006. The reproductive significance of human Fallopian tube cilia. *Hum. Reprod. Update* 12, 363–72. doi:10.1093/humu-pd/dml012
- Ma, C., Qiao, J., Liu, P., Chen, G.,** 2008. Ovarian suppression treatment prior to in-vitro fertilization and embryo transfer in Chinese women with stage III or IV endometriosis. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 100, 167–70. doi:10.1016/j.ijgo.2007.08.021
- Machairiotis, N., Stylianaki, A., Dryllis, G., Zarogoulidis, P., Kouroutou, P., Tsiamis, N., Katsikogiannis, N., Sarika, E., Courcoutsakis, N., Tsiouda, T., Gschwendtner, A., Zarogoulidis, K., Sakkas, L., Baliaka, A., Machairiotis, C.,** 2013. Extrapelvic endometriosis: a rare entity or an under diagnosed condition? *Diagn. Pathol.* 8, 194. doi:10.1186/1746-1596-8-194
- Mahmood, T.A., Templeton, A.,** 1991. Folliculogenesis and ovulation in infertile women with mild endometriosis. *Hum. Reprod.* 6, 227–31.
- Makabe, S., Naguro, T., Stallone, T.,** 2006. Oocyte–follicle cell interactions during ovarian follicle development, as seen by high resolution scanning and transmission electron microscopy in humans. *Microsc. Res. Tech.* 69, 436–449. doi:10.1002/jemt.20303
- Malutan, A.M., Drugan, T., Costin, N., Ciortea, R., Bucuri, C., Rada, M.P., Mihu, D.,** 2015. Pro-inflammatory cytokines for evaluation of inflammatory status in endometriosis. *Cent. J. Immunol. / Polish Soc. Immunol. Elev. other Cent. Immunol. Soc.* 40, 96–102. doi:10.5114/ceji.2015.50840
- Mansour, G., Aziz, N., Sharma, R., Falcone, T., Goldberg, J., Agarwal, A.,** 2009. The impact of peritoneal fluid from healthy women and from women with endometriosis on sperm DNA and its relationship to the sperm deformity index. *Fertil. Steril.* 92, 61–67. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.05.048
- Marconi, G., Vilela, M., Quintana, R., Sueldo, C.,** 2002. Laparoscopic ovarian cystectomy of endometriomas does not affect the ovarian response to gonadotropin stimulation. *Fertil. Steril.* 78, 876–8.

- Marcus, S.F., Edwards, R.G.**, 1994. High rates of pregnancy after long-term down-regulation of women with severe endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171, 812–7.
- Marí-Alexandre, J., Sánchez-Izquierdo, D., Gilabert-Estellés, J., Barceló-Molina, M., Braza-Boils, A., Sandoval, J.**, 2016. miRNAs Regulation and Its Role as Biomarkers in Endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.* 17. doi:10.3390/ijms17010093
- Matalliotakis, I.M., Cakmak, H., Mahutte, N., Fragouli, Y., Arici, A., Sakkas, D.**, 2007. Women with advanced-stage endometriosis and previous surgery respond less well to gonadotropin stimulation, but have similar IVF implantation and delivery rates compared with women with tubal factor infertility. *Fertil Steril* 88, 1568–1572. doi:S0015-0282(07)00171-9 [pii] 10.1016/j.fertnstert.2007.01.037
- Matson, P.L., Yovich, J.L.**, 1986. The treatment of infertility associated with endometriosis by in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 46, 432–4.
- Matsuzaki, S., Darcha, C., Maleysson, E., Canis, M., Mage, G.**, 2010. Impaired down-regulation of E-cadherin and beta-catenin protein expression in endometrial epithelial cells in the mid-secretory endometrium of infertile patients with endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95, 3437–45. doi:10.1210/jc.2009-2713
- McLaren, J.**, 2000. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Hum. Reprod. Update* 6, 45–55.
- Mekaru, K., Yagi, C., Asato, K., Masamoto, H., Sakumoto, K., Aoki, Y.**, 2013. Effects of early endometriosis on IVF-ET outcomes. *Front. Biosci. (Elite Ed).* 5, 720–4.
- Meresman, G.F., Bilotas, M., Buquet, R.A., Barañao, R.I., Sueldo, C., Tesone, M.**, 2003a. Gonadotropin-releasing hormone agonist induces apoptosis and reduces cell proliferation in eutopic endometrial cultures from women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 80 Suppl 2, 702–7.
- Meresman, G.F., Bilotas, M.A., Lombardi, E., Tesone, M., Sueldo, C., Barañao, R.I.**, 2003b. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1beta and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Hum. Reprod.* 18, 1767–71.

- Meuleman, C., Vandenabeele, B., Fieuws, S., Spiessens, C., Timmerman, D., D'Hoo-
ghe, T.,** 2009. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal
ovulation and normospermic partners. *Fertil. Steril.* 92, 68–74. doi:10.1016/j.fert-
nstert.2008.04.056
- Meyer, R.,** 1919. The status of adenomyosis and adenomyoma, with a discussion of se-
roepithelial adenomyosis and sarcomatose adeno-myometritis. *Zel Gynaecol* 43,
745–50.
- Mishra, V. V.,** 2015. Prevalence; Characteristics and Management of Endometriosis
Amongst Infertile Women: A One Year Retrospective Study. *J. Clin. DIAGNOSTIC
Res.* 9, QC01–3. doi:10.7860/JCDR/2015/13687.6125
- Missmer, S.A., Hankinson, S.E., Spiegelman, D., Barbieri, R.L., Malspeis, S., Wi-
llett, W.C., Hunter, D.J.,** 2004a. Reproductive history and endometriosis
among premenopausal women. *Obstet. Gynecol.* 104, 965–74. doi:10.1097/01.
AOG.0000142714.54857.f8
- Missmer, S.A., Hankinson, S.E., Spiegelman, D., Barbieri, R.L., Marshall, L.M., Hun-
ter, D.J.,** 2004b. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by de-
mographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am. J. Epidemiol.* 160, 784–96.
doi:10.1093/aje/kwh275
- Monzó Miralles, A., Gilabert Estellés, J.,** 2011. Nuevas perspectivas en la endome-
triosis : Manejo de las pacientes con esterilidad. *Rev. Iberoam. Fertil.* 28, 205–215.
- Morimoto, C., Osuga, Y., Yano, T., Takemura, Y., Harada, M., Hirata, T., Hirota, Y.,
Yoshino, O., Koga, K., Kugu, K., Taketani, Y.,** 2005. GnRH II as a possible cytos-
tatic regulator in the development of endometriosis. *Hum. Reprod.* 20, 3212–8.
doi:10.1093/humrep/dei192
- Muñoz-Hernando, L., Muñoz-Gonzalez, J.L., Marqueta-Marques, L., Alvarez-Conejo,
C., Tejerizo-García, Á., Lopez-Gonzalez, G., Villegas-Muñoz, E., Martin-Jime-
nez, A., Jiménez-López, J.S.,** 2015. Endometriosis: alternative methods of medi-
cal treatment. *Int. J. Womens. Health* 7, 595–603. doi:10.2147/IJWH.S78829

- Nakahara, K., Saito, H., Saito, T., Ito, M., Ohta, N., Takahashi, T., Hiroi, M.,** 1998. Ovarian fecundity in patients with endometriosis can be estimated by the incidence of apoptotic bodies. *Fertil. Steril.* 69, 931–935. doi:10.1016/S0015-0282(98)00038-7
- Nakamura, K., Oosawa, M., Kondou, I., Inagaki, S., Shibata, H., Narita, O., Suganuma, N., Tomoda, Y.,** 1992. Menotropin stimulation after prolonged gonadotropin releasing hormone agonist pretreatment for in vitro fertilization in patients with endometriosis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 9, 113–7.
- Nap, A.W., Griffioen, A.W., Dunselman, G.A.J., Bouma-Ter Steege, J.C.A., Thijssen, V.L.J.L., Evers, J.L.H., Groothuis, P.G.,** 2004. Antiangiogenesis therapy for endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 1089–95. doi:10.1210/jc.2003-031406
- Nawroth, F., Rahimi, G., Nawroth, C., Foth, D., Ludwig, M., Schmidt, T.,** 2006. Is there an association between septate uterus and endometriosis? *Hum. Reprod.* 21, 542–4. doi:10.1093/humrep/dei344
- Nisolle, M., Donnez, J.,** 1997. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil. Steril.* 68, 585–96.
- Nisolle, M., Painsaveine, B., Bourdon, A., Berlière, M., Casanas-Roux, F., Donnez, J.,** 1990. Histologic study of peritoneal endometriosis in infertile women. *Fertil. Steril.* 53, 984–8.
- Nnoaham, K.E., Hummelshoj, L., Webster, P., D’Hooghe, T., de Cicco Nardone, F., de Cicco Nardone, C., Jenkinson, C., Kennedy, S.H., Zondervan, K.T.,** 2011. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil. Steril.* 96, 366–373.e8. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.05.090
- Noble, L.S., Simpson, E.R., Johns, A., Bulun, S.E.,** 1996. Aromatase expression in endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 174–9. doi:10.1210/jcem.81.1.8550748
- Noble, L.S., Takayama, K., Zeitoun, K.M., Putman, J.M., Johns, D.A., Hinshelwood, M.M., Agarwal, V.R., Zhao, Y., Carr, B.R., Bulun, S.E.,** 1997. Prostaglandin E2

stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 600–6. doi:10.1210/jcem.82.2.3783

Norenstedt, S.N., Linderoth-Nagy, C., Bergendal, A., Sjöblom, P., Bergqvist, A., 2001. Reduced developmental potential in oocytes from women with endometriosis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 18, 644–9.

O'Shea, R.T., Chen, C., Weiss, T., Jones, W.R., 1985. Endometriosis and in-vitro fertilisation. *Lancet (London, England)* 2, 723.

Olive, D.L., Henderson, D.Y., 1987. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet. Gynecol.* 69, 412–5.

Olive, D.L., Lindheim, S.R., Pritts, E.A., 2003. Endometriosis and infertility: what do we do for each stage? *Curr. Womens. Health Rep.* 3, 389–94.

Olivennes, F., Feldberg, D., Liu, H.C., Cohen, J., Moy, F., Rosenwaks, Z., 1995. Endometriosis: a stage by stage analysis--the role of in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 64, 392–398.

Oosterlynck, D.J., Cornillie, F.J., Waer, M., Vandeputte, M., Koninckx, P.R., 1991. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil. Steril.* 56, 45–51.

Oosterlynck, D.J., Meuleman, C., Waer, M., Koninckx, P.R., Vandeputte, M., 1993. Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis. *Obstet. Gynecol.* 82, 206–12.

Opøien, H.K., Fedorcsak, P., Omland, A.K., Åbyholm, T., Bjercke, S., Ertzeid, G., Oлдereid, N., Mellembakken, J.R., Tanbo, T., 2012. In vitro fertilization is a successful treatment in endometriosis-associated infertility. *Fertil. Steril.* doi:10.1016/j.fertnstert.2012.01.112

Oral, E., Demir, B., Inceboz, U., 2015. Endometriosis and ovarian reserve. *Womens. Health (Lond. Engl.)* 11, 671–5. doi:10.2217/whe.15.53

- Ortmann, O., Weiss, J.M., Diedrich, K.,** 2002. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. *Reprod. Biomed. Online* 5 Suppl 1, 1–7.
- Osborn, B.H., Haney, A.F., Misukonis, M.A., Weinberg, J.B.,** 2002. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Fertil. Steril.* 77, 46–51.
- Osuga, Y.,** 2008. Novel therapeutic strategies for endometriosis: a pathophysiological perspective. *Gynecol. Obstet. Invest.* 66 Suppl 1, 3–9. doi:10.1159/000148025
- Ouandaogo, Z.G., Frydman, N., Hesters, L., Assou, S., Haouzi, D., Dechaud, H., Frydman, R., Hamamah, S.,** 2012. Differences in transcriptomic profiles of human cumulus cells isolated from oocytes at GV, MI and MII stages after in vivo and in vitro oocyte maturation. *Hum. Reprod.* 27, 2438–2447. doi:10.1093/humrep/des172
- Ouandaogo, Z.G., Haouzi, D., Assou, S., Dechaud, H., Kadoch, I.J., De Vos, J., Hamamah, S.,** 2011. Human cumulus cells molecular signature in relation to oocyte nuclear maturity stage. *PLoS One* 6, e27179. doi:10.1371/journal.pone.0027179
- Pabuccu, R., Onalan, G., Kaya, C.,** 2007. GnRH agonist and antagonist protocols for stage I-II endometriosis and endometrioma in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil. Steril.* 88, 832–9. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.12.046
- Pal, L., Shifren, J.L., Isaacson, K.B., Chang, Y., Leykin, L., Toth, T.L.,** 1998. Impact of varying stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer. *J. Assist. Reprod. Genet.* 15, 27–31.
- Pauli, S.A., Session, D.R., Shang, W., Easley, K., Wieser, F., Taylor, R.N., Pierzchalski, K., Napoli, J.L., Kane, M.A., Sidell, N.,** 2013. Analysis of follicular fluid retinoids in women undergoing in vitro fertilization: retinoic acid influences embryo quality and is reduced in women with endometriosis. *Reprod. Sci.* 20, 1116–24. doi:10.1177/1933719113477487

- Pellicer, A., Albert, C., Garrido, N., Navarro, J., Remohí, J., Simón, C.,** 2000. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 55, 109–19.
- Pellicer, A., Albert, C., Mercader, A., Bonilla-Musoles, F., Remohí, J., Simón, C.,** 1998a. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil. Steril.* 70, 425–31.
- Pellicer, A., Oliveira, N., Ruiz, A., Remohí, J., Simón, C.,** 1995. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum. Reprod.* 10 Suppl 2, 91–7.
- Pellicer, A., Valbuena, D., Bauset, C., Albert, C., Bonilla-Musoles, F., Remohí, J., Simón, C.,** 1998b. The follicular endocrine environment in stimulated cycles of women with endometriosis: steroid levels and embryo quality. *Fertil. Steril.* 69, 1135–41.
- Pergialiotis, V., Vlachos, D., Protopapas, A., Chatzipapas, I., Vlachos, G.,** 2015. Review of the various laparoscopic techniques used in the treatment of bowel endometriosis. *Minerva Ginecol.* 67, 353–63.
- Polat, M., Boynukalin, F.K., Yarali, I., Esinler, I., Yarali, H.,** 2014. Endometriosis is not associated with inferior pregnancy rates in in vitro fertilization: an analysis of 616 patients. *Gynecol. Obstet. Invest.* 78, 59–64. doi:10.1159/000360607
- Pop-Trajkovic, S., Popović, J., Antić, V., Radović, D., Stavanovic, M., Vukomanović, P.,** 2014. Stages of endometriosis: Does it affect in vitro fertilization outcome. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 53, 224–226. doi:10.1016/j.tjog.2013.10.040
- Pu, D., Wu, J., Liu, J.,** 2011. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum. Reprod.* 26, 2742–9. doi:10.1093/humrep/der240
- Quiroga, R.,** 2015. Efecto de los análogos de la GnRH sobre la expresión de la aromatasa en células de la granulosa en pacientes con endometriosis. Tesis doctoral. Datos no publicados.

- Rakhila, H., Carli, C., Daris, M., Lemyre, M., Leboeuf, M., Akoum, A.,** 2013. Identification of multiple and distinct defects in prostaglandin biosynthetic pathways in eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 100, 1650–9.e1–2. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.08.016
- Reeve, L., Lashen, H., Pacey, A.A.,** 2005. Endometriosis affects sperm-endosalpingeal interactions. *Hum. Reprod.* 20, 448–51. doi:10.1093/humrep/deh606
- Reinblatt, S.L., Ishai, L., Shehata, F., Son, W.-Y., Tulandi, T., Almog, B.,** 2011. Effects of ovarian endometrioma on embryo quality. *Fertil. Steril.* 95, 2700–2702. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.03.002
- Remorgida, V., Anserini, P., Croce, S., Costa, M., Ferraiolo, A., Capitano, G.L.,** 1990. Comparison of different ovarian stimulation protocols for gamete intrafallopian transfer in patients with minimal and mild endometriosis. *Fertil. Steril.* 53, 1060–3.
- Revel, A.,** 2012. Defective endometrial receptivity. *Fertil. Steril.* 97, 1028–1032. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.03.039
- Ricci, A.G., Olivares, C.N., Bilotas, M.A., Meresman, G.F., Barañao, R.I.,** 2011. Effect of vascular endothelial growth factor inhibition on endometrial implant development in a murine model of endometriosis. *Reprod. Sci.* 18, 614–22. doi:10.1177/1933719110395406
- Rickes, D., Nickel, I., Kropf, S., Kleinstein, J.,** 2002. Increased pregnancy rates after ultralong postoperative therapy with gonadotropin-releasing hormone analogs in patients with endometriosis, in: *Fertility and Sterility*. pp. 757–762. doi:10.1016/S0015-0282(02)03338-1
- Rižner, T.L.,** 2009. Estrogen metabolism and action in endometriosis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 307, 8–18. doi:10.1016/j.mce.2009.03.022
- Rodriguez-Purata, J., Coroleu, B., Tur, R., Carrasco, B., Rodriguez, I., Barri, P.N.,** 2013. Endometriosis and IVF: are agonists really better? Analysis of 1180 cycles with the propensity score matching. *Gynecol. Endocrinol.* 29, 859–62. doi:10.3109/09513590.2013.808327

- Ruffo, G., Sartori, A., Crippa, S., Partelli, S., Barugola, G., Manzoni, A., Steinasser, M., Minelli, L., Falconi, M.,** 2012. Laparoscopic rectal resection for severe endometriosis of the mid and low rectum: technique and operative results. *Surg. Endosc.* 26, 1035–40. doi:10.1007/s00464-011-1991-8
- Ruiz-Flores, F.J., Garcia-Velasco, J.A.,** 2012. Is there a benefit for surgery in endometrioma-associated infertility? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 24, 136–140. doi:10.1097/GCO.0b013e32835175d9
- Ruiz-Velasco, V., Allende, S.,** 1998. Goserelin followed by assisted reproduction: results in infertile women with endometriosis. *Int. J. Fertil. Womens. Med.* 43, 18–23.
- Russell, W.,** 1899. Aberrant portions of the müllerian duct found in an ovary. Ovarian cysts of müllerian origin. *Bull. John Hopkins Hospi.* 10, 8 – 10.
- Saha, R., Pettersson, H.J., Svedberg, P., Olovsson, M., Bergqvist, A., Marions, L., Tornvall, P., Kuja-Halkola, R.,** 2015. The heritability of endometriosis. *Fertil. Steril.* doi:10.1016/j.fertnstert.2015.06.035
- Said, T.M., Agarwal, A., Falcone, T., Sharma, R.K., Bedaiwy, M.A., Li, L.,** 2005. Infliximab may reverse the toxic effects induced by tumor necrosis factor alpha in human spermatozoa: an in vitro model. *Fertil. Steril.* 83, 1665–73. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.11.068
- Sakamoto, Y., Harada, T., Horie, S., Iba, Y., Taniguchi, F., Yoshida, S., Iwabe, T., Terakawa, N.,** 2003. Tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 (IL-8) expression in endometriotic stromal cells, probably through nuclear factor-kappa B activation: gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced IL-8 expression. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 730–5. doi:10.1210/jc.2002-020666
- Sallam, H.N., Garcia-Velasco, J.A., Dias, S., Arici, A.,** 2006. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD004635. doi:10.1002/14651858.CD004635.pub2
- Sampson, J.,** 1925. Heterotopic or misplaced endometrial tissue. *Br J Obs. Gynaecol* (10), p. 649.

- Sampson JA**, 1927. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obs. Gynecol* 14:422-69.
- Sangi-Haghpeykar, H., Poindexter, A.N.**, 1995. Epidemiology of endometriosis among parous women. *Obstet. Gynecol.* 85, 983–92. doi:10.1016/0029-7844(95)00074-2
- Sasson, I.E., Taylor, H.S.**, 2008. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1127, 106–15. doi:10.1196/annals.1434.014
- Schultze-Mosgau, A., Griesinger, G., Altgassen, C., von Otte, S., Hornung, D., Die-drich, K.**, 2005. New developments in the use of peptide gonadotropin-releasing hormone antagonists versus agonists. *Expert Opin. Investig. Drugs* 14, 1085–97. doi:10.1517/13543784.14.9.1085
- Seli, E., Arici, A.**, 2003. Endometriosis: interaction of immune and endocrine systems. *Semin. Reprod. Med.* 21, 135–44. doi:10.1055/s-2003-41320
- Sharpe-Timms, K.L., Keisler, L.W., McIntush, E.W., Keisler, D.H.**, 1998. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 concentrations are attenuated in peritoneal fluid and sera of women with endometriosis and restored in sera by gonadotropin-releasing hormone agonist therapy. *Fertil. Steril.* 69, 1128–34.
- Shen, F., Yan, C., Liu, M., Feng, Y., Chen, Y.**, 2015. Decreased expression of mucin-1 in endometriosis endometrium correlated with progesterone receptor B involved in infertility. *Arch. Gynecol. Obstet.* 291, 439–45. doi:10.1007/s00404-014-3419-x
- Signorile, P.G., Baldi, F., Bussani, R., D’Armiento, M., De Falco, M., Boccellino, M., Quagliuolo, L., Baldi, A.**, 2010. New evidence of the presence of endometriosis in the human fetus. *Reprod. Biomed. Online* 21, 142–7. doi:10.1016/j.rbmo.2010.04.002
- Simón, C., Gutiérrez, A., Vidal, A., de los Santos, M.J., Tarín, J.J., Remohí, J., Pelli-cer, A.**, 1994. Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertilization and oocyte donation. *Hum. Reprod.* 9, 725–9.

- Simpson, J.L., Elias, S., Malinak, L.R., Buttram, V.C.,** 1980. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 137, 327–31.
- Sinaii, N., Plumb, K., Cotton, L., Lambert, A., Kennedy, S., Zondervan, K., Stratton, P.,** 2008. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease. *Fertil. Steril.* 89, 538–45. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.03.069
- Singh, A.K., Chattopadhyay, R., Chakravarty, B., Chaudhury, K.,** 2013. Altered circulating levels of matrix metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors and effect of progesterone supplementation in women with endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 100, 127–34.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.03.006
- Smith, M.P., Keay, S.D., Margo, F.C., Harlow, C.R., Wood, P.J., Cahill, D.J., Hull, M.G.R.,** 2002. Total cortisol levels are reduced in the periovulatory follicle of infertile women with minimal-mild endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 47, 52–6.
- Somigliana, E., Benaglia, L., Paffoni, A., Busnelli, A., Vigano, P., Vercellini, P.,** 2015. Risks of conservative management in women with ovarian endometriomas undergoing IVF. *Hum. Reprod. Update* 0, 1–14. doi:10.1093/humupd/dmv012
- Sõritsa, D., Saare, M., Laisk-Podar, T., Peters, M., Sõritsa, A., Matt, K., Karro, H., Salumets, A.,** 2015. Pregnancy Rate in Endometriosis Patients according to the Severity of the Disease after Using a Combined Approach of Laparoscopy, GnRH Agonist Treatment and in vitro Fertilization. *Gynecol. Obstet. Invest.* 79, 34–39. doi:10.1159/000365329
- Spaczynski, R.Z., Duleba, A.J., 2003. Diagnosis of endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* 21, 193–208. doi:10.1055/s-2003-41326
- Speroff L., Fritz M.A.,** 2006. *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. Madrid: Lippincott Williams and Wilkins, 7a ed.
- Steele, R.W., Dmowski, W.P., Marmer, D.J.,** 1984. Immunologic aspects of human endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 6, 33–6.

- Streuli, I., de Ziegler, D., Gayet, V., Santulli, P., Bijaoui, G., de Mouzon, J., Chapron, C.**, 2012. In women with endometriosis anti-Müllerian hormone levels are decreased only in those with previous endometrioma surgery. *Hum. Reprod.* 27, 3294–303. doi:10.1093/humrep/des274
- Sueldo, C.E., Kelly, E., Montoro, L., Subias, E., Baccaro, M., Swanson, J.A., Steinleitner, A., Lambert, H.**, 1990. Effect of interleukin-1 on gamete interaction and mouse embryo development. *J. Reprod. Med.* 35, 868–72.
- Suganuma, N., Wakahara, Y., Ishida, D., Asano, M., Kitagawa, T., Katsumata, Y., Moriwaki, T., Furuhashi, M.**, 2002. Pretreatment for ovarian endometrial cyst before in vitro fertilization. *Gynecol. Obstet. Invest.* 54 Suppl 1, 36–40; discussion 41–2. doi:66293
- Sung, L., Mukherjee, T., Takeshige, T., Bustillo, M., Copperman, A.B.**, 1997. Endometriosis is not detrimental to embryo implantation in oocyte recipients. *J. Assist. Reprod. Genet.* 14, 152–6.
- Surrey, E.S.**, 2015. Endometriosis-Related Infertility: The Role of the Assisted Reproductive Technologies. *Biomed Res. Int.* 2015, 482959. doi:10.1155/2015/482959
- Surrey, E.S., Silverberg, K.M., Surrey, M.W., Schoolcraft, W.B.**, 2002. Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis, in: *Fertility and Sterility*. pp. 699–704. doi:10.1016/S0015-0282(02)03373-3
- Suzuki, T., Izumi, S.I., Matsubayashi, H., Awaji, H., Yoshikata, K., Makino, T.**, 2005. Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 83, 908–913. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.11.028
- Takahashi, K., Nagata, H., Kitao, M.**, 1989. Clinical usefulness of determination of estradiol level in the menstrual blood for patients with endometriosis. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 41, 1849–50.

- Taketani, Y., Kuo, T.M., Mizuno, M.,** 1992. Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 167, 265–70.
- Tamura, H., Takasaki, A., Nakamura, Y., Numa, F., Sugino, N.,** 2014. A pilot study to search possible mechanisms of ultralong gonadotropin-releasing hormone agonist therapy in IVF-ET patients with endometriosis. *J. Ovarian Res.* 7, 100. doi:10.1186/s13048-014-0100-8
- Tanbo, T., Omland, A., Dale, P.O., Abyholm, T.,** 1995. In vitro fertilization/embryo transfer in unexplained infertility and minimal peritoneal endometriosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 74, 539–43.
- Tang, F., Kaneda, M., O'Carroll, D., Hajkova, P., Barton, S.C., Sun, Y.A., Lee, C., Tarakhovsky, A., Lao, K., Surani, M.A.,** 2007. Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. *Genes Dev.* 21, 644–8. doi:10.1101/gad.418707
- Tavmergen, E., Ulukus, M., Goker, E.N.T.,** 2007. Long-term use of gonadotropin-releasing hormone analogues before IVF in women with endometriosis. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 19, 284–8. doi:10.1097/GCO.0b013e3281053a52
- Taylor, H.S., Bagot, C., Kardana, A., Olive, D., Arici, A.,** 1999. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Hum. Reprod.* 14, 1328–31.
- Teague, E.M.C.O., Print, C.G., Hull, M.L.,** 2010. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions. *Hum. Reprod. Update* 16, 142–65. doi:10.1093/humupd/dmp034
- Tei, C., Miyazaki, T., Kuji, N., Tanaka, M., Sueoka, K., Yoshimura, Y.,** 1998. Effect of danazol on the pregnancy rate in patients with unsuccessful in vitro fertilization-embryo transfer. *J. Reprod. Med.* 43, 541–6.
- Tesone, M., Bilotas, M., Barañao, R.I., Meresman, G.,** 2008. The role of GnRH analogues in endometriosis-associated apoptosis and angiogenesis. *Gynecol. Obstet. Invest.* 66 Suppl 1, 10–8. doi:10.1159/000148026

- Thomas, E.J., Campbell, I.G.,** 2000. Molecular genetic defects in endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest.* 50 Suppl 1, 44–50. doi:52878
- Toya, M., Saito, H., Ohta, N., Saito, T., Kaneko, T., Hiroi, M.,** 2000. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil. Steril.* 73, 344–50.
- Treloar, S.A., Bell, T.A., Nagle, C.M., Purdie, D.M., Green, A.C.,** 2010. Early menstrual characteristics associated with subsequent diagnosis of endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 202, 534.e1–6. doi:10.1016/j.ajog.2009.10.857
- Trinder, J., Cahill, D.J.,** 2002. Endometriosis and infertility: the debate continues. *Hum. Fertil. (Camb).* 5, S21–7.
- Tummon, I.S., Asher, L.J., Martin, J.S., Tulandi, T.,** 1997. Randomized controlled trial of superovulation and insemination for infertility associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil. Steril.* 68, 8–12.
- Tummon, I.S., Maclin, V.M., Radwanska, E., Binor, Z., Dmowski, W.P.,** 1988. Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertil. Steril.* 50, 716–20.
- Van Der Houwen, L.E.E., Mijatovic, V., Leemhuis, E., Schats, R., Heymans, M.W., Lambalk, C.B., Hompes, P.G. a,** 2014. Efficacy and safety of IVF/ICSI in patients with severe endometriosis after long-term pituitary down-regulation. *Reprod. Biomed. Online* 28, 39–46. doi:10.1016/j.rbmo.2013.09.027
- Vercellini, P., Frontino, G., Pietropaolo, G., Gattei, U., Daguati, R., Crosignani, P.G.,** 2004. Deep endometriosis: definition, pathogenesis, and clinical management. *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 11, 153–61.
- Vercellini, P., Viganò, P., Somigliana, E., Fedele, L.,** 2014. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 261–75. doi:10.1038/nrendo.2013.255

- Vinatier, D., Orazi, G., Cosson, M., Dufour, P.,** 2001. Theories of endometriosis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 96, 21–34.
- Von Recklinghausen, F.,** 1896. Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube: their origin as remnants of the Wolffian body. *Wien Klin Wochenschr* 8:530.
- Wardle, P.G., Mitchell, J.D., McLaughlin, E.A., Ray, B.D., McDermott, A., Hull, M.G.,** 1985. Endometriosis and ovulatory disorder: reduced fertilisation in vitro compared with tubal and unexplained infertility. *Lancet (London, England)* 2, 236–9.
- Wei, Q., St Clair, J.B., Fu, T., Stratton, P., Nieman, L.K.,** 2009. Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertil. Steril.* 91, 1686–91. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.02.121
- White, R.B., Eisen, J.A., Kasten, T.L., Fernald, R.D.,** 1998. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 305–309. doi:10.1073/pnas.95.1.305
- Wu, Y., Strawn, E., Basir, Z., Halverson, G., Guo, S.-W.,** 2006. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics* 1, 106–11.
- Wunder, D.M., Mueller, M.D., Birkhäuser, M.H., Bersinger, N.A.,** 2006. Increased ENA-78 in the follicular fluid of patients with endometriosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 85, 336–42.
- Wyns, C., Donnez, J.,** 2003. [Laser vaporization of ovarian endometriomas: the impact on the response to gonadotrophin stimulation]. *Gynécologie, Obs. Fertil.* 31, 337–42.
- Xiao, J., Chang, S., Chen, S.,** 2013. The effectiveness of gonadotropin-releasing hormone antagonist in poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 100, 1594–601.e1–9. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.08.024

- Xu, B., Guo, N., Zhang, X., Shi, W., Tong, X., Iqbal, F., Liu, Y.,** 2015. Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis. *Sci. Rep.* 5, 10779. doi:10.1038/srep10779
- Yang, M., Jiang, C., Chen, H., Nian, Y., Bai, Z., Ha, C.,** 2015. The involvement of osteopontin and matrix metalloproteinase- 9 in the migration of endometrial epithelial cells in patients with endometriosis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 13, 95. doi:10.1186/s12958-015-0090-4
- Yanushpolsky, E.H., Best, C.L., Jackson, K. V, Clarke, R.N., Barbieri, R.L., Hornstein, M.D.,** 1998. Effects of endometriomas on oocyte quality, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case-controlled study. *J. Assist. Reprod. Genet.* 15, 193–7.
- Yaron, Y., Peyser, M.R., Samuel, D., Amit, A., Lessing, J.B.,** 1994. Infected endometriotic cysts secondary to oocyte aspiration for in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 9, 1759–60.
- Yazbeck, C., Madelenat, P., Ayel, J.P., Jacquesson, L., Bontoux, L.M., Solal, P., Hazout, A.,** 2009. Ethanol sclerotherapy: a treatment option for ovarian endometriomas before ovarian stimulation. *Reprod. Biomed. Online* 19, 121–5.
- Young, V.J., Brown, J.K., Saunders, P.T.K., Duncan, W.C., Horne, A.W.,** 2014. The peritoneum is both a source and target of TGF- β in women with endometriosis. *PLoS One* 9, e106773. doi:10.1371/journal.pone.0106773
- Younis, J.S., Ezra, Y., Laufer, N., Ohel, G.,** 1997. Late manifestation of pelvic abscess following oocyte retrieval, for in vitro fertilization, in patients with severe endometriosis and ovarian endometriomata. *J. Assist. Reprod. Genet.* 14, 343–6.
- Yovich, J.L., Yovich, J.M., Tuvik, A.I., Matson, P.L., Willcox, D.L.,** 1985. In-vitro fertilisation for endometriosis. *Lancet (London, England)* 2, 552.
- Zaitseva, M., Yue, D.S., Katzenellenbogen, J.A., Rogers, P.A.W., Gargett, C.E.,** 2004. Estrogen receptor-alpha agonists promote angiogenesis in human myometrial microvascular endothelial cells. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 11, 529–35. doi:10.1016/j.jsgi.2004.06.004

- Zeller, J.M., Henig, I., Radwanska, E., Dmowski, W.P.,** 1987. Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 13, 78–82.
- Zhang, Q.Y., Guan, Q., Wang, Y., Feng, X., Sun, W., Kong, F.Y., Wen, J., Cui, W., Yu, Y., Chen, Z.Y.,** 2012. BDNF Val66Met polymorphism is associated with Stage III-IV endometriosis and poor in vitro fertilization outcome. *Hum. Reprod.* 27, 1668–75. doi:10.1093/humrep/des094