



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Facultad de Medicina
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Programa de Doctorado en Obstetricia y Ginecología

Tesis Doctoral

**INTEGRACIÓN DE
BIOMARCADORES, MARCADORES
CLÍNICOS Y DE IMAGEN EN EL
DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO
NO INVASIVO DE LA
ENDOMETRIOSIS.**

Autor
Francisco Javier García Oms

Directores/as
Dra. Aitana Braza Boils
Dr. Juan Gilabert Estellés

Valencia 2016

Dra. Aitana Braza Boïls, Doctora en Biología e Investigadora Postdoctoral Sara Borrell del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe. Hospital Universitario i Politécnico La Fe de Valencia.

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado " **Integración de Biomarcadores, Marcadores Clínicos y de Imagen en el Diagnóstico y Pronóstico no invasivo de la Endometriosis**", ha sido realizado íntegramente por Don Francisco Javier García Oms, bajo mi dirección. Dicha memoria está concluida y reúne todos los requisitos 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 a 2016.

Fdo. Dra. Aitana Braza Boïls

Dr. Juan Gilabert Estellés, Doctor en Medicina y Cirugía,
Profesor asociado del Departamento de Pediatría, Obstetricia y
Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de
Valencia y Jefe de Área clínica Materno Infantil del Consorcio
Hospital General Universitario de Valencia

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado " **Integración de Biomarcadores, Marcadores Clínicos y de Imagen en el Diagnóstico y Pronóstico no invasivo de la Endometriosis**", ha sido realizado íntegramente por Don Francisco Javier García Oms, bajo mi dirección. Dicha memoria está concluida y reúne todos los requisitos 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 a 2016.

Fdo. Dr. Juan Gilabert Estellés

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera transmitir en conjunto a la Dra. Aitana Braza Boïls y al Dr. Juan Gilabert Estellés, un profundo sentimiento de agradecimiento y cariño por haber sido unos directores de tesis ejemplares, por su amistad y por haberme contagiado su inquietud de superación y pasión por la investigación. Desde siempre he tenido el deseo de formar parte de un equipo de investigación, y este proyecto ha permitido la posibilidad de introducirme en su grupo de trabajo y ver cumplida esa ilusión.

Agradecer personalmente al Dr. Juan Gilabert Estellés, su confianza y la posibilidad de trabajar en conjunto estos últimos años. Colaborar con la persona que más admiro profesionalmente, y con quien mantengo a la vez, una estrecha relación de amistad, es una suerte que pocos se pueden permitir.

A la Dra. Aitana Braza Boïls, por su inestimable ayuda en el desarrollo de este proyecto, por todo lo que he aprendido de ella en el trabajo en investigación básica, hacerme sentir un miembro más del grupo desde el inicio y por transmitirme el estímulo del trabajo en equipo.

A Josep Marí Alexandre y a Moisés Barceló, miembros del equipo del Grupo de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Aterosclerosis y Biología Vascular del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, por su desinteresada ayuda, especialmente en el desarrollo de las técnicas de laboratorio y por la amistad y entusiasmo demostrado en esta línea de trabajo que hemos iniciado juntos.

A la Dra. Amparo Estellés, por su inestimable y generosa colaboración en el análisis estadístico y expertos consejos buscando siempre la perfección y excelencia.

Al Dr. Juan Gilabert Aguilar por permitirme el seguimiento de sus pacientes del Hospital Casa de Salud, y la recuperación de datos clínicos fruto de muchos años de buen trabajo, reflejado en el cariño y agradecimiento que le procesan sus pacientes.

Al personal facultativo en general del Área Clínica Materno Infantil del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, y en especial a la Dra. M. Ángeles Estrada y al Dr. Yousef Mahmoud, por su colaboración en la obtención de muestras y por compartir la devoción por una especialidad tan apasionante como es la Ginecología.

A Rosa y Francisco, mis padres, por todo el esfuerzo y dedicación en mi educación. Gran parte de mis logros se los debo a ellos. Papá, ver concluida esta Tesis, se que te llenaría de orgullo. Te echo de menos.

Gracias a Rosa y Ermitana, mis hermanas y a toda la familia, su completo apoyo y la comprensión del tiempo, que este proyecto y el trabajo diario, nos priva de estar juntos.

Agradecer a Pilar y Ángel por toda su colaboración, cariño y el cuidado de mi hija siempre y especialmente durante la elaboración de este trabajo.

ABREVIATURAS

ADAMTS	A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs
ASRM	American Society of Reproductive Medicine
BCL-2	B-cell CLL/Lymphoma-2
CA-125	Carbohidrate Antigen 125
CA-19.9	Carbohidrate Antigen 19.9
COX-2	Ciclooxygenasa2
CYP-19	aromatese gen
DIE	Deep infiltrating endometriosis (EIP)
DNA	Deoxyribonucleic acid
E2	Estradiol
EEM	Error estandar de la media
EERS	Ecoendoscopia Rectosigmoidea
EFI	Endometriosis Fertility Index
EGF	Epidermal Growth Factor
EHP-30	Endometriosis Health Profile-30
EIP	Endometriosis infiltrante profunda
EPS	Endometriosis peritoneal superficial
ETR	Ecografía Transrectal
ETV	Ecografía Transvaginal
ETV-PI	Ecografía Transvaginal con Preparación intestinal
ETV-TG	Ecografía Transvaginal con técnica "Tenderness guided"
FGF	Fibroblast growth factor
GLI-1	Glioma associated oncogene homolog 1
HOXA10	Homeobox proteine A10
HSP-70b	Heat Shock Protein 70b
IFN	Interferón
IGF	Insuline-like Growth Factor
IL	Interleucina
K-ras	proteine ras type K
LUS	Ligamento Úterosacro
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein- type 1

miR	MicroRNA
miRNA	MicroRNA
MMP	Matrix (extracelular) MetalloProteinase
mRNA	messenger RNA
NGF	Neural Growth Factor
NK	Natural Killer
OMA	Endometrioma
PAI-1	Plasminogen Activator inhibitor- type 1
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PGE2	Prostaglandina E2
PIGF	Placental Growth Factor
PON-1	paraoxonase type 1
PTEN	Phosphatase and TENsin homolog
RANTES	Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted
RNA	Ribonucleic acid
RNM	Resonancia Nuclear Magnética
RNM gel	Resonancia Nuclear Magnética con opacificación vagino-rectal con gel
SERBP	Serpine Binding Protein
sICAM-1	Soluble Intercellular Adhesion Molecule-type 1
TGF β	Trasnsforming Grow factor Beta
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinases
TNF α	Tumor Necrosis Factor Alpha
TSP-1	Thrombospondin type 1
uPA	urokinase-type Plasminogen Activator
VAS	Visual Analogue Scale
VEGF-A	Vascular Endotelial Growth Factor type A
X	Media aritmética

*A Pilar, mi amor
A Claudia, nuestro presente
y nuestro futuro*

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	59
III. MATERIAL Y MÉTODOS	63
IV. RESULTADOS	81
V. DISCUSIÓN	153
VI. CONCLUSIONES	177
VII. BIBLIOGRAFÍA	181
VIII. ANEXOS	203

I. INTRODUCCIÓN	1
1. CONCEPTO DE ENDOMETRIOSIS	3
1.1. DEFINICIÓN.....	3
1.2. HISTOPATOLOGÍA.....	6
2. HISTORIA	9
2.1. HISTORIA DE LA ENDOMETRIOSIS.....	9
2.2. LA ENDOMETRIOSIS EN LA HISTORIA.....	11
3. ETIOPATOGENIA	12
3.1. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL CELULAR. TEORÍAS CLÁSICAS.....	12
3.1.1. TEORÍAS BASADAS EN EL ORIGEN DE LA ENDOMETRIOSIS EN ENDOMETRIO UTERINO.....	13
3.1.2. TEORÍAS BASADAS EN EL ORIGEN DE LA ENDOMETRIOSIS EN ENDOMETRIO EXTRAUTERINO.....	16
3.2. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL TISULAR.....	18
3.3. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL GENÉTICO.....	26
3.4. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL EPIGENÉTICO.....	29
4. DIAGNÓSTICO CLÍNICO	33
4.1. DOLOR.....	34
4.2. ESTERILIDAD.....	38
5. DIAGNÓSTICO MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN	39
5.1. DIAGNOSTICO EN ENDOMETRIOSIS PERITONEAL.....	39
5.2. DIAGNOSTICO EN ENDOMETRIOSIS OVÁRICA.....	40
5.3. DIAGNOSTICO EN ENDOMETRIOSIS PROFUNDA.....	43
6. DIAGNÓSTICO MEDIANTE BIOMARCADORES	48
7. PRONÓSTICO. EXTENSIÓN DE ENFERMEDAD. CLASIFICACIÓN	55
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	59
III. MATERIAL Y MÉTODOS	63
1. TIPO DE DISEÑO	65
2. LUGARES DE EJECUCIÓN	65
3. SERIE PROSPECTIVA	66
3.1. MATERIAL.....	66
3.1.2. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE BIOMARCADORES.....	67
3.2. MÉTODOS.....	69
3.2.1. MARCADORES BIOLÓGICOS.....	69

3.2.2. MARCADORES CLÍNICOS	71
3.2.3. MARCADORES DE IMAGEN	73
3.2.3.1. ECOGRAFÍA	74
3.2.3.2. RESONANCIA NUCLEAR MAGNÉTICA	75
4. SERIE RETROSPECTIVA	77
4.1 MATERIAL	77
4.1.1. SUJETOS DEL ESTUDIO	77
4.1.2. MUESTRAS DEL ESTUDIO	77
4.2. MÉTODOS	78
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	79
IV. RESULTADOS	81
1. ESTUDIO PROSPECTIVO. DIAGNOSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES	83
1.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	83
1.2. DIAGNÓSTICO NO INVASIVO DE ENDOMETRIOSIS PROFUNDA MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES	91
2. ESTUDIO PROSPECTIVO. DIAGNÓSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN	97
2.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACION A ESTUDIO	97
2.2. PRECISION DIAGNÓSTICA EN ENDOMETRIOSIS OVÁRICA MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN	99
2.3. PRECISION DIAGNÓSTICA EN ENDOMETRIOSIS PROFUNDA MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN	101
2.4. SOSPECHA DIAGNÓSTICA DE ENDOMETRIOSIS PROFUNDA. SIGNOS ECOGRÁFICOS INDIRECTOS	123
3. ESTUDIO RETROSPECTIVO. PRONÓSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES	127
3.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	127
3.2. PRONÓSTICO DE RECIDIVA MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES	132
3.3. PRONÓSTICO REPRODUCTIVO	149

V. DISCUSIÓN	153
VI. CONCLUSIONES	177
VII. BIBLIOGRAFÍA	181
VIII. ANEXOS	203

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Genes candidatos implicados en patofisiología de la endometriosis	28
1.2. Rendimiento diagnóstico de diferentes técnicas de imagen, analizadas por los diferentes regiones u órganos afectos por endometriosis profunda	45
1.3. MicroRNAs implicados en mecanismos angiogénicos y fibrinolíticos de la endometriosis	54

IV. RESULTADOS

4.1. Valores de las cifras de VAS y modo de evolución para los diferentes tipos de dolor en endometriosis antes y después de la cirugía	84
4.2. Valores de los diferentes dominios de los que consta el cuestionario EHP-30, antes y después de la cirugía	86
4.3. Valores séricos de CA-125 y CA-19.9 de la serie prospectiva	87
4.4. Análisis de diferentes variables entre endometrio control y endometrio eutópico	88
4.5. Valores de miRNAs en endometrio eutópico y lesiones endometriósicas de mujeres con endometriosis, relativos a los niveles en endometrio de mujeres sin endometriosis (endometrio control)	89
4.6. Presencia de endometriosis profunda en función del estadio o la puntuación de la clasificación ASRM	91
4.7. Valores de VAS para cada tipo de dolor, en pacientes con o sin endometriosis infiltrante profunda	92
4.8. Valores del cuestionario EHP-30 central, en pacientes con o sin endometriosis infiltrante profunda	93
4.9. Valores en Suero de biomarcadores clásicos, en pacientes con o sin endometriosis profunda	96
4.10. Valores en Endometrio Eutópico de miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin endometriosis profunda	97
4.11. Valores diagnósticos de las diferentes técnicas analizadas en la detección de quistes endometriósicos	100
4.12. Valores diagnósticos de las diferentes técnicas analizadas en la detección de presencia de DIE (Deep infiltrating endometriosis)	101

4.13. Casos que contribuyeron a los falsos positivos y negativos en la detección de DIE de las tres técnicas de imagen	102
4.14. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas por las diferentes regiones u órganos afectados por endometriosis profunda	103
4.15. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda vesical	104
4.16. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda a nivel retrocervical	106
4.17. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda a nivel del rectosigma	108
4.18. Precisión de la ecografía transvaginal con preparación intestinal y la resonancia con gel, para diferentes variables de interés en la planificación quirúrgica de la endometriosis rectal	110
4.19. Asociación entre diferentes variables de imagen y la realización de resección segmentaria intestinal	114
4.20. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda a nivel del tabique rectovaginal	115
4.21. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda a nivel del fórnix vaginal posterior	117
4.22. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda a nivel de los ligamentos uterosacros	118
4.23. Comparación signo de deslizamiento vs oclusión del Douglas. Rendimiento diagnóstico del signo de deslizamiento como predictor de oclusión del Douglas	122
4.24. Comparaciones y correlaciones entre diferentes signos ecográficos y la presencia de DIE	124
4.25. Rendimiento diagnóstico de cada uno de los signos ecográficos indirectos de DIE analizados	124
4.26. Valores de las cifras de VAS y modo de evolución para los diferentes tipos de dolor en endometriosis antes y después de la cirugía	127
4.27. Valores de los diferentes dominios de los que consta el cuestionario EHP-30, antes y después de la cirugía	128
4.28. Valores en suero de biomarcadores clásicos	129

4.29. Análisis de diferentes variables entre pacientes con o sin recidiva	130
4.30. Valores de VAS para cada tipo de dolor, en pacientes con o sin recidiva	131
4.31. Valores del cuestionario EHP-30 central, en pacientes con o sin recidiva	133
4.32. Valores en suero de biomarcadores clásicos, en pacientes con o sin recidiva	136
4.33. Valores en endometrio eutópico de proteínas, y sus correspondientes mRNAs de diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva	138
4.34. Valores en endometrio eutópico de miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva	140
4.35. Valores en endometrioma de proteínas, y miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva	144
4.36. Valores en nódulo endometriósico profundo de proteínas, y miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva	145
4.37. Estadísticos descriptivos del punto de vista reproductivo	146
4.38. Resultados reproductivos	146
4.39. Resultados de los marcadores clínicos, biomarcadores clásicos y nuevos biomarcadores, en función del valor EFI	148
V. DISCUSIÓN	
5.1. Resumen de posibles marcadores clínicos y biomarcadores predictores de recidiva en endometriosis	170

ÍNDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Tipos de lesiones endometriósicas	4
1.2. Topografía de las posibles localizaciones de las lesiones endometriósicas	5
1.3. Tipos de lesiones peritoneales	8
1.4. Teorías etiopatogénicas clásicas	13
1.5. Mecanismos etiopatogénicos a nivel tisular	19
1.6. Interrelación entre estrogenodependencia, inflamación y desarrollo de los implantes endometriósicos	25
1.7. Principales mecanismos epigenéticos	29
1.8. Biogénesis de los miRNAs	32
1.9. Nerve sparing	35
1.10. Características de los endometriomas por ecografía	41
1.11. Características de los endometriomas por resonancia	42
1.12. Ecografía transvaginal con preparación intestinal	46
1.13. Diagrama de posibles biomarcadores en endometriosis	49
1.14. Índice de fertilidad en endometriosis (EFI)	57

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio	66
3.2. Escala analógica visual (VAS) de dolor	72
3.3. Signo del deslizamiento	75

IV. RESULTADOS

4.1. Tipos de lesión endometriósica y estadio de la clasificación rASRM de la serie prospectiva	83
4.2. Valores de miRNAs en los diferentes tejidos analizados	90
4.3. Curvas ROC para las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía respecto DIE vs no DIE	95

4.4. Tipos de lesiones endometriósicas presentes analizadas por imagen	98
4.5. Localización de las lesiones endometriósicas profundas analizadas por imagen	99
4.6. Imágenes de lesiones profundas a nivel vesical.	105
4.7. Imágenes de lesiones profundas a nivel retrocervical	107
4.8. Características ecográficas analizadas en las lesiones endometriósicas profundas rectales	111
4.9. Estimación de la distancia de extremo caudal del nódulo al margen anal	112
4.10. Imágenes de lesiones profundas a nivel rectovaginal.	116
4.11. Imágenes de lesiones profundas a nivel del fórnix vaginal posterior	117
4.12. Imágenes de lesiones profundas a nivel de los Ligamentos uterosacros (LUS)	119
4.13. Imágenes de lesiones profundas a nivel parametrial-ureteral	120
4.14. Signos ecográficos indirectos de endometriosis profunda	123
4.15. Tiempo quirúrgico en función del score ESUS	125
4.16. Tipo de lesión endometriósica y estadio de la clasificación rASRM de la serie retrospectiva	126
4.17. Sumatorio de todos los valores VAS de dolor pre y postcirugía, en pacientes con o sin recidiva	132
4.18. Sumatorio de todos los valores EHP-30 central precirugía, en pacientes con o sin recidiva	134
4.19. Curvas ROC para las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía respecto recidiva posterior vs no recidiva	135
4.20. Valores de CA 125 precirugía, en pacientes con o sin recidiva	136
4.21. Fases de ciclo menstrual de las muestras de endometrio eutópico de la serie retrospectiva	137
4.22. Valores de VEGF y PAI-1, en endometrio eutópico de pacientes con o sin recidiva	139
4.23. Valores de miR-21 y miR424-5p, en endometrio eutópico de pacientes con o sin recidiva	139

4.24. Correlación entre miR-424-5p y la suma VAS obtenida antes de la cirugía en función de recidiva o no recidiva	141
4.25. Correlación entre miR-424-5p y la suma EHP-30 obtenida antes de la cirugía en función de recidiva o no recidiva	142
4.26. Correlación entre miR-424-5p y el CA 125 obtenido antes de la cirugía en función de recidiva o no recidiva	142

ÍNDICE DE VÍDEOS

<i>Vídeo 1. Fenómeno del "Acoustic streaming"</i>	40
<i>Vídeo 2. Signo del deslizamiento</i>	74
<i>Vídeo 3. Nódulo endometriósico vesical por ecografía transvaginal</i>	104
<i>Vídeo 4. Nódulo endometriósico retrocervical por ecografía transvaginal</i>	106
<i>Vídeo 5. Nódulo endometriósico vaginal por ecografía transvaginal</i>	118
<i>Vídeo 6. Endometriosis parametrial medial</i>	121
<i>Vídeo 7. Endometriosis parametrial lateral</i>	121
<i>Vídeo 8. Visualización de movilidad ureteral y del jet urinario ureteral a nivel vesical</i>	121
<i>Vídeo 9. Valoración de la movilidad ovárica</i>	123
<i>Vídeo 10. Nódulo endometriósico rectal obstructivo por ecografía transvaginal</i>	157

I. INTRODUCCIÓN

1. CONCEPTO DE ENDOMETRIOSIS.

1.1. DEFINICIÓN

La endometriosis es una enfermedad caracterizada por la presencia de tejido endometrial en localización ectópica: glándulas endometriales y estroma, fuera de la cavidad uterina.

Afecta fundamentalmente a mujeres durante su etapa reproductiva causando esterilidad y/o el dolor pélvico. Su importancia radica por tanto, sobre las opciones de embarazo y/o la calidad de vida de las mismas.

Es una de las enfermedades ginecológicas benignas más comunes y aunque su prevalencia exacta no está bien definida, se considera que puede manifestarse hasta en un 10-15% de la población general, en un 30% de las mujeres con esterilidad y en un 50% de las pacientes en las que coexiste esterilidad y dolor pélvico crónico (D'Hooghe TM et al, 2003).

Existen tres tipos de lesiones endometriósicas: los endometriomas ováricos, los implantes peritoneales superficiales, y las lesiones infiltrantes profundas. Estos tipos de lesiones, aunque forman parte todas ellas del mismo síndrome endometriósico, conviene distinguirlas ya que se comportan casi como entidades nosológicas diferentes, tanto en su morfología como en su forma de presentación clínica, su posible mecanismo fisiopatológico y también en su manejo (Nisolle M et al, 1997) (**Figura 1.1**):

1) Endometriosis ovárica: comprende los quistes ováricos endometriósicos o endometriomas.

2) Endometriosis peritoneal superficial: formado por los implantes de glándulas endometriales y estroma en el peritoneo y/o las serosas de los órganos abdominales, con una profundidad menor a 5 mm.

3) Endometriosis infiltrante profunda (EIP): se define como una infiltración del tejido endometriósico ectópico mayor de 5 mm por debajo de la superficie peritoneal (retroperitoneo). La EIP compromete por tanto, estructuras retroperitoneales y las capas de los diferentes órganos que afecta, infiltrándolos desde

sus capas superficiales (serosas), pasando por capas musculares y llegando en ocasiones a comprometer las mucosas (Koninckx PR et al ,2012).

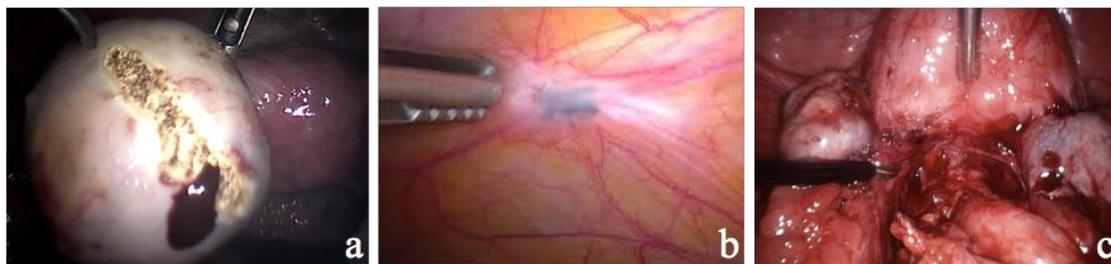


Figura 1.1. Tipos de lesiones endometriósicas. (a) endometriosis ovárica. (b) endometriosis peritoneal superficial (c) endometriosis infiltrante profunda.

Según Vercellini y cols., la definición de EIP debe reservarse para lesiones que cumplan 3 condiciones: que sean ubicadas en el retroperitoneo, en sitios de diferente ubicación de la endometriosis común y que comprometan diferentes órganos pélvicos como el intestino, el uréter, la vejiga y la región rectovaginal, pudiendo alterar la calidad de vida de la mujer, debido a la presencia de dolor severo (Vercellini P et al, 2004).

La EIP suele afectar órganos o estructuras pélvicas, las cuales son clasificadas por compartimentos (**Figura 1.2**):

1) El compartimiento anterior donde puede generar retracción e infiltración de los ligamentos redondos y de la pared vesical.

2) El compartimiento posterior donde infiltra el torus uterino o región retrocervical, el fondo de saco de Douglas, el recto, la vagina y el tabique rectovaginal.

3) El compartimiento pélvico posterolateral donde compromete los ligamentos uterosacos, parametrios, uréteres, los plexos nerviosos hipogástricos, la espina ciática, el ligamento sacroespinoso y en ocasiones nervios profundos de la pelvis, como el ciático o el pudendo.

También puede encontrarse en sitios abdominales extrapélvicos como el intestino delgado, el sigmoides, el ciego, el apéndice cecal o cicatrices de laparotomía.

En cuanto a la frecuencia de localización de dichas lesiones profundas, si hablamos de zonas pélvicas, la ubicación más frecuente de las lesiones es el compartimento posterior (fondo de saco de Douglas; 55 %), después el compartimento lateral (ligamentos útero sacros; 35%) y por último el compartimento anterior (repliegue vesico vaginal; 11%). Si hablamos de estructuras u órganos afectados se ha comprobado que la ubicación más frecuente es en ligamento útero sacro (52,7%), seguido de intestino (22,7%), vagina (16,2%), vejiga (6,3%) y uréter (2,1%) (Chapron C et al, 2006).

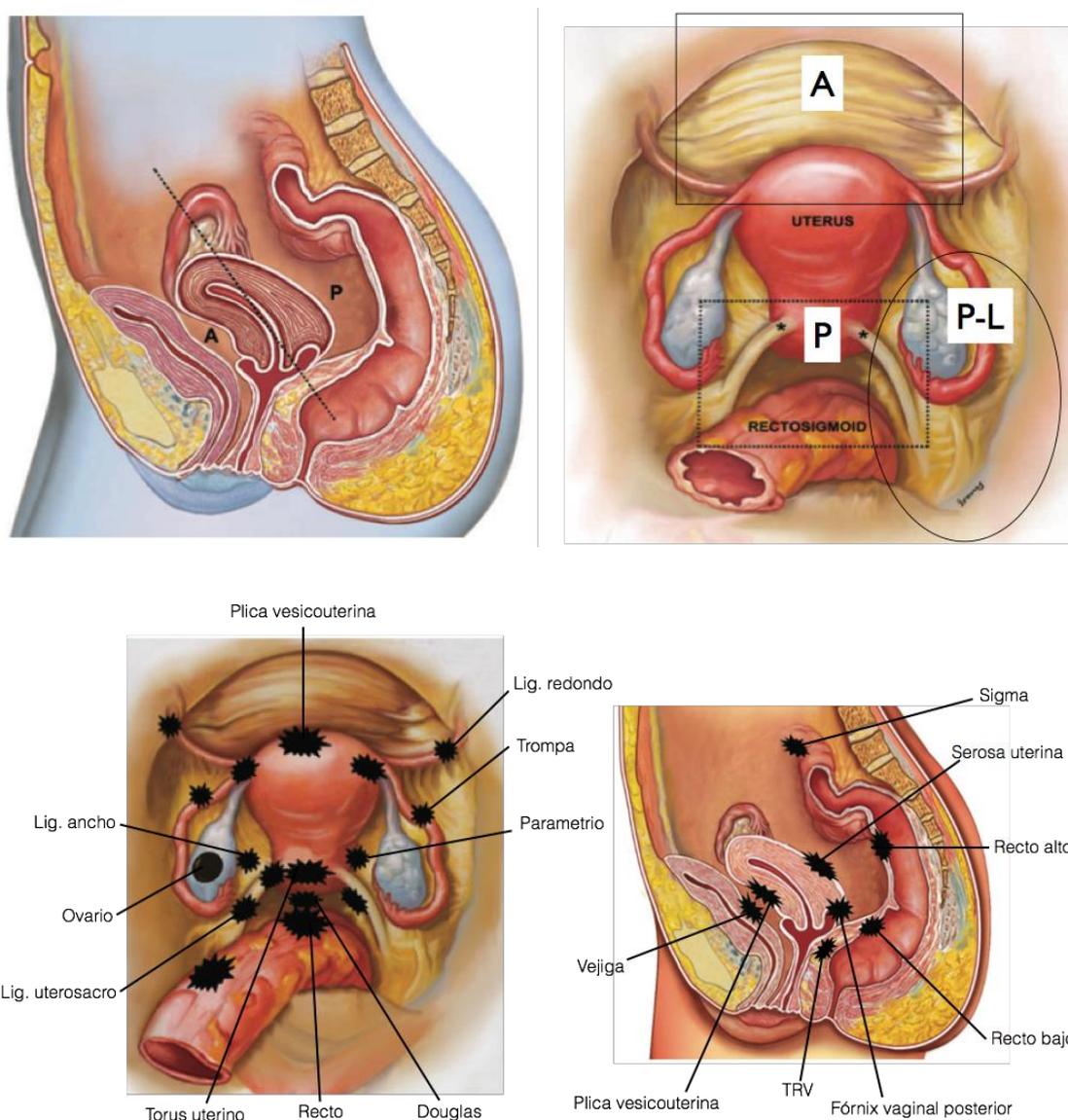


Figura 1.2. Topografía de las posibles localizaciones de las lesiones endometriósicas. La división de la pelvis en compartimentos, facilita la clasificación de las posibles localizaciones. A: compartimento anterior; P: compartimento posterior; P-L: compartimento posterolateral. (Modificado de Netter, 1998).

Son varias las circunstancias que hacen de esta patología un importante problema de salud en la mujer; su relativa frecuencia, el fuerte impacto que producen sus manifestaciones clínicas y el habitual retraso diagnóstico de la misma, sobre todo en su forma profunda, debido a su compleja detección (Seear K, 2009).

1.2. HISTOLOGÍA

La descripción clásica histopatológica de la endometriosis describe que las lesiones se encuentran constituidas por acúmulos de células epiteliales glandulares y células estromales endometriales, así como la presencia en ocasiones de evidencia de sangrado por depósitos de hemosiderina.

Sin embargo los hallazgos histológicos de las lesiones endometriósicas difieren notoriamente en función del tipo de lesión endometriósica y de su grado de actividad (Clemen PB, 2007):

1) Endometrosis peritoneal: existen 3 tipos de lesiones según su aspecto macroscópico, el cual puede ser objetivado por laparoscopia:

Lesiones rojas: Se trata de lesiones tempranas, compuestas por estroma y numerosas glándulas proliferativas, a veces con áreas hiperplásicas (12%), idénticas al endometrio eutópico. Morfológicamente se halla un número moderado de mitosis y una vascularización capilar abundante. La inmunomarcación demuestra una actividad proliferativa detectada con Ki-67 y una vascularización detectada con factor VIII similar al endometrio proliferativo. Esta forma se denomina activa, puede tener cambios secretores dando origen a la forma funcionante.

La neovascularización es fundamental para el crecimiento de estos implantes, se han detectado factores de crecimiento endotelial en el líquido peritoneal (producido por los macrófagos) y por inmunomarcación en el tejido endometrial eutópico y ectópico. La gran vascularización, la marcada proliferación y la presencia de metaloproteinasas de matriz durante todo el ciclo, aún en presencia de progesterona (a diferencia del endometrio eutópico) facilitan los implantes en otras áreas del peritoneo.

Estas lesiones presentan receptores de estrógeno y progesterona al igual que el endometrio eutópico. Se le denomina **endometrosis inicial, activa o funcionante cuando tiene cambios secretores.**

Lesiones negras: Se trata de lesiones intermedias, existiendo disgregación parcial en los focos endometróticos activos, con cicatrización periférica que bloquea al implante, mostrando glándulas dilatadas con detritus en su interior y escaso estroma sin proliferación celular. La vascularización está disminuída, los vasos muestran paredes más engrosadas, siendo la lesión más profunda, favoreciéndose la inflamación, la hemorragia y los depósitos de hemosiderina que son fagocitados por los macrófagos, llevando posteriormente a la fibrosis. Expresa receptores positivos sobre todo de progesterona que son inactivos y no responden a la acción hormonal exógena o endógena. Corresponden a formas **intermedias: endometrosis avanzadas poco activas.**

Manchas blancas: Predomina la fibrosis, hay focos profundos quiescentes, prácticamente avasculares, constituidos por glándulas aisladas con revestimiento en reposo, escaso corion citógeno y tejido fibroso cicatrizal. Se trata de **endometrosis latente, inactiva.**

Dichas lesiones peritoneales han sido también clasificadas en típicas o atípicas con el objetivo de no pasar desapercibidas en la exploración laparoscópica. Las lesiones típicas corresponden a las lesiones negras en "quemadura de pólvora", clásicamente más relacionadas con la endometriosis. Las lesiones atípicas o sutiles son también frecuentes y pueden tener aspectos diferentes, siendo los más característicos las lesiones rojas (con diferentes aspectos como lesiones vesiculares, petequiales, polipoides, hemorrágicas o en llamarada), las lesiones negras (pardas o marrones) o las lesiones blancas (fibróticas, opacificaciones blancas, adherencias y defectos peritoneales) formadas por áreas de fibrosis y cicatrización (Donnez J et al, 2003; Gilabert-Estellés J, 2011) (**Figura 1.3**).

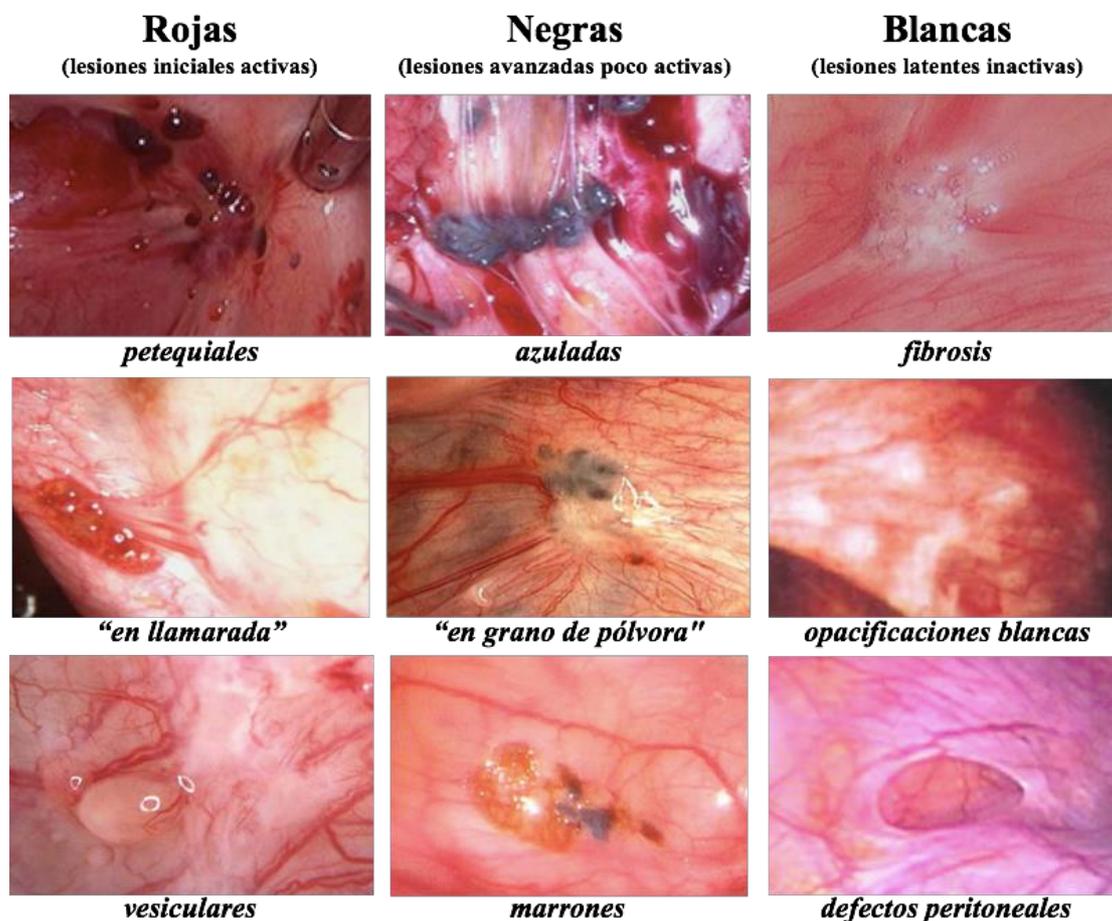


Figura 1.3. Tipos de lesiones peritoneales. Se suelen dividir en implantes activos, intermedios o no activos; o bien en implantes típicos ("en grano de pólvora") o atípicos. (Modificado de Gilabert-Estellés, 2011).

2) Endometriosis ovárica : Caracterizada por los focos superficiales (con consideraciones similares a la endometriosis peritoneal) y los quiste achocolatados o endometriomas.

Los endometriomas más activos presentan áreas de revestimiento endometrial, con abundantes acúmulos de hemosiderófagos y fibrosis parietal leve. Cuando el quiste está inactivo o en regresión se objetiva una intensa fibrosis hialina cicatricial, hemosiderófagos y ausencia de tejido endometrial (Scurry J et al, 2001).

3) Nódulos endometriósicos profundos: caracterizados por la presencia de células de músculo liso y reacción fibrosa, intercaladas con escaso número de células endometriales. La presencia de células glandulares inmersas en una matriz muscular,

es lo que ha llevado a muchos autores a describir estos hallazgos como una adenomiosis retroperitoneal (Signorile PG et al, 2009b).

En las lesiones de EIP también se describe una inusual y aumentada presencia de fibras nerviosas, sin que hasta ahora se haya podido dilucidar, si es que existe un tropismo especial de los implantes endometriósicos por invadir tejido nervioso, o si ocurre algún tipo de metaplasia de otros tipos celulares en células axonales que podrían contribuir a las marcadas manifestaciones dolorosas propias de la enfermedad profunda (Anaf V et al, 2011).

2. HISTORIA

2.1. HISTORIA DE LA ENDOMETRIOSIS

A diferencia de otras enfermedades ginecológicas, no existen descripciones de la patología durante la edad antigua ni edad media. La primera descripción posible de endometriosis se cita habitualmente a finales del siglo XVII, en 1690, cuando Daniel Christianus Schrön en su Tesis *Disputatio inauguralis medica de ulceribus uteri* (Knapp VJ, 1999); describe la presencia de unas úlceras diseminadas por abdomen y pelvis que aparecían sólo en mujeres en edad reproductiva. Posteriormente se ha dudado si dicha descripción correspondía a endometriosis, pues también se hablaba de un cuadro clínico de fiebre, lesiones vaginales y orina-heces purulentas (Benagiano G et al, 2011).

No es hasta finales del siglo XIX donde aparecen las descripciones más aproximadas al concepto actual de endometriosis-adenomiosis. Carl Von Rokitansky en 1860, es el primero en hacer la descripción patológica de las lesiones con presencia de células glándulares y estromales ectópicas, aunque no las etiqueta como benignas al denominarlas sarcoma (Rokitansky C, 1860; Batt RE, 2014).

Posteriormente von Recklinghausen en 1896, abandona el término sarcoma, adoptando el término "adenomyomata", proponiendo como origen del tejido ectópico un desplazamiento de vestigios mesonéfricos o wolffianos. Es el primero en distinguir entre adenomyomata intrauterino y extrauterino, pero como dos entidades diferentes,

ya que sólo los casos alojados en la pared uterina y que poseen glándulas derivan de la mucosa uterina (von Recklinghausen, 1896).

Russell en 1899 propone que las glándulas uterinas y estromales similares al endometrio hallados en el ovario, se generan de remanentes müllerianos localizados a nivel ovárico (Russell WW, 1899).

Iwanhoff en 1898 y Mayer en 1903 se disputan la autoría de la teoría de la metaplasia celómica, en la que dichas glándulas ectópicas surgen de células derivadas del epitelio celómico a nivel abdominal que se transforman mediante metaplasia (Iwanhoff N, 1898; Meyer R, 1903).

Hasta esa fecha, la mayoría de patólogos rechazaban la hipótesis de que las glándulas ectópicas fueran endometrio. Es Thomas Cullen, quien a principios del siglo XX, describe la decidualización de las células estromales ectópicas durante el embarazo, lo que proporcionó la prueba funcional que dichas células eran de origen endometrial. Además fue el primero en describir el cuadro clínico asociado y la morfología macroscópica (aumento del grosor de la pared miometrial al estar ocupada por mucosa endometrial) de la hasta entonces llamada "adenomyomata uterina". En 1920 proporciona por vez primera una lista de posibles sitios de lesiones adenomióticas en la pelvis (Cullen TS, 1920).

Se considera a John Albert Sampson como el descubridor del concepto actual de endometriosis. En 1927 publica su famoso artículo en el que postula que la presencia de células endometriales fuera del útero se deben a una regurgitación menstrual retrógrada por la trompas y posterior siembra peritoneal de dichas células (Sampson JA, 1927a). Al tejido trasplantado que comienza a diferenciarse en una estructura similar al endometrio, lo definió como endometriosis. A partir de ahí, la invasión peritoneal de su Teoría de la Implantación se convirtió en la teoría etiopatogénica más aceptada, a pesar de que el debate sigue hasta nuestros días al no poderse explicar todos los casos de endometriosis (Benagiano G et al, 2014a).

2.2. LA ENDOMETRIOSIS EN LA HISTORIA.

Es llamativo el hecho de que no existan documentos sobre la endometriosis de manera regular hasta bien entrada la edad contemporánea (finales de siglo XIX-principios del siglo XX). El por qué no se describió esta enfermedad tan frecuente antes de ese tiempo, es algo que ha impresionado a los historiadores médicos.

Durante un gran periodo de tiempo, que abarca la edad antigua y edad media, no hay grandes cambios en la esperanza de vida, cifrada en torno los 35 años (WHO, 2006), ni en determinados acontecimientos sociales de las mujeres de esa época. La edad típica del matrimonio y los primeros embarazos, habitualmente asociados, era alrededor de los 14 años y en algunos casos incluso antes. Después del parto, venía el período de amenorrea típico de la lactancia que usualmente era prolongado y al terminar, ocurrían escasas reglas hasta un nuevo embarazo, seguido de otro período de amenorrea. Otro dato interesante, es la edad de la menarquia más tardía en aquella época, en torno a los 14-15 años, respecto a los 10-11 de la actualidad (Aksglaede L, 2009). Si se considera que durante toda esa época, el promedio de vida de la mujer era en torno a los 35 años; y asumimos que la etiología más frecuente de la enfermedad es por menstruación retrógrada, se puede decir que las veces a que esas mujeres estuvieran expuestas a dicha menstruación retrógrada fueron escasas.

A principios del siglo XX, aumenta la edad promedio de vida a los 55-60 años, aunque el número de embarazos sigue siendo elevado, sobre todo en mujeres de bajo nivel social, por lo que la exposición a menstruación retrógrada seguía siendo escasa. Sólo en niveles sociales altos se comenzó a practicar con efectividad la anticoncepción y con la disminución del número de embarazos la mujer tuvo una mayor exposición a menstruación retrógrada, de ahí que en esa época la endometriosis se consideraba una enfermedad de las mujeres occidentales, de raza blanca y clase social elevada.

Estas circunstancias explican por que la endometriosis es una enfermedad frecuente en nuestra época, asociada a la mayor frecuencia menstrual de la mujer moderna, que difiere su deseo de embarazo hasta edades más avanzadas de su vida reproductiva y que tiene menos hijos que en épocas anteriores.

Su mayor frecuencia y el fuerte impacto en la calidad de vida de las mujeres afectas por esta enfermedad, ha obligado en el presente a buscar nuevas alternativas diagnósticas por imagen, nuevas posibilidades de tratamiento médico y técnicas quirúrgicas por laparoscopia. Sin embargo, la endometriosis todavía sigue siendo una enfermedad enigmática a la cual se le dedica un gran esfuerzo de investigación para tratar de conocerla mejor y poder ofrecer una alternativa efectiva de diagnóstico y tratamiento. Es notorio este interés que despierta en la actualidad por la ingente cantidad de publicaciones en lo que va de siglo; 11662 artículos (Pubmed enero 2000-junio 2015), sólo superado, en lo que temas ginecológicos se refiere, por temas oncológicos.

3. ETIOPATOGENIA

En los últimos años se ha avanzado mucho en la detección de alteraciones precisas a nivel celular, tisular, genético e incluso recientemente a nivel epigenético, que pudieran explicar la etiopatogenia de la endometriosis. A pesar de ello, el origen de la enfermedad se ha comprobado multifactorial y su causa principal permanece aún desconocida, por lo que se sigue debatiendo bajo el ámbito de hipótesis o teorías etiopatogénicas.

3.1. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL CELULAR. TEORÍAS CLÁSICAS

Múltiples teorías han surgido tratando de explicar el origen de esta enfermedad desde que Von Recklinghausen planteara la primera teoría hasta nuestros días. Todas estas teorías, llamadas clásicas, han intentado explicar la enfermedad por alteraciones a nivel celular. Se pueden resumir en 6 teorías, las cuales, a su vez, pueden clasificarse en dos grupos según que el origen de los implantes proceda de endometrio uterino (teorías de diseminación o trasplante de células endometriales uterinas) o extrauterino (teorías de transformación celular). **(Figura 1.4)**

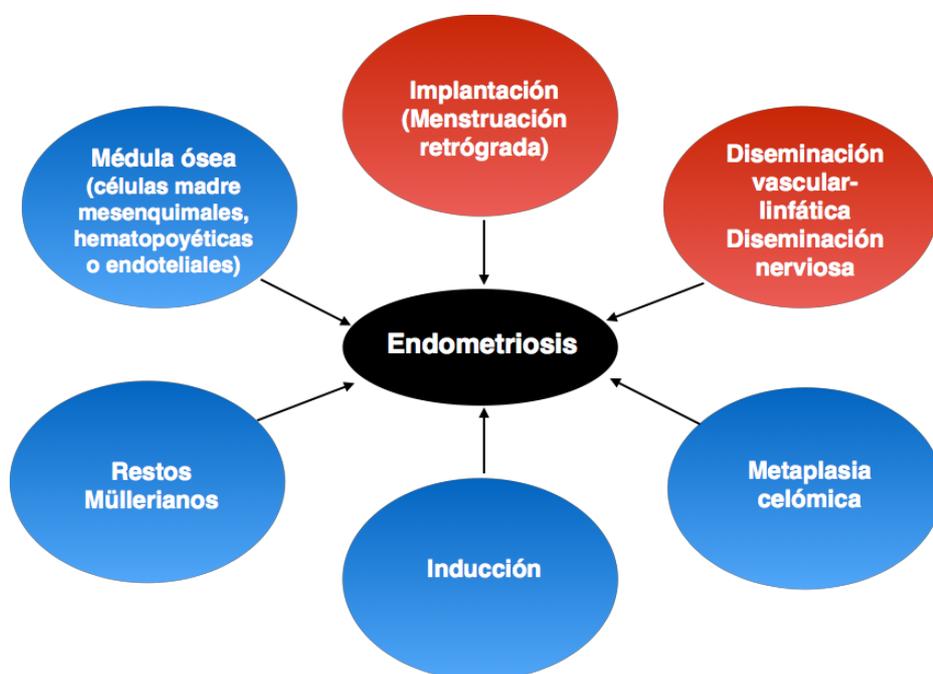


Figura 1.4. Teorías etiopatogénicas clásicas. Teorías basadas en origen de la endometriosis en endometrio uterino o teorías de diseminación (rojo). Teorías basadas en origen en endometrio extrauterino o teorías de transformación celular (azul).

3.1.1. TEORÍAS BASADAS EN EL ORIGEN DE LA ENDOMETRIOSIS EN ENDOMETRIO UTERINO.

1. Teoría de la Implantación (o Menstruación Retrógada).

Descrita por Sampson, es la teoría más ampliamente aceptada. Propone la existencia de un reflujo de células endometriales durante la menstruación a través de las trompas de Falopio hacia la cavidad abdominal y la capacidad de las células endometriales de sobrevivir, adherirse, implantarse y proliferar (Sampson JA, 1927a y 1940). Representa un autotrasplante, en la que el tejido endometrial eutópico normal se trasplanta a una localización ectópica en el organismo.

Diversos estudios apoyan esta teoría:

1) La existencia del fenómeno reflujo-adhesión-implantación-proliferación de células endometriales al peritoneo. Existe un reflujo de células endometriales durante la menstruación de forma casi universal en presencia de trompas de Falopio normales (Halme J et al, 1984). El hiperperistaltismo uterino está asociado estadísticamente con la endometriosis (Leyendecker G et al, 2004). La obstrucción provocada de la salida menstrual en un modelo no humano de primates ha demostrado producción de

lesiones endometriósicas en la cavidad peritoneal (D'Hooghe TM, 1994 y 1997). Las células endometriales expresan moléculas de adhesión (integrinas) en su superficie, lo que les confiere la capacidad de unirse al peritoneo (Tabibzadeh S, 1992; Koks CA et al, 1999; Witz CA, et al 2001). El endometrio migrado a la cavidad abdominal tiene capacidad de implantación al expresar metaloproteasas que son capaces de degradar la membrana basal y numerosos componentes de la matriz extracelular (Koks CA et al, 2000) y produce factores angiogénicos que son esenciales para la neovascularización local y posterior proliferación (Mc Laren J, 2000; Taylor RN et al, 2012; Rocha AL et al, 2013). Por otro lado, un estudio sobre un modelo de endometriosis en ratones, demostró que la activación condicional del oncogén K-ras en las células endometriales depositadas en el peritoneo produjo implantes endometriósicos peritoneales histológicamente confirmados en casi 50 % de los ratones dentro de 8 meses. Por otro lado, la activación similar del oncogén K-ras en las células peritoneales no mostró ninguna progresión a la endometriosis. Estas observaciones apoyan también un origen endometrial para el desarrollo de lesiones peritoneales (Dinulescu DM et al, 2005).

2) La distribución anatómica de las lesiones también apoya esta teoría. Existe una asimetría craneo-caudal, anteroposterior y lateral de las lesiones. Los implantes endometriósicos se localizan más frecuentemente en regiones caudales por efecto de la gravedad y en contacto con el reflujo tubárico como son los ovarios y la hoja posterior del ligamento ancho (Vercellini P et al, 1998). Las lesiones endometriósicas profundas son más frecuentes en regiones declives y posteriores de la pelvis (fondo saco de Douglas y región rectovaginal) que en la plica vesico-uterina (Chapron C et al, 2006). En cuanto a la lateralidad de las lesiones se ha visto que tanto la endometriosis peritoneal, como la recurrencia de los endometriomas, son más frecuentes en el lado izquierdo, debido a que el rectosigma se apoya en la hemipelvis izquierda por sus adherencias fisiológicas, produciéndose un enlentecimiento y éstasis del fluido menstrual retrógrado (Al-Fozan H et al, 2003; Vercellini P et al, 2002). Otras lesiones tienen predominio derecho como la endometriosis inguinal o ciática (Vercellini P et al, 2003), debido también a la localización izquierda del rectosigma, que facilita los implantes superficiales, pero dificulta que las células endometriales infiltren retroperitonealmente estructuras nerviosas profundas; o la endometriosis pleuropulmonar y difragmática (Vercellini P et al, 2007b; Gilabert-Estellés et al,

2010), fundamentalmente derechas debido a que el ligamento falciforme del hígado podría enlentecer a ese nivel el movimiento en sentido horario del flujo peritoneal a nivel abdominal. Además se ha visto mayor frecuencia de endometriosis en úteros en retroversión, ya que se permite el paso de flujo desde el compartimento anterior al posterior tando en posición supine como en decúbito (Jenkins S y col, 1986).

Por otro lado, aunque se ha demostrado que el 90% de mujeres presentan menstruación retrógrada, no todas ellas desarrollan endometriosis, por lo que deben existir otros factores que impidan el aclaramiento de las lesiones producidas por las células endometriales migradas (Giudice LC, 2010).

Además, esta teoría, no es capaz de demostrar la presencia de endometriosis fuera de la cavidad peritoneal, la presencia de un endometrioma único sin más lesiones asociadas, o su aparición en recién nacidos, en la pubertad temprana, en la menopausia, en mujeres sin útero o en el varón (Signorile P et al, 2009a; Bulun SE, 2009). Por otro lado, algunos autores han observado diferencias anatomopatológicas entre endometrio eutópico y ectópico, en contra de la posibilidad de considerar a los implantes como focos de autotrasplante (Schenken RS, 1999).

2. Teoría de la diseminación linfática, vascular o nerviosa.

Basada en la migración de fragmentos endometriales a través de diferentes vías, como los vasos sanguíneos, el sistema linfático (Halban J, 1924; Sampson JA, 1927b) o incluso las fibras nerviosas (Possover M, et al 2009) a otras localizaciones abdominales o extraabdominales donde desarrollarían lesiones endometriósicas.

La demostración de circulación linfática del cuerpo del útero al ovario, así como la demostración de tejido endometriósico en ganglios linfáticos de babuinos en los que se induce la endometriosis (Hey-Cunningham AJ et al, 2011; Jerman LF, 2015) y su presencia en el 6-7% de linfadenectomías, apoyan dicha teoría (Javert CT, 1952). Pero la evidencia más fuerte se deriva de la demostración de tejido endometrial ectópico en localizaciones distantes al útero como cerebro, pulmón o hueso (Machairiotis N, et al, 2013). Sin embargo, por si sola, no es capaz de resolver la capacidad de adhesión y progresión del mismo.

3.1.2. TEORÍAS BASADAS EN EL ORIGEN DE LA ENDOMETRIOSIS EN ENDOMETRIO EXTRAUTERINO

1. Teoría de la Metaplasia Celómica

En histología, se llama **metaplasia** a la transformación citológica de un epitelio maduro en otro, que puede tener un parentesco próximo o remoto e implica una regresión en la especialización de las células hacia formas más primitivas, para más tarde madurar hacia otra clase de células. (Mok-Lin EI et al, 2010). La metaplasia celómica propone: que el epitelio peritoneal, el epitelio de la superficie ovárica y el endometrio, parecen tener un precursor embriológico común que es el epitelio celómico y que los dos primeros pueden transformarse en tejido endometrial (Meyer R et al, 1903; Kerner H et al, 1981; Vercellini P et al, 2014).

La demostración experimental de esta teoría ha sido difícil. Los agentes causales de esta metaplasia son poco conocidos, se proponen a las dioxinas como posible agente químico externo que actúa como disruptor endocrino. Esta teoría podría explicar el por qué, aunque la mayoría de las mujeres tienen algún grado de menstruación retrógrada, sólo un pequeño porcentaje tiene endometriosis, así como la presencia de la enfermedad en ausencia de la menstruación (Burney RO et al, 2012).

Sin embargo, existen diversos aspectos clínicos que van en contra de esta teoría: la metaplasia celómica debería manifestarse más frecuentemente en todos los sitios del organismo en los que se encuentre tejido derivado del epitelio celómico. Por otra parte, si la metaplasia celómica es similar a la metaplasia común, entonces la frecuencia de endometriosis debería incrementarse progresivamente con la edad, aspecto que no se observa en la práctica clínica (Zullo A et al, 2012).

2. Teoría de la inducción

Es una extensión de la anterior al considerar que las células peritoneales pueden transformarse por metaplasia en células endometriales, pero tras un estímulo inductor que puede ser hormonal, inmunológico o genético (Merrill JA et al, 1966).

3. Teoría de los Restos Embrionarios Müllerianos

Propone que células residuales de los conductos de Müller permanecen en cualquiera de los lugares de su recorrido durante el desarrollo embrionario y posteriormente mantienen la capacidad de desarrollar células endometriales influenciadas por un estímulo estrogénico (Russell W et al, 1899). Hallazgos recientes han demostrado la presencia de endometrio ectópico en fetos femeninos a nivel del tabique rectovaginal, fondo de saco de Douglas, pared posterior o interior del útero, y a nivel de la muscularis del recto (Signorile P et al, 2010).

4. Teoría de las células madre de la médula ósea.

Es la teoría más reciente, que afirma que las células madre (probablemente de tipo mesenquimal o endotelial) en la circulación procedentes de médula ósea, podrían diferenciarse en tejido endometrial en distintas localizaciones incluso a distancia (Sasson IE et al, 2008; Gargett CE et al, 2014; Bulun SE, 2009). Esta teoría se explicaría el por que pueden tener endometriosis mujeres a las que se les ha extirpado el útero, hombres con cáncer de próstata y tratamientos con dosis altas de estrógenos.

Existen también teorías combinadas que hablan de que componentes de la menstruación de forma retrógrada pueden inducir la metaplasia o estimular el crecimiento de restos mullerianos en células endometriales (Fujii S et al, 1991). También se ha propuesto que el origen de las lesiones es el endometrio uterino, pero por cualquiera de los mecanismos que define la teoría de implantación, la teoría de la diseminación a distancia linfática-vascular o por extensión directa a través del miometrio (Javert CT, 1949).

Es importante resaltar la tendencia actual de proponer un origen diferente de la enfermedad para cada una de sus tres formas clínicas. De esta forma, parece existir consenso en que la endometriosis peritoneal se puede explicar por la teoría de la implantación, mientras que en la endometriosis profunda rectovaginal, que a menudo tiene aspecto de adenomiosis, algunos proponen que podría ser resultado de la metaplasia de restos müllerianos localizados en el septo rectovaginal (Nisolle M and Donnez J, 1997); y otros piensan que se produce como consecuencia de reflujo menstrual con posteriores siembras de endometrio ectópico que en virtud de su agresividad y de la reacción inflamatoria tan intensa que generan, van infiltrando los

órganos en los que se localizan (Vercellini P et al, 2004). Respecto a los endometriomas ováricos persiste también el debate si pueden surgir como resultado de la metaplasia celómica a partir de inclusiones formadas por epitelio ovárico invaginado, o por implantes depositados en la superficie del ovario tras menstruación retrógrada y que posteriormente se invaginan formando el quiste endometriósico o colonizan un folículo ya estallado.

3.2. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL TISULAR

Las lesiones establecidas inicialmente por alguno de los mecanismos citados, evolucionan en su mayoría a la cicatrización. Sin embargo, algunas de ellas permanecen activas, progresan y superan los mecanismos fisiológicos de defensa del huésped llegando a establecer una lesión viable y progresiva (Belaisch J, 1999).

Para explicar esta supervivencia existen 2 teorías:

1) Basada en la existencia de un endometrio alterado capaz de resistir los mecanismos normales de depuración peritoneal (Benagiano G et al, 2014b).

2) La otra sugiere que la enfermedad es secundaria a alteraciones de los componentes celulares y humorales del líquido peritoneal que ocasionan una depuración deficiente. Esta incapacidad podría ser consecuencia de alteraciones en los componentes presentes en el ambiente peritoneal como pueden ser: 1) aumento de citoquinas y factores de crecimiento; 2) disminución de actividad de las células Natural Killer; 3) aumento de macrófagos y 4) la concentración de hormonas locales (Ahn SH et al, 2015).

Cualquiera que sea el mecanismo por el que el tejido endometrial alcanza su localización ectópica (origen endometrial uterino vs extrauterino), y el mecanismo por el que el endometrio ectópico sobrevive a los mecanismos de defensa (endometrio ectópico alterado u ambiente peritoneal alterado), dicho tejido endometrial debe realizar una serie de pasos hasta el desarrollo de los implantes endometriósicos. (los siguientes pasos se resumen en **figura 1.5**):

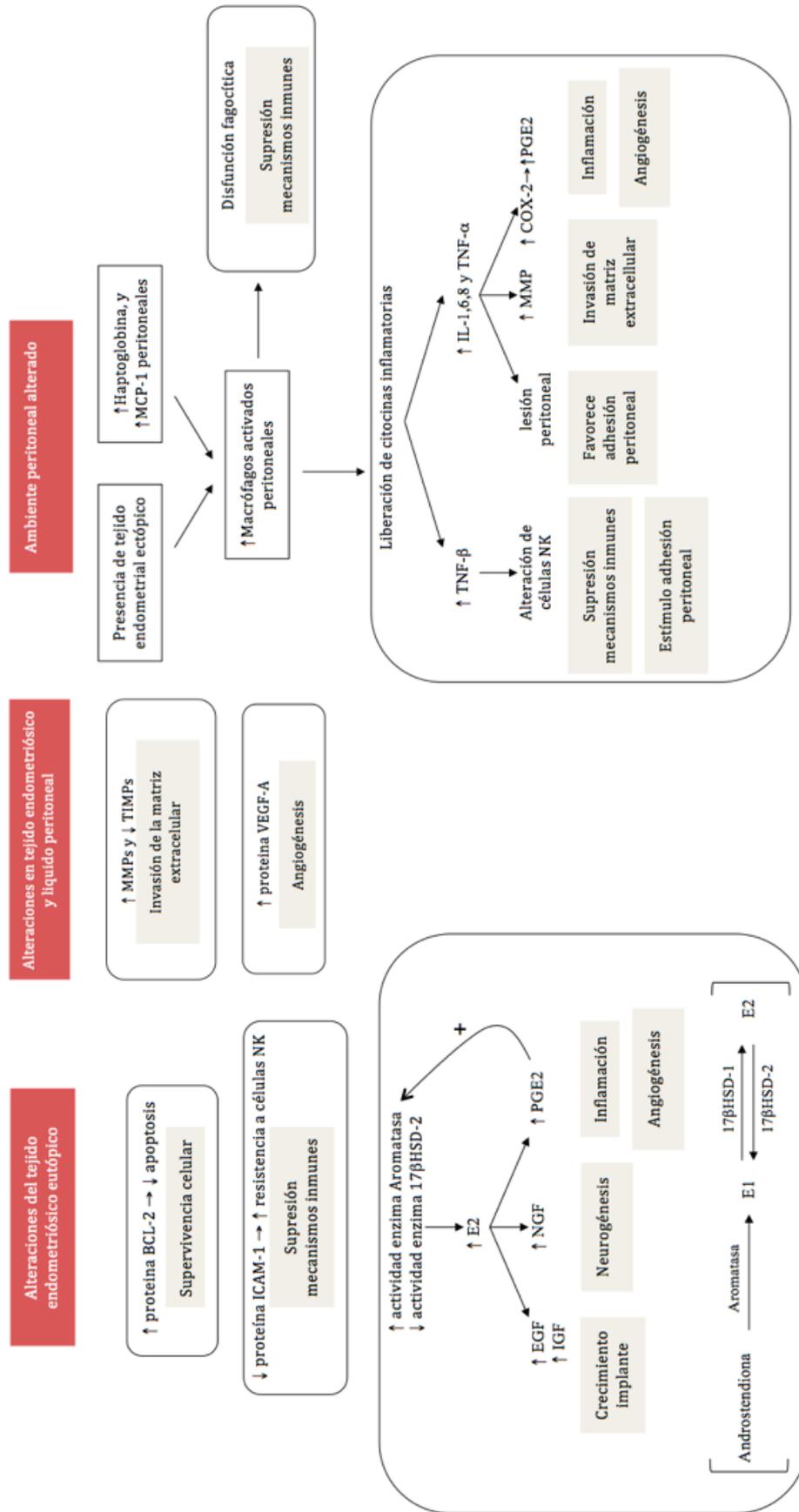


Figura 1.5. Mecanismos etiopatogénicos a nivel celular. Alteraciones en el tejido endometriótico ectópico y/o la presencia de un ambiente peritoneal alterado, conducen a una serie de mecanismos que facilitarán a dichas células endometrióticas ectópicas su supervivencia celular, la supresión de mecanismos inmunes de depuración celular, su adhesión a las células peritoneales, la invasión de la matriz extracelular, su crecimiento, el desarrollo de fenómenos de angiogénesis y neurogénesis; todo ello en un ambiente inflamatorio estrogénodependiente.

1. Supervivencia del endometrio ectópico fuera de la cavidad uterina

El endometrio eutópico de mujeres con endometriosis tiene alteraciones en los mecanismos de apoptosis, no observadas en endometrio de mujeres sanas. Esta resistencia apoptótica está mediada por proteínas intracelulares, como la BCL-2, cuya sobreexpresión conllevaría una supervivencia aumentada de las células endometriales en las pacientes con endometriosis (Wang G et al, 2015). Otros estudios han encontrado evidencia de que el TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) podría prevenir la apoptosis de las células endometriales estromales en su tránsito a la cavidad peritoneal (De la Cruz C et al, 2015). Esta citoquina sería por tanto un importante regulador de la supervivencia celular, estimulando la proliferación de células estromales e inhibiendo la proliferación de las epiteliales (Rahimi RA et al, 2007)

2. Supresión de los mecanismos inmunitarios

El líquido peritoneal es un medio que asegura la comunicación entre las células del sistema inmune, 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. Se ha evidenciado una deficiente función de los mecanismos de inmunidad celular y humoral en las mujeres con endometriosis. Existe proliferación, activación y disfunción fagocitaria de los macrófagos en el líquido peritoneal de las pacientes estériles con endometriosis (Sharpe-Timms KL et al, 2002) lo que desencadena una respuesta inflamatoria local con proliferación de linfocitos T y linfocitos NK (*Natural Killer*) (Lebovic DI et al 2001). Las células NK son las responsables del reconocimiento y destrucción de las líneas celulares que han migrado fuera de su medio habitual. En el endometrio ectópico de las mujeres con endometriosis se ha demostrado que las células son más resistentes a la lisis por dichas NK que en el ectópico de mujeres sin enfermedad, produciendo un déficit en la depuración de estas células. (Thiruchelvam U et al, 2015). Se ha identificado una disminución de la molécula de adhesión intercelular soluble tipo 1 (sICAM-1) en las células del estroma endometrial de mujeres con endometriosis, como posible mecanismo por el cual estas células se escapan al aclaramiento celular mediado por

células NK (Pabalan N et al, 2015).

Por otra parte, el líquido peritoneal es un medio rico en citoquinas, proteínas solubles de bajo peso molecular, esenciales para la comunicación intercelular. En la endometriosis se ha visto aumentada la secreción de TGF- β , el cual actúa inhibiendo la producción de interferón γ (IFN γ) e IL-10 por las células NK en el endometrio humano, alterando por tanto su acción (Eriksson M, 2006).

En definitiva, en pacientes con endometriosis como reacción al tejido endometrial eutéxico, se ha visto por un lado un aumento de células de respuesta inmune responsables de la aparición de una respuesta inflamatoria local, y por otro lado una disregulación en la producción de citoquinas por dichas células inmunes que conllevará una disfunción en su actividad (disminución de actividad fagocítica de los macrófagos, disminución de acción de NK, etc). Esto último producirá una supresión de la vigilancia inmunitaria similar a la observada en el proceso de formación de metástasis en cáncer, facilitando la formación del implante endometriósico (Burney RO and Giudice L, 2012).

3. Adherencia al peritoneo e invasión de la matriz extracelular (MEC)

Los fragmentos endometriales viables que no son eliminados por el sistema inmune son capaces de adherirse a la superficie peritoneal e iniciar un proceso de invasión del tejido subyacente hasta desarrollar la lesión endometriósica. Esta adhesión del tejido menstrual a la célula mesotelial peritoneal se hace fundamentalmente, a través de la fracción de células estromales endometriales (Young VJ et al, 2013).

Debe existir una alteración hereditaria o adquirida del peritoneo que facilite dicha adhesión e invasión transmesotelial peritoneal por las células endometriales. Un mesotelio intacto es probable que actúe como una barrera protectora contra la implantación de tejido endometrial regurgitado. De hecho, estudios in vitro demostraron que los fragmentos de endometrio se adhieren al peritoneo, solamente en los lugares donde se expuso la membrana basal o la matriz extracelular debido a daños en el epitelio mesotelial (Lu Z et al, 2014).

Existen numerosos factores que pueden dañar el peritoneo (cirugía, toxinas,

bacterias, células inflamatorias...), y así explicar la alta frecuencia de implantes endometriósicos microscópicos en biopsias randomizadas de peritoneo aparentemente normal (Redwine DB et al, 2003). Se ha visto que el flujo menstrual tiene un efecto perjudicial sobre el mesotelio, y puede inducir la lesión local que promueve la implantación de las células del endometrio (Fabiano G et al, 2008). Sin embargo, los factores exactos involucrados en la mediación del daño mesotelial son desconocidos.

En el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis se ha visto un aumento de citocinas que van a favorecer la adhesión celular. El aumento de TGF β facilita la adhesión de células endometriales estromales humanas en el peritoneo (Beliard A et al, 2003). Se ha comprobado también que el exceso de TNF α , IL1 y IL8 en el líquido peritoneal de las mujeres con endometriosis, produce por una lado, el daño del mesotelio facilitando la adhesión del endometrio ectópico al peritoneo lesionado, y por otro, la activación del sistema de las MMPs, facilitando la invasión de las células endometriales (Zhang RJ et al, 1993).

La matriz extracelular (MEC) es una compleja estructura glicoproteica que sirve de soporte celular y confiere una ultraestructura tridimensional específica a cada tejido. Además 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 (Hellewell AL, 2015). La correcta homeostasis de la MEC está regulada por la existencia de un tipo de enzimas proteolíticas conocidas como las metaloproteinasas (MMPs). Diversos estudios han demostrado en lesiones endometriósicas, un desbalance de los sistemas de las MMPs y de sus inhibidores TIMPs (*Tissue Inhibitor of Metalloproteinases*). Se ha identificado un aumento de expresión de las MMPs -1, -2, -3 -7 y -9 y una disminución del TIMP-1 (Koks C et al, 2000; Chung H et al 2002). Nuestro grupo ha descrito niveles incrementados de enzimas proteolíticas (MMP-3) y proteínas fibrinolíticas (uPA), así como disminución de moléculas que inhiben fibrinólisis (PAI-1) en endometrio de mujeres con endometriosis (Gilabert-Estellés J et al, 2003; Ramon L et al, 2005), sugiriendo que estos valores puede contribuir al potencial invasivo de las células endometriales. También se ha confirmado una reducción del TIMP-1 en el líquido peritoneal de las mujeres con endometriosis (Szamatovicz Z et al, 2002).

4. Angiogénesis y crecimiento de los implantes

De acuerdo con la teoría de la implantación, una vez el endometrio se une al peritoneo (medio relativamente avascular comparado con el endometrio), debe establecerse una adecuada vascularización para la supervivencia del implante y el desarrollo de la enfermedad. El proceso de angiogénesis incluye la proliferación, migración y extensión de células endoteliales, la adhesión de estas células a la matriz extracelular, el remodelado de esta matriz y la formación de un lumen vascular (Vignali M et al, 2002). Esta neoangiogénesis y reclutamiento capilar son visibles por laparoscopia, sobre todo en las lesiones más activas, macroscópicamente llamadas "rojas".

La angiogénesis está mediada principalmente por el VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor A*) y el PlGF (*Placental Growth Factor*) (Ferrara N, 1999) que son capaces de controlar la formación de vasos sanguíneos y su permeabilidad, al interactuar con dos receptores específicos (VEGFR-1 y VEGFR-2) (Mattei M et al, 1999).

La mayoría de las funciones biológicas iniciadas por VEGF-A se transmiten a través del VEGFR-2 que tiene una localización exclusiva endotelial (Millauer B et al, 1993), 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 (Autiero M et al, 2003).

La importancia de la angiogénesis en los implantes endometriósicos se demuestra por el pobre desarrollo de estas lesiones en modelos animales expuestos a agentes antiangiogénicos (Hull ML et al, 2003; Becker CM et al, 2008). Se ha observado un aumento de la secreción de VEGF en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis y su niveles se correlacionarían con el estadio de enfermedad (Cosin R et al, 2009). El VEGF está también hiperexpresado por el epitelio glandular de los implantes peritoneales y en los endometriomas, siendo secretado por los macrófagos activados en el líquido peritoneal (Capobianco A et al, 2013). Además, existe mayor expresión de PlGF y NK en el líquido peritoneal de mujeres con

endometriosis (Li X et al, 2001), lo que facilitaría la formación de una lesión vascularizada y viable en la zona de implantación peritoneal. Resultados recientes, realizados por nuestro grupo, han demostrado que la exposición de células endometriales y endometriósicas *in vitro* a líquido peritoneal de pacientes con endometriosis inducía un incremento de la expresión de VEGF-A en dichas células (Cosín R et al, 2010; Ramón LA et al, 2011; Braza-Boils A et al, 2013). También hemos demostrado un cambio en los perfiles de expresión de diferentes miRNAs relacionados con la angiogénesis, tras la exposición de líquido peritoneal de pacientes con endometriosis en células de endometrio eutópico de dichas pacientes. Se comprobó también el VEGF-A como diana del miR-29c-3p y miR-424-5p (Braza-Böils A et al 2015).

Es conveniente recordar, que los nervios con frecuencia acompañan a la angiogénesis (neuroangiogénesis) y probablemente contribuyan al dolor asociado con este trastorno (Asante A et al, 2011).

En el crecimiento del implante juegan un papel importante diversos factores de crecimiento. El factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Pellicer A et al, 1995) y el factor de crecimiento tipo insulina (IGF) (Jha P et al, 1996),.

5. Inflamación y progresión de enfermedad

Las glándulas y estroma del tejido endometrial ectópico mantienen una respuesta a las hormonas gonadales, produciendo una menstruación cíclica en el peritoneo que desencadena inflamación, adherencias y dolor. Esta respuesta se mantiene en el tejido ectópico a pesar de que los niveles de esteroides son menores que en el endometrio normal. El endometrio ectópico produce un nivel de aromataasa que puede ser 400 veces mayor que en el endometrio eutópico, la cual estimula la producción de Estradiol a nivel local (Bulun SE et al, 2015). A su vez, existe en el tejido endometriósico, una disminución de la enzima 17-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa-2, lo cual produce también, un incremento en la síntesis de estradiol (Zeitoun K et al, 1998). Este aumento de Estradiol a nivel local produce un incremento en la producción de prostaglandina E2 (PGE2), que es un potente estimulador de la actividad aromataasa, estableciéndose una retroalimentación positiva que permite el crecimiento del implante, incluso con niveles circulantes bajos de

estradiol (Attar E et al, 2009). (Figura 1.6) Estos hallazgos apoyan la capacidad de los implantes endometriósicos en la biosíntesis de estradiol, su estrógeno-dependencia y por tanto apoya el uso de fármacos con el objetivo de crear un microambiente peritoneal hipoestrogénico.

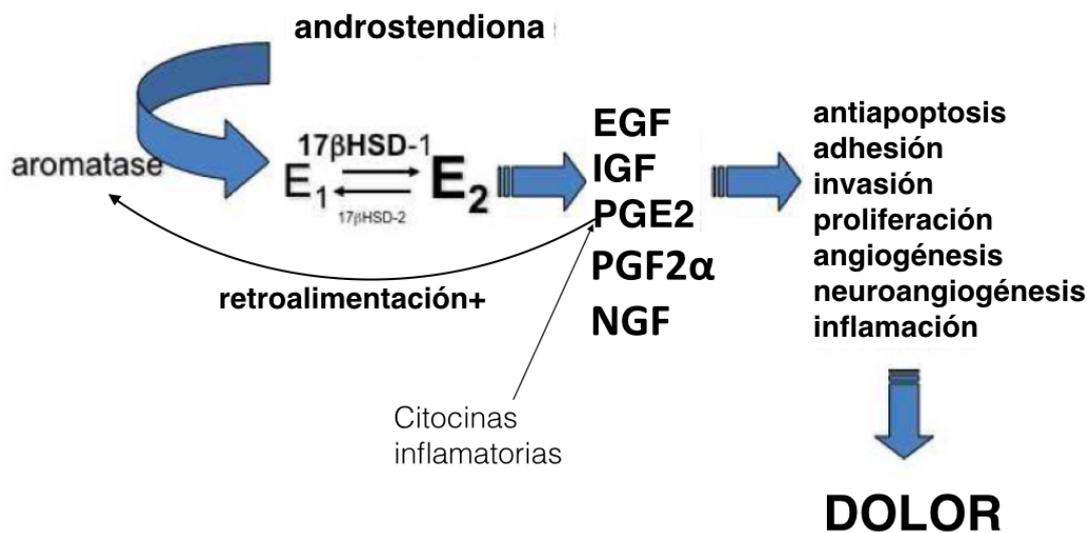


Figura 1.6. Interrelación entre estrogendependencia, inflamación y desarrollo de los implantes endometriósicos. La producción local de estrógenos en lesiones endometriósicas y endometrio eutópico genera sustancias que producen inflamación y el desarrollo de las lesiones. El desarrollo de las lesiones y el ambiente inflamatorio genera un incremento en secreción local de estrógenos, estableciéndose un círculo constante de retroalimentación positiva (modificado de Burney, 2012).

Además de la estrógeno-dependencia del implante endometriósico, se ha visto una resistencia a la progesterona, al observarse una disminución en la expresión de receptores de progesterona (Bulun SE et al, 2006). También se han visto en pacientes con endometriosis, una disregulación en los genes de respuesta a la progesterona en la fase lútea, en los que el endometrio con una transición incompleta de fase proliferativa a secretora, tiene más posibilidades de implantación y supervivencia al ser menstruado retrógadamente (Burney RO et al, 2007).

Por otra parte, existe un ambiente proinflamatorio peritoneal por el aumento de TNF α y otras citoquinas (se desconoce aún si este aumento de citoquinas es causa o consecuencia de la enfermedad) como la Il-1 β que inducen la transcripción de la COX-2, la cual es una enzima limitante de la vía de la síntesis de prostaglandinas con potente actividad proinflamatoria y angiogénica (Attar E et al, 2009). Además, la

COX-2 potencia la actividad aromataasa, participando en la retroalimentación positiva de producción local de estradiol en las lesiones endometriósicas, promoviendo el crecimiento del implante. Esta vía pone de manifiesto la interrelación entre la estrogendependencia y la inflamación en la endometriosis (Bulun SE et al, 2001), lo que permitiría definir la endometriosis como una enfermedad inflamatoria crónica hormonodependiente (Streuli I et al, 2013) con una predisposición genética (Burney RO et al, 2012).

3.3. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL GENÉTICO.

Se ha postulado una alteración genética hereditaria en las células endometriales que influya en su tendencia al implante, al detectarse un riesgo 6 veces mayor de endometriosis en las familiares de primer grado de mujeres afectas de endometriosis profunda. (Simpson JL et al, 1980). Además se ha visto en gemelas monocigóticas un elevado porcentaje de concordancia de lesiones endometriósicas histológicamente confirmadas (Saha R et al, 2015). Diversos estudios han detectado que las regiones del cromosoma 10q26 y 7p15 podrían ser los responsables de una mayor susceptibilidad a la enfermedad, aunque sin identificar claramente los genes responsables de estos cambios (Painter JN et al, 2011).

Existen polimorfismos genéticos en la población general que afectan a la codificación de factores importantes en procesos de remodelado tisular. Estas variaciones genéticas pueden contribuir a la expresión de proteínas relacionadas con la angiogénesis, el remodelado tisular o la respuesta inmunitaria y podrían explicar la importancia del componente genético en la enfermedad. Se han encontrado diferencias de expresión de polimorfismos en función del área geográfica estudiada lo que podría explicar las variaciones encontradas entre diferentes poblaciones e incluso servir como marcadores de riesgo de enfermedad. Nuestro grupo ha identificado una mayor frecuencia alélica de VEGF 936T en mujeres de raza blanca afectas de endometriosis lo que podría contribuir a un mayor riesgo de enfermedad (Cosin R et al, 2009). También encontramos, comparando los polimorfismos 4G/5G del PAI-1 (*Plasminogen activator inhibitor-1*) en 170 mujeres con endometriosis y 219 controles, una mayor expresión de PAI-1 en el endometrio de las mujeres con genotipo 4G/4G (Ramon L et al, 2008).

Además de alteraciones genéticas heredables, se han propuesto alteraciones genéticas adquiridas que aumenten la supervivencia del endometrio regurgitado hasta establecer un implante. El endometrio es un entorno de extraordinaria renovación celular, y por lo tanto, vulnerable a errores de recombinación genética. Se han documentado alteraciones genéticas en el endometrio eutópico como consecuencia de factores epigenéticos o estrés oxidativo (Guo SW, 2009). Un estudio sobre endometriomas solitarios ha documentado una pérdida de la heterocigosidad del 56% y mutación del 21% del gen supresor tumoral, PTEN (Govatati S et al, 2014).

Se ha postulado que la endometriosis peritoneal, los endometriomas ováricos y la endometriosis rectovaginal tendrían un origen diferente, con mecanismos fisiopatológicos bien diferenciados. Así pues, mientras el endometrioma y los implantes peritoneales se producirían por un mecanismo de implantación, los nódulos profundos rectovaginales se originarían a partir de un proceso de metaplasia o de restos embrionarios.

Técnicas modernas de biología molecular han permitido estudiar los mecanismos genéticos implicados en el proceso de metaplasia. Se han identificado un grupo de genes HOX (familia homeobox), cuya función principal es regular una diferenciación específica de los tejidos indiferenciados para cada localización anatómica de los mismos. Así pues el HOXA10 está implicado en la embriogénesis del epitelio, estroma y músculo uterino (Taylor HS et al, 1997). Por otra parte HOXA9 se limita a la trompa de falopio, HOXA11 en las glándulas y epitelio cervical y HOXA13 está altamente expresado en el epitelio vaginal (Taylor HS et al, 1997). La expresión de HOXA-10 y HOXA-11 varía durante el ciclo menstrual, aumentando de forma significativa durante la ventana de implantación. Sin embargo, el endometrio de las mujeres con endometriosis no presenta esta variación cíclica en la expresión de HOXA-10 y HOXA-11, lo que podría contribuir al proceso de esterilidad (Gui Y et al 1999; Taylor HS et al, 1999). Por otra parte, el hallazgo de una marcada expresión de HOXA-10 y HOXA-13 en los nódulos rectovaginales y no en las lesiones peritoneales endometriósicas apoya la existencia de un origen diferente de estos dos tipos de enfermedad (Van Langendonck et al, 2010). Se ha sugerido que una manipulación genética de esta expresión génica de los genes HOXA podría mejorar las tasas de implantación embrionaria en mujeres con esterilidad debida a endometriosis (Bagot

CN et al, 2010). Es muy interesante el hallazgo de que la cirugía puede restablecer la expresión normal de HOXA10 en el endometrio de mujeres con endometriosis (Van Langendonck et al, 2010). Esto podría explicarse por alteraciones en los mecanismos de metilación y explicar la mejoría de las tasas de implantación embrionaria en pacientes intervenidas de endometriosis profunda retroperitoneal, en las que no se ha realizado intervención directamente sobre los genitales internos (Stepniewska A et al, 2009).

En resumen, hay múltiples estudios buscando alteraciones genéticas hereditarias o adquiridas en el endometrio ectópico de mujeres con endometriosis vs sanas, que alteren su expresión de proteínas y puedan predisponer al desarrollo de la enfermedad. Dichas alteraciones han sido muy bien resumidas recientemente (Burney RO et al, 2012) (**Tabla 1.1**).

Gen	Función	Autor
17βHSD-2	Hidroxiesteroide deshidrogenasa	Zeitoun et al 1998
BCL-2	Antiapoptosis	Jones et al 1998
CYP19	Enzima aromatasa	Noble et al 1996
HOXA 10	Factor de transcripcion	Taylor et al 1999
IL-6	Citokina	Harada et al 1997
K-ras	Oncogen	Dinulescu et al 2005
MMP-3 y 7	Metaloproteinasa	Bruner-Tran et al 2002
NF-KB	Factor de transcripcion	Gonzalez-Ramos 2010
PGE2	Prostaglandina	Badawy et al 1998
PTEN	Gen supresor tumoral	Dinulescu et al 2005
TGF-β	Citokina	Oosterlynck et al 1994
TNF-α	Citokina	Eisermann et al 1998

Tabla 1.1. Genes candidatos implicados en patofisiología de la endometriosis. (Modificado de Burney RO et al, 2012).

3.4. MECANISMOS ETIOPATOGÉNICOS A NIVEL EPIGENÉTICO.

Hemos visto que existen múltiples genes candidatos, que mediante su alteración, pueden generar el desarrollo de la endometriosis. Dichas alteraciones se pueden producir por mutaciones o cambios en la secuencia del DNA de dichos genes o también por mecanismos epigenéticos (Guo SW, 2009).

La epigenética se define como el estudio de los cambios heredables en la expresión génica que ocurren sin cambios en la secuencia del DNA (Izawa M et al, 2013). Actualmente, entendemos por mecanismos epigenéticos la modificación covalente de histonas, la metilación del DNA y el proceso de los RNA de interferencia (RNAi) del que forman parte los microRNA (miRNA) (Portella A y Esteller M, 2010) (**Figura 1.7**).

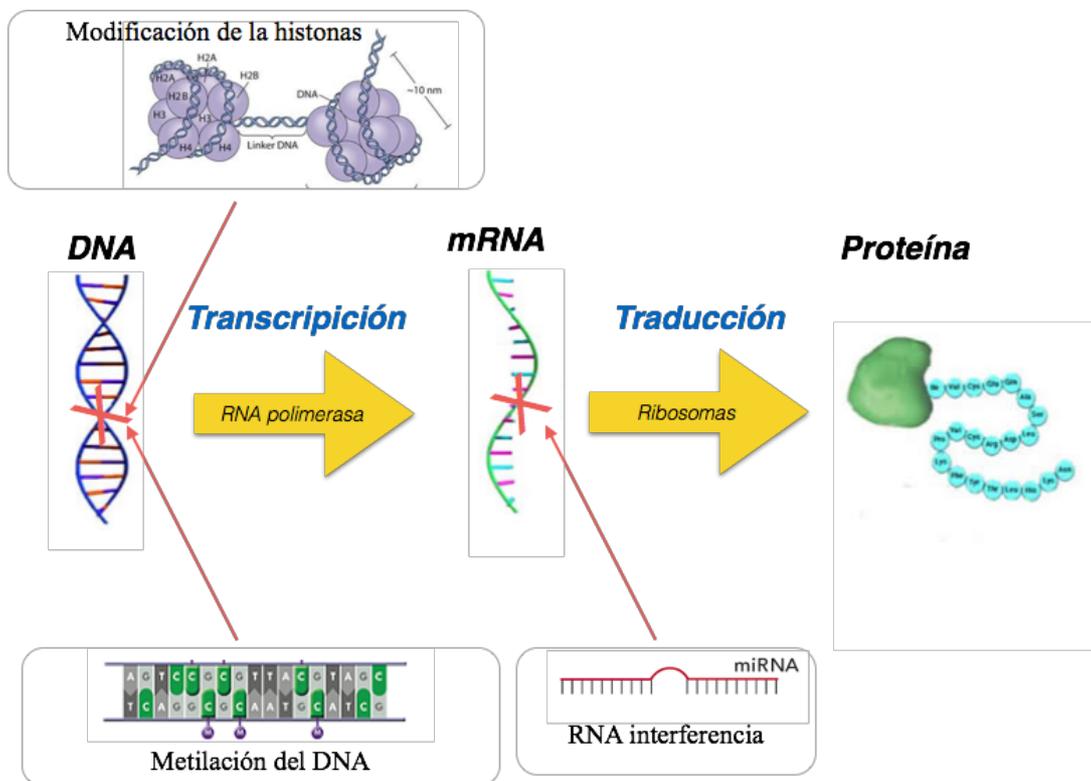


Figura 1.7. Principales mecanismos epigenéticos. La modificación de las histonas o la metilación del DNA actuarían a nivel pretranscripcional, impidiendo dicha transcripción. Los miRNAs actúan a nivel postranscripcional, bloqueando la traducción de proteínas al unirse a sus mRNAs diana.

Las histonas son unas proteínas que junto el DNA forman la cromatina sobre la base de unas unidades conocidas como nucleosomas. Tienen una función de

soporte al producir el enrollamiento del DNA que permita su cabida en el núcleo celular y una función de control transcripcional. La acetilación de las colas de las histonas a nivel de la lisina produce una modificación de la cromatina permitiendo que se pueda transcribir y por contra, la desacetilación, compacta la cromatina silenciando la actividad transcripcional.

Por otra parte, la metilación de dichas histonas produce cambios permanentes en la cromatina que conllevan al mantenimiento de un tipo determinado de expresión génica. En la endometriosis se han observado diferencias en los niveles de expresión de algunas de las enzimas encargadas de la modificación covalente de éstas, las histonas deacetilasas 1 y 2 (HDAC1, HDAC2) en los implantes endometriósicos en comparación con el endometrio control, lo cual suprimiría la apoptosis y favorecería la proliferación celular (Strahl y Allis, 2000). También se ha demostrado en lesiones endometriósicas, respecto a controles, niveles más bajos de acetilación y más altos de metilación de las histonas, en concreto la Histona H3, dentro de regiones promotoras de genes con disregulación conocida en endometrosis como HOXA 10 (Monteiro JB, 2014). Un estudio reciente ha demostrado un aumento de la metilación en el residuo 27 de lisina de la histona 3 (H3K27me3) en lesiones endometriósicas comparado con el endometrio eutópico de pacientes con endometrosis (Colón-Caraballo M, 2015).

En referencia a la metilación del DNA, se sabe que agentes externos o ambientales pueden producir la hipermetilación o transferencia de grupos metilo en regiones promotoras del DNA, que bloquean su expresión. Del mismo modo la hipometilación del DNA favorece la hiperexpresión de un determinado gen. Este mecanismo se ha evidenciado en células cancerosas al producirse una pérdida de la función de un gen “protector” o la hiperexpresión de un oncogen, lo que desencadenaría el desarrollo del proceso tumoral. En la endometriosis se ha detectado en células endometriósicas, que la hipometilación del gen que codifica la enzima aromatasa produce su hiperexpresión, lo que podría contribuir a la elevación de los niveles locales de estrógenos, los cuales evitarían la destrucción de las lesiones por macrófagos activados (Forte A et al, 2014).

Otro estudio que relaciona metilación del DNA y endometriosis, observa un diferente patrón de metilación en los genes que transcriben proteínas de la familia GATA (proteínas caracterizadas por su capacidad de unirse a secuencias de DNA

"Guanina-Adenina-Timina-Adenina" y funcionar como factores de transcripción de otros genes). En mujeres sanas están metilados los genes de GATA6, permitiendo la expresión de GATA2, responsable de reactivación de genes que producen el crecimiento normal y reacción decidual del endometrio, mientras que en la endometriosis están metilados genes de GATA2 y se expresan genes de GATA6 responsables de activación de genes que regulan resistencia a progesterona y metabolismo esteroideo (Dyson MT, 2014).

Los miRNAs son también considerados como mecanismo epigenético. Son pequeñas moléculas de RNA de 21-22 nucleótidos transcritas a partir de genes de DNA, pero que no son traducidas a proteínas, sino que tienen la propiedad de unirse a uno o más RNA mensajeros complementarios (RNA mensajeros diana) bloqueando la síntesis de proteína codificada por el mismo. Su acción, por tanto, no es codificante de proteínas, sino que actúan regulando la expresión de determinados genes a nivel post-transcripcional (Ambros V y Lee RC, 2004).

La vía canónica de su biogénesis se inicia en el núcleo, con la transcripción llevada a cabo por la RNA polimerasa II para dar lugar a precursores largos, los miRNAs primarios (pri-miRNAs). Posteriormente Drosha, una RNasa de tipo III, rinde precursores en forma de horquilla de aproximadamente 70 bases de longitud, los pre-miRNAs, que son exportados al citoplasma gracias a la Exportina 5. En el citoplasma, la endonucleasa "Dicer" lleva a cabo el corte final para dar miRNAs maduros de doble cadena y una proteína argonauta (AGO) la desenrolla en un miRNA maduro de cadena simple. A continuación, estos miRNAs se asocian con otras proteínas para formar el complejo del silenciamiento inducido de RNAs (RISC), el cual selecciona y facilita la interacción de una de las dos cadenas del miRNA con el RNA mensajero, dejando la otra libre para su degradación (Bartel DP, 2004) (**Figura 1.8**).

Los miRNAs ejercen sus acciones gracias a interacciones tipo Watson y Crick, normalmente en el extremo 3' no traducido (3'-UTR) del mRNA. Cabe decir que el determinante primario de la regulación por miRNAs es el emparejamiento entre la secuencia de nucleótidos en posición 2 a 7 (lectura en dirección 5'-3') del miRNA maduro (conocida como la "seed región") y el mRNA diana (Bartel DP, 2009). Si la complementariedad es completa, la consecuencia es la degradación del mensajero; si

ésta es parcial, el resultado es la inhibición de la traducción del mRNA, bloqueándose en ambos casos la codificación de proteínas (Suzuki H et al, 2013).

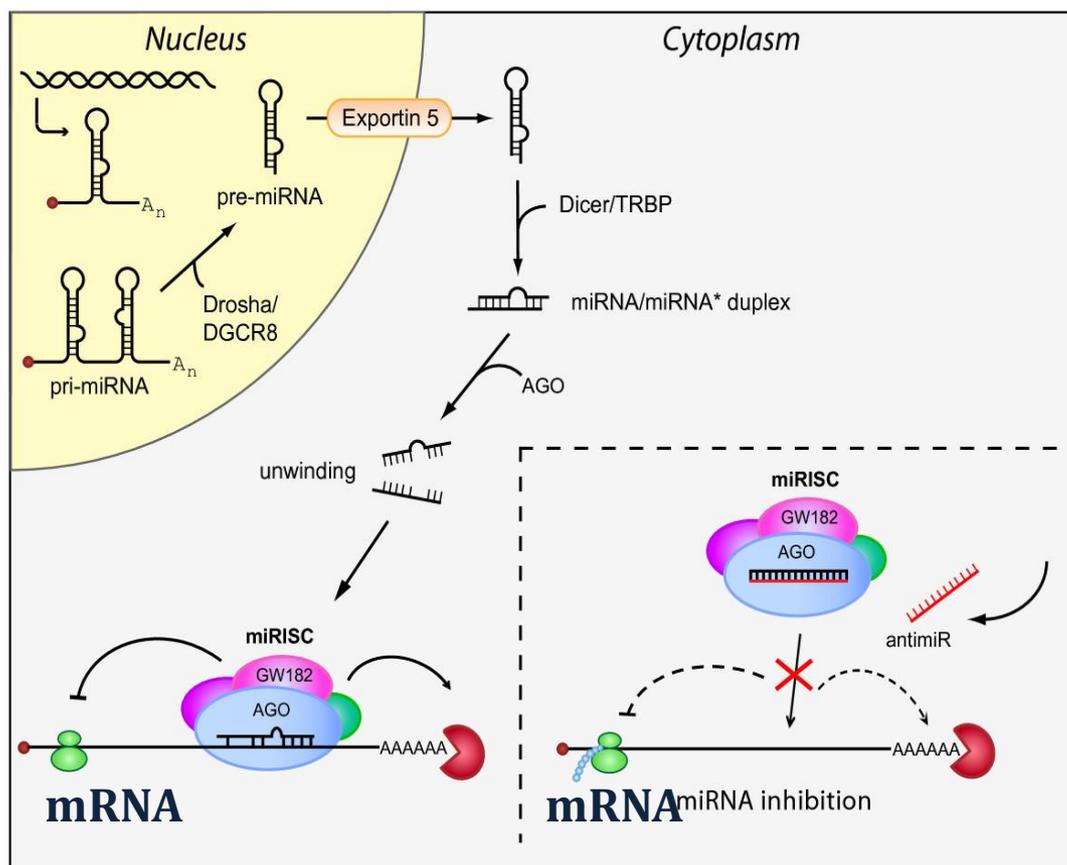


Figura 1.8. Biogénesis de los miRNAs. En el recuadro inferior derecho aparece como, de forma contraria, un antimicroRNA puede unirse a su microRNA complementario bloqueando su acción y permitiendo por tanto la traducción del mRNA en proteína (imagen tomada de www.silencejournal.com).

Dichas moléculas actúan por tanto, como importantes reguladores de la expresión génica en la mayoría de procesos celulares y cabe destacar que cada tipo celular tiene un perfil de expresión de miRNAs característico que le permite mantener sus características propias y diferenciadas. Actualmente se sabe, que tan sólo una pequeña parte del genoma es codificante de proteínas, y que más del 95% de éste, está destinado a la síntesis de moléculas similares a los miRNAs, las cuales tienen una función reguladora de la codificación de dichas proteínas (Shah MY y Calin GA, 2015). Se ha visto un perfil de expresión alterado de dichos miRNAs en diversas enfermedades, y emergen como candidatos a explicar la génesis de muchas patologías como el cáncer, la enfermedad cardiovascular, desórdenes metabólicos e inmunitarios

o la endometriosis (Zorio E et al, 2009; Qin B et al, 2012; Ramón LA et al, 2012; Gilabert-Estellés et al 2012; Romaine SP et al, 2015).

Existe evidencia del papel de los miRNAs en la regulación postranscripcional de la endometriosis y se han identificado diferentes miRNAs que tienen una expresión diferenciada en tejidos endometriósicos (Ohlsson EMC et al, 2009; Ramón LA et al, 2011; Gilabert-Estellés J et al, 2012; Braza-Boils A et al, 2014). Recientemente, nuestro grupo de trabajo ha detectado en tejido endometriósico diversas alteraciones en la expresión de diversos miRNAs relacionados con la actividad angiogénica y proteolítica. Se ha observado en endometrio eutópico de pacientes una infraexpresión significativa de varios miRNAs (miR-202-3p, -424-5p, -449-3p y -556-3p) y en endometriomas una infraexpresión del miR-449-3p. Además buscando una posible relación entre los miRNAs y sus genes diana, se ha visto una correlación inversa significativa en endometrio eutópico entre el miR-424-5p y los niveles proteicos de VEGF-A y uPA; y en el endometrioma entre el miR-449-3p con los niveles proteicos de un inhibidor de la angiogénesis la trombospondina-1 (TSP-1). Estas diferencias en los niveles de miRNA podrían modular la expresión de VEGF-A, uPA, PAI-1 y TSP-1, jugando un papel importante en la patogénesis de la endometriosis. Las actividades angiogénicas y proteolíticas más altas observadas en endometrio eutópico de pacientes podrían facilitar la implantación de las células del endometrio en sitios ectópicos (Braza-Boils A et al, 2014).

Al margen de su posible implicación en la patogénesis de diversas enfermedades, otra característica de los miRNAs es la posibilidad de su detección en plasma u otros tejidos corporales y su relativa estabilidad, lo cual, ha generado la posibilidad de ser usados como biomarcadores no invasivos para el diagnóstico de endometriosis. Además, el posible desarrollo de terapias que bloqueen la expresión o reproduzcan las funciones de los miRNAs, podrían representar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la endometriosis (Marí-Alexandre J et al, 2015).

4. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

Las consecuencias clínicas de la endometriosis son básicamente el dolor y la esterilidad. Sin embargo, la valoración clínica en la paciente con endometriosis resulta

especialmente compleja debido a la variedad de los síntomas y el hecho habitual observado, que cuadros similares de afectación produzcan una diferente repercusión en la calidad de vida o en la fertilidad de las pacientes. Cabe también destacar, que entre un 15-30% de las endometriosis confirmadas son asintomáticas, siendo diagnosticadas ante el hallazgo de una masa anexial en una revisión rutinaria o tras las pruebas realizadas en un estudio de esterilidad; y que en torno al 5% de las mujeres sometidas a esterilización tubárica sin ningún síntoma presentan endometriosis (Fuentes A et al, 2013).

4.1. DOLOR

El diagnóstico basado en los síntomas suele resultar difícil debido al solapamiento con otros procesos causantes de dolor pélvico (colon irritable, enfermedad pélvica inflamatoria, litiasis, dolor radicular, dolor miofascial, etc.), a la variabilidad sintomática y a la conciencia generalizada de normalidad del dolor asociado a la menstruación, lo que conlleva en conjunto, a un retraso importante en el diagnóstico (Hirsch M et al, 2015).

Otra situación frecuente que contribuye al retraso diagnóstico se da en las pacientes con endometriosis profunda con afectación extragenital intestinal o urinaria, las cuales presenten síntomas no ginecológicos, como rectorragia o hematuria durante la menstruación y que son derivadas a otros especialistas que descartan otras enfermedades, pero no suelen pensar en su diagnóstico diferencial en la endometriosis profunda (Butrick CW, 2007).

Los síntomas dolorosos clásicos y más frecuentes son la dismenorrea y la dispareunia, aunque se refieren síntomas muy variados dependiendo del órgano comprometido. Cuando existe afectación del recto, el síntoma más característico es el dolor durante la defecación o disquecia menstrual, aunque también la paciente puede consultar por sangrado rectal, dolor con los movimientos intestinales y/o espasmo rectal. La presencia de nódulos vaginales profundos se relaciona con la frecuencia y severidad de la dispareunia profunda. Otros síntomas que pueden presentarse relacionados con compromiso del tracto urinario incluyen la disuria, cambios irritativos como urgencia, frecuencia, nicturia, tenesmo vesical e incluso dolor suprapúbico y hematuria (Riazi H et al, 2015).

La relación entre el dolor pélvico crónico y la endometriosis no es clara, pero se encuentra en más de la mitad de las pacientes y existen argumentos histológicos y fisiopatológicos que relacionan el dolor con la compresión o infiltración de los nervios del espacio pélvico subperitoneal (Fauconnier A y Chapron C, 2005; Miller EJ et al, 2015) (**Figura 1.9.**).

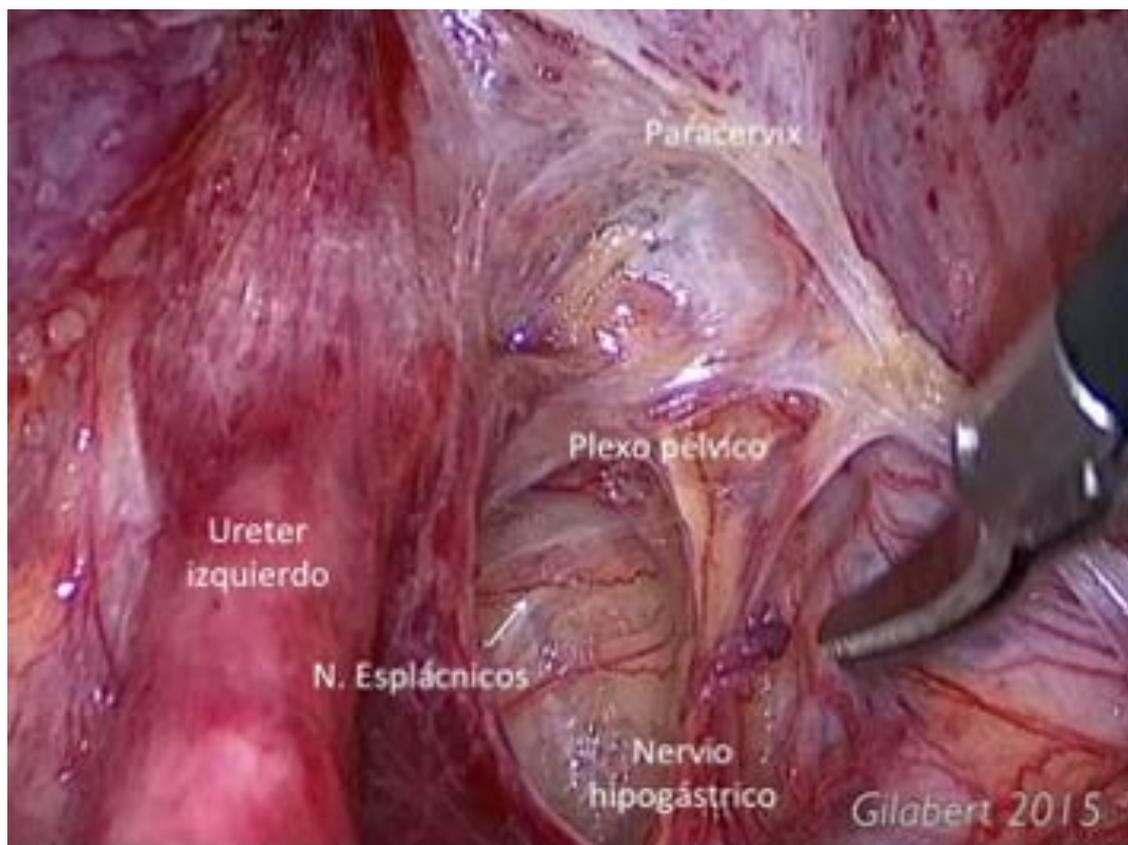


Figura 1.9. Nerve sparing. Técnica de preservación nerviosa en endometriosis profunda infiltrante con afectación del ligamento uterosacro izquierdo. Tras la disección ureteral izquierda se desarrolla la porción medial de la fosa pararectal, en la que se encuentra el nervio hipogástrico izquierdo. (inervación simpática). Dicha estructura se une a los nervios espláncnicos a nivel del paracérvix (inervación parasimpática) para formar el plexo pélvico (inervación mixta simpática y parasimpática) (Tomado de Gilabert-Estellés, 2015)

Los mecanismos implicados en la genesis del dolor han sido ampliamente estudiados. Los focos de endometriosis peritoneal generan sangrado, inflamación y adherencias; mientras que los nódulos de la EIP producen retracción, fibrosis, obstrucción de órganos y síntomas dolorosos mucho más marcados, al comprometer sitios en el retroperitoneo con abundante inervación (Anaf V et al, 2002).

En la EIP, a diferencia de las otras formas clínicas de endometriosis, además del dolor, existe la posibilidad, cuando la enfermedad progresa, de comprometer órganos abdominales mediante su infiltración u obstrucción. Se pueden producir desde obstrucciones intestinales hasta pérdidas silenciosas de la función renal por obstrucción crónica. En ocasiones, la enfermedad sólo se detecta de manera muy tardía, cuando aparecen las manifestaciones clínicas derivadas del compromiso de éstos órganos (Muñoz JL et al, 2012).

El abordaje diagnóstico de la EIP es muy complejo y se ha comprobado que es aún más difícil de diagnosticar cuando la enfermedad es severa (Matsuzaki S et al, 2006). Constituye el principal reto diagnóstico en endometriosis y posiblemente la causa principal del importante retraso diagnóstico en esta patología (Husby GK et al, 2003).

Dicha forma de enfermedad requiere técnicas endoscópicas y de imagen más sofisticadas, y a menudo múltiples pruebas para la detección de las lesiones. En la práctica hay gran disparidad en el número y tipo de pruebas a realizar en pacientes con sospecha clínica de EIP. En los centros no especializados, las pacientes son operadas sin ninguna de estas pruebas, y las lesiones de EIP son descubiertas intraoperatoriamente. Por otro lado, en los centros especializados, se realizan múltiples técnicas, las cuales son caras y a menudo mal toleradas por las pacientes, resultando en un exceso de pruebas en pacientes con bajo riesgo de EIP.

Por consiguiente, es importante el diagnóstico preoperatorio de las pacientes con riesgo de lesiones profundas y realizar un abordaje apropiado de pruebas diagnósticas, que guíen el mejor manejo quirúrgico. Con este objetivo se han buscado parámetros clínicos predictores de EIP para determinar que pacientes son candidatas a técnicas diagnósticas avanzadas.

A diferencia de la endometriosis superficial y ovárica, en la endometriosis profunda se ha visto una fuerte asociación entre la intensidad del dolor y la presencia de las lesiones profundas, así como su estadio o extensión (Koninckx PR et al, 1991; Chapron C et al, 2003b y 2102; Chopin N et al, 2006). También se ha demostrado la asociación de diferentes tipos de dolor (dispareunia profunda, disquecia o disuria

catamenial) con riesgo aumentado de EIP (Sinaii N et al, 2008). Además, algunos de estos síntomas dolorosos se correlacionan con localizaciones anatómicas específicas (Fauconnier A et al, 2005). La asociación de esterilidad y dolor ha sido también recogida para el diagnóstico de EIP (Forman RG et al, 1993). Una historia de dismenorrea precoz asociada a absentismo escolar en la adolescencia se ha visto también relacionada con riesgo de EIP (Chapron C et al, 2011).

Como resultado de la detección de estas asociaciones, se han generado modelos de cuestionarios para predecir la existencia de EIP, como la Escala analógica visual (VAS) para diferentes tipos de dolor. Realiza una valoración semicuantitativa de los diferentes tipos de dolor asociados a endometriosis (Dismenorrea, Dispareunia, Disuria, Disquecia, Dolor pélvico crónico) otorgándole un valor de severidad de 0 a 100. Un valor mayor de 70-80 en cada uno de los síntomas puede orientar a EIP, y además al compartimento principalmente afecto. Por ejemplo presentar Disquecia con una VAS elevada orienta a EIP del compartimento posterior y en concreto a posible afectación rectal (Gerlinger C et al, 2010; Bourdel N et al, 2015) .

Un meta-análisis sobre la predicción de EIP con datos clínicos, concluye sin embargo, que no hay ni signos ni síntomas lo suficientes sensibles ni específicos, ni tests diagnósticos efectivos para el diagnóstico clínico de la EIP, resultando en una demora media de 8 a 10 años entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico. El examen digital asociado a la ecografía tras la mínima sospecha clínica, se ha demostrado lo más útil para la detección de la EIP y la extensión anatómica de las lesiones. (Carneiro MM et al. 2013).

Por contra, un estudio reciente en el que se busca un *score* diagnóstico de sospecha de EIP basado en datos clínicos, demuestra en el análisis multivariado, que cuatro son las variables independientes predictoras de EIP: VAS para disquecia > 5 y/o VAS para dispareunia profunda >5, dismenorrea severa progresiva, duración del dolor superior a 24 meses y presencia de esterilidad primaria o secundaria. Con estas variables confecciona un *score* en el que si el resultado es positivo predice un alto riesgo de EIP (riesgo del 90%) y si es negativo predice un bajo riesgo de EIP (riesgo del 10%) (Lafay-Pillet MC et al, 2014).

Una clínica de dolor intenso y persistente o la reaparición del dolor tras la cirugía, provocan un fuerte impacto negativo en la calidad de vida de estas pacientes. Por tal motivo, se han empleado distintos cuestionarios de calidad de vida para dicha evaluación. Algunos de ellos son genéricos como el SF-36 (Medical Outcome Study Short Form-36), cuestionario de salud general multidimensional que ha demostrado buena sensibilidad en las mujeres con endometriosis; el SF-12 (Medical Outcome Study Short Form-12) que es una simplificación del anterior; y el EQ-5 (Euro Quality of Life-5) cuestionario corto que evalúa genéricamente calidad de vida. El más empleado, es un cuestionario específico para endometriosis, llamado EHP-30 (Endometriosis Health Profile-30), que bajo un cuestionario modular mide las consecuencias de la enfermedad en 5 dimensiones: dolor, autocontrol, bienestar emocional, soporte social y autoimagen (Jones G et al, 2001) (**Anexo 3**).

Dichos cuestionarios están ampliamente validados y han demostrado su efectividad para evaluar la respuesta al tratamiento (Jones G et al, 2004 y 2006; Tan BK et al, 2013). No existe estudios publicados que empleen dichos cuestionarios de calidad de vida como instrumento diagnóstico predictor de extensión enfermedad avanzada o de endometriosis profunda. Un trabajo presentado por un grupo alemán (Hancke H, 2013) en el Congreso Europeo de endometriosis de 2013, aunque no publicado, observa la no asociación entre el EHP-30 y el estadio de enfermedad de la clasificación ASRM (American Society for Reproductive Medicine). Recientemente se ha propuesto que el EHP-30 podría ser instrumento predictor de enfermedad profunda y debería ser estudiado (Bourdel N et al, 2015).

4.2. ESTERILIDAD

Es difícil establecer la relación exacta entre la endometriosis y la esterilidad, aunque se estima que un 30-50% de las mujeres estériles presentan endometriosis y que el 30-50% de las pacientes con endometriosis presentan esterilidad. Así la sola presencia de esterilidad, puede ser un dato clínico sugestivo de la existencia de endometriosis, incluso en pacientes asintomáticas. Si a la esterilidad se asocia clínica de dismenorrea o dolor pélvico la posibilidad de endometriosis asciende al 50-80% (Missmer SA y col ,2004). Un algoritmo o "score" diagnóstico basado en datos clínicos para predecir EIP en pacientes con endometrioma, encuentran la esterilidad

de más de dos años de evolución como variable independiente predictora de enfermedad profunda (Lafay Pillet MC y col, 2014).

Los mecanismos que explican la esterilidad en estas pacientes sigue siendo objeto de controversia. Cada vez es más aceptada la visión de que la endometriosis interfiere en la fertilidad de una forma multifactorial. Se han postulado diferentes mecanismos: la distorsión de la anatomía pélvica, alteraciones de la función peritoneal, hormonales, ovulatorias, del transporte tubárico o de la implantación (Practice Committee of the ASRM, 2012). Así estos mecanismos fisiopatológicos pueden ser diferentes para cada paciente lo que obliga a que el abordaje médico o quirúrgico sea definido individualmente según las características de cada caso. En cualquier caso la EIP parece tener menor asociación con la esterilidad que la endometriosis ovárica o sobre todo con la endometriosis peritoneal (Nisolle M et al, 1997).

5. DIAGNÓSTICO MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN

La endometriosis es una patología con un diagnóstico complejo, de hecho el "gold standard" diagnóstico sigue siendo una prueba invasiva como es la laparoscopia. Ante la sospecha clínica de endometriosis, el abordaje diagnóstico de los distintos tipos de endometriosis es diferente.

5.1. DIAGNÓSTICO EN ENDOMETRIOSIS PERITONEAL

La detección de endometriosis peritoneal sin coexistencia con endometriosis ovárica o profunda es prácticamente imposible con ninguna técnica de imagen, y aunque la sospecha clínica es fundamental, ya que la localización y extensión de los implantes se correlaciona con la semiología del dolor (Gilabert-Estellés J, 2011), el diagnóstico queda fundamentalmente relagado a la realización de una laparoscopia.

5.2. DIAGNÓSTICO EN ENDOMETRIOSIS OVÁRICA

La ecografía transvaginal (ETV) es habitualmente el procedimiento recomendado para el diagnóstico de la endometriosis ovárica por su alta precisión (sensibilidad que oscila entre el 75-91% y una especificidad del 88-99%) y accesibilidad (Guerrero S et al, 2007). El 85% de los endometriomas presentan unas características muy definidas: quistes uniloculares de pared gruesa, un contenido con ecos de baja densidad o un patrón en "vidrio esmerilado" y ausencia de vascularización intraquística (Laing FC, 2012). Un 15% de éstos, presentan características no típicas. En estos casos, ayuda al diagnóstico diferencial: la presencia de calcificaciones en la pared quística (hallazgo muy específico, aunque poco frecuente; 35%) (Pattel MD et al, 1999); la ausencia de movimiento de las partículas intraquísticas o "acoustic streaming" (hallazgo casi patognomónico de endometrioma) (**Vídeo 1**) (Edwards A et al, 2003; Clarke L et al, 2005) y el conocimiento de los patrones ecográficos típicos de otros quistes de ovario (Asch E et al, 2007) (**Figura 1.10**). Así la ETV es el método de elección inicial para el diagnóstico diferencial de los endometriomas con otros quistes de ovario (Maiorana A et al, 2011).

La resonancia nuclear magnética (RNM) ha demostrado una sensibilidad y especificidad ligeramente mayor a la ecografía del 90-92% y 91-98%, respectivamente. Es altamente sensible y reproducible el "shading sign" o signo del ensombrecimiento, que consiste en la aparición de quistes hiperintensos en imágenes ponderadas en T1, que se ensombrecen, siendo hipointensos en T2 (Glastonbury CM, 2002). Dicho hallazgo, también puede producirse en quistes hemorrágicos, ante lo cual se aumenta la especificidad con la detección de puntos negros en T2 o "T2 dark spot sign" (Corwin MT et al, 2014) (**Figura 1.11**). Sin embargo, la ETV permanece como el método diagnóstico de elección de la endometriosis ovárica, reservándose la RNM para los casos en los que existan dudas (Dupuis CS et al, 2015).

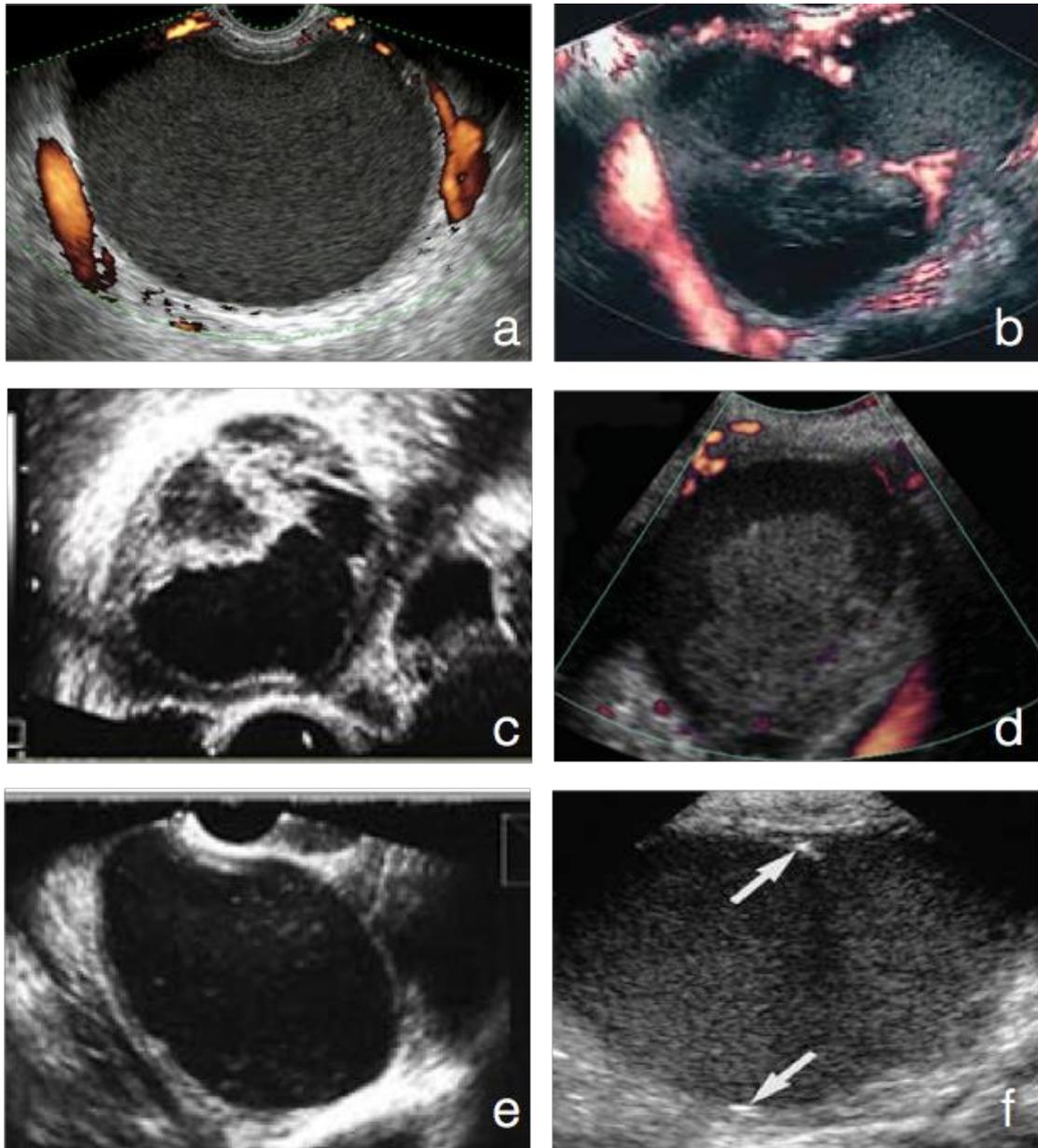


Figura 1.10. Características de los endometriomas por ecografía. (a) Aspecto típico: quistes uniloculares de pared gruesa y contenido homogéneo de baja ecogenicidad ("en vidrio esmerilado"). (b) La presencia de varios quistes en un mismo ovario es altamente sugestivo de endometriosis ovárica. (c) Endometrioma de aspecto atípico: contenido heterogéneo o con contenido intraquístico. (d) Ausencia de vascularización en endometrioma atípico con contenido intraquístico. (e) Endometrioma atípico: contenido homogéneo anecoico. En estos casos, ayuda al diagnóstico diferencial la ausencia de acoustic streaming o la presencia de calcificaciones en la pared quística (f).

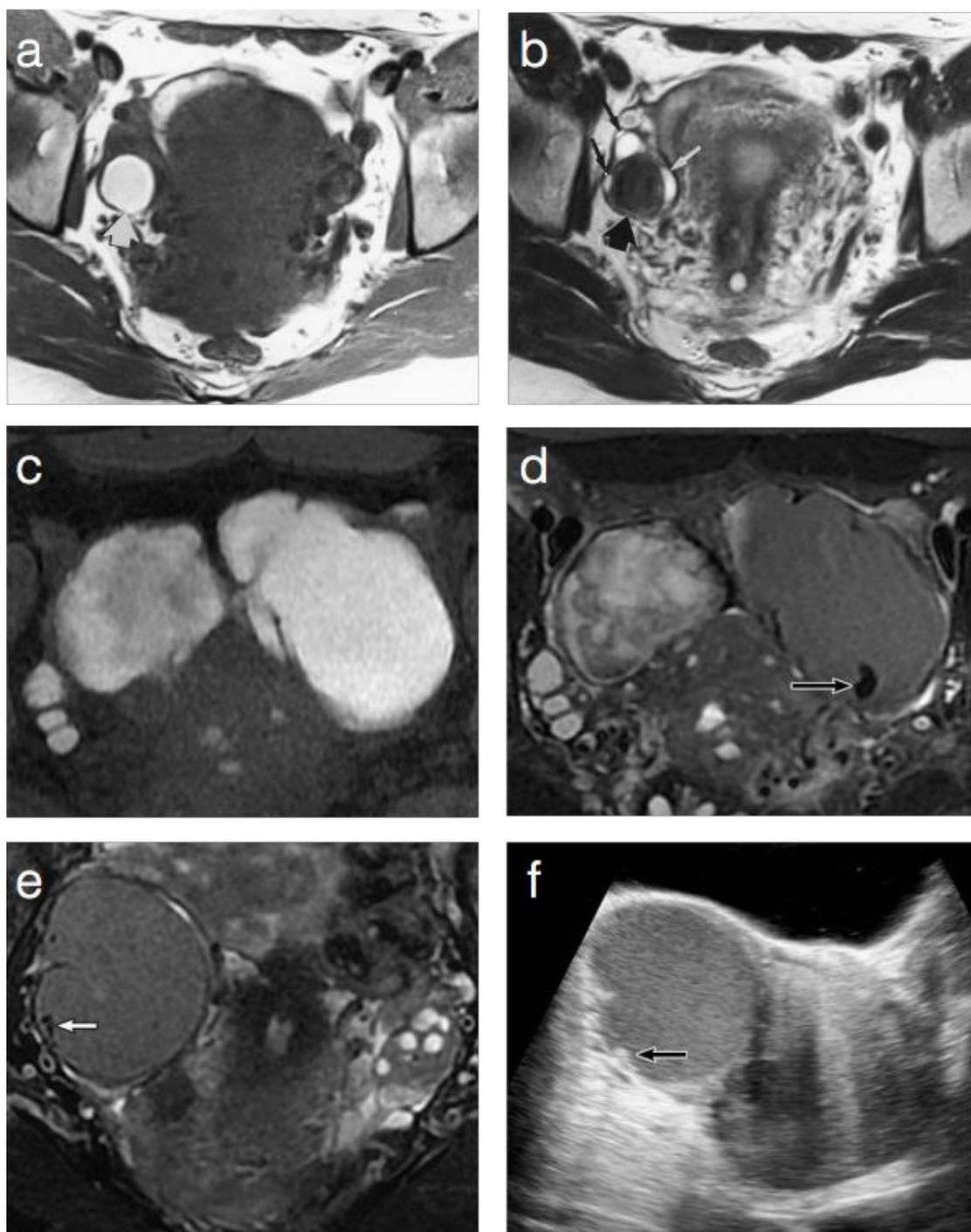


Figura 1.11. Características de los endometriomas por resonancia. (a) y (b) Shading sign. (a) Imagen coronal ponderada en T1 donde se objetiva imagen quística hiperintensa (flecha gruesa). (b) Misma imagen ponderada en T2 que muestra el ensombrecimiento (shading) del quiste (flecha gruesa). Se observan también imágenes foliculares (flechas finas) típicamente hiperintensas en T2. (c) y (d) T2 dark spot sign. (c) Imagen axial en T1 que muestra imágenes quísticas bilaterales hiperintensas. (d) Misma imagen en T2 muestra un evidente shading y la presencia de puntos oscuros en el quiste izquierdo (flecha). No se evidencian puntos oscuros en el quiste derecho. (e) Imagen axial en T2 donde se observa, también puntos negros en pared quística. (f) Misma imagen que caso anterior, pero por ecografía. Las características calcificaciones de la pared en ecografía (flecha negra), se corresponden con los puntos negros del caso (e)(flecha blanca). (Modificado de Glastonbury, 2002; Corwin, 2014).

5.3. DIAGNÓSTICO EN ENDOMETRIOSIS PROFUNDA

El principal problema diagnóstico se centra en la detección de EIP. La exploración física es útil para la detección de nódulos dolorosos en el Douglas, compartimento posterior o a lo largo de los ligamentos uterosacros (Cheewardhanaraks S et al, 2004). Sin embargo, e incluso en manos expertas, presenta alta subjetividad y se ha demostrado insuficiente para definir la localización exacta y la extensión de las lesiones profundas (Chapron C et al, 2002; Bazot M et al, 2005; Hudelist G et al, 2011).

De forma complementaria a la exploración física, se han descrito en los últimos años, distintos signos ecográficos que detectados en una ecografía básica nos harán sospechar un contexto de EIP: 1) La ausencia del signo de deslizamiento o "sliding sign", predice la obliteración del Douglas por enfermedad profunda con un VPP del 92,6% y un VPN del 93,2% (Reid S y Condous G, 2013). 2) La presencia de ovarios retrouterinos y adheridos entre sí o "kissing ovaries" se ha demostrado como marcador ecográfico con una fuerte asociación a endometriosis grado IV, EIP y mayor tiempo quirúrgico (Ghezzi F et al, 2005). 3) Se ha sugerido la asociación de un útero en anteversión-retroflexión con la presencia de cuadros adherenciales pélvicos como la enfermedad inflamatoria pélvica y posiblemente la endometriosis profunda, aunque en ésta última no ha sido validada (Macario S et al, 2012). 4) La detección de hidronefrosis en un contexto de endometriosis, obliga a descartar EIP con afectación ureteral-parametrial (Chamié LP et al, 2011).

La ecografía transvaginal también permite la detección directa de lesiones de EIP en las múltiples localizaciones u órganos donde puede aparecer, aumentando su precisión, al realizar una exploración por compartimentos, en un abordaje similar a la clasificación de EIP de Chapron. (Exacoustos C et al, 2014).

Con el objetivo de aumentar la precisión diagnóstica, han sido propuestas diferentes técnicas no invasivas como abordaje integrado al diagnóstico y extensión preoperatorio de las lesiones de EIP: la ecografía transvaginal (ETV), la ecografía transrectal (ETR), la ecoendoscopia rectosigmoidea (EERS) y la resonancia nuclear magnética (RNM).

Resulta interesante, realizar una comparativa de la precisión diagnóstica por compartimentos u órganos afectados de las diferentes técnicas. Existe una gran variación en la precisión diagnóstica recogida en la literatura para las distintas pruebas, por lo que se exponen las medias de precisión diagnóstica para cada una de las técnicas, obtenidas de múltiples estudios, incluidos en los últimos meta-análisis (Fiaschetti V et al, 2012; Noventa M et al, 2015; Guerriero S et al 2015a y b; Medeiros LR, 2015) (**Tabla 1.2**). En el **compartimento anterior**, para la detección de nódulos vesicales la ETV y la RNM tienen una alta precisión diagnóstica con una similar especificidad (E 97,5%, E 98%), si bien ambas presentan una menor sensibilidad (S 62%, S 64%). Esto supone que ante la detección de una lesión, hay una elevada posibilidad de que la lesión exista, con escasos falsos positivos. Por el contrario, la no detección de lesiones no excluye en gran número de casos que realmente exista lesión profunda. Una variante de la ETV, denominada ecografía transvaginal guiada por el dolor ("tenderness guided transvaginal ultrasonography") consigue mejorar ampliamente la sensibilidad diagnóstica (S 97,4%) manteniendo una alta especificidad (E 97,4%). Dicha técnica consiste en realizar una ETV convencional, combinada con la introducción de gran cantidad de gel de transmisión de ultrasonidos en la funda que cubre la sonda, lo cual amplía la ventana acústica, mejorando la visión del campo cercano. Es denominada así, ya que se presta especial atención para la detección de lesiones, en los puntos dolorosos que la paciente refiere al presionar con la sonda (Guerriero S et al, 2007 y 2008).

En el **compartimento posterior** la mayoría de autores clasifica las lesiones en cuatro posibles localizaciones: fondo de saco de Douglas o retrocervicales, tabique rectovaginal, fórnix vaginal posterior e intestinales o rectosigmoideas.

A **nivel rectal** se ha visto que la ETV, respecto a la RNM e incluso la EERS, tiene una precisión diagnóstica (96%, 87%, 89%) (Bazot M et al, 2009) y especificidad superiores (97,1%, 88,2%, 89,6%). Sin embargo las tres técnicas presentan una sensibilidad moderada (S 89,5%, S 83,9%, S 86,2%). Una variante simple, aunque efectiva de la ETV es la ETV tras preparación intestinal (ETV-PI) capaz de conseguir una mayor sensibilidad diagnóstica (S 97%). Dicha preparación intestinal no sólo permite localizar mejor las lesiones, sino que, permite incluso delimitar de forma precisa las capas intestinales (**Figura 1.12**).

	ETV		ETV-PI		ETV-TG		ETV-CAR		SVG-gel		EERS		RNM		RNM-gel	
	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)	S (%)	E (%)
Vejiga	62	97,5	40	98	97,4	97,4	-	-	-	-	16,7	92,9	64	98	88	98,9
Retrocervical	47,2	91,1	94,7	96	-	-	-	-	60	93,2	82	98,4	89,1	94	97,4	94,3
Rectosigma	89,5	97,1	97	97	69,5	92	94,6	99	66,7	93,8	83	89,6	86,2	88,2	94,6	97
TRV	55,5	97	75	96	74	98,9	97,1	99,3	92,5	89,6	61,6	88,6	77	95	93,7	95,2
Vagina	46,48	88,4	60,2	94	91	89	-	-	94,7	97,1	12,3	97	82,2	92	81,8	97
USL	50	86,1	40	95,6	50	94	-	-	88,9	95,6	49	49,5	85,1	86,3	88,1	88,3
Autor y año	-Bazot, 2003, 2004, 2007 y 2009		-Gonçalves, 2010		-Guerrero, 2007 y 2008		-Menada, 2008		Dessole, 2003		-Fedele, 1998		-Bazot, 2003, 2007 y 2009		-Loubeyre, 2009, 2012	
	-Dessole, 2003		-Leon, 2014		-Saba, 2011		-Bergamini, 2010		Saccardi, 2012		-Chapron, 1998 y 2004		-Abrao, 2007		-Chassang, 2010	
	-Abrao 2007						-Ferreiro, 2011				-Bazot, 2003, 2007 y 2009		-Hudelst, 2009 y 2011		-Biscaladi, 2014	
	-Menada, 2008										-Piketty, 2009		-Vimercatti, 2012			
	-Hudelist, 2009 y 2011										-Bergamini, 2010					
	-Savelli, 2011										-Mangler, 2013					
	-Holland 2013										-Cazalis 2012					
	-Cazalis, 2012															
	-Mangler 2013															

Tabla 1.2. Rendimiento diagnóstico de diferentes técnicas de imagen analizadas por las diferentes regiones u órganos afectados por endometriosis profunda. Aparecen medias de sensibilidad (S) y especificidad (E) para cada tipo de prueba y localización. Datos calculados, a partir de los resultados de últimos meta-análisis de diagnóstico de endometriosis profunda mediante técnicas de imagen (Fiaschetti et al, 2012; Noventa et al, 2015; Guerriero et al, 2015; Medeiros et al, 2015). Aparece en blanco, las localizaciones no evaluadas por algunas técnicas. ETV: ecografía transvaginal; ETV-PI: ecografía transvaginal con preparación intestinal; ETV-CAR: ecografía

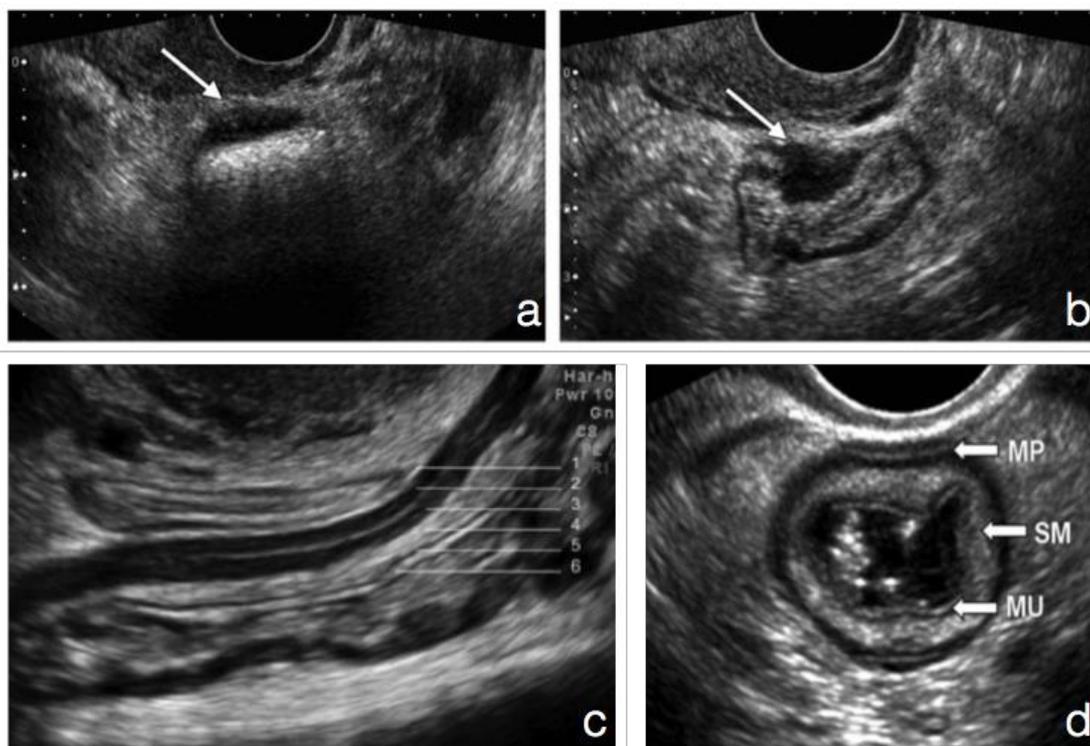


Figura 1.12. Ecografía transvaginal con preparación intestinal. (a) ETV sin preparación intestinal. La presencia de heces no permite delimitar adecuadamente la lesión. (b) ETV con preparación intestinal en el mismo caso. Se delimita un nódulo hipoeicoico en cara anterior rectal a nivel de la muscularis propia. (c) ETV con preparación intestinal. Se delimitan claramente las capas intestinales: 1:serosa (línea hipereicoica fina); 2-3:capas externa e interna de muscularis propia (banda hipoeicoica separada por línea hipereicoica fina); 4: submucosa (banda hipereicoica); 5:muscularis mucosa (línea hipoeicoica fina); 6:mucosa (línea hipereicoica gruesa). (d) Misma imagen en corte axial. MP:muscularis propia; SM: submucosa; MU: mucosa. (Modificado de Gonçalves et al, 2010).

Además de aumentar la capacidad diagnóstica de la ETV convencional, mejora la detección de una serie de características importantes de las lesiones de cara al manejo quirúrgico: 1) Su tamaño y número, ya que múltiples lesiones o nódulos de gran tamaño requerirán habitualmente resección intestinal. 2) Permite delimitar de manera más precisa la morfología de las lesiones; lesiones redondeadas suponen lesiones de más fácil enucleación, mientras que lesiones muy espiculadas suponen lesiones de márgenes mal definidos de compleja exéresis completa (Gonçalves MO et al, 2009). 3) Es capaz también de definir el número de capas afectas; lesiones que infiltran sólo la muscularis propia, más abordables mediante la simple resección o "shaving" del nódulo, a diferencia de las que llegan hasta la submucosa. (Hudelist G et al, 2009; Gonçalves MO et al, 2010). 4) Valoración del diámetro de infiltración; un mayor diámetro de infiltración puede reflejar el grado de estenosis. Habitualmente, lo más utilizado en la predicción preoperatoria de una posible resección segmentaria son

la demostración de estenosis significativa mediante un enema opaco de doble contraste, y sobre todo, la presencia de síntomas. (Alabiso G et al, 2015).

En los casos en que no se puede realizar una valoración de estas características mediante ETV-PI, una alternativa interesante es la ETV con contraste líquido rectal (Rectal water contrast transvaginal sonography; RWC-TVS). Consiste en introducir un catéter flexible a nivel rectal, el cual presenta un balón que se rellena de suero salino, lo cual permite incrementar la ventana acústica sobre el recto, aumentando la capacidad para valorar número de capas afectas (VPP 98%, VPN 81,8%) y el grado de estenosis (VPP 82,3%, VPP 94,1%) (Bergamini V et al, 2010; Ferrero et al, 2011).

Para lesiones en el **Douglas** o retrocervicales, La ETV tiene buena especificidad (E 91,1%), aunque una baja sensibilidad (S 47,2%). Esta baja sensibilidad de la ETV es mejorada por la EERS (S 82%) y la RNM (S 89,1%). La ETV-PI es una buena alternativa para el abordaje de este tipo de lesiones (S 94,7%) y sobre todo la RNM con gel (S 97,4%). Esta técnica consigue una opacificación de la vagina y el recto al rellenarlos con gel, permitiendo delimitar óptimamente el espacio entre dicha vagina y recto, zona que corresponde al tabique rectovaginal y el Douglas (Chassang M et al, 2010).

Respecto a las lesiones a nivel del **tabique rectovaginal** (TRV) y **fórnix vaginal posterior**, tanto la ETV como la EERS y la RNM tienen buena especificidad, aunque baja-moderada sensibilidad. En dichas localizaciones las mejores técnicas son la RNM con gel, así como otras variantes recientes de la ETV que realizan también una opacificación de la vagina o el recto; éstas son la sonovaginografía con gel o con contraste salino (Reid S et al, 2014; Leon M et al, 2014), la ETV tenderness-guided (Guerriero S, et al 2008) y la ecografía transvaginal con contraste líquido rectal (Menada V et al, 2008). Otra técnica que ha sido descrita, es la ecografía introital o transperineal 3D, muy útil para detectar lesiones muy bajas a nivel del TRV, aunque no mejora a la RNM con gel. (Pascual MA et al, 2010) (**Tabla 1.2**).

A nivel del **compartimento lateral**, en lo que se refiere a lesiones de los **ligamentos uterosacros**, (LUS) la RNM es superior en general a la ETV, si bien esto parece el menor problema diagnóstico, pues a diferencia de otras lesiones en EIP donde el cirujano sólo ve la punta del iceberg, pudiendo pasar desapercibidas, dichas

lesiones en los LUS son fácilmente identificables por laparoscopia (Bazot M et al, 2009).

Respecto a la endometriosis parametrial-ureteral la RNM es claramente superior a la ETV (Del Frate C et al, 2006). En cualquier caso la ETV también es capaz de detectar lesiones a dicho nivel. Por tanto, tiene valor como técnica inicial, y ante la presencia de signos directos de afectación o indirectos, como la presencia de hidronefrosis, se deberá realizar RNM o uro-RNM (Chamié LP et al, 2011).

En definitiva la ETV, para las distintas posibles localizaciones de lesiones profundas, tiene una alta capacidad en la detección de lesiones, pero una baja sensibilidad. Para suplir este defecto, son útiles las técnicas variantes de ETV y la RNM, especialmente empleando opacificación vagino rectal con gel (Guerriero S et al, 2015b; Noventa M et al, 2015).

Diferentes artículos proponen a la ETV, como técnica diagnóstica de primera línea en EIP, debido a su alta precisión y disponibilidad, reservando la RNM con gel o las variantes de ETV para los casos dudosos o sospechosos de lesiones, pero sin hallazgos ecográficos (Piketetty M et al, 2009; Chamié LP et al, 2010; Exacoustos C et al, 2014; Guerriero S et al, 2015a; Noventa M et al, 2015).

6. DIAGNÓSTICO MEDIANTE BIOMARCADORES

La laparoscopia es el "gold standard" para el diagnóstico de la endometriosis, aunque hemos visto que algunas formas de la enfermedad, tales como los endometriomas ováricos o las lesiones infiltrantes profundas, pueden ser diagnosticadas con fiabilidad de forma no invasiva, utilizando técnicas de imagen. Sin embargo los implantes superficiales o cuadros adherenciales no pueden ser identificados sin la cirugía. Este hecho genera la necesidad de buscar pruebas diagnósticas no invasivas, capaces de detectar las formas de endometriosis no detectadas y las no identificables mediante la exploración y técnicas de imagen. De forma complementaria, aún sería más interesante, la posibilidad de detectar las formas diagnosticables mediante imagen, pero en estadios precoces. En este sentido, los futuros mejores candidatos para estos propósitos parecen ser los biomarcadores (Somigliana E et al, 2010).

Con este objetivo, han sido investigados múltiples posibles biomarcadores de endometriosis: inmunológicos (celulares, citokinas inflamatorias y anticuerpos), hormonales, factores de crecimiento, glicoproteínas, biomarcadores relacionados con la adhesión celular, angiogénesis o apoptosis, antioxidantes, proteómica, metabolitos, genéticos y más recientemente epigenéticos (May KE et al, 2010) (**Figura 1.13**).

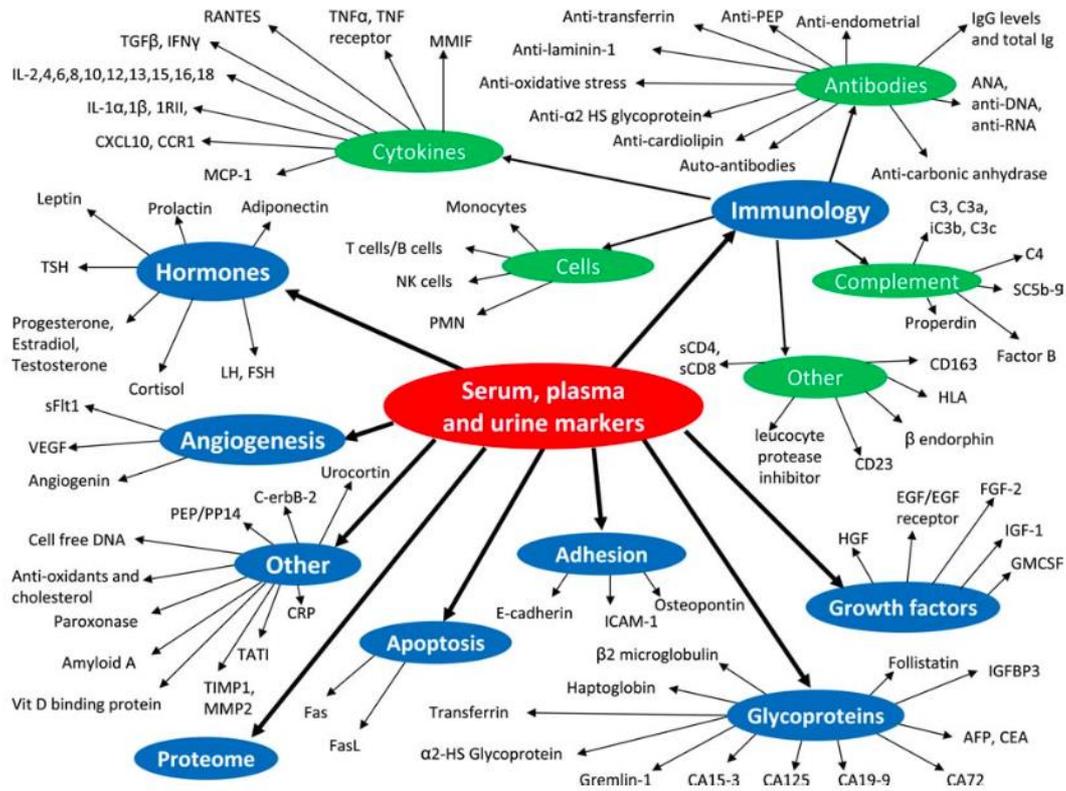


Figura 1.13. Diagrama de posibles biomarcadores en endometriosis. Se observan múltiples grupos de candidatos, investigados como posibles biomarcadores en endometriosis. (May KE et al, 2010)

Dichos biomarcadores pueden ser estudiados en sangre (suero o plasma), orina, endometrio y últimamente se postula la posibilidad en sangre menstrual (recogida en el fórnix vaginal posterior tras exploración con espéculo o extraída de tampones higiénicos). Resulta más práctico hacer una revisión de los posibles biomarcadores según el medio donde son analizados (Fassbender A et al, 2015).

Repasaremos los biomarcadores más importantes en sangre y endometrio.

6.1. BIOMARCADORES EN SANGRE

Glicoproteínas

El uso de CA-125 como biomarcador en sangre para la endometriosis se ha estudiado ampliamente. Varios estudios han demostrado la utilidad de CA-125 para el diagnóstico de la endometriosis y su correlación con la gravedad de la enfermedad, especialmente con los endometriomas (Socolov R et al, 2011; Mabrouk M et al, 2012). Sin embargo, el CA-125 no es específico de endometriosis, siendo un marcador tumoral elevado en el cáncer de ovario (He RH et al, 2011). Además de esta falta de especificidad, la sensibilidad para detectar endometriosis en sus diferentes estadios es baja. Un metaanálisis demostró una sensibilidad del 50% y especificidad del 72% para detectar endometriosis en estadio I-II; y una sensibilidad del 60% y especificidad del 80% para el estadio III-IV (Mol BW et al, 1998).

Otro marcador de tumor ovárico, el CA 19-9, ha demostrado estar elevado en la endometriosis con una sensibilidad inferior o comparable al CA-125 para la detección de endometriosis (May KE et al, 2010). Un estudio reciente mostró un aumento significativo de CA-125, CA 19-9 y CA-15.3 en los casos de endometriosis frente a los controles. El análisis de la curva ROC mostró que el área bajo la curva fue el más alto para CA-125 (0.938) y para CA-19-9 se encontró una correlación positiva significativa con la gravedad de la enfermedad (Tuten A et al, 2014).

Recientemente, un estudio retrospectivo de 4 biomarcadores (CA-125, VEGF-A, Anexina V y la glicodelina sICAM-1) mostró una sensibilidad del 94% y una especificidad del 75% para diagnosticar endometriosis, aunque queda por ser evaluado de forma prospectiva (Vodolazkaia A et al, 2012).

Marcadores inmunológicos y citokinas inflamatorias

Los marcadores inflamatorios e inmunológicos han sido implicados en la patogénesis de la endometriosis y se han examinado extensamente como posibles biomarcadores para la endometriosis. Una larga lista de citoquinas han sido evaluadas en la búsqueda de un diagnóstico no invasivo de la endometriosis, se incluyen la Interleukina 1, 6 y 8; el TNF- α , la MCP-1 y el Interferón- γ (May KE et al, 2010).

Un estudio encontró que un panel compuesto por la determinación de los niveles plasmáticos en fase lútea de IL-6, IL-8 y CA-125 fue capaz de distinguir entre 201 mujeres con endometriosis y 93 controles con una sensibilidad del 89,7% y una especificidad del 71,1% (Mihalyi A et al, 2010). Un trabajo que estudió múltiples biomarcadores, encontró en el análisis univariado la expresión diferencial de varias citocinas y quimiocinas en 232 mujeres con endometriosis y 121 controles. Sin embargo, tras el análisis multivariado en el panel final de propuesta de mejores biomarcadores no se incluyó ninguna citocina o quimiocina (Vodolazkaia A et al, 2012). Un reciente metaanálisis de quimiocinas como biomarcadores sanguíneos de endometriosis, encontró que la IL-8, MCP-1 y RANTES estaban aumentados significativamente en el 46,1%, 50%, y 75%, respectivamente de los estudios evaluados (Borrelli GM et al, 2014). Sin embargo, no existe consenso sobre si las citoquinas son adecuados para discriminar pacientes con endometriosis de pacientes con otra patología pélvica (Vodolazkaia A et al, 2012).

Estrés oxidativo.

Las mujeres con endometriosis pueden experimentar un aumento del estrés oxidativo en la cavidad pélvica debido al flujo retrógrado de eritrocitos menstruales que liberan hierro tras su ruptura (Wölfler MM et al, 2013). Esto ha sido confirmado por diversos grupos que encontraron alteraciones en diversas proteínas relacionadas con el estrés oxidativo. En mujeres con endometriosis se ha detectado una reducción significativa en suero de PON-I, lipoproteínas de alta densidad y de superóxido dismutasa en plasma (Verit FF et al, 2008). Por contra, se objetiva un aumento significativo de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad, peroxidasas de lípidos, 25-hidroxicolesterol, HSP70 y de vitamina E (Prieto L et al, 2012).

Adhesión e invasión celular.

Se ha encontrado niveles de sICAM-I aumentados durante las primeras etapas de la endometriosis (I-II) y disminuidos en la etapa III-IV. De esta forma, sICAM-I se ha incluido como uno de los biomarcadores más prometedores para diagnosticar casos de endometriosis que no pudieron ser identificados por ecografía preoperatoria (May KE et al, 2010).

Después de la adhesión celular inicial, la invasión de los fragmentos de tejido endometrial en el peritoneo puede facilitarse a través de remodelación de la matriz extracelular por metaloproteinasas (MMPs). Se ha encontrado aumento significativo en sangre de MMP-2 y MMP-9 en pacientes con endometriosis. Por otra parte, la endometriosis avanzada se correlaciona con una expresión más alta de MMP-2 y MMP-3 (De Sanctis P et al, 2011; Singh AK et al, 2013; Malvezzi H et al, 2013). En este ámbito, aunque mediante determinación en endometrio, nuestro grupo demostró aumento significativo respecto a controles de MMP-3, VEGF y uPA (Gilabert-Estellés J et al, 2007).

Angiogénesis

El VEGF es un importante regulador de la angiogénesis. Su utilidad como biomarcador para la endometriosis no es clara, ya que algunos estudios muestran niveles elevados en sangre en pacientes con endometriosis mientras que otros estudios no registran una diferencia significativa (Kianpour M et al, 2013). El seguimiento de los pacientes con endometriosis avanzada demostró una reducción de los niveles de VEGF-A después de la extirpación laparoscópica de las lesiones (Mohamed ML et al, 2013). En otro estudio, el tratamiento con danazol de pacientes con endometriosis dio lugar a un aumento de la concentración de VEGF en el plasma (Szubert M et al, 2014). A pesar de estos resultados contradictorios, un estudio reciente propone al VEGF como biomarcador para detectar endometriosis I-II, con 80% de sensibilidad (Vodolazkaia A et al, 2012).

miRNAs

Los miRNAs son pequeñas secuencias de nucleótidos no codificantes, que regulan la expresión génica a nivel postranscripcional, mediante la destrucción o represión de la transcripción de sus RNA mensajeros específicos. Han sido identificados 2.585 miRNAs diferentes en el ser humano, en la última actualización de mirbase 2014 (www.mirbase.org). Los mecanismos de regulación de los miRNAs son complejos y a menudo superpuestos (Griffiths-Jones S et al, 2008). Por ejemplo, un mismo miRNA es capaz de regular varias transcripciones y diferentes miRNAs regulan a menudo un mismo mRNA (Bartel DP, 2009).

Presentan características que les hacen óptimos candidatos como biomarcador

en sangre periférica: Su estabilidad y baja posibilidad de degradación, a diferencia de los mRNAs; y la fuerte correlación de su expresión entre el suero y el tejido (Huang X, 2013).

Se han detectado niveles plasmáticos reducidos de miR-17-5p, miR-20a y miR-22 (Jia SZ et al, 2013), así como niveles plasmáticos elevados de miR-16, miR-191 y miR-195 (Suryawanshi S et al, 2013) en mujeres con endometriosis en comparación con mujeres sin endometriosis. Otro estudio encontró una elevación de miR-199a y miR-122 y una disminución de miR-145, miR-141, miR-542-3p y miR-9 (Wang WT et al, 2013).

6.2 BIOMARCADORES EN ENDOMETRIO

A pesar de ser una muestra más invasiva que la serología, el tejido endometrial es accesible a través de la biopsia en el consultorio y ofrece la potencial ventaja de mejorar de la especificidad. El endometrio, sin embargo presenta una serie de cambios cíclicos hormonodependientes, y se ha visto que puede existir variación en los perfiles genómicos según la fase de ciclo (Talbi S et al, 2006). Esta variación cíclica debe tenerse en cuenta en la interpretación de posibles biomarcadores en endometrio.

Además de la fase del ciclo menstrual, condiciones ginecológicas distintas de la endometriosis (condiciones inflamatorias como hidrosalpinx, desórdenes estrogendependientes como leiomiomas o pólipos endometriales) han demostrado que pueden influir en la expresión génica y de proteínas en el endometrio eutópico. (Daftary GS et al, 2002; Kitawaki J et al, 2000). Por tanto, la detección y la anotación de la patología coexistente, es una consideración importante en el proceso de descubrimiento y validación de biomarcadores en endometrio.

miRNAs

Se ha evidenciado una expresión diferencial de miRNAs en el endometrio de mujeres con endometriosis respecto a mujeres sin endometriosis. Por lo tanto ofrecen potencial como biomarcador en endometriosis.

Al igual que otros análisis en endometrio, los perfiles de expresión de microRNA pueden sufrir cambios durante el ciclo mesntrual, por lo que este factor

siempre debe ser tenido en cuenta.

Diversos grupos han observado una expresión diferencial de miRNAs en endometrio eutópico en comparación con endometrio ectópico, así como las vías moleculares asociadas con el desarrollo de la endometriosis. Así, un estudio que comparó endometrio eutópico y ectópico peritoneal detectó la disregulación de 22 miRNAs, y sus correspondientes mRNA diana, de conocida implicación en la patogénesis de la endometriosis, así como un perfil de expresión diferente en ambos tejidos (Ohlsson Teague EM et al, 2009). De forma similar en la endometriosis ovárica se ha observado una expresión diferencial de miRNAs en comparación con el endometrio eutópico (Filigheddu N et al, 2010; Hawkins SM et al, 2011). Un estudio más reciente de nuestro grupo, estudió las posibles proteínas diana (de los más importantes factores angiogénicos y fibrinolíticos implicados en la endometriosis) de 156 miRNAs diferencialmente expresados en tejido eutópico y tejido endometriósico vs controles. Este análisis, permitió seleccionar como posibles biomarcadores, 12 miRNAs involucrados en la angiogénesis y fibrinólisis de la endometriosis (Braza-Böils A, et al, 2014) (**Tabla 1.3**).

miRNA	endometrioma vs control	eutópico vs control	Dianas
miR-16-5p	infraexpresado	infraexpresado	VEGFA, EGFR2, BCL2, FGFR I, COX2
miR-29c-3p	sobreexpresado	sobreexpresado	VEGFA, PDGFB, TSP-1D4, PAI1, ADAMTS2,5-7,9,17-19
miR-138-5p	sobreexpresado	sobreexpresado	ADAMTS5, BCL2, TNF
miR-202-3p	sobreexpresado	sobreexpresado	TSP1, GLI1, IL6, IL10, MMP1, FGF5, FGF11
miR-373-3p	infraexpresado	infraexpresado	VEGFA, IL8, ADAMTS18, MMP24, TIMP3, ESRI
miR-411-5p	sobreexpresado	sobreexpresado	CDH2, ADAMTS19
miR-411-3p	sobreexpresado	sobreexpresado	CDH2, ADAMTS1
miR-424-5p	sobreexpresado	sobreexpresado	VEGF, IL1, FGF2
miR-449-3p	infraexpresado	infraexpresado	MMP16, IL6R, PDGFRA, PDGFRB
miR-556-3p	infraexpresado	infraexpresado	VEGFA, ADAMTS14, PAI1, CDN7
miR-636	infraexpresado	infraexpresado	ADAMTS14, SERBP1, PDGFRA, FGF12
miR-935	infraexpresado	infraexpresado	SERBP1, FGF1

Tabla 1.3. MicroRNAs implicados en mecanismos angiogénicos y fibrinolíticos de la endometriosis (Modificado de Braza-Böils et al, 2014).

Todos estos perfiles de expresión aberrantes de microRNAs en endometrio eutópico de mujeres con endometriosis pueden generar prometedores biomarcadores. Sin embargo, hasta la fecha, no hay pruebas disponibles comercialmente y persiste la necesidad de validar los miRNAs como biomarcadores, de forma prospectiva y en entornos clínicos (Fassbender A et al, 2013).

7. PRONÓSTICO. EXTENSIÓN DE LA ENFERMEDAD. CLASIFICACIONES

Es de especial importancia definir la extensión de la enfermedad para evaluar su pronóstico, tanto en términos de recurrencia de los síntomas, como del pronóstico reproductivo, para ello existen diferentes clasificaciones:

-Clasificación revisada en 1996 de la American Society for Reproductive Medicine (rASRM). Es la más comúnmente utilizada. Se realiza en función de la localización de lesiones (enfermedad intraperitoneal y ovárica), su diámetro, profundidad y densidad de las adherencias determinadas por laparoscopia. A cada hallazgo se le da una puntuación, y posteriormente en función de la puntuación total, se asigna una categoría a cada paciente: grado I (mínima), II (leve), III (moderada), grado IV (severa) (Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis, 1996).

Sin embargo, esta clasificación se ha comprobado que no guarda correlación con el grado de dolor, ni permite establecer un pronóstico reproductivo, ni valora adecuadamente la afectación retroperitoneal y por tanto la extensión de la enfermedad profunda (Fedele L et al, 1990; Vercelini P et al, 1996 y 2007a;). Por ejemplo una paciente puede tener una endometriosis peritoneal grado I-II de la rASRM que orienta a una Endometriosis leve-moderada, pero tener una EIP de la pared pélvica que sí puede producirle sintomatología dolorosa severa o daño de un órgano vital como el riñón.

Con el objetivo de realizar una valoración más adecuada de la enfermedad profunda o el pronóstico reproductivo se ha propuesto otras clasificaciones.

-Clasificación topográfica de la endometriosis profunda de Chapron de 2003.

Tras objetivar una distribución asimétrica de la enfermedad profunda, con mayor número de lesiones en el compartimento posterior, se propuso una clasificación que anota que estructuras u órganos están afectados, de cada uno los tres compartimentos posibles: anterior (vejiga), posterior (retrocérvix, rectovaginal, intestino, vagina) y lateral (ligamentos uterosacros, parametrios, uréteres); proponiendo además un tratamiento para cada órgano-compartimento afecto. (Chapron C et al, 2003a)

-Clasificación ENZIAN de la endometriosis profunda de 2005.

Es un sistema de clasificación específico para la endometriosis infiltrativa profunda. Es empleado sobre todo en los países de ámbito germano. Describe los focos de endometriosis según su localización en tres compartimentos: 1) vagina y tabique rectovaginal, 2) ligamentos uterosacros y paredes de la cavidad pelviana, y 3) intestinos. Además tiene en cuenta el tamaño de de los implantes (menos de 1 centímetro, 1-3 centímetros, más de 3 centímetros) (Tuttlies F et al, 2005).

-Índice de fertilidad en endometriosis (EFI)

Valora el pronóstico reproductivo a partir de datos obtenidos de la clasificación ASRM, el estado de las trompas y una serie de datos de historia clínica de la paciente (edad, años de esterilidad y existencia de hijos previos). No es un sistema de clasificación propiamente dicho, sino que intenta predecir las probabilidades de una paciente de endometriosis de quedarse embarazada de forma natural, para así proceder a tiempo a métodos de reproducción asistida en aquellas mujeres con mal pronóstico en cuanto a fertilidad. Al final se obtiene una puntuación de 0 (muy pocas posibilidades de quedarse embarazada de forma natural) a 10 (probablemente podrá quedarse embarazada sin problemas). (Adamson GD et al, 2010) **(Figura 1.14).**

ESTIMATED PERCENT PREGNANT BY EFI SCORE

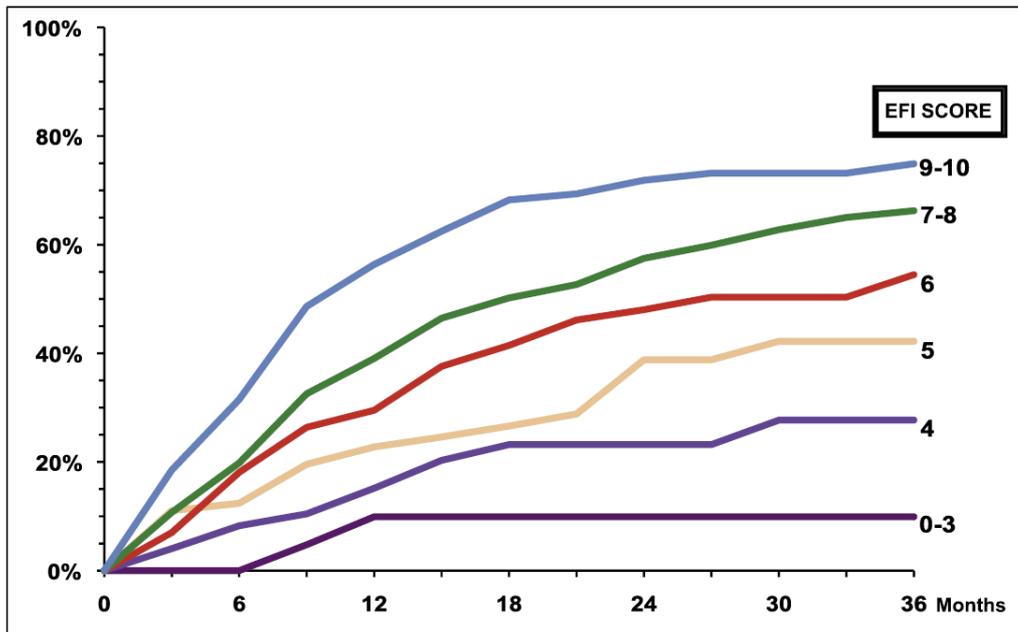


Figura 1.14. Índice de fertilidad en endometriosis o Endometriosis Fertility Index (EFI). Establece en concreto, las probabilidades de embarazo espontáneo en un periodo de 36 meses: una puntuación de 0 a 4, supone una probabilidad menor del 25%; una puntuación de 5 a 6, supone una probabilidad en torno al 50% y una puntuación de 7 a 10 una probabilidad de embarazo espontáneo alrededor del 75%. (Adamson et al, 2010).

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Nuestra **hipótesis de trabajo** es la siguiente:

El empleo de marcadores clínicos y de imagen en asociación a biomarcadores (miRNAs) en mujeres con endometriosis, tienen un valor en el establecimiento del diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.

Los **objetivos concretos** a desarrollar son los siguientes:

1) Analizar la utilidad de diferentes **parámetros clínicos** (cuestionarios validados de dolor, calidad de vida y fertilidad) y validar su utilización como herramienta para la predicción de endometriosis profunda en una cohorte retrospectiva de pacientes tratadas mediante abordaje mínimamente invasivo.

2) Estudiar el rendimiento diagnóstico de las **exploraciones de imagen** (ecografía endovaginal de alta resolución, resonancia nuclear magnética con y sin gel) en el estudio de extensión y la planificación quirúrgica de los diferentes tipos de enfermedad.

3) Obtención de un **modelo predictivo de un perfil específico de enfermedad** en base a los marcadores clínicos de imagen individualizado para cada paciente, en términos de riesgo de recidiva y pronóstico reproductivo.

4) Estudiar el patrón de expresión de **miRNAs** en endometrio eutópico y tejido endometriósico de pacientes con la enfermedad y compararlos con los de mujeres control.

5) Explorar la utilidad de la combinación de parámetros clínicos, de imagen junto al perfil de miRNAs y otros biomarcadores (CA125, CA 19.9, VEGF-A, TSP-1, PAI-I, uPA) con el objeto de crear un modelo predictivo para el **diagnóstico precoz** y la posibilidad de **recidiva** de la enfermedad.

6) Validar en nuestra población un cuestionario de calidad de vida específico de endometriosis (EHP-30) asociado a escalas analógicas visuales para los diferentes tipos de dolores asociados a la enfermedad y plantear modelos que combinen ambos métodos.

7) Estudiar si dichos **parámetros clínicos** pueden servir como marcadores de **extensión de enfermedad** o de **endometriosis profunda**.

8) Validar la **ecografía endovaginal de alta resolución** y la **resonancia magnética con gel** como técnicas que permitan definir marcadores de imagen predictivas de **enfermedad profunda**.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. TIPO DE DISEÑO

El diseño del presente proyecto está fundamentado en dos partes: **(Figura 3.1)**

Serie Prospectiva: Estudio de cohortes de pacientes y controles aún no intervenidas en las que se analizarán previo a la cirugía una serie de marcadores clínicos (cuestionarios validados de dolor y de calidad de vida EHP-30) y de imagen, mediante ecografía y resonancia nuclear magnética. Tras obtención de muestra, se analizarán marcadores biológicos clásicos en suero (CA125 y CA19.9) y nuevos biomarcadores en tejidos obtenidos de la cirugía (endometrio eutópico, endometrioma ovárico, implante peritoneal y TRV) como miRNAs y factores angiogénicos, con el objeto de establecer una correlación entre todos estos parámetros biológicos, clínicos y de imagen con el tipo y extensión de la enfermedad.

Serie Retrospectiva: cohorte de pacientes intervenidas por endometriosis de las que se tiene registro clínico de entre 3 a 9 años tras la cirugía y muestra congelada extraída en dicha cirugía previa. Se estudiarán los mismos marcadores clínicos y biológicos que en la parte anterior. Posteriormente se realizará una entrevista y una exploración con las que se pretende buscar una asociación entre dichos marcadores y el pronóstico de la enfermedad, en lo relativo al riesgo de recidiva. Se estudiará también la posible relación entre dichos marcadores clínicos y biológicos y el *Endometriosis Fertility Index* (EFI), un índice de pronóstico reproductivo en endometriosis ya validado.

2. LUGARES DE EJECUCIÓN

-Servicio de Ginecología del Hospital General Universitario de Valencia: se ha realizado el diagnóstico de pacientes, seguimiento clínico, pruebas de imagen, selección de controles y recogida de muestras de la serie prospectiva.

-Hospital Casa de Salud de Valencia: seguimiento clínico y obtención de las muestras de la serie retrospectiva.

-Grupo de Hemostasia, Trombosis, Aterosclerosis y Biología Vascular. Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia): procesamiento y análisis de todas las muestras.

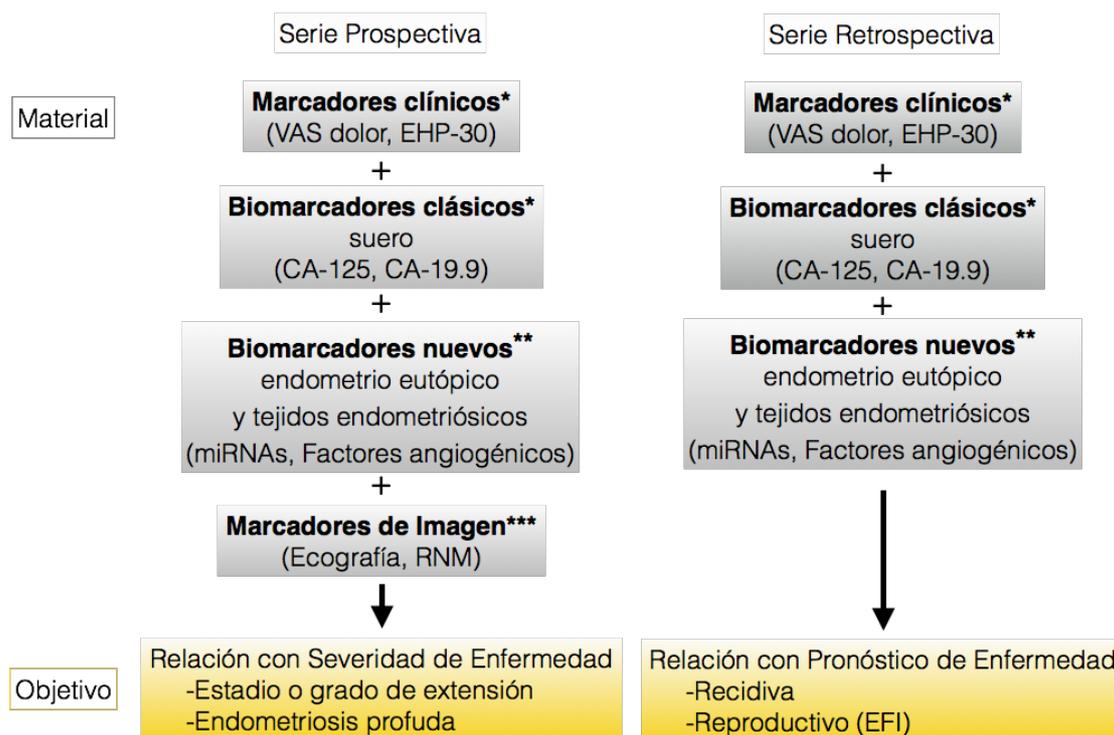


Figura 3.1. Diseño del estudio. *En Marcadores clínicos y Biomarcadores clásicos se obtuvieron datos antes de la cirugía y en la visita postquirúrgica a los 2 meses; **En Biomarcadores nuevos se obtuvieron muestras para posterior análisis el día de la cirugía; ***Marcadores de imagen se obtuvieron antes de cirugía. VAS: visual analogue scale (escala analógica visual); EHP-30: cuestionario de calidad de vida en endometriosis EHP-30; EFI: endometriosis fertility index (índice de fertilidad en endometriosis).

3. SERIE PROSPECTIVA

3.1. MATERIAL

3.1.1. GRUPOS CLÍNICOS

Pacientes

30 pacientes con endometriosis fueron estudiadas (edad media: 34 años, rango: 19-45). En todas se realizó exploración quirúrgica completa vía laparoscópica de la cavidad abdominal, así como la completa exéresis de los tejidos endometriósicos. La presencia de enfermedad se sospechó clínicamente y mediante técnicas de imagen y fue confirmada por los hallazgos quirúrgicos y el examen anatomopatológico postoperatorio. El examen laparoscópico de la cavidad abdominal excluyó la presencia de cualquier otra patología pélvica que potencialmente pudiera

confundir los datos observados. El principal síntoma previo a la cirugía fue el dolor abdominal (85,5%) y la esterilidad (14,5%). Los criterios de exclusión fueron: la no confirmación histopatológica de endometriosis, la edad menor de 18 años, la no firma del consentimiento informado para el estudio y la existencia de tratamiento hormonal o lactancia natural en los 3 meses previos a la obtención de muestras. Las intervenciones fueron realizadas por 2 cirujanos (JGE y JGO), con objetivo de disminuir la variabilidad en los hallazgos.

Controles

8 mujeres asintomáticas, a las que se realizó cirugía laparoscópica para esterilización tubárica (edad media: 36,3 años, rango: 27-45). La ausencia de enfermedad fué confirmada tras examen quirúrgico de la cavidad abdominal. Se realizó un examen meticuloso de las superficies peritoneales, ovarios, intestinos y diafragma con el objetivo de detectar lesiones endometriósicas típicas o atípicas. Las biopsias de las zonas sospechosas de endometriosis fueron negativas.

3.1.2. MUESTRAS PARA ESTUDIO DE BIOMARCADORES

3.1.2.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE BIOMARCADORES CLÁSICOS

Se obtuvo **suero** para determinación de CA-125 y CA-19.9 en todas las pacientes y en dos momentos: antes de la cirugía y en la visita postquirúrgica a los 2 meses.

3.1.2.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE NUEVOS BIOMARCADORES

Endometrio eutópico: se recogieron 26 muestras de endometrio eutópico en las pacientes con endometriosis y 8 en los controles. La fase del ciclo menstrual fue identificada de acuerdo al día de ciclo y al análisis histológico del endometrio obtenido. De esta forma, 10 (38,5%) mujeres con endometriosis estaba en fase proliferativa, 11 (42,3%) en fase secretora y 5 (19,2%) en fase menstrual. En los

controles 3 (37,5%) estaban en fase proliferativa, 4 (50%) en fase secretora y 1 (12,5%) en fase menstrual.

Dichas muestras fueron obtenidas el día de la cirugía, tras la inducción anestésica, mediante aspirado endometrial.

Endometrio ectópico: Se obtuvieron además 16 muestras de endometrioma ovárico, 9 nódulos endometriósicos profundos y 3 implantes peritoneales superficiales.

Las muestras de tejido endometriósico se obtuvieron en el transcurso de la cirugía realizada por vía laparoscópica:

-Endometriomas: a partir de la cápsula del quiste endometriósico extirpado.

-Implante peritoneal superficial: la exéresis de dichas lesiones se realiza mediante corte frío con tijera, para evitar el daño térmico por la electrocirugía en la muestra.

-Nódulo Endometriósico profundo: procedentes del core de la lesión de las lesiones mayores de 2cm, con el objeto de limitar el daño térmico.

La obtención de las muestras de tejido endometriósico, se llevaron a cabo con el consentimiento informado de la paciente y siempre en el momento de la exploración quirúrgica oportuna para el diagnóstico y/o tratamiento de la enfermedad.

Todas las muestras, tras ser recogidas en quirófano, se depositan en tubo estéril con tampón fosfato salino estéril (PBS), tampón para mantener el pH de la muestra estable. Posteriormente se mantienen en frío para su transporte al laboratorio, donde son guardadas en nitrógeno líquido hasta su procesado para determinación de miRNAs y proteínas, relacionados con angiogénesis y fibrinólisis en endometriosis.

A todas las mujeres incluidas en este estudio se les solicitó el consentimiento informado (**Anexo 1**), realizándose de acuerdo con la declaración de Helsinki de

1964, modificada en Fortaleza en 2013 y contando con la aceptación del Comité Ético de las instituciones implicadas en el estudio (**Anexo 2**).

3. 2. MÉTODOS.

En las pacientes con endometriosis se realiza una valoración de marcadores biológicos, clínicos y de imagen.

En los controles se estudian los valores de miRNAs para poder tipificar los parámetros de normalidad.

3.2.1. MARCADORES BIOLÓGICOS

Valores de normalidad

Los valores de normalidad de los biomarcadores clásicos (CA-125 y CA-19.9) están ampliamente validados, aunque los rangos de los valores normales pueden variar ligeramente entre diferentes laboratorios. En el laboratorio del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General de Valencia son considerados valores normales: 0-35 mUI/mL para ambos biomarcadores.

Los valores de normalidad en los nuevos biomarcadores (miRNAs) se establecen en función de los hallados en los controles, que corresponden a 1. Los valores en las pacientes de endometriosis se expresan como números de veces aumentados o disminuidos respecto a dicha unidad.

Procesamiento de las muestras

A continuación se expone el método de procesamiento de los tejidos endometriales eutópicos y ectópicos:

Preparación del tejido endometrial eutópico y ectópico

Todos los tejidos se lavarán con tampón PBS, en frío, para eliminar la sangre. Para la extracción de RNA y proteína, una parte del tejido se congelará en nitrógeno líquido y se almacenará hasta su procesamiento. Para verificar el diagnóstico y la fase del ciclo otra parte del tejido se fijará toda la noche a 4° C y se embeberá en bloques de parafina para su estudio anatomopatológico.

Extracción de proteínas en tejido

Las proteínas se extraerán cortando el tejido en pequeñas piezas e incubándolo con tampón Tris-HCl 10 mM, conteniendo EDTA 1.5 mM y glicerol 10%. La suspensión se centrifugará a 100,000 x g, a 4°C durante 15 minutos y el sobrenadante (fracción citosólica) se alicuota y se guarda a -80°C. El precipitado de las membranas se resuspende en tampón Tris-HCl 20 mM, conteniendo NaCl 125mM y Triton X-100 1%, y se centrifugará a 100,000 x g, a 4°C durante 15 minutos y el sobrenadante (extracto de membranas) se guardará en alicuotas a -80°C. La proteína total se determinará utilizando una técnica colorimétrica (BCA assay, Pierce, Rockford, IL).

Extracción de RNA total

La extracción de los miRNA se realizará siguiendo el protocolo de extracción de MirVana miRNA Isolation Kit (Ambion) a partir de muestras de tejido congeladas en nitrógeno líquido. La concentración de RNA obtenido se medirá mediante absorbancia a 260nm y la pureza con el coeficiente de absorbancias 260/280, usando el NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer. La integridad del RNA total vendrá indicada por un número RIN (RNA Integrity Number) obtenido del estudio de las muestras con el bioanalizador de Agilent 2100.

Cuantificación de los miRNAs maduros

Esta cuantificación se realizará a partir de RNA total mediante qRT-PCR. El RNA es retrotranscrito a DNA complementario mediante una retrotranscripción universal (miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR, EXIQON). La posterior PCR en tiempo real de estas muestras se realizará empleando SYBR Green y cebadores específicos conteniendo nucleótidos modificados químicamente (LNA). La PCR se realizará en el termociclador LightCycler II-480. Los valores obtenidos se normalizarán con los niveles del miRNA U6b como normalizador endógeno

Estudio de proteínas

Los niveles proteicos de los distintos componentes de la angiogénesis y del sistema fibrinolítico se determinaron en los extractos proteicos de los tejidos mediante técnicas de inmunoensayo (ELISA).

La cuantificación del nivel de proteína VEGF-A se llevó a cabo utilizando un ELISA comercial (Human VEGF, IBL International, MG51861/2). De las cinco isoformas de la proteína VEGF-A, a saber VEGF-A₁₂₁, VEGF-A₁₄₅, VEGF-A₁₆₅, VEGF-A₁₈₉ y VEGF-A₂₀₆, el ensayo reconoce las isoforma VEGF-A₁₆₅, la más abundante, y VEGF-A₁₂₁. Los coeficientes de variación intra- e interensayo fueron 3,7-5,5% y 6,5-9,3%, respectivamente. La cuantificación de la proteína TSP-1 se llevó a cabo usando un ELISA comercial (Human TSP-1, ELISA Development System, DuoSet, RD systems, DY3074). No se observó reacción cruzada o interferencia con TSP-2 o TSP-4. Los coeficientes de variación intra- e interensayo fueron 5-6% y 8-11%, respectivamente.

Con el fin de normalizar los niveles antigénicos obtenidos en los extractos proteicos, se determinó la cantidad de proteína total en las muestras utilizando el ensayo de proteína BCA (BCA Assay), siguiendo las indicaciones del fabricante. Las muestras se cuantificaron por duplicado.

3.2.2. MARCADORES CLÍNICOS. CLASIFICACIONES VALIDADAS

En primer lugar, se registran una serie de **marcadores clínicos** ya validados en endometriosis:

1. Escala analógica visual (VAS) para los diferentes tipos de dolor. Se realiza una valoración semicuantitativa de los diferentes tipos de dolor asociados a endometriosis (Dismenorrea, Dispareunia, Dolor pélvico crónico, Disquecia y Disuria). A cada tipo de dolor, la paciente le otorga un valor de severidad de 0 a 100, donde 0 representa la ausencia de dolor y 100 la percepción subjetiva del máximo dolor posible. Para facilitar esta operación de forma visual, la paciente registra su valor de dolor sobre unas reglas milimetradas. Este registro se realiza antes, después de la cirugía y en la visita postquirúrgica a los 2 meses.

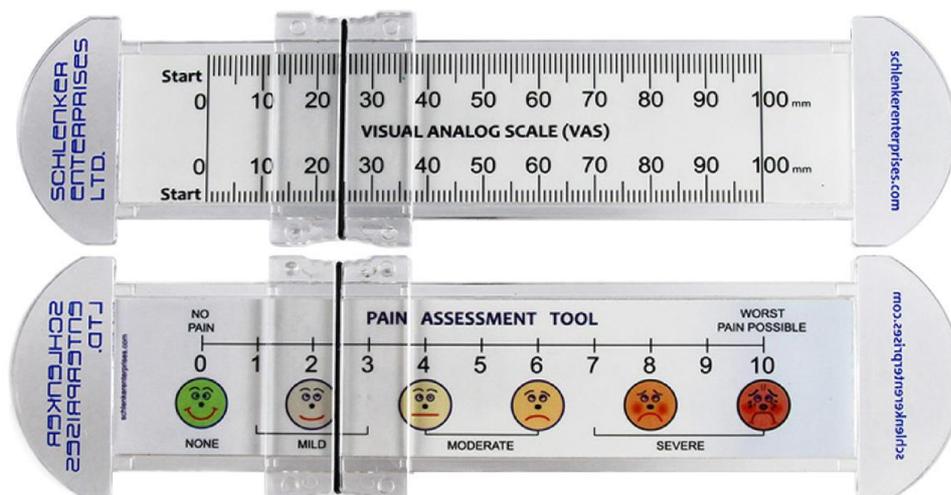


Figura 3.2. Escala analógica visual (VAS) de dolor. Reglas empleadas para el registro de los valores VAS de los diferentes tipos de dolor asociados a la endometriosis.

2. Cuestionario específico de enfermedad EHP-30 (Endometriosis Health Profile), Es un cuestionario general de calidad de vida adaptado específicamente para endometriosis. No es un cuestionario clínico propiamente dicho, aunque nosotros lo utilizaremos como posible marcador clínico.

Desarrollado por G. Jones en 2001, consta de dos partes o secciones. La primera sección es un cuestionario básico de 30 preguntas aplicables a todas las mujeres con endometriosis, dividido en 5 áreas o dominios: dolor (11 preguntas), bienestar emocional (6 preguntas), autocontrol (6 preguntas), apoyo social (4 preguntas) y autoimagen (3 preguntas). La segunda sección es un cuestionario modular de 23 preguntas que pueden resultar no relevantes (o no contestables) para algunas mujeres con endometriosis, repartidas en 6 dominios: trabajo (5 preguntas), relación con los hijos (2 preguntas), actividad sexual (5 preguntas), profesión médica (4 preguntas), tratamiento (3 preguntas) y esterilidad (4 preguntas).

Cada una de las preguntas tiene 5 posibles respuestas: nunca (0 puntos), rara vez (1 punto), algunas veces (2 puntos), frecuentemente (3 puntos) y siempre (5 puntos).

La puntuación de cada dominio se calcula dividiendo el total de puntos obtenidos entre el total de puntos máximos posibles en dicho dominio y multiplicado por 100. La puntuación final de cada dominio varía de 0 (mejor estado de salud) a 100 (peor estado de salud) (**Anexo 3**).

En segundo lugar, se completan diferentes **clasificaciones** ya validadas para definir la **extensión de la enfermedad y pronóstico reproductivo**. Dichas clasificaciones se completan el día de la cirugía según los hallazgos quirúrgicos encontrados:

- 1. Clasificación revisada de endometriosis de la ASRM**
- 2. Clasificación topográfica de la endometriosis profunda de Chapron**
- 3. Índice de fertilidad en endometriosis (endometriosis fertility index, EFI).**

En la introducción ya se ha comentado en que consisten dichas clasificaciones. Se puede visualizar el modelo seguido para su cumplimentación en los **Anexos 4, 5 y 6**.

3.2.3. MARCADORES DE IMAGEN: ECOGRAFÍA Y RNM

A las 30 pacientes incluidas en el estudio prospectivo, se sumaron 40 pacientes más, de las que no se obtuvieron muestras para estudio de biomarcadores (la mayoría por estar con tratamientos hormonales que las excluía de este análisis), pero que fueron igualmente estudiadas de forma prospectiva por sospecha de endometriosis y mediante técnicas de imagen. Esto se realizó con el objetivo de aumentar la potencia estadística de los resultados observados. Del total de 70 pacientes se realizó ecografía transvaginal a las 70 y resonancia nuclear magnética a 50. Dentro de las exploraciones por resonancia magnética se empleó opacificación vaginal y rectal con gel en 19.

3.2.3.1. ECOGRAFÍA

En todas las pacientes se realizó preparación intestinal previa. Esta consiste en la administración de un laxante oral en la víspera del examen (5 mg de picosulfato disódico) y la colocación de un enema (120 ml de difosfato disódico) 1 hora antes de la exploración. Se insta a las pacientes a no vaciar la vejiga previamente a la exploración para facilitar visualización del compartimento anterior. Se emplea la técnica guiada por el dolor (Tenderness-guided technique) para aumentar la precisión diagnóstica. El ecógrafo utilizado fue un Voluson E6 (General Electric Medical Systems, Zipf, Austria) y todas las exploraciones fueron realizadas por un mismo explorador (JGO).

La sistemática exploratoria fue la siguiente: Tras la exploración física se realiza ecografía abdominal (descartar hidronefrosis) y posteriormente ecografía transvaginal. Se realiza una exploración sistemática por compartimentos para facilitar la detección de lesiones. Primero en compartimento anterior (trígono y cúpula vesical) y posteriormente valoración del compartimento posterior (retrocérvix, tabique rectovaginal, fórnix vaginal posterior y rectosigma) y lateral (ligamentos uterosacros y parametrios). En último lugar se realiza valoración de los anexos (presencia de endometriomas u otros quistes anexiales, movilidad de los ovarios o imágenes compatibles con trompas dilatadas).

Durante la valoración del compartimento posterior se valora el signo de deslizamiento o sliding sign (**Figura 3.3**) (**Vídeo 2**). En caso de signo de deslizamiento negativo (que sugiere Douglas ocluido) se reexplora dicho compartimento posterior, deteniéndose en los puntos dolorosos.

Para facilitar la recogida de todas las variables ecográficas estudiadas, se utiliza un sistema que permite la anotación del mapeo ecográfico realizado (Endometriosis Surgical Ultrasonographic System, ESUS) (Exhacoustos C, 2014) (**Anexo 7**).

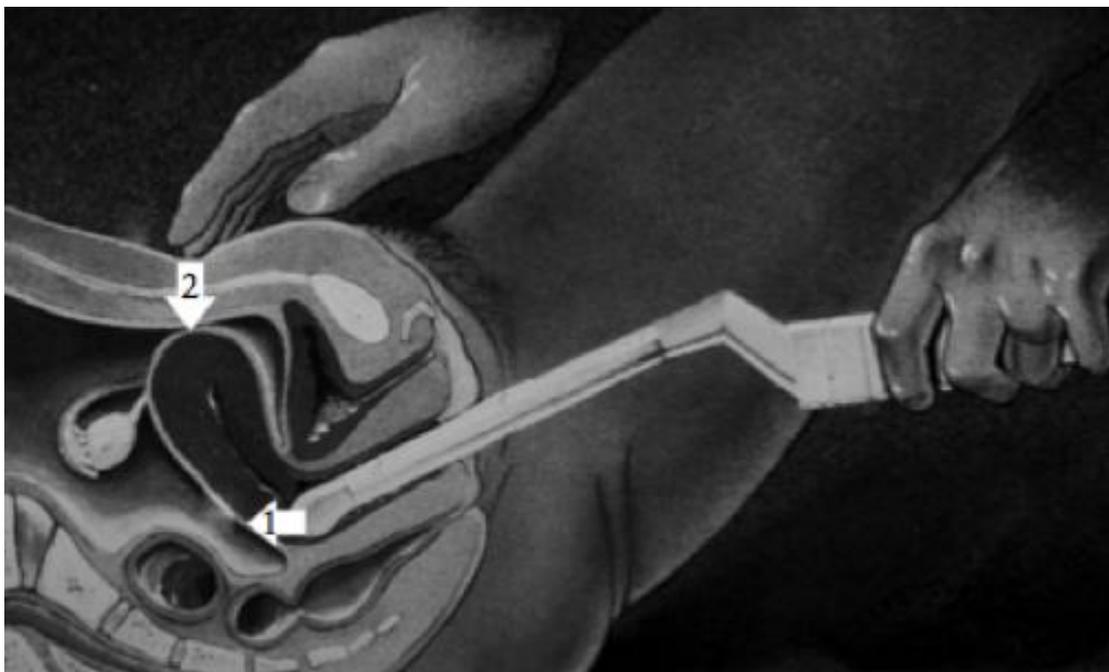


Figura 3.3. Signo de deslizamiento. Dicha valoración está compuesta por dos maniobras: **1)** se realiza presión con sonda vaginal sobre cérvix para ver si cara anterior de recto desliza libremente sobre pared posterior de cérvix y vagina (flecha 1). **2)** se realiza presión con mano libre sobre pared abdominal para movilizar útero y ver si cara anterior de rectosigma desliza libremente sobre pared posterosuperior del útero (flecha 2). (Reid S et al, 2013).

3.2.3.2. RESONANCIA NUCLEAR MAGNÉTICA (RNM)

Las imágenes se obtuvieron de forma independiente al ciclo menstrual. La paciente debe mantener ayuno antes de la prueba de al menos 4-6 horas y abstenerse de la micción durante 1 hora antes del examen, lo cual, corrige el ángulo de anteversión uterina y desplaza cranealmente el intestino delgado. El día anterior al examen se realiza preparación intestinal con un laxante oral.

Se empleó un resonador magnético de 1.5 T (General Electric Medical Systems), utilizando secuencias basales multiplanares axiales, sagitales y coronales potenciadas en T2 Fast spin echo y secuencias axiales potenciadas en T1 Spin echo sin y con supresión grasa precontraste. Posteriormente se obtienen imágenes axiales y/o sagitales después de la inyección intravenosa de contraste basado en gadolinio.

En los casos de realización de RNM con opacificación vaginal y rectal con gel, tras las secuencias basales, se aplica 60 ml de gel de ultrasonido a nivel vaginal y 120 ml de gel a nivel endorrectal y se capturan las mismas secuencias que el

procedimiento basal. Posteriormente se realizan las secuencias con gadolinio. Las imágenes de RNM fueron interpretadas por 3 examinadores (VBL, VMS, ABD).

Los principales hallazgos de endometriosis por RNM se dividen en dos grupos: endometriomas y endometriosis profunda.

Endometriomas

Los endometriomas ováricos, son típicamente hiperintensos en secuencias potenciadas en T1. Esta hiperintensidad es más evidente en las imágenes realizadas en T1 con supresión grasa, ya que se elimina la señal alta de la grasa circundante, aumentando así la sensibilidad para la detección de pequeños focos de endometriosis. De forma inversa, en secuencias potenciadas en T2 son hipointensos, efecto denominado sombreado o “*shading*”, que se explica por la presencia de sangre en distintos estadios. Se busca también la presencia de puntos negros en T2 (T2 dark spot sign), ya que sirve de ayuda, en casos de duda con posibles quistes hemorrágicos. El uso de gadolinio puede mostrar un patrón de realce no específico y variable que no diferencian de otros procesos benignos y malignos.

Endometriosis profunda peritoneal

A diferencia de los endometriomas, los implantes de endometriosis profunda pueden tener características diferentes en la imagen de RM. La mayoría de éstos son hipointensos, tanto en secuencias potenciadas en T2 como en T1. Esta hipointensidad es debida a una reacción desmoplásica con proliferación fibromuscular. Presentan bordes mal definidos de aspecto infiltrante, produciendo retracción de órganos o estructuras vecinas.

La presencia de focos hemorrágicos, hiperintensos en secuencias T1 sin y con supresión de la grasa, es un hallazgo de la RM muy característico de los implantes endometriósicos, viéndose con menor frecuencia en los implantes profundos que en las lesiones anexiales. Los implantes pueden realzar con gadolinio, sin embargo esta característica no es sensible ni específica.

Los implantes a nivel de la pelvis se clasificaran según el compartimento afectado (compartimento anterior, posterior y lateral) y se recogerán las variables de

forma similar a lo realizado por ecografía.

4. SERIE RETROSPECTIVA

4.1. MATERIAL

4.1.1. GRUPO CLÍNICO

Pacientes

Se incluyeron 43 pacientes intervenidas de endometriosis (edad media: 33,8 años, rango: 23-45) que presentaban por un lado, muestra de tejidos (obtenida el día de la cirugía) congelada, para poder determinar los mismos biomarcadores; y por otro, registro de los mismos marcadores clínicos analizados en la serie prospectiva. Al igual que en la parte prospectiva, todos los casos correspondían a casos de endometriosis confirmada por los hallazgos quirúrgicos y en el estudio histopatológico posterior, así como la ausencia de tratamiento hormonal o lactancia natural en los 3 meses previos a la obtención de las muestras.

4.1.2. MUESTRAS DEL ESTUDIO

4.1.2.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE BIOMARCADORES CLÁSICOS

Se recuperó el registro de 35 determinaciones de CA 125 y CA19.9 antes de la cirugía y 28 de ambos tras la cirugía, habiendo en ambos marcadores 28 casos de datos apareados antes-después de la intervención quirúrgica.

3.1.2.1 MUESTRAS PARA ESTUDIO DE NUEVOS BIOMARCADORES

Endometrio eutópico: se recogieron 43 endometrios eutópicos. La fase del ciclo menstrual fue identificada igualmente, de acuerdo al día de ciclo y al análisis histológico del endometrio obtenido. De esta modo, 19 (44,2%) mujeres con endometriosis estaba en fase proliferativa, 19 (44,2%) en fase secretora y 5 (11,6%) en fase menstrual.

Dichas muestras fueron obtenidas el día de la cirugía, tras la inducción anestésica, mediante aspirado endometrial.

Endometrio ectópico: Se obtuvieron además 31 muestras de endometrioma ovárico, 14 nódulos endometriósicos profundos y 10 implantes peritoneales superficiales.

El modo de obtención de las muestras, así como su modo de recogida y transporte al laboratorio es igual que el descrito en la serie prospectiva. A todas las mujeres incluidas en esta parte, también se les solicitó el consentimiento informado para estudio de investigación de muestras biológicas.

4.2. MÉTODOS

4.2..1. MARCADORES BIOLÓGICOS

Valores de normalidad

Los valores de normalidad de los biomarcadores clásicos (CA-125 y CA-19.9) en el laboratorio del Hospital Casa de Salud de Valencia son: 0-35 mUI/mL para ambos biomarcadores.

Los valores de normalidad en los nuevos biomarcadores (miRNAs) se establecen en función de los establecidos por nuestro grupo de trabajo, en un estudio previo sobre un grupo de 32 controles (edad media: 36,4 años, rango: 27-45, fase proliferativa 47%, fase secretora 53%) (Braza-Böils A et al, 2014).

Procesamiento de las muestras

Similar al descrito en el apartado de la serie prospectiva.

4.2..2. MARCADORES CLÍNICOS. CLASIFICACIONES VALIDADAS

Son analizados los mismos **Marcadores clínicos** que en parte prospectiva, obtenidos antes y después de la cirugía:

1. Escala analógica visual (VAS) para los diferentes tipos de dolor

2. Cuestionario EHP-30 (Endometriosis Health Profile). (Anexo 3)

El día de la cirugía se completaron las mismas **clasificaciones** para definir la **extensión de la enfermedad y pronóstico reproductivo**: Dichas clasificaciones se completan el día de la cirugía según los hallazgos quirúrgicos encontrados:

1. Clasificación revisada de endometriosis de la ASRM.

(Anexo 4)

2. Clasificación de la endometriosis profunda de Chapron.

(Anexo 5)

3. Índice de fertilidad en endometriosis.

(Anexo 6)

Se realizó posterior entrevista clínica, para completar la base de datos y ver la evolución de las pacientes (media de 3,6 años; rango de 2 a 9 años), fundamentalmente en términos de recidiva y reproductivos. Se consideró la aparición de recidiva desde un punto de vista principalmente clínico; la reaparición de lesiones sintomáticas o la simple reaparición de síntomas que no mejoraban, a pesar del tratamiento médico prolongado recibido). También se consideró recibida bajo un criterio temporal, la aparición de síntomas posterior a 6 meses tras la cirugía, para diferenciarlo del concepto de persistencia de enfermedad por cirugía incompleta o no efectiva.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los distintos modelos se ajustarán mediante algoritmos de regresión con penalización para poder introducir todas las variables en estudio sin problemas de sobreparametrización. El ajuste de los parámetros de estos modelos se realizará mediante validación cruzada de 10 iteraciones. Para el análisis de los datos se utiliza el paquete estadístico SPSS 11.5 para Windows y se considera estadísticamente significativo un nivel de $p < 0,05$. El cálculo de número de muestras se realiza por la fórmula de comparación de grupos independientes, con análisis de contraste bilateral y errores Tipo I y II fijados en 5% y 20% respectivamente. Se aplica el test de

normalidad de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors a las variables cuantitativas continuas. Para comparar las medias de estas variables cuantitativas continuas con distribución normal se utiliza el test t de Student o el test de ANOVA, según corresponda por el número de grupos analizado. El estudio de correlaciones entre dos variables se basa en el método de correlación de Pearson. En caso de no cumplir criterios de normalidad, se aplican tests no paramétricos según corresponda.

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO PROSPECTIVO. DIAGNOSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES

1.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO

En esta parte del estudio se incluyen 30 pacientes con endometriosis, con una edad media de 33,9 años y un rango entre los 19 y 45 años de edad.

En dichas pacientes se encontraron 13 casos (43,3%) con presencia de lesiones peritoneales superficiales, 17 (56,7%) casos con endometriomas y 17 (56,7%) con lesiones profundas. Al coexistir habitualmente diferentes tipos de lesiones endometriósicas en una misma paciente, se clasifica el tipo de lesión endometriósica en función de la lesión principal o más severa. De esta forma las 30 pacientes se clasificaron como: 1 (3,3%) endometriosis peritoneal superficial, 12 (40%) endometriosis ovárica y 17 (56,7%) endometriosis infiltrante profunda.

Respecto a la clasificación rASRM se observan los siguientes estadios: Estadio I, ningún caso; Estadio II, 3 (10,3%); Estadio III, 14 (46,3%); y Estadio IV, 12 (41,4%). La media de puntuación rASRM fue $49,00 \pm 6,92$ ($X \pm EEM$) (**Figura 4.1**).

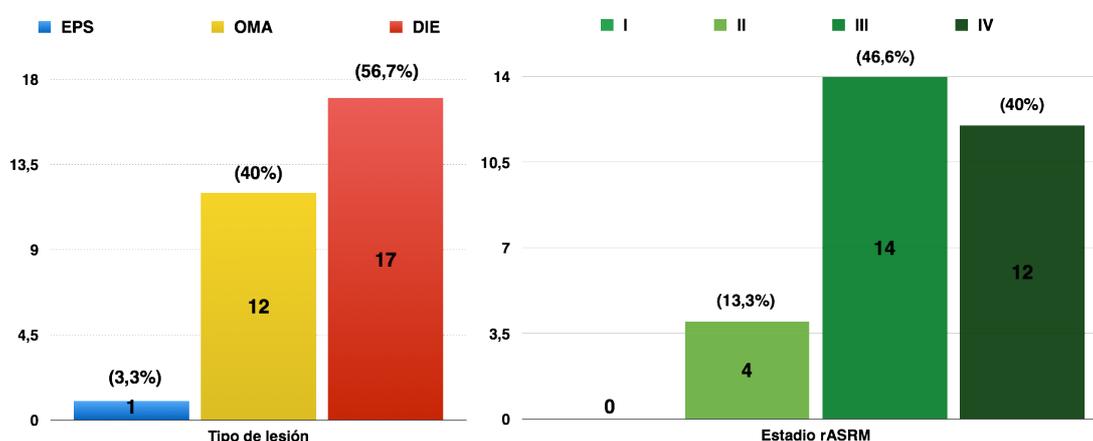


Figura 4.1. Tipos de lesión endometriósica (en función de lesión principal) y estadio de la clasificación rASRM de la serie prospectiva. Se observa una elevada presencia de lesiones profundas, así como estadios III y IV.

A. Marcadores clínicos

Se analizaron la escala VAS para los diferentes tipos de dolor asociados a endometriosis, así como el cuestionario de calidad de vida EHP-30, ambos antes y después de la cirugía.

Escala VAS de dolor

Se describen los valores medios de escala analógica visual (VAS), para cada tipo de dolor asociado a endometriosis registrados en la visita prequirúrgica y en la visita postquirúrgica a los 2 meses. Se analiza también el sumatorio de todos los tipos de dolor, a modo de sencillo índice que aglutine todos ellos (**Tabla 4.1**).

Se observa que los mayores valores VAS de dolor precirugía corresponden a la dispareunia, dolor crónico y sobre todo a la dismenorrea. Se produce una disminución significativa tras la cirugía de todos los valores medios VAS de dolor, excepto en la disuria. En la tabla 4.1 se describe también, la evolución cualitativa detallada de cada tipo de dolor tras la cirugía (desaparición, reducción, persistencia, aumento o no había), así como el porcentaje de pacientes afectas que experimentan mejoría para cada tipo de dolor. La dismenorrea y disquecia mejoraron ampliamente, en alrededor del 90% de las pacientes; la dispareunia y el dolor crónico en torno al 80% y la disuria en el 75% de pacientes.

Cuestionario calidad de vida EHP-30

Se describen los resultados generales encontrados en los cuestionarios EHP-30 antes y después de la cirugía. Los resultados se dividen en los diferentes dominios de que consta el EHP30, tanto en el cuestionario central como en el modular. Dichos resultados corresponden a las medias del total de pacientes, donde valores más bajos suponen una menor afectación, y valores más altos una mayor afectación de dicha área o dominio. Se observa que los resultados mayores se dan en la parte referida a problemas de dolor, esterilidad, autocontrol y bienestar emocional. Se aprecia también, una disminución o mejora significativa de todos los dominios tras la cirugía, a excepción del problema esterilidad. Se registra también el sumatorio de todos los valores de cada dominio del cuestionario central. Esto no se emplea en la sección modular, ya que tiene preguntas que no son contestadas por todas las pacientes (**Tabla 4.2**).

VAS	Dismenorrea	Dispareunia	Dolor crónico	Disquecia	Disuria	Total Σ todos VAS
precirugía (n = 30)	69,17±4,97	33,00±6,98	31,67±7,14	22,00±6,58	7,67±4,54	163,50±22,89
postcirugía (n = 30)	15,33±4,28	11,33±3,82	9,00±3,56	7,67±3,82	2,33±1,63	45,66±13,17
SE	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,05	NS	p < 0,001
Desaparición	17 (56,7%)	8 (26,7%)	7 (23,3%)	5 (16,7%)	2 (6,7%)	-
Reducción	10 (33,3%)	5 (16,7%)	4 (13,3%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	-
Igual	1 (3,3%)	3 (10,0%)	2 (6,7%)	0 (0%)	0 (0%)	-
Aumento	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	-
No había	2 (6,7%)	14 (46,7%)	17 (56,7%)	20 (66,7%)	26 (86%)	-
Mejoría afectas	27 (96,4%)	13 (81,2%)	11 (84,6%)	9 (90%)	3 (75%)	-
No mejoría de afectas	1 (3,6%)	3 (18,8%)	2 (15,4%)	1 (10%)	1 (25%)	-

Tabla 4.1. Valores de las cifras de VAS y modo de evolución para los diferentes tipos de dolor en endometriosis antes y después de la cirugía. Los datos cuantitativos se expresan como media ± error estándar de la media, y los cualitativos en número de casos y porcentajes. SE: significación estadística.

EHP-30 central	Dolor	Autocontrol	Bienestar emocional	Apoyo social	Autoimagen	Total Σ EHP30
precirugía (n=30)	46,90±6,16	44,22±6,55	36,66±6,84	28,37±5,74	28,33±5,64	184,50±28,84
postcirugía (n=30)	13,79±4,07	9,98±4,00	9,20±3,54	6,62±3,10	6,24±3,40	45,86±16,23
SE	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

EHP-30 modular	Trabajo (n=25)	Relación con hijos (n=6)	Actividad sexual (n=28)	Profesión médica (n=29)	Tratamiento (n=29)	Esterilidad (n=28)
precirugía	32,00±5,68	29,16±11,93	30,51±6,15	28,44±5,81	31,56±5,31	46,77±6,85
postcirugía	8,46±3,41	0	13,06±3,99	7,82±3,67	6,24±2,82	35,74±6,74
SE	p < 0,001	p < 0,05	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,001	NS

Tabla 4.2. Valores de los diferentes dominios de los que consta el cuestionario EHP-30, antes y después de la cirugía. El cuestionario EHP30 presenta en su sección central o principal preguntas contestables por todas pacientes; y en su sección modular preguntas que pueden no ser contestables por todas. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media. SE: significación estadística.

Se recogen también las siguientes variables de calidad de vida:

-mejoría general de los síntomas en 27 pacientes (90%), no mejoría en 2 (6,4%) y sin cambios al ser caso asintomático en 1 (3,3%).

-mejoría general personal-social en 27 (90%) y no mejoría en 3 casos (10%).

-calidad de vida precirugía de 0 a 10: $5,07 \pm 0,37$

-calidad de vida postcirugía de 0 a 10: $8,17 \pm 0,31$

-nivel de satisfacción global final de 0 a 10: $8,67 \pm 0,37$

B. Biomarcadores clásicos

CA-125 y CA-19.9

Se realizan determinaciones de CA-125 y CA 19.9 antes y después de la cirugía en las 30 pacientes. De éstas se excluyen 4 pacientes por ser fumadoras. Se excluyó también un caso con valor precirugía extremo (Ca-125: 1881 UI/mL), motivo por el cual, se detectó en estudio paralelo una hepatopatía crónica activa. No se detectaron otras posibles causas benignas ni malignas de aumento de CA-125. Al final se analizan 25 determinaciones apareadas antes-después de la cirugía con ambos marcadores.

El valor medio de CA 125 antes de la cirugía es de $39,44 \pm 5,94$ mUI/mL (normalidad 0-35 UI/mL). Presenta valores aumentados en aproximadamente la mitad de pacientes (56%). Por el contrario la media postcirugía es de $17,43 \pm 1,26$ mUI/mL, hallándose en el 92% de las pacientes en valores normales. La evolución posterior de los 11 valores de CA 125 precirugía aumentados fue: se normalizan 9 (81,8%) y persisten aumentados en 2 casos (18,2%).

El valor medio del CA 19.9 antes de la cirugía ($18,04 \pm 4,48$ UI/mL) y después de ésta ($6,83 \pm 1,18$) se corresponden con valores normales (0-35mU/mL). El 92% de pacientes antes de la cirugía, así como el 100% tras ésta, presentan valores normales (**Tabla 4.3**).

Biomarcadores clásicos	CA 125 (n = 25)		CA 19.9 (n = 25)	
	(x±EEM)*	normal (%) aumentado (%)	(x±EEM)*	normal (%) aumentado (%)
precirugía	39,44±5,94	14 (56%) 11 (44%)	18,04±4,48	23 (92%) 2 (8%)
postcirugía	17,43±3,33	23 (92%) 2 (8%)	6,83±1,18	25 (100%) 0 (0%)

Tabla 4.3. Valores séricos de CA-125 y CA-19.9 de la serie prospectiva. *Los valores de CA 125 y CA 19.9 son en UI/mL y se expresan como media ± error estándar de la media .

C. Nuevos biomarcadores

miRNAs implicados en angiogénesis y fibrinólisis (angiomiRNAs)

Para evaluar la posibilidad de que la fase de ciclo endometrial pudiera afectar la expresión de miRNAs, se realizó análisis estadístico de los datos recogidos en las diferentes fases de ciclo. No se observaron diferencias significativas entre las diferentes fases de ciclo respecto a los diferentes grupos para ninguno de los miRNAs estudiados.

Se analizaron también, otras características generales de las pacientes en que se obtuvieron muestras de endometrio control y endometrio eutópico. Se observa que ambos grupos son homogéneos respecto a diferentes variables que pudieran influir en los resultados detectados (**Tabla 4.4**)

Los niveles de miRNAs en los diferentes tejidos analizados en las pacientes con endometriosis, se expresan como veces de cambio sobre el valor determinado en endometrio de mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). Las determinaciones obtenidas mediante qRT-PCR de los niveles de miRNAs se detallan en la **Tabla 4.5 y Figura 4.2**.

	Endometrio control (n=8)	Endometrio eutópico (n=18)	Significación estadística
Edad	37,50±2,30	33,69±1,29	NS
IMC	25,89±1,32	24,28±1,09	NS
Tabaco	2/8 (25%)	5/26 (19,2%)	NS
Patología ginecológica asociada (miomas)	1/8 (12,5%)	3/26 (11,5%)	NS
Fase de ciclo			
proliferativa	3 (37,5%)	7 (38,9%)	NS
secretora	4 (50%)	8 (44,5%)	
menstrual	1 (12,5%)	3 (16,6%)	

Tabla 4.4. Análisis de diferentes variables entre endometrio control y endometrio eutópico. Ambos grupos son homogéneos respecto a diferentes variables que pudieran influir en los resultados detectados: no existen diferencias significativas entre las distintas variables analizadas entre las dos poblaciones. Los datos cualitativos se expresan en número de casos y los cuantitativos como media \pm error estándar de la media (EEM).

-Comparación de niveles de miRNAs en endometrio eutópico y lesiones endometriósicas respecto al endometrio control

No se encuentran diferencias significativas en la expresión de angiomiRNAs en endometrio eutópico vs endometrio control. En endometrioma se encuentran significativamente sobreexpresados el mi-R-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3p, miR-411-3p, miR-411-5p y el miR-424-5p respecto al endometrio control. Llama la atención la gran sobreexpresión del miR-202-3p, más de 100 veces mayor que en el endometrio control. En nódulo de EIP se encuentran también significativamente sobreexpresados el mi-R-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3p y miR-411-5p respecto al endometrio control.

-Comparación de niveles de miRNAs en lesiones endometriósicas respecto a endometrio eutópico

Los niveles de miR-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3p y miR-411-5p fueron significativamente mayores en endometrioma y nódulo EIP, respecto al endometrio eutópico. Los miR-411-3p y miR-424-5p fueron significativamente mayores en endometrioma.

-Comparación de niveles de miRNAs entre lesiones endometriósicas

El miR-202-3p está significativamente sobreexpresado en endometrioma respecto al nódulo EIP.

	Endometrio control (n = 8)	Endometrio eutópico (n = 18)	Endometrioma (n = 10)	Nódulo EIP (n = 4)
miR-29c-3p	1,00±0,38	1,99±0,67	22,84±5,24***###	75,77±56,77**##
miR-138-5p	1,00±0,21	0,85±0,23	21,24±9,70**###	26,51±13,25**##
miR-202-3p	1,00±0,23	1,79±1,07	168,63±60,55***###	28,25±23,90*##
miR-411-3p	1,00±0,27	1,13±0,17	21,80±14,38*#	4,80±3,93
miR-411-5p	1,00±0,35	1,56±0,31	47,57±31,64***###	14,24±8,51**##
miR-424-5p	1,00±0,22	1,80±0,28	6,93±3,37*#	11,07±9,76
miR-449-3p	1,00±0,90	1,92±0,25	0,23±0,10	0,92±0,16

Tabla 4.5. Valores de miRNAs en endometrio eutópico y lesiones endometriósicas de mujeres con endometriosis, relativos a los niveles en endometrio de mujeres sin endometriosis (endometrio control). Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media. Los valores de miRNAs se expresan como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1).

Diferencias significativas cualquier grupo vs grupo control * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Diferencias significativas cualquier grupo vs endometrio eutópico # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Diferencias significativas nódulo EIP vs endometrioma & $p < 0,05$; && $p < 0,01$; &&& $p < 0,001$.

1.2 DIAGNÓSTICO NO INVASIVO DE ENDOMETRIOSIS PROFUNDA MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES

Antes de valorar la presencia de diferencias en los diferentes marcadores clínicos y biomarcadores analizados en el estudio, respecto a la presencia o ausencia de endometriosis profunda, se analiza la asociación entre el estadio rASRM y la presencia de endometriosis profunda. Tras el análisis estadístico observamos que no se detectan diferencias significativas en la presencia/ausencia de EIP, en función del estadio. Si que se observan puntuaciones rASRM significativamente mayores en el grupo de EIP (Tabla 4.6).

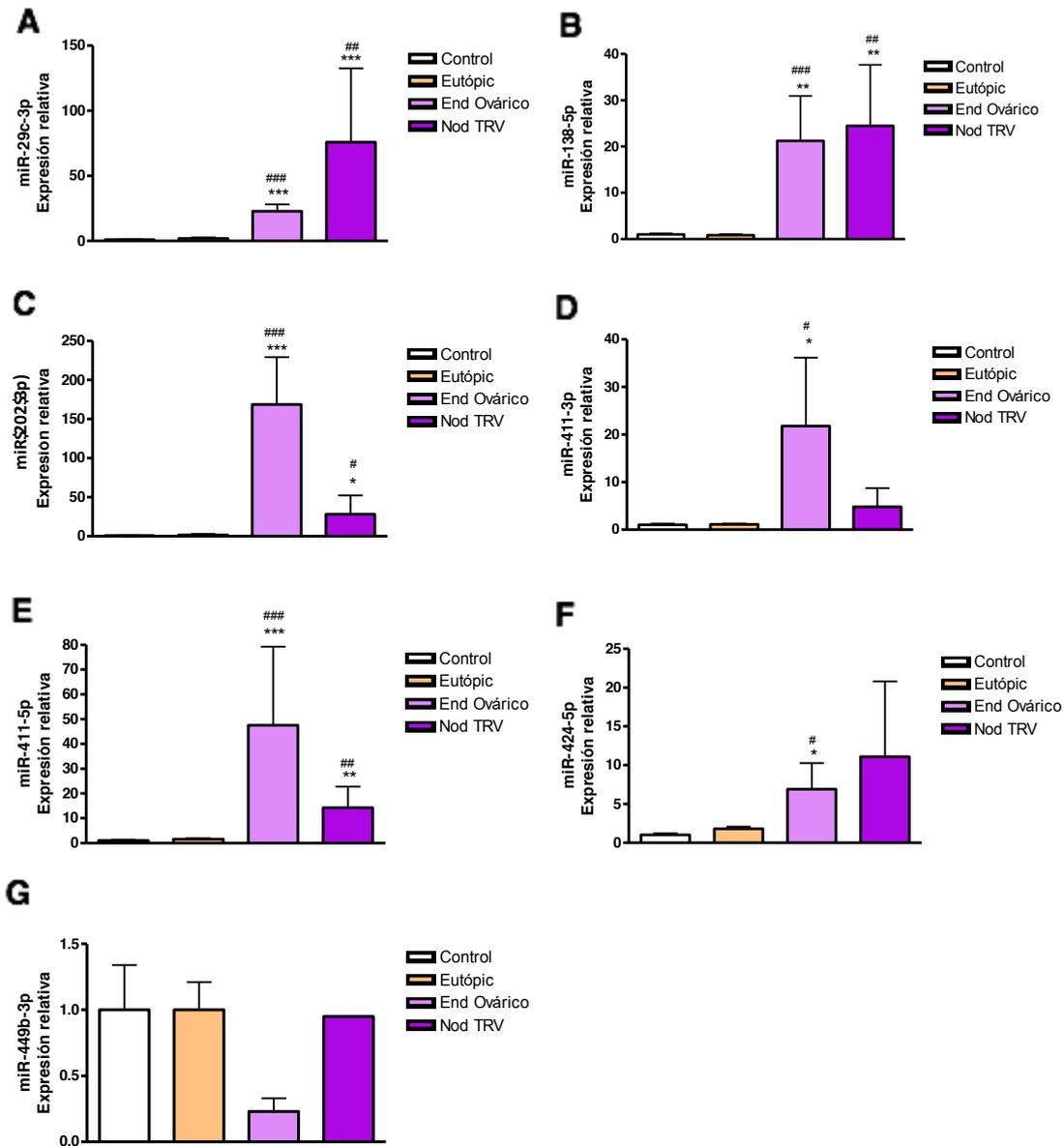


Figura 4.2. Valores de miRNAs en los diferentes tejidos analizados. (A) miR-29c-3p. (B) miR-138-5p. (C) miR-202-3p. (D) miR-411-3p. (E) miR-411-5p. (F) miR-424-5p. Los valores de miRNAs se expresan como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media. Diferencias significativas cualquier grupo vs grupo control * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,001$. Diferencias significativas cualquier grupo vs endometrio eutópico # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$. Diferencias significativas nódulo EIP vs endometrioma & $p < 0,05$; && $p < 0,01$; &&& $p < 0,001$**

ASRM vs DIE		No EIP	EIP	Significación estadística
Estadio rASRM	II	1 (25%)	3 (75%)	NS
	III	10 (66,6%)	5 (33,3%)	
	IV	2 (18,2%)	9 (81,8%)	
puntuación rASRM		22,08±2,57	70,88±9,32	p < 0,01

Tabla 4.6. Presencia de endometriosis profunda en función del estadio o la puntuación de la clasificación ASRM. No se observan diferencias significativas entre la presencia de DIE respecto a los diferentes estadios rASRM, aunque sí con puntuaciones elevadas de dicha clasificación.

A.Marcadores clínicos

Se registraron los valores VAS para cada tipo de dolor y los resultados del cuestionario de calidad de vida EHP-30 antes de la cirugía y en la visita postquirúrgica a los 2 meses.

Escala VAS de dolor

Se observa mayores valores de VAS para todos los tipos de dolor, pre y postcirugía en las pacientes con EIP, siendo significativamente mayores el VAS prequirúrgico de dolor crónico y disquecia. Son significativamente mayores también el VAS postquirúrgico de la dismenorrea, dispareunia y dolor crónico (**Tabla 4.7**).

No se observan diferencias significativas en la diferencia del VAS entre antes y después de la intervención, es decir el grado en que mejora el dolor tras la cirugía (**Tabla 4.7**).

Todos los tipos de dolor, pueden no aparecer a la vez en una misma paciente. A pesar de ello, se observa que el sumatorio VAS de todos los dolores presentes antes de la cirugía es mayor y con diferencias altamente significativas en las pacientes que luego desarrollarán una recidiva posterior. El sumatorio de todos los VAS de dolor postcirugía es también significativamente mayor en las que desarrollarán recidiva (**Tabla 4.7**).

	No DIE (n = 13)	DIE (n = 17)	Significación estadística
VAS DM precirugía	59,23±7,88	76,76±5,94	NS
VAS DM postcirugía	6,15±3,49	22,35±6,67	p < 0,05
Diferencia VAS DM	53,08±7,79	54,41±7,75	NS
VAS DP precirugía	23,08±9,29	40,59±9,90	NS
VAS DP postcirugía	3,08±2,08	17,65±6,21	p < 0,05
Diferencia VAS DP	20,00±7,67	22,94±7,21	NS
VAS DC precirugía	10,77±7,63	47,65±9,64	p < 0,01
VAS DC postcirugía	0	14,88±5,82	p < 0,05
Diferencia VAS DC	10,77±7,63	31,76±7,87	NS
VAS DQ precirugía	3,08±3,07	36,47±10,14	p < 0,01
VAS DQ postcirugía	0	13,53±6,47	NS
Diferencia VAS DQ	3,08±3,07	28,82±8,17	p < 0,05
VAS DU precirugía	0	13,53±7,80	NS
VAS DU postcirugía	0	4,12±2,85	NS
Diferencia VAS DU	0	14,12±6,86	NS
ΣVAS precirugía	96,15±21,40	215,00±32,11	p < 0,01
ΣVAS postcirugía	9,23±5,36	73,52±20,65	p < 0,01
Σ Diferencia VAS	86,92±20,23	152,05±26,53	NS

Tabla 4.7. Valores de VAS para cada tipo de dolor, en pacientes con o sin endometriosis infiltrante profunda (DIE). Se recogen las medias VAS antes y después de la cirugía, así como la caída de dicho VAS tras la cirugía (Diferencia VAS). Se recoge también el sumatorio de todos estos valores. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media (EEM). DM: dismenorrea; DP: dispareunia; DC: dolor crónico; DQ: disquecia; DU: disuria.

	No DIE (n = 13)	DIE (n = 17)	Significación estadística
Dolor precirugía	18,07±3,45	68,88±6,70	p < 0,001
Dolor postcirugía	2,09±1,41	22,74,78±6,35	p < 0,01
Autocontrol precirugía	14,23±4,75	67,15±6,97	p < 0,001
Autocontrol postcirugía	0,76±0,52	17,03±6,62	p < 0,05
Bienestar emocional precirugía	7,37±3,23	59,06±8,46	p < 0,001
Bienestar emocional postcirugía	0	16,25±5,75	p < 0,05
Apoyo social precirugía	6,72±2,95	44,93±7,80	p < 0,001
Apoyo social postcirugía	0	11,69±5,20	p < 0,05
Autoimagen precirugía	3,84±2,60	47,05±6,88	p < 0,01
Autoimagen postcirugía	0	11,02±5,81	p < 0,05
ΣEHP-30 precirugía	50,34±13,62	287,10±32,20	p < 0,001
ΣEHP-30 postcirugía	2,86±1,93	78,75±26,17	p < 0,05

Tabla 4.8. Valores del cuestionario EHP-30 central, en pacientes con o sin DIE. Se recogen las medias de puntuación de cada dominio de los que consta el el EHP-30 central antes y despues de la cirugía. Se expone también el sumatorio de todos estos valores. Los datos se expresan como media ± error estandard de la media (EEM). DM: dismenorrea; DP: dispareunia; DC: dolor crónico; DQ: disquecia; DU: disuria; DIE: deep infiltrating endometriosis.

Cuestionario EHP-30

El estudio de la asociación entre el cuestionario de calidad de vida EHP-30 y la presencia de endometriosis profunda, sólo se hace sobre los resultados recogidos en su sección central, y no sobre su sección modular donde hay dominios o grupos de preguntas que no pueden ser contestadas por todas las pacientes (p.e. las referidas a relación con los hijos, trabajo, relaciones sexuales, etc).

En el EHP-30 central completado prequirúrgicamente, se observa que para todos los dominios o dimensiones de evaluación del que consta (dolor, control e impotencia, bienestar emocional, apoyo social y autoimagen), se observan valores significativamente mayores en el grupo de pacientes con presencia de endometriosis profunda (**Tabla 4.8**).

Para el cuestionario EHP-30 relleno postquirúrgicamente, se observan también valores significativamente mayores en el grupo de recidiva, en todas las dominios del cuestionario. (**Tabla 4.8**).

Al haber tantas variables significativamente mayores en el grupo de recidiva creamos al igual que en el VAS de dolor, una variable de valoración que aglutinase todas ellas, en un sumatorio de los resultados de todos los dominios del que consta el EHP-30 central. Observamos que el sumatorio EHP-30 obtenido antes de la cirugía es significativamente mayor en las pacientes que desarrollan posteriormente recidiva.

Las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía mostraron diferencias altamente significativas entre los grupos de EIP vs no EIP. Estas variables además pueden ser calculadas en todas las pacientes y al ser obtenidas antes de la cirugía podrían ser un adecuado marcador clínico (no invasivo) predictor de Endometriosis profunda. Se calcula para estas variables las curvas ROC para intentar determinar el punto de corte más adecuado que discrimine entre ausencia y presencia de endometriosis profunda.

Para la variable Σ VAS precirugía el mejor valor como punto de corte es 90. Este valor presenta una sensibilidad del 61,5% y especificidad del 82,4% en la detección de lesiones profundas. El área bajo la curva es 0,79

Para la variable Σ EHP30 precirugía el mejor valor como punto de corte es 120. Este valor presenta una sensibilidad del 82,5% y especificidad del 92,3% en la detección de endometriosis profunda. El área bajo la curva es 0,91 (**Figura 4.3**).

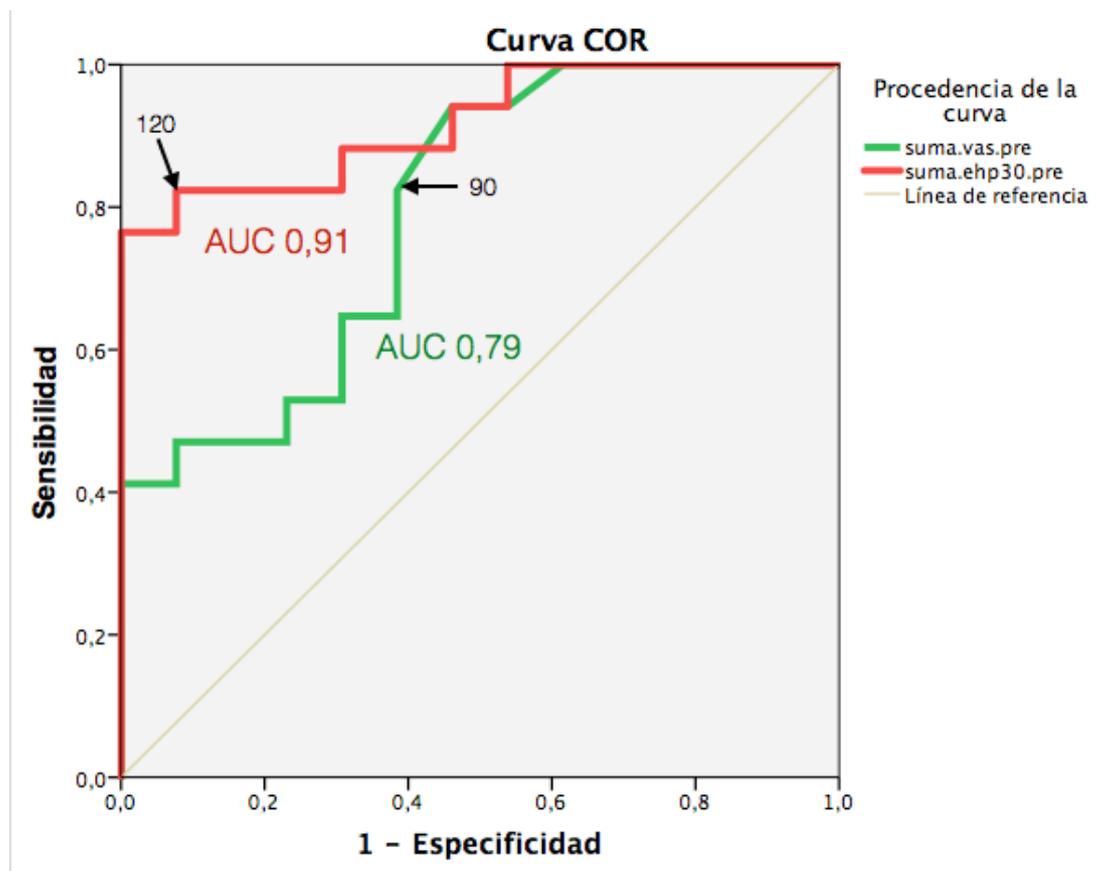


Figura 4.3. Curvas ROC para las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía respecto DIE vs no DIE. Se observa el mejor punto de corte para cada variable (flechas), así como el área bajo la curva (AUC) para cada variable de medida.

B. Biomarcadores clásicos

CA-125 y CA-19.9

No se observan diferencias significativas en ninguno de los dos biomarcadores, antes o después de la cirugía, respecto a la presencia de endometriosis profunda.

En el grupo de pacientes con endometriosis profunda los valores prequirúrgicos de CA-125 fueron menores que en grupo de pacientes sin endometriosis profunda, aunque no de forma significativa. (Tabla 4.9).

	n (no/DIE)	No DIE	DIE	Significación estadística
CA 125 precirugía	10/14	170,93±142,71	69,17±12,17	NS
CA 125 postcirugía	10/14	11,69±1,93	21,82±5,54	NS
CA 19.9 precirugía	13/17	19,70±9,61	16,76±3,33	NS
CA 19.9 postcirugía	13/17	7,15±1,76	6,58±1,63	NS

Tabla 4.9. Valores en Suero de biomarcadores clásicos, en pacientes con o sin endometriosis profunda. Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media.

C. Nuevos biomarcadores

Se analizaron los mismos angiomicroRNAs comentados previamente en función de la presencia de EIP. obtenidos de las muestras de endometrio eutópico.

No se detectaron diferencias significativas en el perfil de expresión de dichos microRNAs en endometrio eutópico entre las pacientes con/sin endometriosis profunda (Tabla 4.10)

	No DIE (n = 8)	DIE (n = 10)	Significación estadística
miR-29c-3p	1,01±0,17	2,77±1,17	NS
miR-138-5p	0,67±0,10	0,99±0,42	NS
mirR-202-3p	0,57±0,14	2,65±1,80	NS
miR-411-3p	0,84±0,10	1,37±0,28	NS
miR-411-5p	1,21±0,27	1,85±0,51	NS
miR-424-5p	1,81±0,43	1,80±0,39	NS
miR-449-3p	1,07±0,32	0,97±0,30	NS

Tabla 4.10. Valores en Endometrio Eutópico de miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin DIE. Los valores de miRNAs se expresan como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). Los datos se expresan como media ± error estándar

2. ESTUDIO PROSPECTIVO. DIAGNÓSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN.

2.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACION A ESTUDIO

Se estudiaron mediante técnicas de imagen un total de 70 pacientes con sospecha de endometriosis, en las que se realizaron: 70 ecografías, 50 resonancias (en 19 de éstas con alta sospecha de endometriosis profunda del compartimento posterior por la clínica, exploración y/o ecografía se empleó opacificación vagino rectal con gel).

Las características de las lesiones de dichas pacientes, confirmadas con los posteriores hallazgos quirúrgicos y su confirmación anatomopatológica, son las siguientes: lesiones endometriósicas en 60 pacientes y se descartó lesión endometriósica en 10 (4 quistes hemorrágicos, 3 quistes dermoides, 2 cistoadenomas serosos, y 1 quiste de paraovario). En las 60 pacientes con endometriosis se

encuentran 18 (30%) con endometriosis peritoneal superficial, 32 (53,3%) con endometriomas y 29 (48,3%) con lesiones profundas. Todos estos casos suman más de 60, ya que son frecuentes la asociación de diferentes tipos de lesiones endometriósicas en una misma paciente. Cabe destacar que aproximadamente un tercio de los endometriomas tienen asociada la presencia de DIE y de forma contraria, otro tercio de lesiones profundas coexisten con la presencia de quistes endometriósicos (**Figura 4.4**).

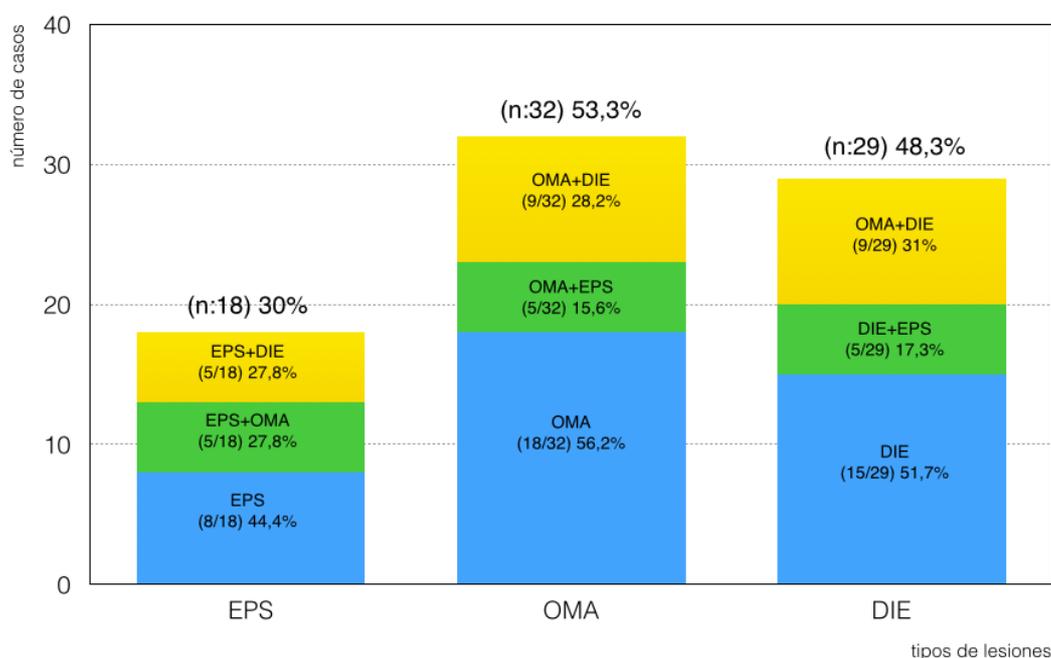


Figura 4.4. Tipos de lesiones endometriósicas presentes analizadas por imagen. Las barras verticales representan el número de casos de los diferentes tipos de lesiones endometriósicas presentes. Cada barra vertical se subdivide en barras horizontales que representan, para cada tipo de lesión endometriósica, el número-porcentaje de lesiones de un solo tipo o combinadas en una misma paciente. EPS: endometriosis peritoneal superficial; OMA: endometrioma; DIE: deep infiltrating endometriosis (endometriosis infiltrativa profunda).

Se observa que dentro de todos los casos de endometriosis estudiada, un 53,3% de casos tienen endometriosis ovárica y que existe una alta prevalencia de endometriosis profunda (48,3%).

En los 29 casos de endometriosis profunda hay un total de 64 lesiones en diferentes localizaciones, ya que a menudo una misma paciente presenta lesiones en diferentes localizaciones: 4 vesicales, 11 retrocervicales, 18 rectales, 9 TRV, 7 vaginales, 8 LUS, 4 parametriales, 2 colon y apéndice y una en canal inguinal. Se

objetiva la presencia de un mayor número de lesiones profundas a nivel del compartimento posterior (**Figura 4.5**)

- | | | |
|-----------------|----------------------|--------------------|
| ● 1.Vejiga | ● 2.Retrocervical | ● 3.Rectosigma |
| ● 4.TRV | ● 5.Vagina | ● 6.LUS |
| ● 7.Parametrial | ● 8.Colon y Apéndice | ● 9.Canal inguinal |

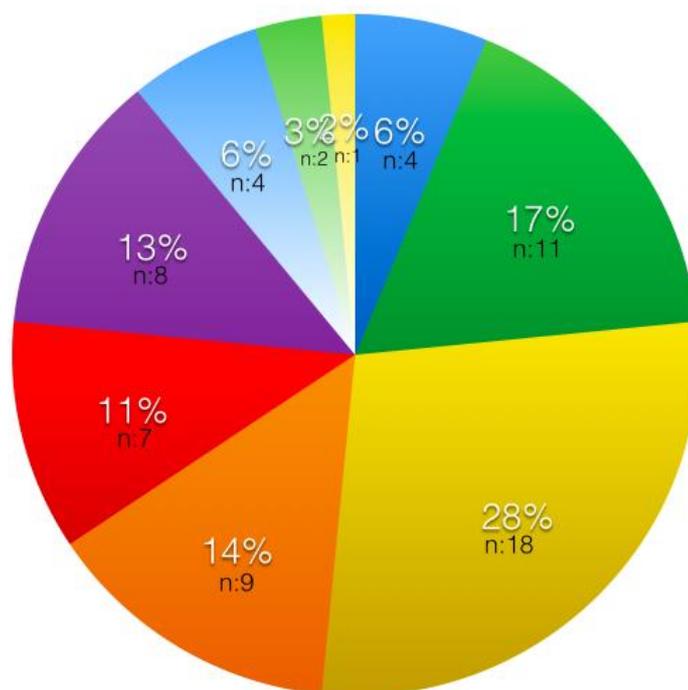


Figura 4.5. Localización de las lesiones endometriósicas profundas analizadas por imagen. Se observa que las lesiones profundas se localizan sobre todo a nivel del compartimento posterior: rectosigma, retrocérnix, tabique recto vaginal (TRV) y ligamentos uterosacros (LUS) son las localizaciones más frecuentes.

2.2. PRECISION DIAGNÓSTICA EN ENDOMETRIOSIS OVÁRICA MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN

Se observa que tanto la ecografía transvaginal (ETV), como la resonancia nuclear magnética (RNM) presentan un alta sensibilidad y especificidad diagnóstica para el diagnóstico de endometrioma (S 93,7%, E 94,7%; y S 91,3%, E 92,5% respectivamente). Ambas técnicas presentan un alto porcentaje de pacientes correctamente diagnosticadas (detección correcta tanto de la presencia como la ausencia de endometriosis ovárica), del 94,9% con la ETV y del 92% con la RNM (**Tabla 4.11**).

	Sensibilidad % (IC 95%) (n)	Especificidad % (IC 95%) (n)	VPP % (IC 95%) (n)	VPN % (IC 95%) (n)	LR+ valor (IC95%)	LR- valor (IC95%)	Precisión % (n)
Endometrioma							
Eco TV	93,7 (77,7-98,9) (30/32)	94,7 (80,9-99,1) (36/38)	93,7 (77,7-98,9) (30/32)	94,7 (80,9-99,1) (36/38)	17,81 (4,6-68,8)	0,07 (0,02-0,25)	94,2 (66/70)
RNM	91,6 (71,5-98,5) (22/24)	92,3 (73,4-98,6) (24/26)	91,6 (71,5-98,5) (22/24)	92,3 (73,4-98,6) (24/26)	11,92 (3,1-45,3)	0,09 (0,02-0,34)	92 (46/50)

Tabla 4.11. Valores diagnósticos de las diferentes técnicas analizadas en la detección de quistes endometriósicos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa; TRV: tabique recto vaginal; LUSs: ligamentos uterosacros

El número de falsos positivos y negativos fueron 4 en ambas técnicas. Los falsos negativos ecográficos fueron 2 endometriomas catalogados como quistes hemorrágicos y los falsos positivos un hematosalpinx muy dilatado y redondeado y un caso de teratoma maduro con patrón ecográfico atípico, catalogados como endometriomas. Los falsos negativos en RNM fueron 2 endometriomas catalogados como quistes hemorrágicos y los falsos positivos con 2 hematosalpinx catalogados como endometriomas.

Otros datos recogidos respecto a las características de los endometriomas fueron:

Por ecografía: ausencia de "acoustic streaming" en 96,8% (31/32) (**Vídeo 1**), presencia calcificaciones en pared en 62,5% (20/32).

Por RNM: presencia de "shading sign" en 100% (32/32) y presencia de "dark spot sign" en 62,5% (20/32).

2.3. PRECISION DIAGNÓSTICA EN ENDOMETRIOSIS PROFUNDA MEDIANTE TÉCNICAS DE IMAGEN

En las tres pruebas, la capacidad para detectar la **presencia u ausencia** de lesiones profundas fueron casi perfectas, mientras la capacidad para detectar **ciertas localizaciones** de las lesiones disminuye, aun así con buenos resultados.

Los valores de precisión diagnóstica para predecir la presencia/ausencia de DIE en cada una de las pruebas fue: con ecografía precisión (P) 97,1%, sensibilidad (S) 93,1%, especificidad (E) 100%, valor predictivo positivo (VPP) 100% y valor

predictivo negativo (VPN) 93,5%; con RNM P 96%, S 90%, E 100%; VPP 100%, VPN 93,7%; y para la RNM con gel P 98%, S 94,7%, E 100%, VPP 100% y VPN 96,7% (**Tabla 4.12**).

	Precisión % (n)	Sensibilidad % (IC 95%) (n)	Especificidad % (IC 95%) (n)	VPP % (IC 95%) (n)	VPN % (IC 95%) (n)	LR+ valor (IC95%)	LR- valor (IC95%)
Presencia/ausencia DIE							
Eco TV	97,1 (68/70)	93,1 (75,7-98,8) (27/29)	100 (89,3-99,7) (41/41)	100 (84,5-99,6) (27/27))	95,3 (82,9-99,1) (41/43)	NuN+	0,07 (0,02-0,36)
RNM	96 (48/50)	90 (85,1-99,3) (18/20)	100 (85,8-99,7) (30/30)	100 (78,1-99,4) (18/18)	93,7 (77,7-98,9) (30/32)	NuN+	0,10 (0,03-0,37)
RNM GEL	98 (49/50)	94,7 (71,8-99,7) (19/20)	100 (85,8-99,7) (30/30)	100 (79,1-99,5) (19/19)	96,7 (81,4-99,8) (30/31)	NuN+	0,05 (0,01-0,34)

Tabla 4.12. Valores diagnósticos de las diferentes técnicas analizadas en la detección de presencia de DIE (Deep infiltrating endometriosis). NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

Dichos buenos resultados son debidos al bajo número de falsos negativos para la detección de presencia de DIE (casos en que la imagen no detectó ningún tipo de lesión profunda) y la ausencia de falsos positivos (no presencia de lesiones profundas en cirugía tras hallazgo por imagen). Existieron 2 casos de falsos negativos con la ETV y la RNM; y sólo 1 caso con la RNM con gel. Por otro lado, hubo más casos en los que a pesar de encontrar existencia de lesiones profundas, no se detectaron o se precisó la localización exacta de algunas de éstas. En la **Tabla 4.13** se describen para las diferentes pruebas, los casos que contribuyeron a los falsos negativos para la detección/ausencia de DIE y los falsos negativos y positivos para la detección de la localización de las lesiones

	Chapron Cirugía	Chapron Ecografía	Falsos negativos y positivos detectados	Chapron RNM	Falsos negativos y positivos detectados	Chapron RNM gel	Falsos negativos y positivos detectados
Caso 1	A0/PIV-/L1	A0/P0/L0*	FN: retrocervix, LUS FP: no	A0/P1/L1	FN: no FP: no	A0/P1/L1	FN: no FP: no
Caso 2	A0/P2V-/L1L2U-	A0/P0/L0*	FN: TRV, LUS, Parametrial FP: no	A0/P0/L0*	FN: TRV, LUS, Parametrial FP: no	A0/P2V-/L1	FN: Parametrial FP: no
Caso 3	A1/P2P3V+/L1L2U-	A0/P2P3V-/L0	FN: Vejiga, Vagina, LUS; parametrial FP: no	A0/P1P3V-/L0	FN: Vejiga, TRV, Vagina, LUS; parametrial FP: Retrocervical	A1/P2P3V+/L0	FN: parametrial FP: no
Caso 4	A0/PIV-/L0	A0/PIV+/L1	FN: Rectosigma, FP: Vagina, LUS	A0/P2V-/L1	FN: Retrocervical, Rectosigma, FP: TRV, LUS	A0/P1P3V-/L0	FN: no FP: Rectosigma
Caso 5	A0/P2V+/L0	A0/P2V-/L1	FN: Vagina FP: LUS	A0/P2P3V+/L1	FN: no FP: Rectosigma, LUS	A0/P2P3V+/L1	FN: no FP: Rectosigma, LUS
Caso 6	A1/P3/L1	A1/P3/L1	FN: no FP: no	A0/P0/L0*	FN: Vejiga, Rectosigma, LUS FP: no	A0/P0/L0*	FN: Vejiga, Rectosigma, LUS FP: no

Tabla 4.13. Casos que contribuyeron a los falsos positivos y negativos en la detección de DIE de las tres técnicas de imagen. Se exponen los resultados, según una Clasificación tipo Chapron por imagen respecto a los hallazgos de la Clasificación Chapron de endometriosis profunda obtenida en la cirugía. (*) casos en los que no se detectó ningún tipo de lesión profunda. Las columnas sombreadas exponen los falsos positivos y negativos detectados para cada localización en cada una de las técnicas.

	Sensibilidad % (IC 95%) (n)	Especificidad % (IC 95%) (n)	VPP % (IC 95%) (n)	VPN % (IC 95%) (n)	LR+ (IC 95%)	LR- (IC 95%)	Precisión % (n)
Vejiga							
Eco TV	75 (21,9-98,6) (3/4)	100 (93,1-99,8) (66/66)	100 (93,1-99,8) (3/3)	98,5 (90,8-99,2) (66/67)	NuN+	0,25 (0,05-1,36)	98,5 (69/70)
RNM	50 (9,1-90,8) (2/4)	100 (90,4-99,8) (27/27)	100 (90,4-99,8) (2/2)	93,1 (75,7-98,8) (27/29)	NuN+	0,50 (0,19-1,33)	93,5 (29/31)
RNM gel	75 (29,8-98,9) (3/4)	100 (73,2-99,3) (15/15)	100 (39,5-97,6) (3/4)	93,7 (66-99,6) (15/16)	NuN+	0,25 (0,03-1,5)	94,7 (18/19)
Retrocervical							
Eco TV	81,8 (47,7-96,7) (9/11)	98,3 (89,7-99,9) (58/59)	90 (54,1-99,4) (9/10)	96,6 (87,5-99,4) (58/60)	48,27 (6,78-343,80)	0,18 (0,05-0,65)	95,7 (67/70)
RNM	83,3 (36,4-99,1) (5/6)	96 (76,8-99,7) (24/25)	83,3 (36,4-99,1) (5/6)	96 (76,8-99,7) (24/25)	20,83 (2,95-146,94)	0,17 (0,03-1,04)	93,5 (29/31)
RNM gel	80 (29,8-98,9) (4/5)	100 (73,2-99,3) (14/14)	100 (39,5-97,6) (4/4)	93,3 (66,1-99,6) (14/15)	NuN+	0,20 (0,03-1,15)	94,7 (18/19)
Recto-sigma							
Eco TV	94,4 (70,6-99,7) (17/18)	100 (91,4-99,8) (52/52)	100 (77-99,4) (17/17)	98,1 (88,6-99,9) (52/53)	NuN+	0,06 (0,01-0,37)	98,5 (69/70)
RNM	83,3 (50,8-97,1) (10/12)	94,7 (71,8-99,7) (18/19)	90,9 (57,2-99,5) (10/11)	90 (66,8-98,2) (18/20)	15,83 (2,31-108,48)	0,18 (0,05-0,63)	90,3 (28/31)
RNM gel	87,5 (46,6-99,3) (7/8)	90,9 (57,1-99,5) (10/11)	87,5 (46,6-99,3) (7/8)	90,9 (57,1-99,5) (10/11)	9,63 (1,46-63,52)	0,02 (0,02-0,87)	89,4 (17/19)
TRV							
Eco TV*	88,8 (50,6-99,4) (8/9)	100 (92,6-99,8) (61/61)	100 (92,6-99,8) (8/8)	98,3 (90,1-99,9) (61/62)	NuN+	0,11 (0,02-0,71)	98,5 (69/70)
RNM	60 (17,1-92,7) (3/5)	96,1 (78,4-99,8) (25/26)	75 (21,9-98,6) (3/4)	92,5 (74,2-98,7) (25/27)	15,60 (2,01-121,2)	0,42 (0,14-1,22)	90,3 (28/31)
RNM gel	100 (39,5-97,6) (4/4)	100 (74,6-99,3) (15/15)	100 (39,5-97,6) (4/4)	100 (74,6-99,3) (15/15)	NuN+	NuN-	100 (19/19)
Vagina							
Eco TV	71,4 (30,2-94,8) (5/7)	98,4 (90,3-99,9) (62/63)	83,3 (36,4-99,1) (5/6)	96,8 (88,1-99,4) (62/64)	45,00 (6,09-332,52)	0,29 (0,09-0,94)	95,7 (67/70)
RNM	75 (21,9-98,6) (3/4)	100 (84,5-99,6) (27/27)	100 (31-96,8) (3/3)	96,4 (79,7-99,8) (27/28)	NuN+	0,25 (0,05-1,36)	96,7 (30/31)
RNM gel	100 (31-96,8) (3/3)	100 (75,9-99,4) (16/16)	100 (31-96,8) (3/3)	100 (75,9-99,4) (16/16)	NuN+	NuN-	100 (19/19)
LUSs							
Eco TV	62,5 (25,8-89,7) (3/5)	96,7 (87,8-99,4) (60/62)	71,4 (30,2-94,8) (5/7)	95,2 (85,8-98,7) (60/63)	19,38 (4,4-83,8)	0,39 (0,16-0,95)	92,8 (65/70)
RNM	62,5 (25,8-89,7) (5/8)	91,3 (70,4-98,4) (21/23)	71,4 (30,2-94,8) (5/7)	87,5 (66,5-96,7) (21/23)	7,19 (1,72-30,0)	0,41 (0,17-1,01)	83,8 (26/31)
RNM gel	71,4 (30,2-94,8) (5/7)	91,6 (59,7-99,5) (11/12)	83,3 (36,4-99,1) (5/6)	84,6 (53,6-97,2) (11/13)	8,57 (1,24-59,3)	0,31 (0,10-1,02)	84,2 (16/19)
Parametrial							
Eco TV	50 (9,1-90,8) (2/4)	100 (93,1-99,8) (66/66)	100 (19,7-95,1) (2/2)	97 (88,8-99,4) (66/68)	NuN+	0,50 (0,19-1,33)	97,1 (68/70)
RNM	50 (9,1-90,8) (2/4)	100 (84,5-99,6) (27/27)	100 (19,7-95,1) (2/2)	93,1 (75,7-98,8) (27/29)	NuN+	0,50 (0,19-1,33)	93,5 (29/31)
RNM gel	50 (9,1-90,8) (2/4)	100 (74,6-99,3) (15/15)	100 (19,7-95,1) (2/2)	88,2 (62,2-97,9) (15/17)	NuN+	0,50 (0,19-1,33)	89,7 (17/19)

Tabla 4.14. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas por las diferentes regiones u órganos afectados por endometriosis profunda. NuN (No Un Número) representa un valor indefinido y significa que el valor no puede ser calculado por tener cero en el divisor de la fórmula LR: NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa; TRV: tabique recto vaginal; LUSs: ligamentos uterosacros. (*) En esta localización la ETV es complementada con ecografía transperineal 3D.

Rendimiento del test en función del valor LR+: débil (0,2-5); moderado (5-10); fuerte (>10 ó NA+ por ausencia de falsos positivos).
 Rendimiento del test en función del valor LR-: débil (<0,1 ó NA- por ausencia de falsos negativos).

A continuación se describen los valores de rendimiento diagnóstico de las distintas pruebas para las diferentes localizaciones de endometriosis profunda pélvica. El total de estos resultados se exponen detalladamente en la **Tabla 4.14**.

Vejiga

Las tres pruebas demuestran una elevada capacidad para confirmar preoperatoriamente lesiones con cifras de Especificidad y VPP del 100%, así como una Likelihood ratio positiva (LR+) máxima, aunque no calculable por ausencia de falsos positivos (NuN+). Por contra el número de falsos negativos o casos no detectados fue mayor, con cifras de Sensibilidad y likelihood ratio negativas (LR-) moderadas: 75%, 0,25 con ecografía; 50%, 0,50 con RNM; y 75%, 0,25 con RNM con gel. (**Tabla 4.15**).

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
Vejiga							
Eco TV	75	100	100	98,5	NuN+	0,25	98,5
RNM	50	100	100	93,1	NuN+	0,50	93,5
RNM gel	75	100	100	93,7	NuN+	0,25	94,7

Tabla 4.15. Rendimiento diagnóstico de las diferentes técnicas analizadas para endometriosis profunda vesical. . NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

Todas las lesiones vesicales fueron a nivel de la cúpula y línea media, no habiendo lesiones a nivel de la base o retrotrigonales. La morfología de las lesiones eran nodulares bien definidas o engrosamientos difusos. Todas las lesiones nodulares fueron identificadas por ecografía (**Video 3**). Sólo un caso de engrosamiento difuso fue detectado por ecografía, siendo esta la causa de los falsos negativos (**Figura 4.6**).

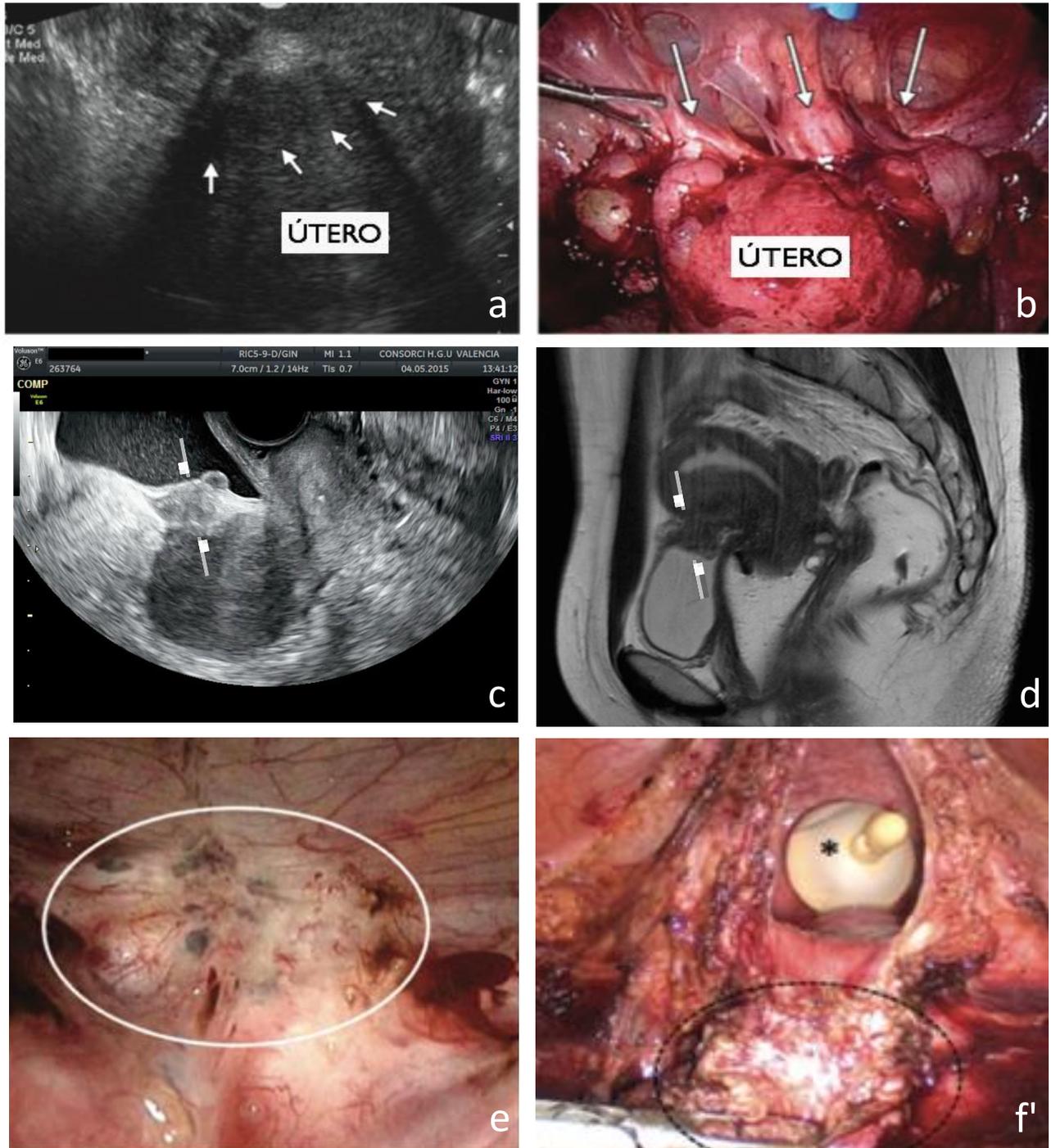


Figura 4.6. Imágenes de lesiones profundas a nivel vesical. (a y b) imagen ecográfica y laparoscópica de la misma paciente. Por ecografía (a) zona hipoecoica difusa en cara anterior uterina que se corresponde en laparoscopia (b) con implantes y adherencias difusas en compartimento anterior. (c, d, e y f) Imagen por ecografía, RNM con gel y laparoscópica de un nódulo endometriósico vesical bien delimitado. Las flechas y líneas ovales definen la misma lesión. (*): Sonda de Foley.

En términos de precisión o exactitud diagnóstica, es decir, el porcentaje de pacientes correctamente diagnosticados (proporción de verdaderos positivos más verdaderos negativos del total), las tres pruebas presentaban unos valores elevados: ETV 98,5%, RNM 93,5% y RNM gel 94,7%.

Retrocervix (fondo de saco de Douglas)

Tanto la ETV como la RNM, presentan una alta especificidad (98,3%; 96%) y LR+ (48,27; 20,83). Ambas presentan también una sensibilidad moderada (81,8%; 83,3%).

Aunque fueron sólo dos casos de endometriosis profunda retrocervical analizados mediante RNM con gel, esta técnica consigue un rendimiento diagnóstico perfecto: sensibilidad y especificidad del 100%, y una LR+ y LR- máximas por ausencia de falsos positivos y negativos (**Tabla 4.16**).

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+ %	LR- %	Precisión %
Retrocervical							
Eco TV	81,8	98,3	90	96,6	48,27	0,18	95,7
RNM	83,3	96	83,3	96	20,83	0,17	93,5
RNM gel	100	100	100	100	NuN+	NuN-	100

Tabla 4.16. Rendimiento diagnóstico para endometriosis profunda a nivel retrocervical. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

Los tipos de lesiones detectadas fueron nódulos endometriósicos a nivel del torus uterino (zona posterior cervical situada entre los ligamentos uterosacros), nódulos rectales localizados a nivel retrocervical o engrosamientos difusos sobre dicha zona que suponían un espacio retrocervical ocluido por implantes endometriósicos (**Figura 4.7**) (**Vídeo 4**).

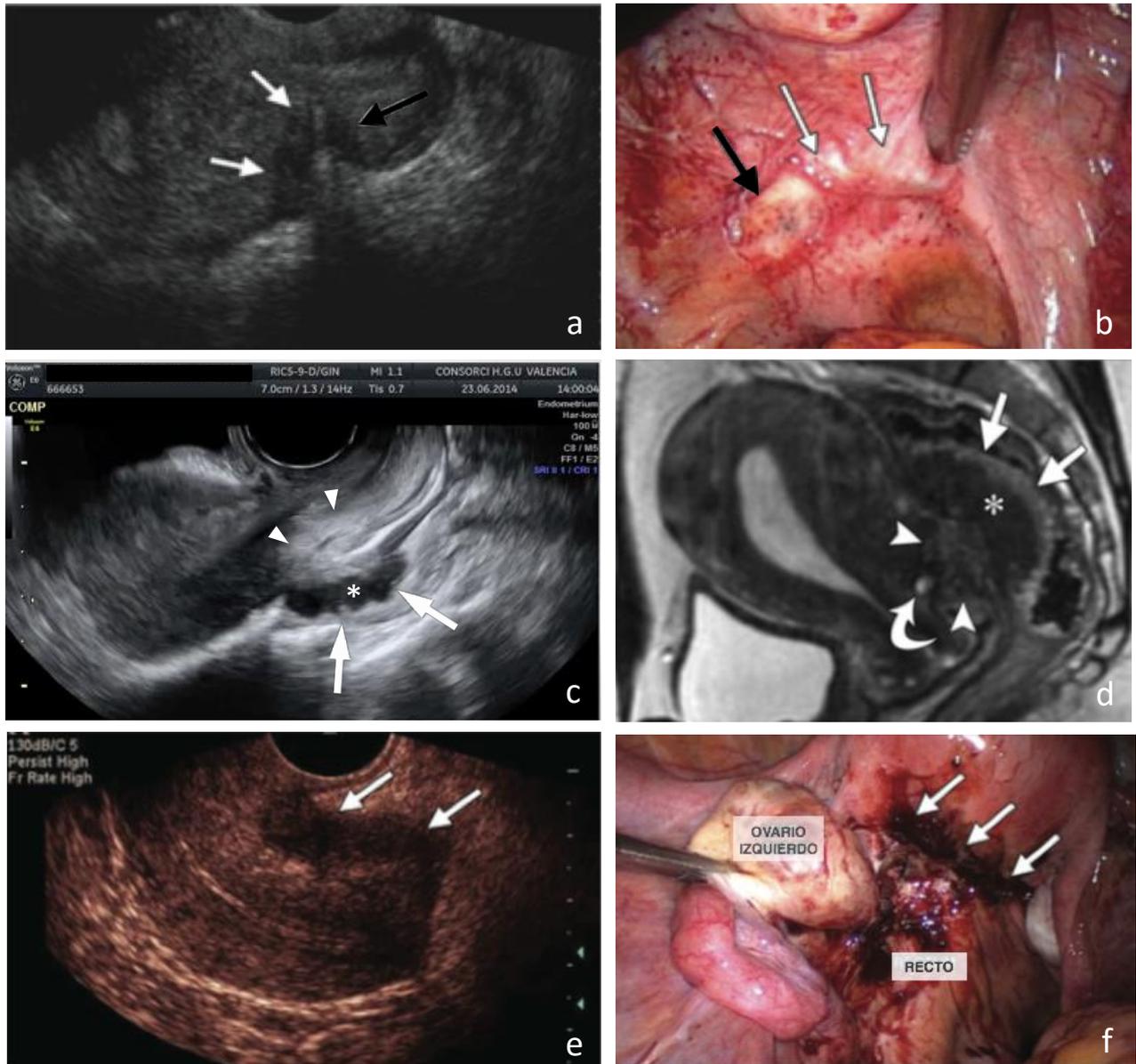


Figura 4.7. Imágenes de lesiones profundas a nivel retrocervical. (a) y (b) Ecografía y Laparoscopia donde se objetiva nódulo a nivel del torus uterino (flechas blancas) y en LUS izquierdo (flecha negra). (c) y (d) Ecografía y RNM donde se objetiva nódulo rectal firmemente adherido a nivel retrocervical. (e) y (f) Ecografía y visión laparoscópica de engrosamiento difuso sobre la cara posterior uterina y cervical que produce la oclusión de la zona retrocervical (las flechas señalan la misma estructura en las 2 imágenes).

Rectosigma

Para esta localización, la técnica con mejor rendimiento diagnóstico es la ETV, con una alta sensibilidad (94,4%) y especificidad (100%). Presenta una probabilidad máxima de enfermedad cuando el resultado es positivo, objetivado por una LR+ máxima por ausencia de falsos positivos. La RNM tienen también una alta capacidad en la detección de enfermedad, con una alta especificidad (94,7%) y LR+

(15,83), aunque por contra una moderada capacidad en excluir enfermedad, con una sensibilidad del 83,3% y LR- 0,18. La opacificación vagino rectal con gel en la RNM, no mejora en esta localización los resultados (**Tabla 4.17**).

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
Rectosigma							
Eco TV	94,4	100	100	98,1	NuN+	0,06	98,5
RNM	83,3	94,7	90,9	90	15,83	0,18	90,3
RNM gel	87,5	90,9	87,5	90,9	9,63	0,02	89,4

Tabla 4.17. Rendimiento diagnóstico para endometriosis profunda a nivel del rectosigma. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

En esta localización, además de la detección de lesiones, es importante precisar las características de éstas, de cara a una adecuada planificación quirúrgica. La decisión del tipo de tratamiento quirúrgico de las lesiones endometriósicas rectales (exéresis del nódulo vs resección intestinal) se ha visto influido por una serie de características, las cuales se han analizado:

1. Número de nódulos

Existieron 18 casos confirmados quirúrgicamente de endometriosis rectal, 15 de los cuales eran nódulos únicos y 3 nódulos dobles; 21 nódulos rectales en total. De los 18 casos se realizó exéresis del nódulo (shaving) en 13 casos y 5 precisaron resección intestinal segmentaria. Se analizaron preoperatoriamente por ETV los 18 casos de endometriosis rectal, detectando 17; mientras que por RNM se estudiaron 12 casos, detectando 10.

Tanto la ETV (14/15) como la RNM (7/7) detectan adecuadamente la presencia de un nódulo aislado, sin embargo para la detección de múltiples nódulos, es superior la ETV (3/3), respecto a la RNM (1/3) que tiende a agruparlos o no detectarlos (**Tabla 4.18 y Figura 4.8**).

2. Tamaño de los nódulos

En la cirugía se comprobó que la media de tamaño de los nódulos fue de 24,1 ± 1,2 mm (x ± EEM). Agrupándolos por tamaños, 2 eran menores de 1 cm, 14 con tamaño entre 1-3 cm y 5 fueron mayores de 3 cm.

La ETV tiene en general, un mayor porcentaje de detección correcta del tamaño de los nódulos que la RNM (95,4% vs 81,8%). La RNM detecta muy mal los nódulos pequeños (100% vs 0%). Los nódulos entre 1-3 cm son detectados mejor por ETV (92,3% vs 60%). Ambas técnicas son igual de efectivas para detectar nódulos mayores de 3 cm, detectando todos los casos (100% vs 100%), siendo estos, uno de los datos preoperatorios más importantes de cara a la planificación quirúrgica (**Tabla 4.18 y Figura 4.8**).

Las siguientes características de imagen se registraron en todos los casos, si bien sólo se analizaron en los casos de resección intestinal, donde se pudo comprobar dichos hallazgos en la pieza quirúrgica, a pesar de ser éstos un pequeño número.

3. Infiltración en profundidad

La ETV es superior a la RNM en la detección de la infiltración del nódulo en profundidad sobre la pared rectal (100% vs 60%), discriminando adecuadamente si el nódulo está limitado a la muscularis propia o infiltra la submucosa de la pared intestinal (**Tabla 4.18 y Figura 4.8**).

4. Infiltración en superficie

Ambas técnicas detectan de forma precisa si el nódulo endometriósico afecta más del 50% del perímetro rectal (100% vs 100%). En las piezas quirúrgicas no hubo ningún caso en el que el nódulo infiltrara menos del 50% de la superficie rectal, y cabe destacar que el resto de casos en los que no se hizo resección intestinal, sino nodulectomía, ambas técnicas confirmaron en todos los casos que la infiltración era menor del 50% del perímetro rectal (**Tabla 4.18 y Figura 4.8**).

Número de nódulos	1 nódulo	2 ó más nódulos	Total
	% (n)	% (n)	% (n)
Eco TV-PI	93,3% (14/15)	100% (3/3)	94,4%(17/18)
RNM gel	100% (7/7)	33,3% (1/3)	83,3% (7/10)

Tamaño del nódulo	< 1 cm	1 - 3 cm	> 3 cm	Total
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Eco TV-PI	100%(2/2)	92,3% (12/13)	100%(6/6)	95,4% (20/21)
RNM gel	0% (0/2)	60% (3/5)	100% (6/6)	69,2% (9/13)

Infiltración en profundidad	muscularis	submucosa	Total
	% (n)	% (n)	% (n)
Eco TV-PI	100% (2/2)	100% (3/3)	100% (5/5)
RNM gel	100% (2/2)	33,3% (1/3)	60% (3/5)

Infiltración en superficie	< 50% del perímetro intestinal	> 50% del perímetro intestinal	Total
	precisión % (n)	precisión % (n)	precisión % (n)
Eco TV-PI	- (0/0)	100% (5/5)	100% (5/5)
RNM gel	- (0/0)	100% (5/5)	100% (5/5)

Distancia al nódulo al margen anal	1 -5 cm	6 - 10 cm	> 11 cm	Total
	precisión % (n)	precisión % (n)	precisión % (n)	precisión % (n)
Eco TV-PI	100% (2/2)	100% (1/1)	50%(1/2)	80% (4/5)
RNM gel	100% (2/2)	100% (1/1)	100%(2/2)	100% (5/5)

Tabla 4.18. Precisión de la ecografía transvaginal con preparación intestinal y la resonancia con gel, para diferentes variables de interés en la planificación quirúrgica de la endometriosis rectal. Se observa una elevada precisión diagnóstica de la ecografía en las diferentes variables, si bien, el grado de infiltración y la distancia de la lesión al margen anal sólo se ha podido verificar adecuadamente en los casos de resección intestinal, siendo éstos un pequeño número de casos. ETV-PI; Ecografía transvaginal con preparación intestinal.

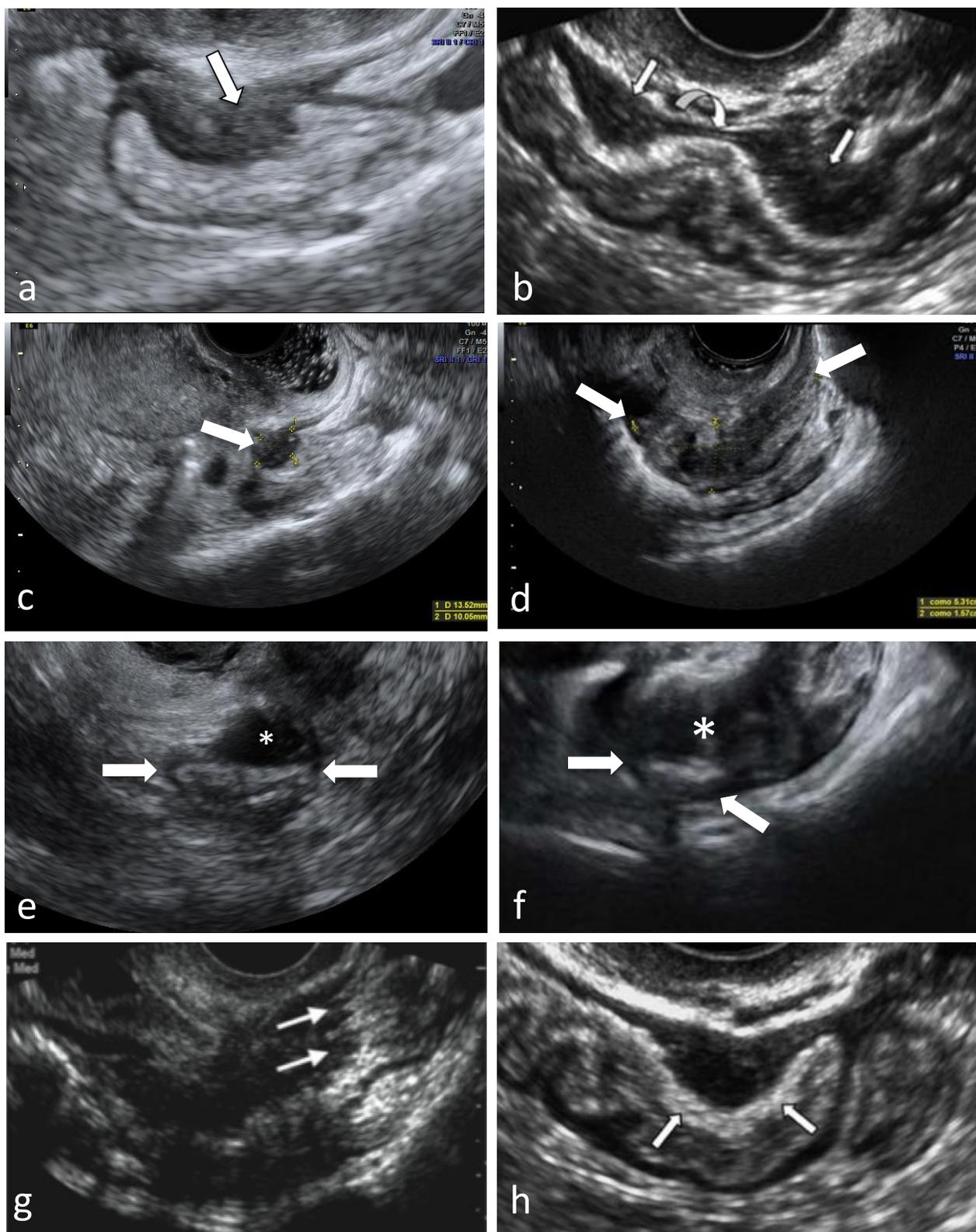


Figura 4.8. Características ecográficas analizadas en las lesiones endometriósicas profundas rectales. (a) y (b) Nódulo único vs múltiple (c) y (d) Nódulo de pequeño vs gran tamaño. (e) y (f) Infiltración en superficie por el nódulo (*) menor vs mayor del 50 % del perímetro intestinal. (g) y (h) Infiltración en profundidad desde muscularis hasta submucosa (infiltración de borde espiculado señalado con doble flecha de imagen g) vs limitada sólo a muscularis (infiltración redondeada que no penetra en submucosa, flechas de imagen h).

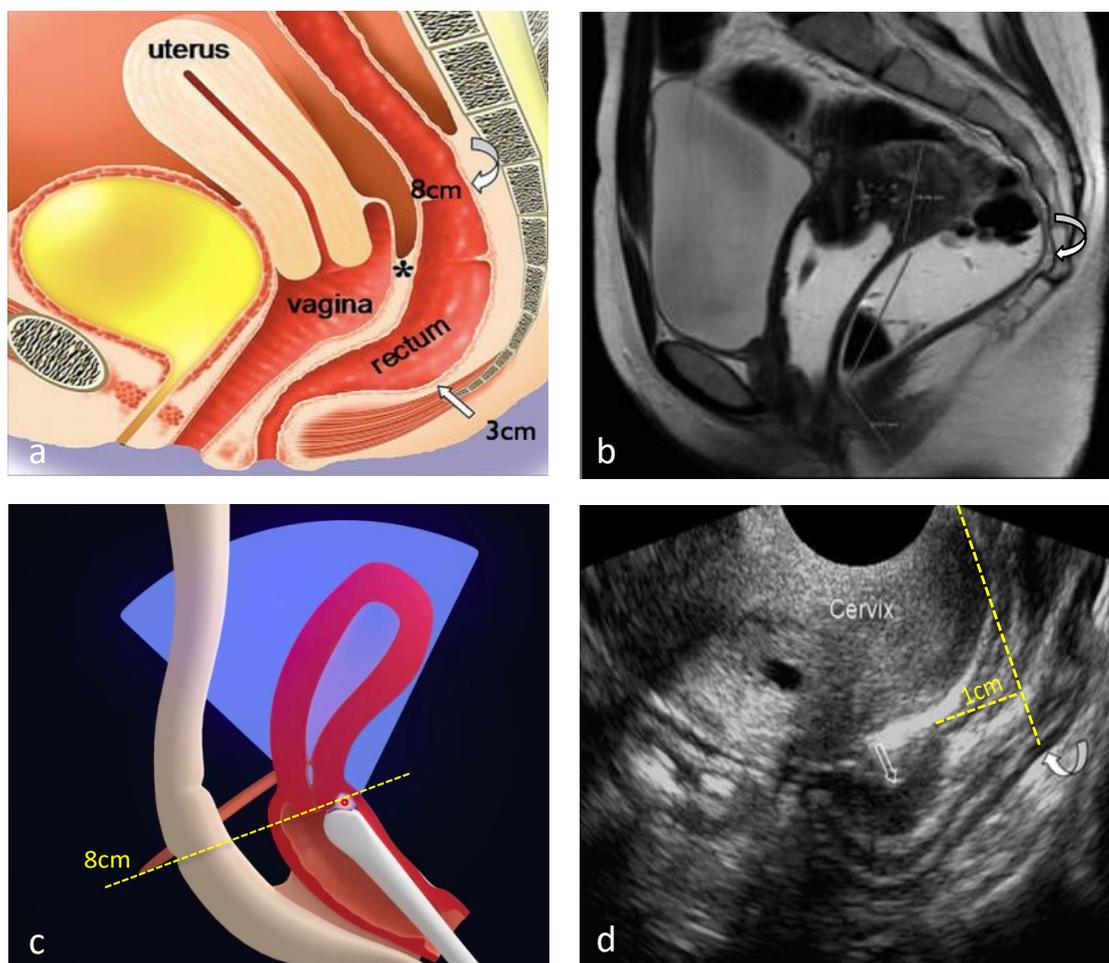


Figura 4.9. Estimación de la distancia de extremo caudal del nódulo al margen anal. (a) Por referencias anatómicas sabemos que la segunda curvatura del recto (flecha curvada) se encuentra a unos 8 cm del margen anal, la cual está también a la altura del fórnix vaginal posterior. (b) Por RNM vemos que dicha segunda curvatura está nivel del fornix vaginal posterior, si bien esta técnica permite fácilmente la medición directa sobre la imagen. (c) Mediante ecografía, al colocar habitualmente la sonda en el fórnix vaginal anterior, se desplaza el cérvix hacia atrás quedando a la altura del fórnix vaginal posterior. Trazando una línea tangencial al borde inferior del cérvix, nos cruzamos con la segunda curvatura del recto. (d) Ejemplo en una imagen ecográfica. Trazamos la línea tangencial al borde inferior del cérvix y sumamos o restamos la distancia desde dicha línea al extremo caudal del nódulo. En este caso se estima una distancia de 9 cm al margen anal.

5. Distancia del nódulo al margen anal.

La RNM es superior a la ETV en la estimación de la distancia de la extremo caudal del nódulo al margen anal (100% vs 80%), si bien, mediante ETV se hizo estimación precisa (100%) de las lesiones que estaban a una distancia inferior a 6 cm del margen anal, dato que marca la necesidad de realizar una posible ileostomía de descarga (Tabla 4.18) (Figura 4.9).

De hecho, en estas dos lesiones a menos de 6 cm del margen anal, se hizo una ileostomía de descarga. Posteriormente, en una de ellas se hizo un cierre precoz de la ileostomía a las 3 semanas sin complicaciones; y en la otra paciente que presentaba endometriosis ureteral asociada, dicho cierre se diferió a los 3 meses, tras la resolución mediante cateterización ureteral de fuga urinaria por dehiscencia de la sutura ureteral. El resto de resecciones intestinales a mas de 6 cm del margen anal no precisaron ileostomía.

Tras observar que la ETV es mejor que la RNM para precisar estos datos preoperatorios de imagen acerca de la endometriosis rectal, se buscaron que datos ecográficos eran más determinantes para predecir preoperatoriamente una posible resección intestinal. Al ser un pequeño número de casos se emplearon tests no paramétricos, para estudiar su asociación estadística (**Tabla 4.19**).

Fueron 3 los datos que resultaron con diferencias significativas en el grupo de resección intestinal:

(1). **Tamaño del nódulo endometriósico.** Todos los casos de resecciones intestinales fueron con nódulos mayores de 3 cm. En los 13 casos restantes en que no se hizo resección segmentaria, todos eran menores de 3cm, excepto uno.

(2). **Infiltración en superficie.** Aparece como uno de los datos con más fuerte asociación a posible necesidad de resección. Todos los casos de resección tenían infiltración >50% del perímetro rectal, mientras que en los casos de no resección, ninguno tenía esta infiltración > del 50%. Estos dos primeros datos suelen aparecer asociados, ya que un nódulo rectal que ha adquirido gran tamaño, habitualmente compromete gran parte de su circunferencia y se asocia a estenosis de la luz rectal. Esta valoración se realiza en un corte axial del recto, midiendo el tamaño transverso del nódulo respecto al perímetro rectal.

(3). **Infiltración en profundidad.** Aunque todos los casos de resección no presentaban infiltración profunda hasta la submucosa, se observa que en todos los casos de shaving nunca había infiltración de ésta. Parece que la infiltración sólo de la muscularis no excluye posible resección, pero la infiltración de la submucosa orienta a necesidad de resección.

La presencia de un **doble nódulo** o la **morfología** de éste, parecen tener menos peso en una posible resección, ya que no se detectan diferencias significativas en los grupos de shaving vs resección intestinal.

		Nodulectomía (Shaving) n = 13	Resección segmentaria n = 5	Significación estadística
Número	único	11	4	NS
nódulos	doble	2	1	
Tamaño nódulo	≤ 3cm	12	0	p < 0,001
	> 3cm	1	5	
Morfología nódulo	redondeado	10	2	NS
	espiculado	3	3	
Infiltración profundidad	muscularis	13	2	p < 0,05
	submucosa	0	3	
Infiltración superficie	≤ 50%	13	0	p < 0,001
	>50%	0	5	

Tabla 4.19. Asociación entre diferentes variables de imagen y la realización de resección segmentaria intestinal. Se objetivan diferencias significativas para 3 variables ecográficas en función de la agrupación a realización de resección intestinal: Tamaño del nódulo y el grado de infiltración del nódulo en profundidad y superficie de la pared rectal.

Tabique Recto Vaginal (TRV)

Tanto la ETV, como la RNM sin o con gel presentan una alta especificidad (100%, 96,1%, 100%) y LR+ (NuN+, 15,69, NuN+). Presentan ninguno o pocos falsos positivos y una alta probabilidad de haber enfermedad cuando el resultado de la prueba es positiva. Sin embargo tanto la ETV, como la RNM presentan una baja sensibilidad (66,6%, 60%) y LR- (0,34, 0,42), resultando en técnica débil para descartar ausencia de enfermedad.

En los casos de sospecha de endometriosis del TRV, la exploración ecográfica se completó con ecografía transperineal o introital 3D (ETP3D), la cual es mejor para detectar lesiones del TRV a nivel bajo. De esta forma se consigue una sensibilidad y LR- más altas (88,8%, 0,11)

La opacificación vaginorectal con gel en la RNM, aunque fueron pocos los casos analizados (4 casos), consigue detectar los falsos negativos que se escapan con la ETV-ETP3D y la RNM convencional. Así, en esta localización, la técnica más efectiva es la RNM con gel con una sensibilidad, especificidad, LR+ y LR- máximas (**Tabla 4.20**).

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
TRV							
Eco TV*	88,8	100	100	98,3	NuN+	0,11	94,2
RNM	60	96,1	75	92,5	15,60	0,42	90,3
RNM gel	100	100	100	100	NuN+	NuN-	100

Tabla 4.20. Rendimiento diagnóstico para endometriosis profunda a nivel del TRV. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa. (*) En esta localización la ETV es complementada con ecografía transperineal 3D.

Las lesiones a nivel del TRV, aparecen como lesiones hipocóicas mediante ETV o lesiones hipointensas en secuencias potenciadas en T2 mediante RNM. Merece la pena destacar, que aunque genéricamente nos referimos como lesiones en el TRV, dichas lesiones están situadas habitualmente entre el fórnix vaginal posterior y recto (8 de las 9 lesiones presentes) y menos frecuentemente en el TRV anatómico propiamente dicho (1 de las 9 lesiones presentes) (**Figura 4.10**).

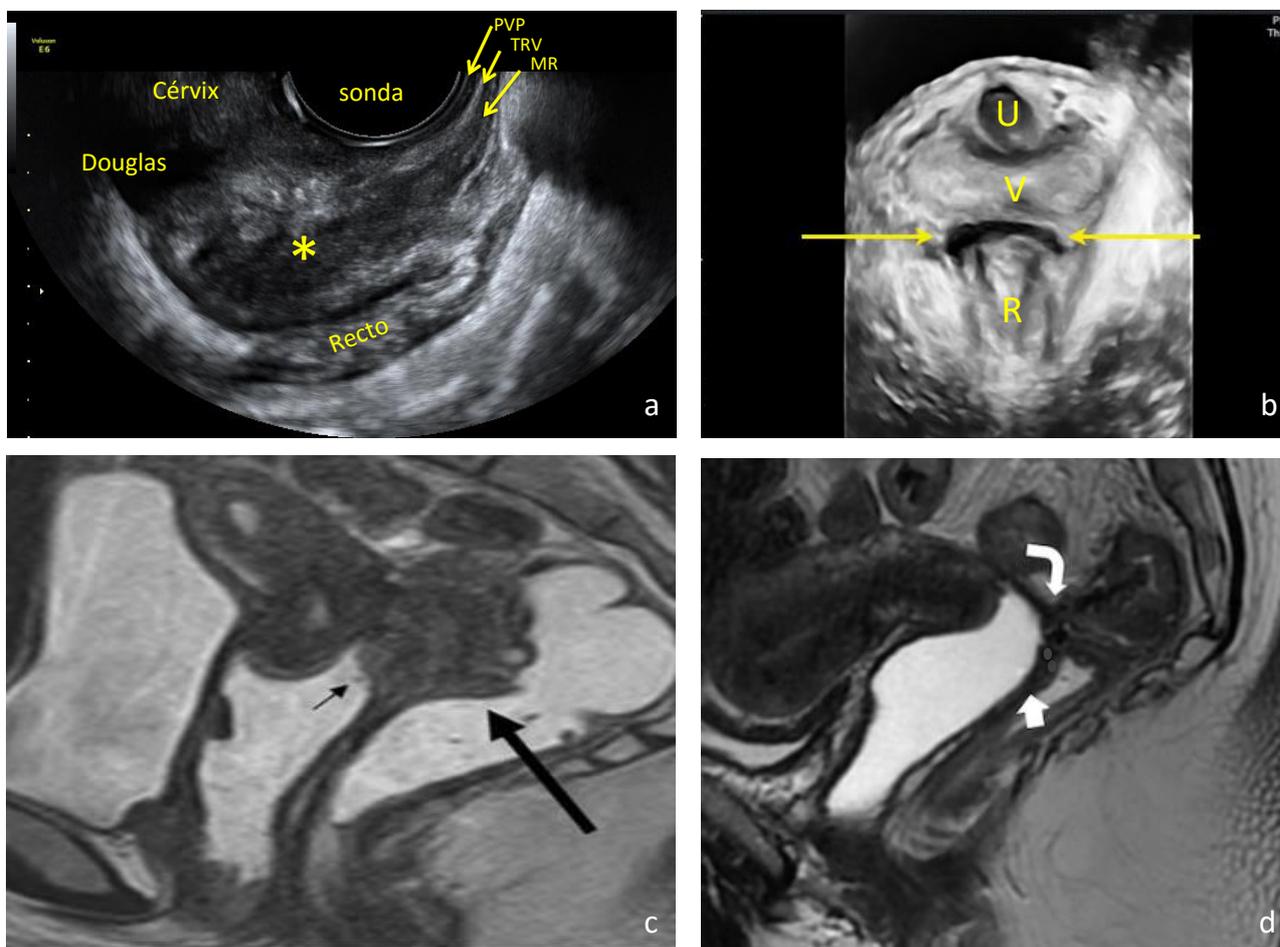


Figura 4.10. Imágenes de lesiones profundas a nivel Rectovaginal. (a) Ecografía donde se objetiva gran nódulo endometriósico(*) a nivel del TRV. PVP: pared vaginal posterior; TRV: tabique recto vaginal; MR: muscularis rectal. y (b) Ecografía transperineal 3D visualizando nódulo del TRV (flechas) en un nivel bajo. U: uretra; V: vagina; R: recto. (c) RNM imagen ponderada en T1 que objetiva gran nódulo (flechas) en un nivel alto del TRV. (d) Imagen de RNM ponderada en T2, donde se objetiva pequeño nódulo endometriósico (flechas) en un nivel bajo del TRV.

Vagina (Fórnix vaginal posterior)

En esta localización La ETV y la RNM presentan una alta capacidad diagnóstica confirmatoria muy alta: especificidad (98,4%, 100%) y LR+ (45,00, NUN+). Sin embargo, se escapan casos sin diagnosticar objetivando una baja sensibilidad (71,4%, 75%) y LR-.

La RNM con gel mejora esas cifras de baja sensibilidad, consiguiendo rescatar los falsos negativos de las otras dos pruebas y aparece como la mejor técnica a este nivel con unas cifras de rendimiento diagnóstico máximo (**Tabla 4.21**).

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
Vagina							
Eco TV	71,4	98,4	83,3	96,8	45,00	0,29	95,7
RNM	75	100	100	96,4	NuN+	0,25	96,7
RNM gel	100	100	100	100	NuN+	NuN-	100

Tabla 4.21. Rendimiento diagnóstico para endometriosis profunda a nivel del fórnix vaginal posterior. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

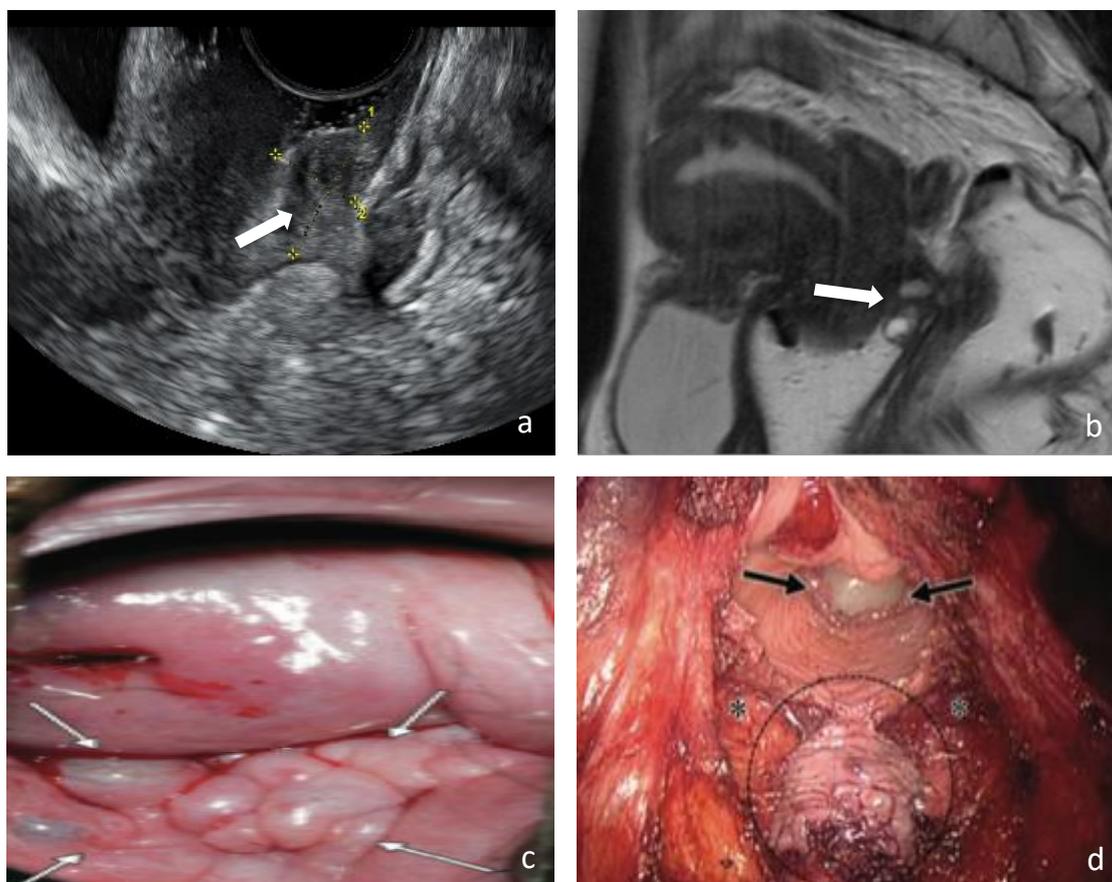


Figura 4.11. Imágenes de lesiones profundas a nivel del Fórnix vaginal posterior. (a) Ecografía donde se observa nódulo en fórnix vaginal posterior (flecha blanca). Detrás aparece un pequeño nódulo rectal. (b) Visión por RNM con gel que delimita claramente las mismas lesiones (flecha). (c) Visión mediante especuloscopia de dicha lesión. (d) Visión laparoscópica de la resección del nódulo vaginal y rectal posterior (círculo). Se visualiza la disección pararrectal bilateral hasta individualización del doble nódulo (*) y extremo distal de la vagina (flechas).

Es necesario recalcar que todos los casos de endometriosis vaginal no diagnosticados mediante ETV o RNM, sí fueron detectados mediante exploración física (por exploración digital y/o exploración con espéculo) (**Figura 4.11**).

La visualización ecográfica de los nódulos vaginales puede aumentarse mediante la realización de sonovaginografía con gel. Consiste en realizar una ETV similar, pero tras colocar 50 ml de gel intravaginal (de forma similar a RNM con gel), de forma que amplía ventana acústica facilitando dicha detección. Esta técnica que hemos incorporado recientemente, no está reflejada en el presente estudio (**Vídeo 5**).

Ligamentos uterosacros (LUS)

En esta localización las tres técnicas presentan altas cifras de especificidad (96,7%, 91,3%, 91,6%) y LR+ (19,38, 7,19, 8,57), aunque todas también presentan bajas cifras de sensibilidad (62,5%, 62,5%, 71,4%) y LR- (0,39, 0,41, 0,41). Presenta alta capacidad confirmatoria de lesiones, pero se escapan bastantes casos al diagnóstico (**Tabla 4.22**) (**Figura 4.12**)

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
LUS							
Eco TV	62,5	96,7	71,4	95,2	19,38	0,39	92,8
RNM	62,5	91,3	71,4	87,5	7,19	0,41	83,8
RNM gel	71,4	91,6	83,3	84,6	8,57	0,31	84,2

Tabla 4.22. Rendimiento diagnóstico para endometriosis profunda a nivel de los LUS. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

Parametrial (ureteral)

Las tres pruebas presentan para esta localización una especificidad máxima (100% en todas) y una LR+ también máxima por ausencia de falsos positivos. Al igual que en la localización anterior las tres técnicas ofrecen una baja sensibilidad (50% en todas) y una baja LR- (0,50 en todas), lo cual indica que la mitad de casos se escapan al diagnóstico y sólo se detectarán intraoperatoriamente.

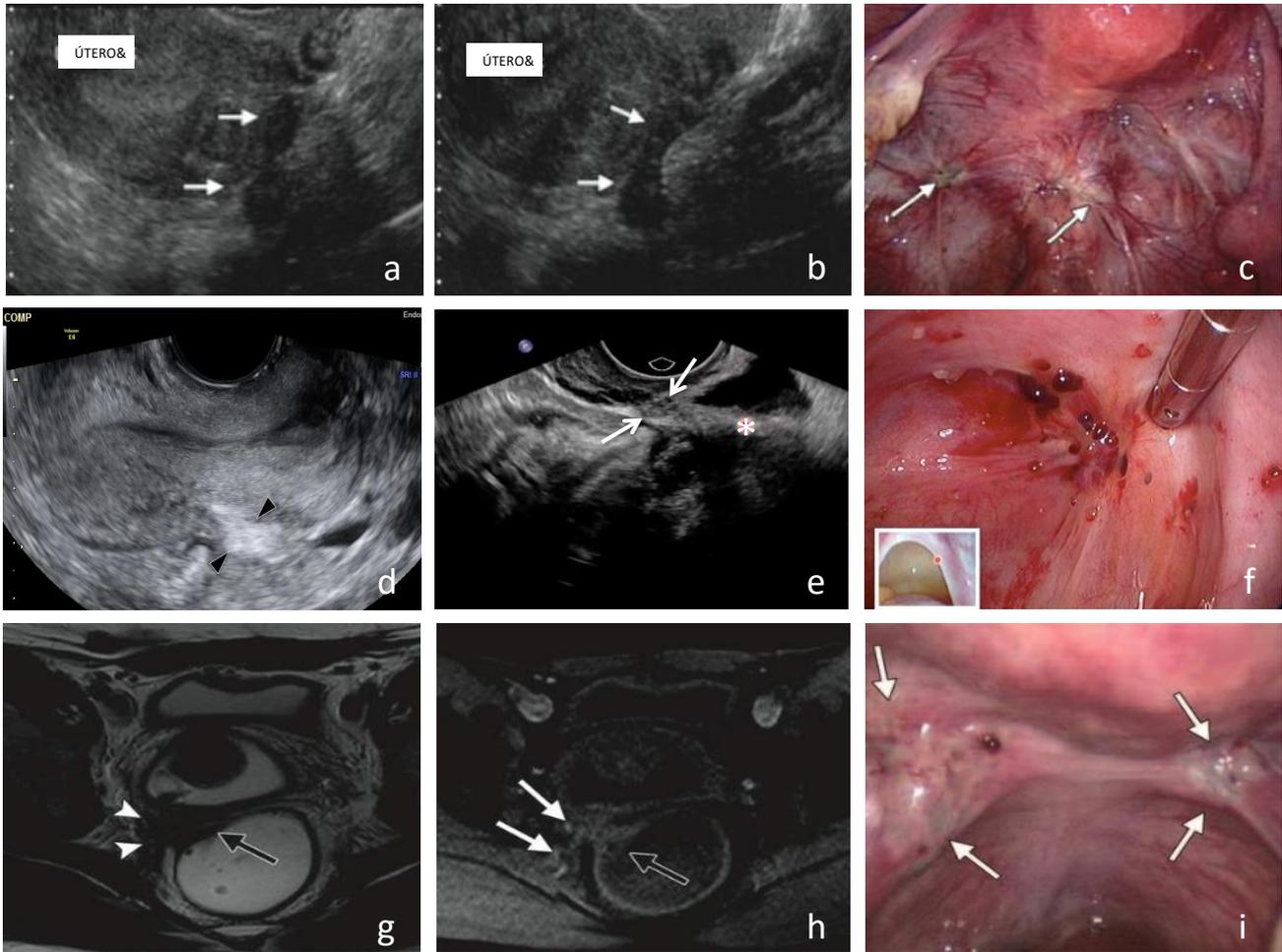


Figura 4.12. Imágenes de lesiones profundas a nivel de los ligamentos uterosacros (LUS). (a), (b) y (c) Ecografía y Laparoscopia donde se objetiva nódulos a nivel del LUS derecho e izquierdo. Se visualizan en cortes parasagitales izquierdo y derecho como formaciones hipoeoicas (flechas blancas). (d) En ocasiones no se visualiza un nódulo propiamente dicho, sino engrosamientos hiperecoicos. (e) y (f) Cuando hay líquido libre en Douglas los LUS se visualizan más fácilmente como una línea ecogénica (*) y permite ver incluso lesiones más sutiles. (g), (h) e (i) Imágenes de RNM con gel y visión laparoscópica en misma paciente. (g) Imagen potenciada en T2 que delimita lesión a nivel LUS izquierdo (flechas). El gel vaginal y rectal permite delimitar mejor la lesión. (h) Misma lesión potenciada en T1, apareciendo hiperintensa al tener focos de sangrado. (i) En laparoscopia se objetivan 2 nódulos en LUS, el derecho más pequeño no se pudo visualizar.

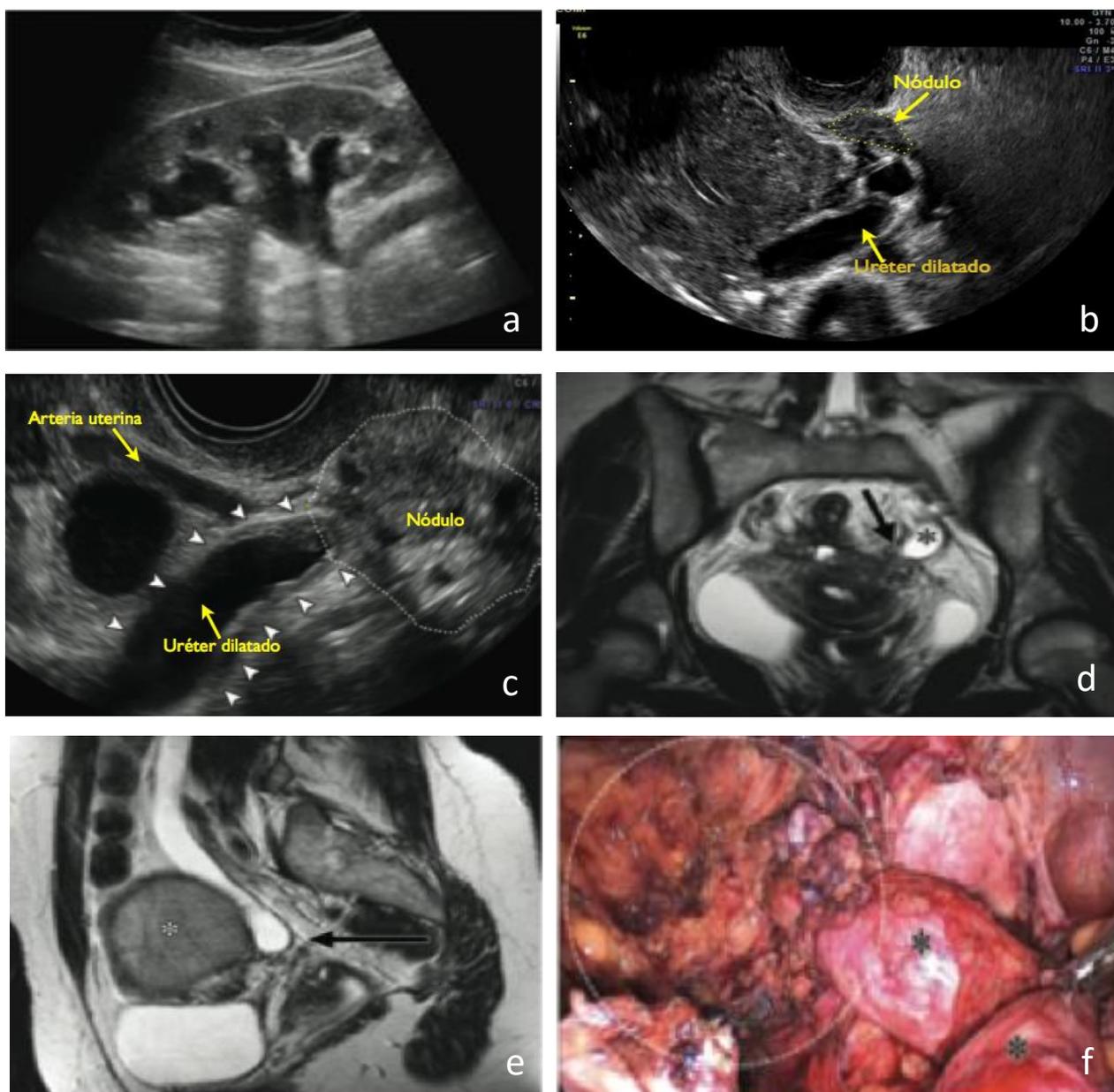


Figura 4.13. Imágenes de lesiones profundas a nivel parametrial-ureteral. (a) Objetivación de hidronefrosis es el primer paso en sospecha de afectación parametrial-ureteral en un contexto de endometriosis. (b) Endometriosis parametrial medial. Se objetiva en corte ecográfico axial a nivel de uterinas un nódulo caudalmente al uréter dilatado. (c) Endometriosis parametrial lateral. Se detecta el nódulo entre el uréter y los vasos ilíacos. (d) Imagen coronal de RNM potenciada en T2, donde se objetiva nódulo parametrial (flecha negra) caudalmente al uréter dilatado (*). (e) Mismo caso en corte sagital en T2 visualizando nódulo parametrial (flecha negra) y un endometrioma con "Shading sign" (*). (f) Visión laparoscópica del mismo caso. Uréter dilatado (*). Nódulo parametrial disecado (círculo).

Todos los casos diagnosticados por imagen presentaban ureterohidronefrosis asociada. En éstos la secuencia diagnóstica fue la siguiente: ante el hallazgo de hidronefrosis, se realiza una inspección detallada de la zona parametrial medial a nivel de un corte axial a la altura de la entrada de las arterias uterinas, ayudado mediante Doppler color. A este nivel se suele ver el nódulo endometriósico en posición caudal o anterior al uréter dilatado. Para discriminar si la estructura anecoica alargada es el uréter se aplica también Doppler color o pulsado. La afectación parametrial lateral se valora en la zona situada entre dicho parametrio medial y los vasos ilíacos, y por detrás del ovario. Dichos nódulos endometriósicos parametriales se visualizan como nódulos hipoeoicos bien definidos o zonas heterogéneas hiperecoicas o de baja ecogenicidad. **(Figura 4.13) (Vídeos 6 y 7).**

En todos los casos ecográficos negativos se objetivó la ausencia de hidronefrosis más la visualización del jet ureteral a nivel vesical y/o la visión de movilidad ureteral en su porción intramural vesical **(Video 8)**. La visualización de dos de estos signos supone un VPN del 100% para endometriosis parametrial con afectación ureteral (mucho más frecuente, aunque en nuestro estudio fue igual de frecuente) y un VPN del 94% para la endometriosis parametrial sin dilatación ureteral.

En los casos no diagnosticados preoperatoriamente había afectación parametrial, pero sin dilatación ureteral, detectándose en la cirugía durante las maniobras de identificación ureteral y disección pararectal.

2.4. SOSPECHA DIAGNÓSTICA DE ENDOMETRIOSIS PROFUNDA. SIGNOS ECOGRÁFICOS INDIRECTOS

Uno de los objetivos del presente estudio era la validación de posibles marcadores de imagen predictoras de enfermedad profunda. Ante esto se analizaron una serie de signos ecográficos, que si bien no son diagnósticos de endometriosis profunda, pudieran indicar sospecha de ésta.

Signo de deslizamiento vs Douglas ocluido

Se observan diferencias significativas en el signo de deslizamiento, agrupado respecto al hallazgo quirúrgico de un Douglas libre u ocluido (**Tabla 4.23**), así como una potente correlación entre la presencia de un signo de deslizamiento negativo y la presencia de un Douglas ocluido ($r: 0,913; p < 0.001$) (**Tabla 4.24**).

Se demuestra que presenta una sensibilidad máxima (100%), lo que le hace interesante como técnica de cribaje, así como una alta especificidad (93,3%) (**Tabla 4.23**).

		Douglas ocluido n = 25	Douglas libre n = 45	Significación estadística
Signo	negativo	25	3	p < 0,001
deslizamiento	positivo	0	42	

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
Signo	100	93,3	89,2	100	15	NuN-	95,7
Deslizamiento							

Tabla 4.23. Comparación Signo de deslizamiento vs Oclusión del Douglas; y Rendimiento diagnóstico del signo de deslizamiento como predictor de Oclusión del Douglas.

Signos ecográficos vs DIE del compartimento posterior

Se analizaron como signos ecográficos: el signo de deslizamiento (**Vídeo 2**), la presencia de "ovarios en beso" (kissing ovaries), la presencia de un útero en anteversión-retroflexión (**Figura 4.14**) o la existencia de ovarios fijos (**Vídeo 9**).

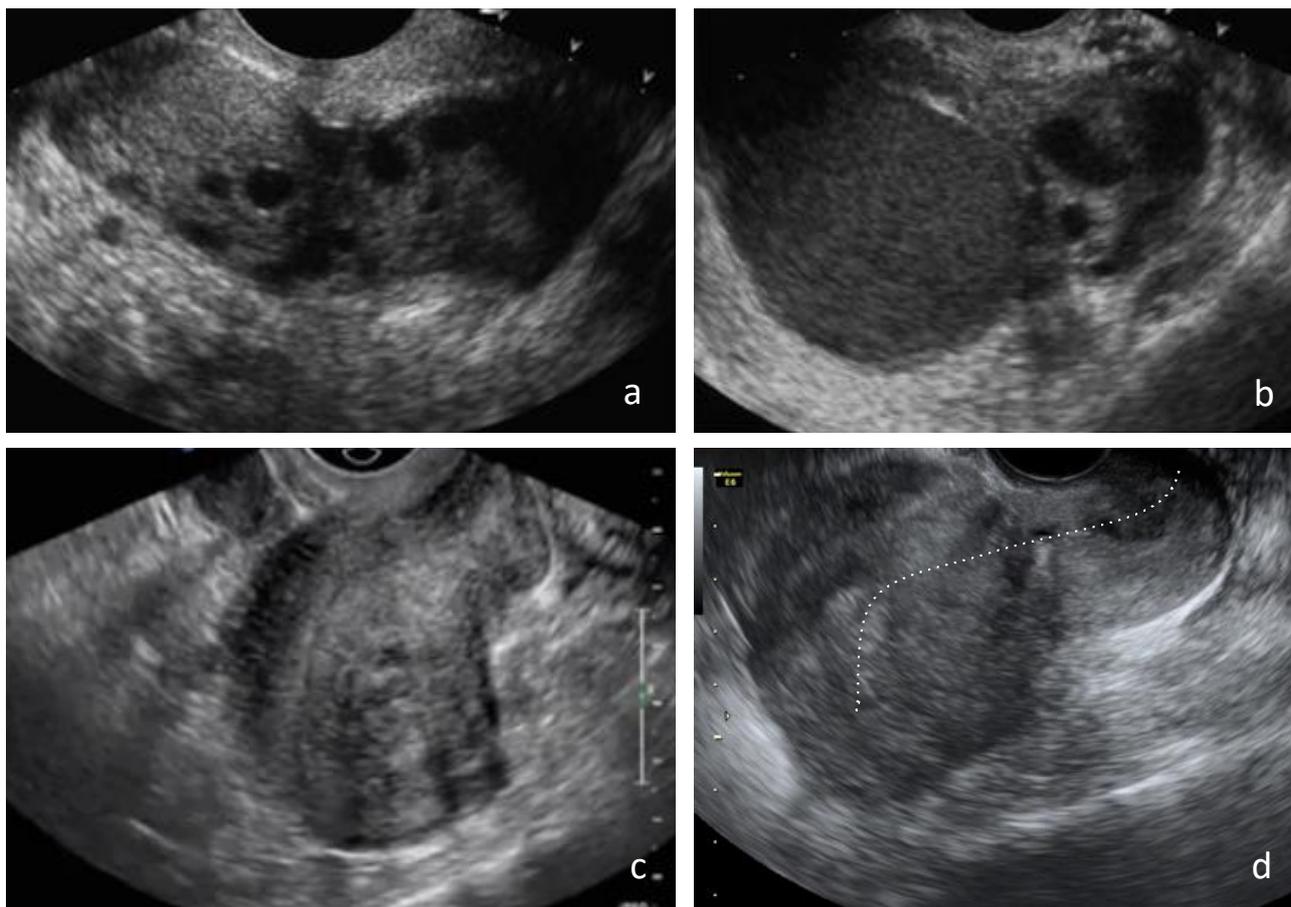


Figura 4.14. Signos ecográficos indirectos de Endometriosis profunda. (a) y (b) Kissing ovaries. En (a) se observan ovarios adheridos entre sí, sin existencia de endometriomas. En (b) Ovario derecho con un endometrioma adherido al ovario izquierdo. (c) y (d) Úteros con presencia de anteversión-retroflexión. Se produce una deformación del contorno endometrial que adopta una forma de "S itálica". Es frecuente la asociación de este signo con presencia de adenomiosis en porción posterior miometrial. Adenomioma en (c) y adenomiosis difusa en (d).

El análisis de estas variables ecográficas agrupadas respecto a la presencia o ausencia de DIE, demostró diferencias, así como correlaciones significativas, especialmente para el signo de deslizamiento uterino (**Tabla 4.24**).

En la valoración del rendimiento diagnóstico de todas estas variables, se observa que todas en general tienen una alta especificidad, especialmente la presencia del útero en anteversión-retroflexión, su presencia es bastante sugestiva de enfermedad, pero una baja sensibilidad que indica que su ausencia no excluye

enfermedad. El signo de deslizamiento, sí presenta una moderada sensibilidad y alto VPN (Tabla 4.24)

		DIE n = 28	No DIE n = 42	Significación estadística
Signo de deslizamiento	negativo	24	4	p < 0,01
	positivo	4	38	
"Kissing ovaries"	sí	14	4	p < 0,05
	no	14	38	
Útero en anteversión-retroflexión	sí	13	0	p < 0,01
	no	15	42	
Ovarios fijos	sí	21	6	p < 0,05
	no	7	36	

Correlación	r	Significación estadística
Deslizamiento negativo-Douglas ocluido	0,913	p < 0,001
Deslizamiento negativo-DIE posterior	0,762	p < 0,001
Kissing ovaries-DIE posterior	0,454	p < 0,001
Útero en anteversión-retroflexión-DIE post	0,585	p < 0,001
Ovarios fijos-DIE posterior	0,607	p < 0,001

Tabla 4.24. Comparaciones y Correlaciones entre diferentes signos ecográficos y la presencia de DIE.

	S %	E %	VPP %	VPN %	LR+	LR-	Precisión %
Signo de deslizamiento	85,7	90,4	85,7	90,4	9,00	0,16	88,5
Kissing ovaries	50	90,4	77,7	73	5,25	0,55	74,2
Útero en anteversión-retroflexión	46,4	100	100	73,6	NuN+	0,54	78,5
Ovarios fijos	77,7	91,6	93,3	73,3	9,33	0,24	83,3

Tabla 4.25. Rendimiento diagnóstico de cada uno de los signos ecográficos indirectos de DIE analizados. NuN (No un Número) el valor no puede ser calculado por haber algún cero en la fórmula de LR, aunque indica rendimiento máximo, NuN+ por ausencia de falsos positivos; NuN- por ausencia de falsos negativos. VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; LR+: likelihood ratio positiva; LR-: likelihood ratio negativa.

Se siguió el esquema ESUS como guía para el registro ordenado de las lesiones endometriósicas detectadas en la exploración ecográfica. A cada lesión detectada se le asigna una puntuación dando al final un valor o score ecográfico. Aprovechando esto se hizo una correlación entre los valores de dicho score para cada paciente y el tiempo de duración de la cirugía.

Un score ESUS >20 corresponde a casos de endometriomas sin presencia de DIE (media de 66 minutos \pm 3,4 EEM); Un score ESUS entre 20-40 se corresponde con lesiones en torus uterino o rectales altas y pequeñas (media de 137 minutos \pm 7,4 EEM); Un score 40-60 a lesiones rectales o rectovaginales pequeñas bajas (media de 194 minutos \pm 24 EEM); Un score de 60-80 a lesiones rectales o RV grandes o afectación de vagina (media de 237 minutos \pm 28,3 EEM); y un score entre 60-70 a lesiones multicompartimentales o con afectación parametrial-ureteral (media de 352 minutos \pm 62,8). Los tiempos en los casos con un score > de 40 presentan una mayor dispersión o amplio rango, lo cual responde a la realización de una resección intestinal (**Figura 4.15**).

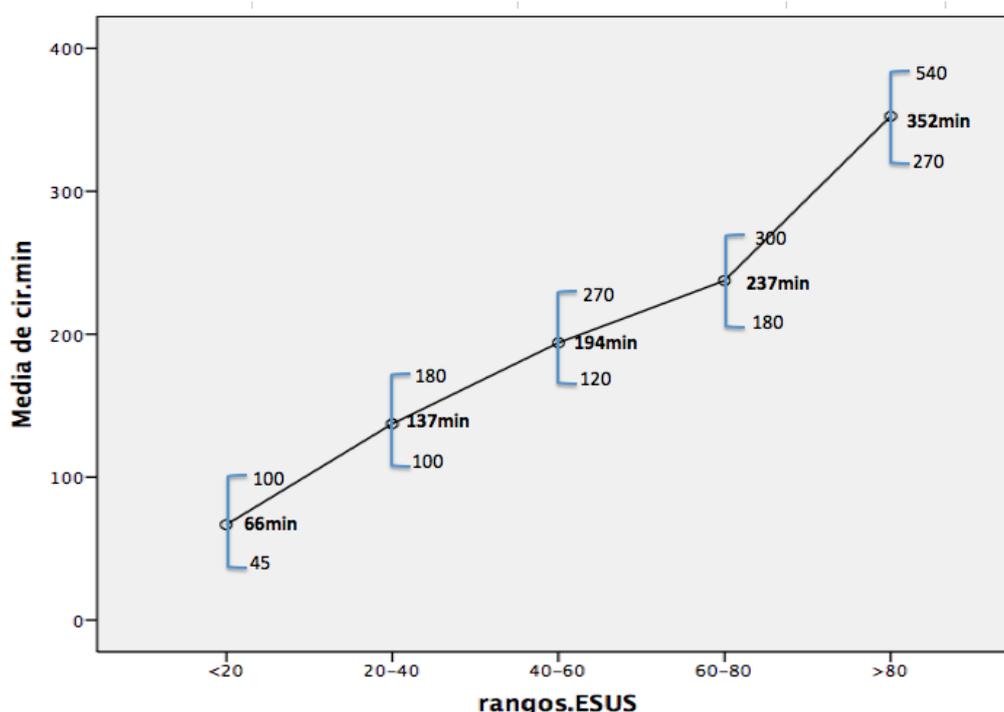


Figura 4.15. Tiempo quirúrgico en función de score ESUS. Se observa aumento del tiempo quirúrgico a mayor valor del score ESUS.

3. ESTUDIO RETROSPECTIVO. PRONÓSTICO NO INVASIVO EN ENDOMETRIOSIS MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES

3.1. DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO

Esta parte del estudio incluye 43 mujeres con endometriosis, con una edad media de 33,8 años y un rango entre los 23 y 45 años de edad.

En dichas pacientes, los tipos de lesiones endometriósicas en función de su lesión principal (habitualmente coexisten diferentes tipos de lesiones en una misma paciente) fueron: endometriosis peritoneal en 7 (16,3%); endometriomas en 20 (46,5%); y endometriosis profunda en 16 (37,2%). Respecto al estadio de la clasificación rASRM, la mayoría, 38 (90,7%), correspondían a endometriosis moderada-severa; con una media general de puntuación rASRM de $36,98 \pm 3,78$ ($X \pm EEM$) (Figura 4.16).

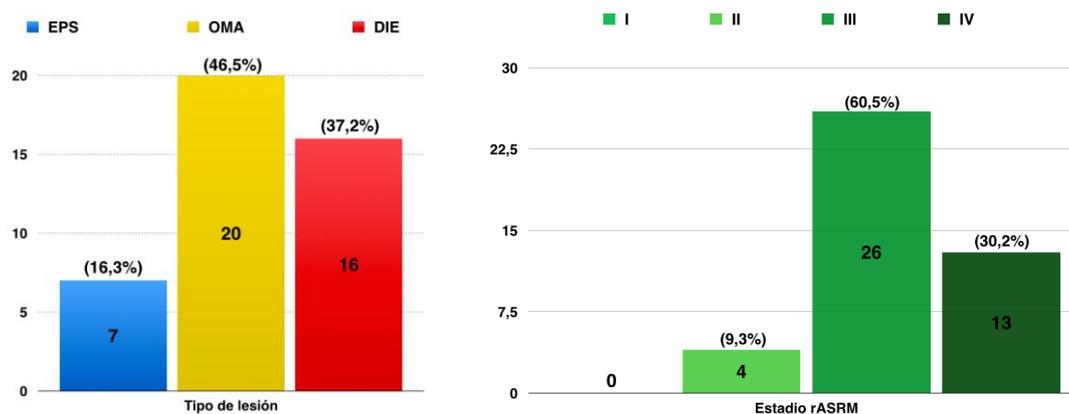


Figura 4.16. Tipo de lesión endometriósica y estadio de la clasificación rASRM de la serie retrospectiva. Se observa una mayor presencia de endometriomas y lesiones profundas, así como estadios III y IV.

El 77,7% de las pacientes recibió tratamiento posterior a la cirugía durante una media de 16,08 meses ($\pm 3,79$ EEM). Se pautaron análogos en 6, anticonceptivos orales combinados en pauta cíclica en 16 y gestágenos en 11. No se administró tratamiento en 10 pacientes (22,3%).

A. Marcadores clínicos

Escala VAS de dolor

Los valores medios de escala analógica visual (visual analogue scale;VAS) registrados, para los diferentes tipos de dolor asociados a la endometriosis antes y después de la cirugía se describen en la **Tabla 4.26**. Se analiza, al igual que en serie prospectiva, el sumatorio de todos los valores VAS de dolor. En la tabla X se describe la evolución detallada de cada tipo de dolor tras la cirugía. Se observa una disminución en general de los todos los valores de VAS tras la cirugía. La dismenorrea, disquecia y el dolor crónico mejoraron ampliamente, en alrededor del 90% de las pacientes. La mejoría fue menos frecuente en la dispareunia y la disuria.

VAS	Dismenorrea	Dispareunia	Dolor crónico	Disquecia	Disuria	Total Σ todos VAS
precirugía (n = 43)	71,05±4,58	44,19±5,90	44,65±6,18	23,49±5,43	10,12±4,34	193,48±20,38
postcirugía (n = 43)	25,00±4,38	19,53±4,81	10,93±3,51	4,77±2,26	3,95±2,38	33,55±12,99
Desaparición	15 (34,9%)	10 (23,3%)	15 (34,9%)	9 (20,9%)	2 (4,7%)	-
Reducción	19 (44,2%)	10 (23,3%)	8 (18,6%)	5 (11,6%)	2 (4,7%)	-
Igual	3 (7%)	7 (16,3%)	2 (4,7%)	1 (2,3%)	2 (4,7%)	-
Aumento	1 (2,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
No había	5 (11,6%)	16 (37,2%)	18 (41,9%)	28 (65,1%)	37 (86%)	-
Mejoría afectas	34 (89,5%)	20 (74,1%)	23 (92%)	14 (93,3%)	4 (66,6%)	-
No mejoría afectas	4 (10,5%)	7 (25,9%)	2 (8%)	1 (6,7%)	2 (33,3%)	-

Tabla 4.26. Valores de las cifras de VAS y modo de evolución para los diferentes tipos de dolor en endometriosis antes y después de la cirugía. Los datos cuantitativos se expresan como media ± error estándar de la media, y los cualitativos en número de casos y porcentajes.

Cuestionario calidad de vida EHP-30

Se describen los resultados generales encontrados en los cuestionarios EHP-30 antes y después de la cirugía. Los resultados se dividen en los diferentes dominios de que consta el EHP30, tanto en el cuestionario central como en el modular. Se observa que los resultados mayores se dan en la parte referida a problemas de autocontrol, actividad sexual, dolor y esterilidad. Se registra también el sumatorio de todos los valores de cada dominio del cuestionario central. (**Tabla 4.27**).

EHP-30 central	Dolor	Autocontrol	Bienestar emocional	Apoyo social	Autoimagen	Total Σ EHP30
precirugía (n=43)	46,68±5,27	48,51±5,41	40,09±5,61	33,20±5,33	31,20±5,26	199,7±24,45
postcirugía (n=43)	15,54±3,56	11,6±3,42	11,28±3,42	8,91±2,83	7,5±3,34	54,86±15,25

EHP-30 modular	Trabajo (n=40)	Relación con hijos (n=2)	Actividad sexual (n=43)	Profesión médica (n=38)	Tratamiento (n=39)	Esterilidad (n=43)
precirugía	31,70±4,70	29,70±3,83	46,32±5,74	33,18±5,37	34,66±4,90	51,59±5,41
postcirugía	10,36±3,58	7,16±2,38	21,45±4,70	7,29±3,05	8,08±2,77	45,26±5,31

Tabla 4.27. Valores de los diferentes dominios de los que consta el cuestionario EHP-30, antes y después de la cirugía. El cuestionario EHP30 presenta en su sección central o principal preguntas contestables por todas pacientes; y en su sección modular preguntas que pueden no ser contestables por todas. Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media.

Respecto a otras variables clínicas o de calidad de vida, se observa:

-mejoría general de los síntomas en 34 pacientes (79%), no mejoría en 3 (7%), mientras que en 6 (14%) no hubo cambios al ser casos asintomáticos.

-mejoría general personal-social en 35 (81%), no mejoría en 2 (5%) y sin cambios al ser normal previamente en 6 (14%).

-calidad de vida precirugía de 0 a 10: 5,42±0,29 (x \pm EEM)

-calidad de vida postcirugía de 0 a 10: 8,81±0,39 (x \pm EEM)

-nivel de satisfacción global final de 0 a 10: 8,67±0,37

B. Biomarcadores clásicos

CA-125 y CA-19.9

Después de excluir la determinaciones de 7 fumadoras y 1 paciente con hepatopatía crónica (causas de posible aumento de CA-125), se obtienen 35 determinaciones de CA 125 y CA19.9 antes de la cirugía y 28 de ambos tras la

cirugía, habiendo ambos marcadores 28 casos de datos apareados antes-después de la intervención quirúrgica con ambos marcadores.

El valor medio de CA 125 antes de la cirugía es de 38,77 ($\pm 5,92$) mUI/mL (normalidad 0-35 UI/mL). Presenta valores aumentados en menos de la mitad de pacientes (48,6%). Por el contrario la media postcirugía es de 7,11 \pm 1,26 mUI/mL, hallándose en el 97,2% de las pacientes en valores normales. De los 17 valores de CA 125 precirugía aumentados se disponen 15 apareados, en los cuales su evolución fue: se normalizan 12 (80%) y persisten aumentados, aunque con menores cifras en 3 (20%).

Biomarcadores clásicos	CA 125		CA 19.9	
	($\bar{x} \pm EEM$)*	normal (%) aumentado (%)	($\bar{x} \pm EEM$)*	normal (%) aumentado (%)
precirugía (n = 35)	38,77 \pm 5,92	18 (51,4%) 17 (48,6%)	7,11 \pm 1,26	34 (97,2%) 1 (2,8%)
postcirugía (n = 28)	11,21 \pm 3,19	26 (92,8%) 2 (7,2%)	5,96 \pm 1,15	28 (100%) 0 (0%)

Tabla 4.28. Valores en Suero de biomarcadores clásicos. *Los valores de CA 125 y CA 19.9 son en UI/mL y se expresan como media \pm error estándar de la media (EEM).

Tanto el valor medio del CA 19.9 antes de la cirugía (7,11 \pm 1,26 UI/mL), como después (5,96 \pm 1,15) se corresponden con valores normales de dicho marcador (0-35mU/mL). (Tabla 4.28).

3.2 PRONÓSTICO DE RECIDIVA MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES

El tiempo de seguimiento de las pacientes fue entre 2 y 9 años (media de 3,86 \pm 2,44 EEM). En este tiempo se detectaron 10 casos de recidiva (23,2%). El tiempo

medio de aparición de la recidiva fué en torno a los 2 años (25,12±4,35 meses) con un rango entre los 6 y 48 meses.

No se detectaron diferencias significativas respecto a la edad, patología médica asociada, tipo de lesión endometriósica (p = 0,50), estadio (p = 0,72) y puntuación de la clasificación rASRM (p = 0,10) entre la población con o sin recidivas. No hay tampoco diferencias respecto a la fase de ciclo endometrial en las muestras de endometrio eutópico entre ambos grupos (**Tabla 4.29**). Ninguna de las pacientes tenía antecedentes ni hallazgos quirúrgicos de enfermedad inflamatoria pélvica, cáncer estrógeno dependiente, ni otras patologías ginecológicas, salvo la presencia de 6 pacientes con miomas (tres en cada grupo). Todas las cirugías fueron realizadas por los mismos cirujanos (JGA y JGE).

		No recidiva	Recidiva	Significación estadística
Edad		34,58±0,84	31,20±1,36	NS
Patología médica asociada	no	23	7	NS
	sí	2	3	
Tipo de lesión endometriósica	EPS	6	1	NS
	OMA	16	4	
	DIE	11	5	
Estadio rASRM	II	3	1	NS
	III	21	5	
	IV	9	4	
puntuación rASRM		33,58±3,88	48,20±9,57	NS
Fase de ciclo	proliferativa	14	5	NS
	secretora	14	5	
	menstrual	5	0	

Tabla 4.29. Análisis de diferentes variables entre casos con o sin recidiva. Ambos grupos son homogéneos respecto a diferentes variables que pudieran influir en los resultados detectados: no existen diferencias significativas entre las distintas variables analizadas entre las dos poblaciones. Los datos cualitativos se expresan en número de casos y los cuantitativos como media ± error estándar de la media (EEM).

A. Marcadores clínicos

se registraron los valores VAS para cada tipo de dolor y los resultados del cuestionario de calidad de vida EHP-30 antes de la cirugía y en la visita postquirúrgica a los 2 meses.

	No recidiva (n=33)	Recidiva (n=10)	Significación estadística
VAS DM precirugía	65,15±5,54	90,50±2,63	p < 0,001
VAS DM postcirugía	16,97±3,52	51,50±11,78	p < 0,05
Diferencia VAS DM	48,18±5,732	36,00±9,481	NS
VAS DP precirugía	37,88±6,58	65,00±11,37	NS
VAS DP postcirugía	10,91±4,11	48,00±12,18	p < 0,05
Diferencia VAS DP	26,97±5,58	17,00±5,97	p < 0,01
VAS DC precirugía	36,36±6,92	72,00±9,87	p < 0,01
VAS DC postcirugía	5,76±2,50	28,00±11,53	NS
Diferencia VAS DC	30,61±6,28	40,00±11,90	NS
VAS DQ precirugía	16,67±5,34	46,00±13,60	NS
VAS DQ postcirugía	0,30±,30	19,50±8,38	p < 0,05
Diferencia VAS DQ	16,36±5,25	19,50±8,18	NS
VAS DU precirugía	4,70±3,28	28,00±14,36	NS
VAS DU postcirugía	0,91±,91	14,00±9,45	NS
Diferencia VAS DU	3,79±2,66	14,00±10,35	NS
ΣVAS precirugía	160,76±21,21	301,50±36,97	p < 0,01
ΣVAS postcirugía	34,85±7,35	161,00±37,38	p < 0,01
Σ Diferencia VAS	125,91±18,76	131,67±33,90	NS

Tabla 4.30. Valores de VAS para cada tipo de dolor, en pacientes con o sin recidiva. Se recogen las medias VAS antes y después de la cirugía, así como la caída de dicho VAS tras la cirugía (Diferencia VAS). Se recoge también el sumatorio de todos estos valores. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media (EEM). DM: dismenorrea; DP: dispareunia; DC: dolor crónico; DQ: disquecia; DU: disuria.

Escala VAS de dolor

En líneas generales se comprueba una tendencia de mayores valores de VAS para todos los tipos de dolor, tanto prequirúrgicos como postquirúrgicos, en las pacientes con recidiva. Se encuentran además diferencias significativas para los valores VAS prequirúrgicos de dismenorrea y dolor crónico; y para los valores de VAS postquirúrgicos de dismenorrea, dispareunia y disquecia (**Tabla 4.30**).

En cuanto a la diferencia del VAS entre antes y después de la intervención, es decir el grado en que mejora el dolor tras la cirugía, no se observan diferencias significativas para ninguno de los tipos de dolor, excepto para la dispareunia, objetivando además, que la dispareunia disminuye menos en las pacientes que presentarán recidiva posterior.

Todos los tipos de dolor, pueden no aparecer a la vez en una misma paciente. A pesar de ello, se observa que el sumatorio VAS de todos los dolores presentes antes de la cirugía es mayor y con diferencias altamente significativas en las pacientes que luego desarrollarán una recidiva posterior. El sumatorio de todos los VAS de dolor postcirugía es también significativamente mayor en las que desarrollarán recidiva (**Figura 4.17**)

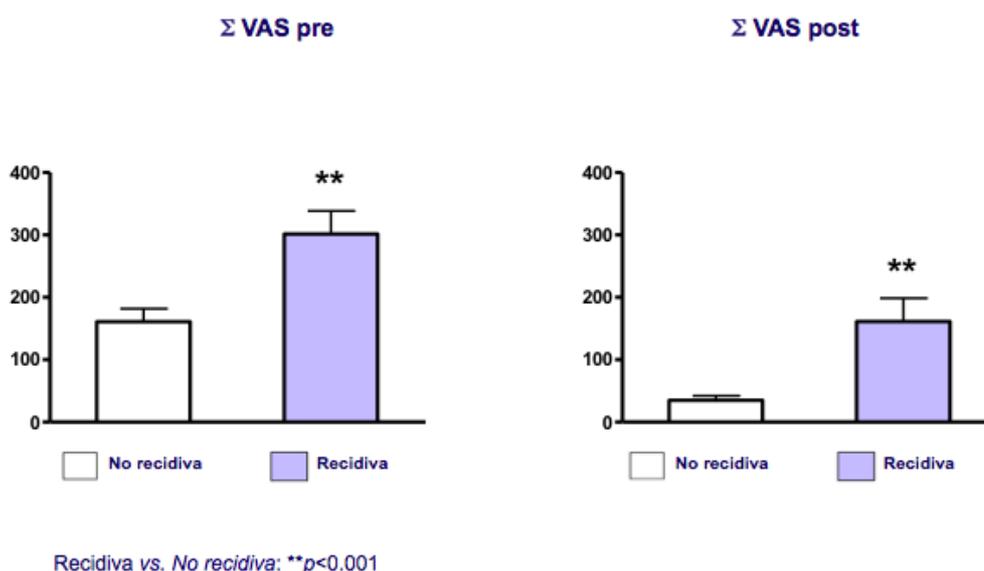


Figura 4.17. Sumatorio de todos los valores VAS de dolor pre y postcirugía, en pacientes con o sin recidiva. Se observa que la suma de valores VAS recogidos, tanto antes como después de la cirugía son significativamente mayores en las pacientes que desarrollarán posteriormente recidiva.

Cuestionario de calidad de vida EHP-30

Para el estudio de la asociación entre el cuestionario de calidad de vida EHP-30 y la presencia de recidiva posterior, analizamos, de igual forma que en serie prospectiva, sólomente los resultados recogidos en su sección central.

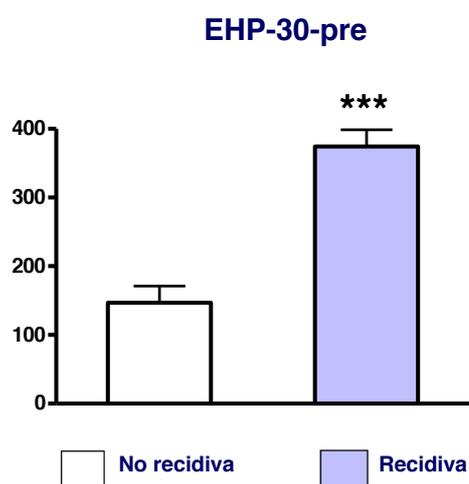
Todos los dominios del EHP-30 central recogidos prequirúrgicamente (dolor, control e impotencia, bienestar emocional, apoyo social y autoimagen), presentan valores significativamente mayores en el grupo de pacientes con recidiva (**Tabla 4.31**).

	No recidiva (n=33)	Recidiva (n=10)	Significación estadística
Dolor precirugía	35,03±5,15	85,13±5,80	p < 0,001
Dolor postcirugía	8,80±2,27	37,78±11,08	p < 0,05
Autocontrol precirugía	37,75±5,83	84,02±2,50	p < 0,001
Autocontrol postcirugía	4,38±1,85	35,45±10,64	p < 0,05
Bienestar emocional precirugía	29,35±5,73	75,58±8,10	p < 0,001
Bienestar emocional postcirugía	4,33±2,01	34,21±10,59	p < 0,05
Apoyo social precirugía	22,43±5,42	68,75±6,59	p < 0,01
Apoyo social postcirugía	2,30±1,20	30,73±8,70	p < 0,05
Autoimagen precirugía	22,22±5,29	60,83±10,02	p < 0,01
Autoimagen postcirugía	3,28±2,35	21,46±11,49	NS
ΣEHP-30 precirugía	146,79±24,41	374,31±24,27	p < 0,001
ΣEHP-30 postcirugía	23,11±7,96	119,07±42,01	NS

Tabla 4.31. Valores del cuestionario EHP-30 central, en pacientes con o sin recidiva. Se recogen las medias de puntuación de cada dominio de los que consta el EHP-30 central antes y después de la cirugía. Se expone también el sumatorio de todos estos valores. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media (EEM). DM: dismenorrea; DP: dispareunia; DC: dolor crónico; DQ: disquicia; DU: disuria.

Para el cuestionario EHP-30 rellenado postquirúrgicamente, se observan también valores significativamente mayores en el grupo de recidiva, en todas las dominios del cuestionario, excepto para la autoimagen (**Tabla 4.31**).

Aquí también empleamos el sumatorio de los resultados de todos los dominios del que consta el EHP-30 central. Observamos que dicho sumatorio EHP-30 obtenido antes de la cirugía es significativamente mayor en las pacientes que desarrollan posteriormente recidiva (**Figura 4.18**).



Recidiva vs. No recidiva: *** $P < 0.001$;

Figura 4.18. Sumatorio de todos los valores EHP-30 central precirugía, en pacientes con o sin recidiva. Se observa que la suma de valores del cuestionario EHP-30 recogidos antes de la cirugía son significativamente mayores en las pacientes que desarrollarán posteriormente recidiva.

Del mismo modo que en el estudio prospectivo, las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de recidivas vs no recidivas. Estas variables además pueden ser calculadas en todas las pacientes y al ser obtenidas antes de la cirugía podrían ser un adecuado marcador predictor de recidiva no invasivo. Se calcula para estas variables las curvas ROC para intentar determinar el punto de corte más adecuado que discrimine entre no recidivas y recidivas posteriores.

Para la variable Σ VAS precirugía el mejor valor como punto de corte es 285. Este valor presenta una sensibilidad del 60% y especificidad del 85% en la detección de recidiva. El área bajo la curva es 0,78

Para la variable Σ EHP30 precirugía el mejor valor como punto de corte es 280. Este valor presenta una sensibilidad del 90% y especificidad del 82% en la detección de recidiva. El área bajo la curva es 0,89 (**Figura 4.19**).

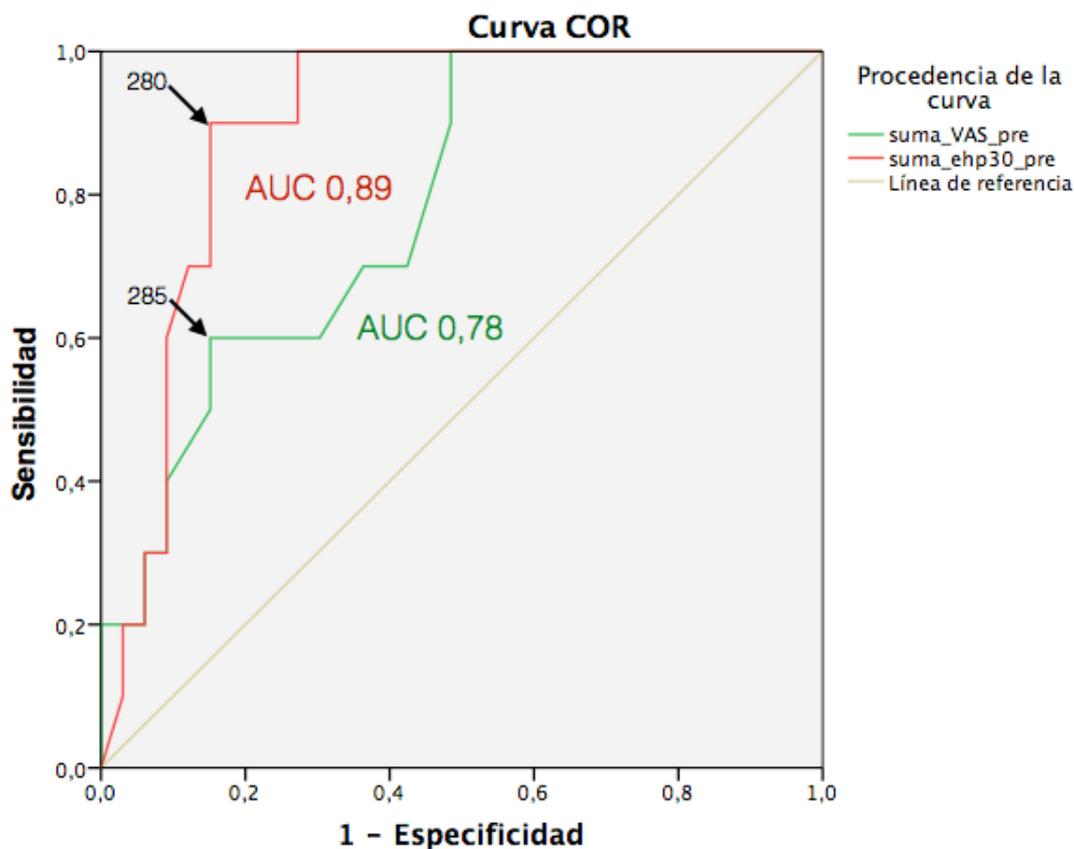


Figura 4.19. Curvas ROC para las variables Σ VAS precirugía y Σ EHP-30 precirugía respecto recidiva posterior vs no recidiva. Se observa el mejor punto de corte para cada variable (flechas), así como el área bajo la curva (AUC) para cada variable.

B. Biomarcadores clásicos

CA-125 y CA-19.9

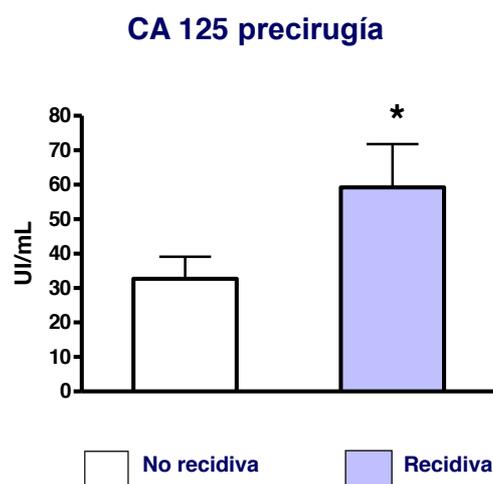
En las pacientes que posteriormente desarrollarán recidiva, se objetivan valores prequirúrgicos de CA 125 aumentados y mayores que las que no desarrollan recidiva, de forma significativa (**Tabla 4.32**) (**Figura 4.20**).

Respecto a los valores de CA 125 obtenidos tras la cirugía, se observan valores ligeramente mayores en las que recidivan sin diferencias significativas, presentando además ambos subgrupos, valores medios dentro de la normalidad.

Se observan valores significativamente mayores de CA 19.9 precirugía, en las pacientes con recidiva, aunque sin interés ni plausibilidad lógica, por ser valores dentro de la normalidad (**Tabla 4.32**).

	n (no r/r)	No recidiva	Recidiva	Significación estadística
CA 125 precirugía	25/10	32,70±6,37	59,25±12,55	p < 0,05
CA 125 postcirugía	18/10	6,59±0,71	28,16±13,26	NS
CA 19.9 precirugía	25/10	5,22±0,88	13,5±4,07	p < 0,01
CA 19.9 postcirugía	18/10	4,95±0,91	9,66±4,16	NS

Tabla 4.32. Valores en Suero de biomarcadores clásicos, en pacientes con o sin recidiva. Los datos se expresan como media ± error standard de la media (EEM).



Recidiva vs. No recidiva: *P<0.05;

Figura 4.20. Valores de CA 125 precirugía, en pacientes con o sin recidiva. Se observa que los valores de CA 125 prequirúrgicos son significativamente mayores en las pacientes que desarrollarán posteriormente recidiva.

C. Nuevos Biomarcadores

Se midieron Factores angiogénicos y fibrinolíticos, así como angiomicroRNAs en 43 muestras de endometrio eutópico, 31 endometriomas y 14 nódulos endometriósicos profundos, obtenidos durante la cirugía.

C.1. Determinaciones en endometrio eutópico

Se ha comentado previamente que entre los grupos de pacientes con o sin recidiva no se encontraban diferencias respecto a la fase de ciclo endometrial en las muestras de endometrio eutópico. No obstante, se observa que en ambos grupos hay el mismo número muestras en fase proliferativa y secretora, pero no de fases menstruales: en las no recidivas había 5 y ninguna fase menstrual en las recidivas (Figura 4.21).

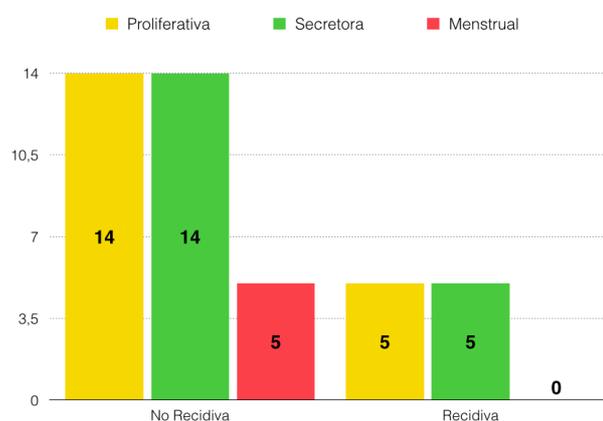


Figura 4.21. Fases de ciclo menstrual de las muestras de endometrio eutópico de serie retrospectiva.

Ante este hecho, para comprobar de nuevo, si los resultados en ambos grupos pudieran estar influenciados por la fase del ciclo endometrial, se aplicó cálculo ANOVA en los distintos biomarcadores a estudio agrupados en las tres posibles fases. En aquellos que se encontraron diferencias significativas por el tipo de ciclo menstrual, se realizó análisis multivariante para cada uno de estos biomarcadores con la covariable fase de ciclo, no encontrándose diferencias significativas, y concluyendo por tanto de nuevo, que la fase de ciclo no influenciaba en los resultados.

C.1.1. Factores angiogénicos y fibrinolíticos

Respecto a los resultados encontrados, se encuentran valores significativamente menores de proteína VEGF y PAI-1 en el endometrio eutópico de pacientes que evolucionarán posteriormente a recidiva (**Figura 4.22**)

En el endometrio de las pacientes que desarrollarán posterior recidiva se ve una tendencia a valores más elevados de TSP y menores de uPA, respecto a las que no desarrollan recidiva, aunque no significativas.

Los valores de mRNA de las diferentes proteínas se comprueban paralelos a los valores de su proteína asociada, aunque sin diferencias significativas entre ambos grupos (**Tabla 4.33**).

	n (no r/r)	No recidiva	Recidiva	Significación estadística
VEGF proteína (pg/mg)	31/9	288,88±59,38	136,48±48,84	p < 0,05
VEGF mRNA^(a)	13/8	8,82±4,48	4,07±1,34	NS
TSP-1 proteína (ng/mg)	30/10	119,11±18,06	129,56±26,89	NS
TSP-1 mRNA^(a)	13/8	1,70±0,70	4,37±2,27	NS
uPA proteína (ng/mg)	17/4	1,29±0,25	0,77±0,20	NS
uPA mRNA^(a)	13/7	1,01±0,46	0,79±0,19	NS
PAI-1 proteína (ng/mg)	27/9	7,12±1,53	2,91±0,97	p < 0,05
PAI-1 mRNA^(a)	10/8	2,33±1,69	0,25±0,09	NS

Tabla 4.33. Valores en Endometrio Eutópico de proteínas, y sus correspondientes mRNAs de diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva. Los datos se expresan como media ± error standard de la media (EEM). ^(a)Valor de RNA normalizado = 100 x [(copias de mRNA del gen diana)/(copias del mRNA de β actina)]. VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; TSP: trombospondina; uPA: activador del plasminógeno tipo urokinasa; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; no r: no recidiva; r: recidiva; NS: No significación estadística.

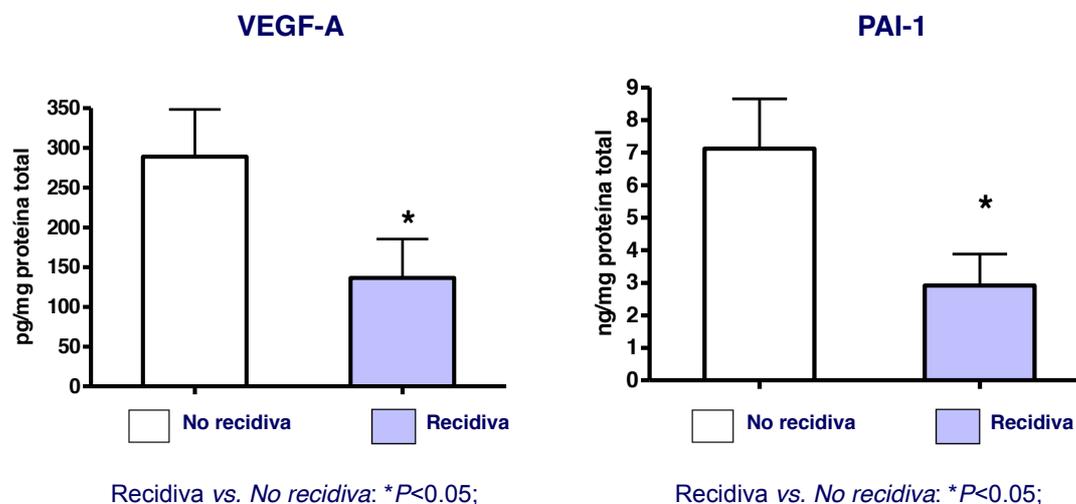


Figura 4.22. Valores de VEGF y PAI-1, en endometrio eutópico de pacientes con o sin recidiva. Se observa que los valores de VEGF y PAI-1 son significativamente menores en el endometrio de las pacientes que desarrollarán posteriormente recidiva.

C.1.2. miRNAs implicados en angiogénesis y fibrinólisis

Respecto a los valores de miRNAs en endometrio eutópico, se encuentra que el miR-21 se encuentra infraexpresado significativamente en el endometrio de las pacientes que desarrollarán recidiva. También se encuentra una sobreexpresión significativa del miR-424-5p en el eutópico de las que recidivarán (**Figura 4.23**).

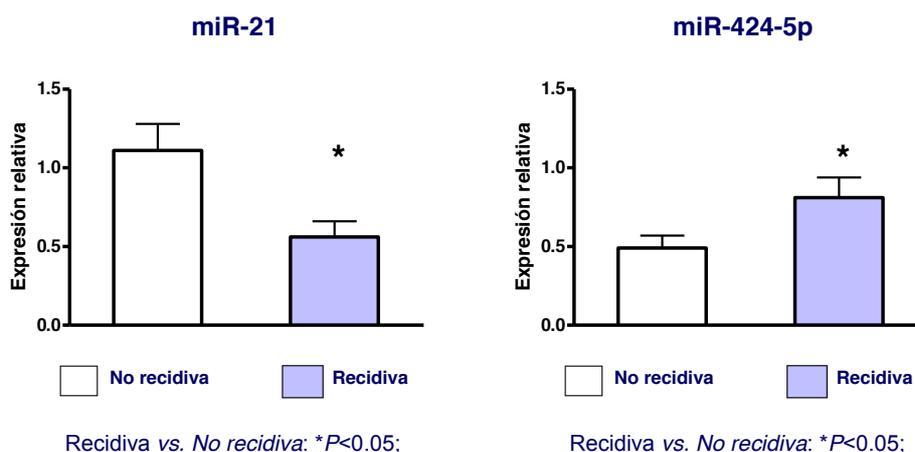


Figura 4.23. Valores de miR-21 y miR424-5p, en endometrio eutópico de pacientes con o sin recidiva. Se observa que el miR-21 aparece significativamente infraexpresado y el miR-424-5p está significativamente hiperexpresado, en el endometrio de las pacientes que desarrollarán posteriormente recidiva.

	n (no r/r)	No recidiva	Recidiva	Significación estadística
miR-15b	13/8	0,93±0,36	0,57±0,12	NS
miR-16-5p	32/10	1,47±0,25	1,92±0,47	NS
mirR-17-5p	13/8	0,89±0,23	0,56±0,09	NS
miR-20a	13/8	1,08±0,34	0,54±0,10	NS
miR-21	13/8	1,11±0,18	0,56±0,08	p < 0,05
miR-29c-3p	32/10	1,03±0,19	0,90±0,16	NS
miR-125	12/8	0,89±0,12	0,68±0,09	NS
miR-138-5p	32/9	1,16±0,16	1,78±0,52	NS
miR202-3p	31/10	0,54±0,10	0,58±0,20	NS
miR-221	13/8	0,66±0,21	0,57±0,08	NS
miR-222	13/8	0,64±0,13	0,60±0,08	NS
miR-373-3p	32/9	0,88±0,12	0,79±0,24	NS
miR-411-5p	32/10	0,70±0,11	1,11±0,24	NS
miR-411-3p	31/10	0,78±0,07	0,85±0,12	NS
miR424-5p	32/10	0,49±0,08	0,81±0,13	p < 0,05
miR449b-3p	32/10	0,54±0,12	0,83±0,27	NS
miR556-3p	32/9	0,50±0,11	0,65±0,23	NS
miR-636	31/10	1,09±0,16	1,34±0,21	NS
miR-935	31/10	0,92±0,14	1,08±0,22	NS

Tabla 4.34. Valores en Endometrio Eutópico de miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva. La expresión de miRNA se expresa como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). Los datos se expresan como media ± error estándar de la media (EEM); miR: microRNA; no r: no recidiva; r: recidiva; NS: No significación estadística.

Se observa una tendencia en los valores de otros miRNAs, en lo que respecta a recidivas vs no recidivas, aunque sin diferencias significativas, que posiblemente, si lo fueran con mayor número de casos: En el grupo que presentará recidivas se ve una tendencia a la sobreexpresión en el endometrio eutópico del miR-16-5p, miR-138-5p y miR-411-5p; y a la infraexpresión del miR-20a. (Tabla 4.34)

En el resto de determinaciones de miRNAs, no se observan diferencias entre ambos grupos.

Buscando posibles correlaciones entre los diferentes marcadores clínicos y biomarcadores encontramos una serie de correlaciones interesantes entre el miR-424-5p y las variables clínicas Sumatorio VAS precirugía, Sumatorio EHP-30 precirugía y el CA 125 (Figuras 4.24, 4.25 y 4.26)

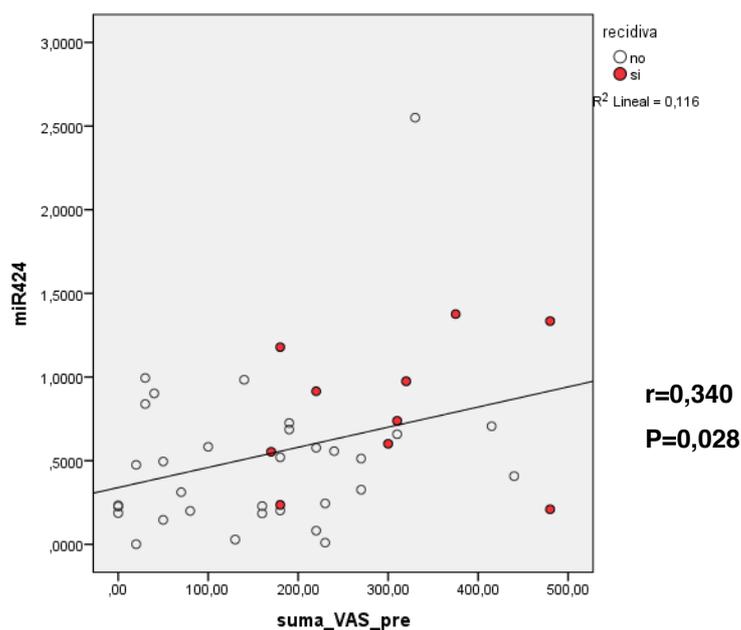


Figura 4.24. Correlación entre miR-424-5p y la suma VAS obtenida antes de la cirugía e función de recidiva o no recidiva. Se observa una correlación positiva significativa entre valores altos de suma VAS precirugía e sobreexpresión del miR-424-5p en endometrio eutópico de las pacientes que experimentan posteriormente recidiva.

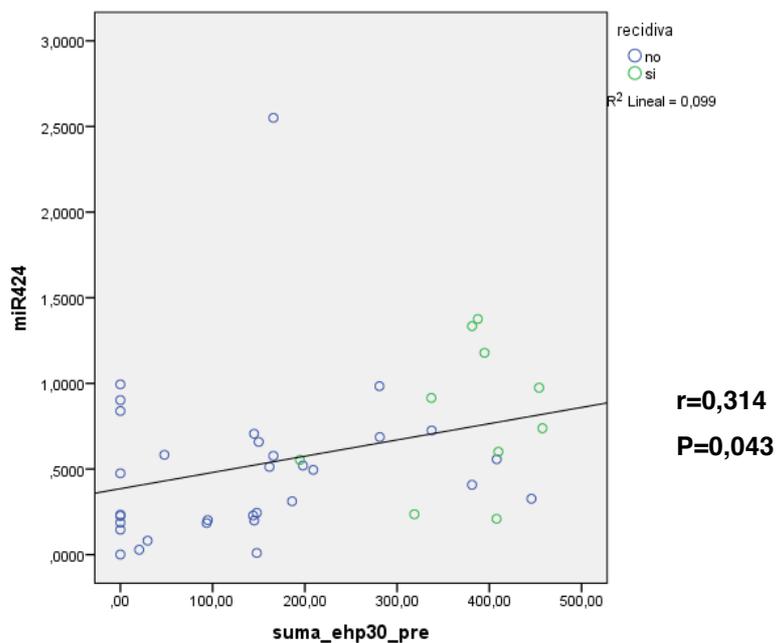


Figura 4.25. Correlación entre miR-424-5p y la suma EHP-30 obtenida antes de la cirugía e función de recidiva o no recidiva. Se observa una correlación positiva significativa entre valores altos de suma EHP-30 precirugía e sobreexpresión del miR-424-5p en endometrio eutópico de las pacientes que experimentan posteriormente recidiva.

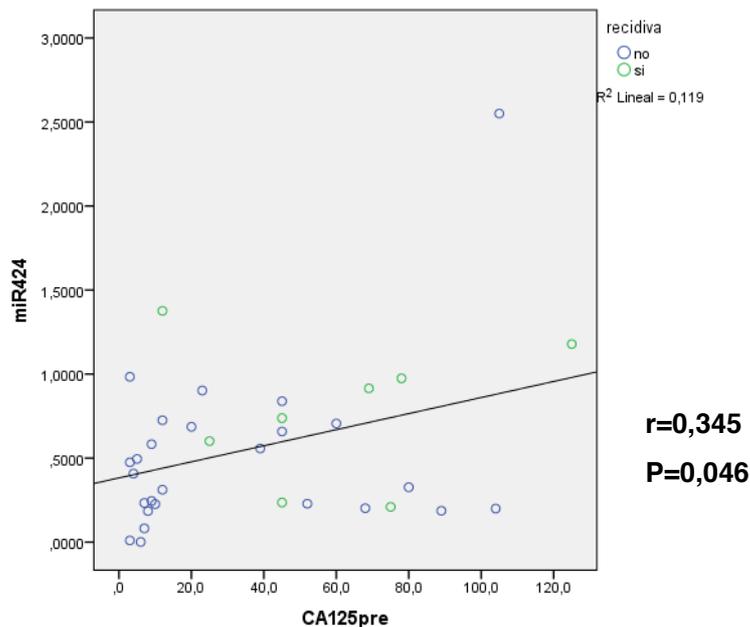


Figura 4.26. Correlación entre miR-424-5p y el CA 125 obtenido antes de la cirugía e función de recidiva o no recidiva. Se observa una correlación positiva significativa entre valores altos de Ca 125 precirugía e sobreexpresión del miR-424-5p en endometrio eutópico de las pacientes que experimentan posteriormente recidiva.

C.2. Determinaciones en endometrioma ovárico

C.2.1. Factores angiogénicos y fibrinolíticos

En los endometriomas de las pacientes que recidivarán, se encuentran valores significativamente mayores de las cifras PAI-1, así como menores de uPA, aunque de forma no significativa (**Tabla 4.35**).

Se observan mayores valores de VEGF-A y menores de TSP-1, de forma no significativa en los endometriomas del grupo de recidivas.

C.2.2. miRNAs implicados en angiogénesis y fibrinólisis

Se observa una tendencia a la infraexpresión de los miRNAs miR-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3 y miR-411-3p en los endometriomas que recidivan, aunque en ninguno de los distintos mi-RNAs analizados en endometrioma, se observan diferencias significativas entre ambos grupos (**Tabla 4.35**).

C.3. Determinaciones en Nódulo endometriósico profundo

Factores angiogénicos y fibrinolíticos

En los nódulos endometriósicos profundos de las pacientes que recidivarán, se encuentran valores mayores de TSP-1 y uPA, así como menores de VEGF-A y PAI-1, aunque de forma no significativa (**Tabla 4.36**).

miRNAs implicados en angiogénesis y fibrinólisis

Se observa una infraexpresión significativa del miR-373-3p y miR-556-3p en los nódulos endometriósicos profundos que luego recidivan. En el resto de miRNAs mi-RNAs analizados en nódulo de EIP, no se observan diferencias significativas entre ambos grupos (**Tabla 4.36**).

	n (no r/r)	No recidiva	Recidiva	Significación estadística
VEGF proteína (pg/mg)	24/6	99,51±22,50	113,79±60,11	NS
TSP-1 proteína (ng/mg)	23/6	1211,43±171,63	976,33±171,65	NS
uPA proteína (ng/mg)	14/2	1,23±0,22	0,84±0,22	NS
PAI-1 proteína (ng/mg)	23/6	18,28±4,42	37,12±11,85	p < 0,05
miR-15b	11/5	0,48±0,12	0,54±,15	NS
miR-16-5p	24/6	1,98±0,45	2,41±0,68	NS
mirR-17-5p	11/5	0,41±0,09	0,31±0,05	NS
miR-20a	11/5	0,66±0,18	0,48±0,10	NS
miR-21	11/5	2,24±0,39	1,74±0,40	NS
miR-29c-3p	24/6	10,75±1,62	6,66±2,71	NS
miR-125	11/5	2,02±0,49	1,26±0,19	NS
miR-138-5p	24/5	4,98±1,03	2,98±0,57	NS
miR202-3p	24/6	156,46±40,99	79,89±25,77	NS
miR-221	11/5	0,69±0,16	0,52±0,15	NS
miR-222	11/5	1,77±0,04	1,72±0,36	NS
miR-373-3p	24/5	1,75±0,27	2,14±0,78	NS
miR-411-5p	24/6	4,10±0,68	3,42±0,83	NS
miR-411-3p	24/6	2,08±0,63	0,91±0,04	NS
miR-424-5p	24/6	1,35±0,29	0,96±0,20	NS
miR-449b-3p	24/6	0,29±0,08	0,59±0,37	NS
miR-556-3p	24/5	0,90±0,22	1,41±0,68	NS
miR-636	24/6	1,25±0,26	1,25±0,28	NS
miR-935	24/6	1,57±0,41	2,46±0,81	NS

Tabla 4.35. Valores en Endometrioma de proteínas, y miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media. La expresión de miRNA se expresa como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; TSP: trombospondina; uPA: activador del plasminógeno tipo urokinasa; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; miR: microRNA; NS: No significación estadística.

	n (no r/r)	No recidiva	Recidiva	Significación estadística
VEGF proteína (pg/mg)	9/4	363,70±64,84	303,84±63,60	NS
TSP-1 proteína (ng/mg)	9/5	361,54±167,83	504,28±257,48	NS
uPA proteína (ng/mg)	5/4	0,27±0,17	0,56±0,20	NS
PAI-1 proteína (ng/mg)	9/5	5,93±2,19	4,10±1,86	NS
miR-15b	2/3	0,44±0,13	0,53±0,13	NS
miR-16-5p	9/5	11,57±4,27	13,52±5,87	NS
mirR-17-5p	2/3	0,34±0,00	0,67±0,26	NS
miR-20a	2/3	0,46±0,035	1,01±0,17	NS
miR-21	2/3	1,01±0,43	2,23±0,70	NS
miR-29c-3p	9/5	18,89±5,48	14,12±4,32	NS
miR-125	2/3	1,45±0,12	2,79±1,40	NS
miR-138-5p	9/4	14,32±2,96	20,25±4,56	NS
miR202-3p	9/5	20,10±9,24	8,94±5,25	NS
miR-221	2/3	0,50±0,00	0,98±0,14	NS
miR-222	1/3	1,05±0,01	2,11±0,22	NS
miR-373-3p	9/4	1,35±0,53	0,12±0,04	p < 0,05
miR-411-5p	9/5	6,92±1,58	5,82±0,75	NS
miR-411-3p	9/5	2,37±0,80	1,58±0,38	NS
miR-424-5p	9/5	1,88±0,63	1,28±0,22	NS
miR-449b-3p	9/5	0,74±0,25	0,49±0,15	NS
miR-556-3p	9/4	2,56±0,90	0,01±0,00	p < 0,05
miR-636	9/5	1,55±0,42	1,90±1,01	NS
miR-935	9/5	3,83±1,13	2,25±0,49	NS

Tabla 4.36. Valores en Nódulo endometriósico profundo de proteínas, y miRNAs asociados con diferentes factores angiogénicos y fibrinolíticos relacionados con endometriosis, en pacientes con o sin recidiva. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media. La expresión de miRNA se expresa como veces de cambio en relación a las mujeres sin endometriosis (endometrio control = 1). VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; TSP: trombospondina; uPA: activador del plasminógeno tipo urokinasa; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1; miR: microRNA; NS: No significación estadística.

3.3. PRONÓSTICO REPRODUCTIVO MEDIANTE MARCADORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES.

La descriptiva de las variables de interés del punto de vista reproductivo, así como los resultados reproductivos de la población estudiada, se reflejan en las **Tablas 4.37 y 4.38**

		n (%) / $\bar{x} \pm EEM$ (rango)
Esterilidad previa a cirugía		
	no	24 (55,8%)
	sí	19 (44,2%)
Tipos de esterilidad		
	Esterilidad primaria	17 (89,5%)
	Esterilidad secundaria	2 (10,5%)
Valor EFI		
		6,58 \pm 0,30 (2-9)
Rangos EFI		
	0-4	7 (16,3%)
	5-6	8 (18,6%)
	8-10	28 (65,1%)
Deseo gestacional postcirugía		
	no	18 (41,9%)
	sí	25 (58,1%)
Tratamiento fertilidad pacientes con deseo gestacional		
	Búsqueda espontánea gestación	11
	FIV-ICSI	11
	Ovodon	3

Tabla 4.37. Estadísticos descriptivos del punto de vista reproductivo. Los datos cualitativos se expresan en número de casos y porcentajes, y los cuantitativos como media \pm error estándar de la media (EEM).

Resultados	n	Embarazo	Meses de demora Gestación	Aborto	RN vivo
Reproductivos		n (%)	$\bar{x} \pm EEM$ (rango)	n (%)	n (%)
Búsqueda espontánea	11	7 (63,6%)	14 \pm 2,6 (8-24)	1 (9%)	6 (54,5%)
FIV-ICSI	11	7 (63,6%)	16,71 \pm 4,8 (6-48)	2 (18,1%)	5 (45,4%)
Ovodonación	3	2 (66,6%)	8,5 \pm 0,5 (8-9)	0 (0%)	2 (66,6%)
Total	25	16 (64%)	13,07 \pm 4,1 (6-48)	3 (12%)	13 (52%)

Tabla 4.38. Resultados reproductivos. Los datos cualitativos se expresan en número de casos y porcentajes, y los cuantitativos como media \pm error estándar de la media (EEM).

Se analizan las mismas variables clínicas, biomarcadores clásicos y nuevos biomarcadores en relación a la puntuación del Índice de Fertilidad en Endometriosis (EFI) obtenido en la cirugía, estableciendo dos grupos: pacientes con una puntuación EFI 0-4 (baja probabilidad de embarazo espontáneo); y pacientes con EFI 5-10 (media-alta probabilidad de embarazo espontáneo) (**Tabla 4.39**).

Se observan valores mayores del sumatorio VAS pre y postcirugía, así como del sumatorio EHP-30 precirugía en las pacientes con una puntuación EFI baja (0-4), aunque sin alcanzar la significación estadística.

No se observan diferencias en el valor del CA-125, tanto del obtenido antes como después de la cirugía, entre ambos grupos de puntuación EFI.

Se objetivan mayores cifras de VEGF y TSP-1 en el endometrio eutópico de las pacientes con EFI bajo, aunque sin alcanzar la significación estadística. Por contra, en este grupo de baja puntuación EFI se observan cifras menores de uPA y PAI-1, estadísticamente significativas en éste último

No se observan diferencias en el perfil de expresión de los miRNAs analizados entre ambos grupos, si bien fueron pocos los casos en que se dispuso de resultado de miRNAs dentro del grupo de pacientes con EFI bajo.

	n	EFI 0-4	EFI 5-10	Significación estadística
ΣVAS precirugía	7/28	242,85±53,66	162,85±23,04	NS
ΣVAS postcirugía	7/28	107,14±45,96	48,7500±14,74	NS
ΣEHP-30 precirugía	7/28	244,26±57,98	161,79±25,93	NS
ΣEHP-30 postcirugía	7/28	23,94±12,38	49,35±18,58	NS
CA 125 precirugía	6/22	38,66±14,38	34,09±8,09	NS
CA 125 postcirugía	5/17	7,40±1,28	13,23±5,09	NS
VEGF (pg/mg)	5/28	393,91±261,88	266,77±51,07	NS
TSP-1 (ng/mg)	6/27	175,64±57,86	106,48±16,86	NS
uPA (ng/mg)	4/13	1,06±0,27	1,34±0,31	NS
PAI-1 (ng/mg)	6/23	3,21±0,43	7,95±1,75	p<0,05
miR-15b	3/13	0,87±0,45	0,85±0,35	NS
miR-16-5p	7/28	2,21±,55	1,37±0,27	NS
mirR-17-5p	3/13	0,91±0,31	0,79±0,22	NS
miR-20a	3/13	0,71±0,29	1,02±0,34	NS
miR-21	3/13	1,06±0,25	0,90±0,18	NS
miR-29c-3p	7/28	0,90±0,12	1,05±0,22	NS
miR-125	3/13	0,89±0,22	0,76±0,10	NS
miR-138-5p	7/28	1,43±0,48	1,20±0,18	NS
miR202-3p	7/27	0,53±0,20	0,58±0,12	NS
miR-221	3/13	0,65±0,05	0,64±0,21	NS
miR-222	3/13	0,82±0,18	0,58±0,12	NS
miR-373-3p	7/28	0,63±0,14	0,81±0,13	NS
miR-411-5p	7/28	0,75±0,17	0,62±0,08	NS
miR-411-3p	7/27	0,64±0,14	0,79±0,07	NS
miR-424-5p	7/28	0,53±0,15	0,50±0,09	NS
miR-449b-3p	7/28	0,34±0,12	0,48±0,09	NS
miR-556-3p	7/28	0,61±0,25	0,53±0,12	NS
miR-636	7/27	0,98±0,26	1,20±0,18	NS
miR-935	7/27	0,77±0,24	0,99±0,16	NS

Tabla 4.39. Resultados de los marcadores clínicos, biomarcadores clásicos y nuevos biomarcadores, en función del valor EFI. Los datos se expresan como media ± error estándar de la media.

V. DISCUSIÓN

Diagnostico precoz. Diagnóstico de endometriosis profunda

La endometriosis es una enfermedad, cuyos síntomas principales, dolor y esterilidad conllevan a un fuerte deterioro en la calidad de vida de estas pacientes, así como numerosos gastos directos e indirectos en los sistemas de salud (Nnoaham et al., 2011; Simoens et al., 2011a,b). Es conocida su complejidad diagnóstica, tanto en el diagnóstico precoz, como en la detección de la enfermedad instaurada. Esto hace necesario la búsqueda de nuevos métodos diagnósticos o la mejora de los presentes, que faciliten el diagnóstico en estos dos aspectos.

A pesar de los numerosos recursos destinados a estudiar esta enfermedad no se ha encontrado ningún método diagnóstico que permita la **detección en estadios precoces** de la enfermedad, donde se podrían instaurar medidas preventivas e impedir la evolución a estadios avanzados. Los mejores candidatos en este aspecto del diagnóstico precoz serían los biomarcadores. En el presente estudio hemos analizado una serie de biomarcadores clásicos (CA-125 y CA-19.9) y otros más novedosos (miRNAs relacionados con factores angiogénicos relacionados con la endometriosis o angiomiRNAs)

Hemos observado que el CA-125 antes de la cirugía estaba aumentado en menos de la mitad de los casos, lo que le confiere un escaso valor diagnóstico. Se observa sin embargo, que se normalizan tras la cirugía el 81,8% de los valores que estaban aumentados antes de ésta, lo cual si le da valor como método de control o respuesta al tratamiento

Respecto al marcador tumoral CA-19.9, objetivamos que el 92% de pacientes antes de la cirugía, así como el 100% tras ésta, presentan valores normales no aumentados. No parece tener por tanto, valor diagnóstico ni evaluador de la respuesta al tratamiento en la endometriosis.

Se analizaron los niveles de angiomiRNAs en endometrio eutópico, endometrioma ovárico y nódulo de EIP en relación a los valores obtenidos en el endometrios control. No encontramos diferencias significativas en los distintos miRNAs analizados en endometrio eutópico vs controles, posiblemente debido al

escaso número de casos y controles. En otro trabajo realizado previamente por nuestro grupo con mayor número de casos (32 controles y 51 endometrios eutópicos) si encontró una menor expresión de los miRNAs miR-202-3p, -424-5p, -449-3p y -556-3p y una sobreexpresión del miR-138-5p en endometrio eutópico de pacientes con endometriosis en relación a los controles (Braza-Bóils A et al, 2014). Creemos interesante seguir estudiando estos perfiles de expresión de mi-RNAs en endometrio eutópico, para confirmar los resultados previos, así como su determinación en plasma, ya que podrían constituir un biomarcador no invasivo para el diagnóstico precoz en endometriosis.

Sí encontramos diferencias significativas en la expresión de miRNAs en endometrioma (sobreexpresados el mi-R-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3p, miR-411-3p, miR-411-5p y el miR-424-5p) y en nódulo EIP (sobreexpresados el mi-R-29c-3p, miR-138-5p, miR-202-3p y miR-411-5p), respecto al endometrio control y de forma similar a estudios previos. Estas diferencias encontradas, a pesar del poco número de casos analizados, pone de manifiesto un perfil de expresión de dichos miRNAs claramente diferenciado en los tejidos endometriósicos respecto al endometrio control.

El miR-202-3p está muy significativamente sobreexpresado en endometrioma respecto al nódulo EIP. La sobreexpresión de dicho miRNA se ha visto que disminuye la expresión de la proteína GLI-1 (Zhao Y et al, 2013), la cual regula a su vez la producción de VEGF-A y posiblemente la proteína antiapoptótica BCL-2. Así la sobreexpresión del miR-202-3p en endometrioma conduce a bajos niveles de VEGF-A que podrían explicar la menor capacidad angiogénica del endometrioma en relación a otros tejidos endometriósicos (Braza-Bóils A et al, 2014)..

El **diagnóstico** de la enfermedad ya instaurada es también complejo, especialmente en la **endometriosis profunda**. Esta dificultad en la detección de endometriosis profunda es una de las principales causas del retraso diagnóstico en endometriosis. Por ello hemos analizado la capacidad de una serie de marcadores clínicos y biomarcadores para detectar enfermedad profunda.

Cabe destacar que en esta serie prospectiva, se observó una alta prevalencia de endometriosis profunda (56,7%%), superior a la esperada, la cual se cifra en torno al 20-30% de las endometriosis (Vercellini P et al, 2004), Esto se puede explicar por la existencia de un gran número de casos complejos remitidos a nuestra Unidad de Endometriosis.

Se analizó también la presencia de EIP en función del estadio ASRM y la puntuación rASRM. Aunque los casos de EIP si presentaban medias significativamente mayores de puntuación ASRM, no se observaron diferencias significativas en la presencia de EIP entre los diferentes estadios ASRM, Al igual que concluyen otros autores (Fedele L et al, 1990; Vercellini P et al, 1996 y 2007a), vemos que el estadio ASRM no es una buena clasificación para valorar la presencia de endometriosis profunda.

Respecto a los marcadores clínicos, existen estudios que relacionan la puntuación VAS de dolor con la presencia de endometriosis profunda o severa (Villa G et al, 2007; Seracchioli R et al, 2008; Lafay-Pillet MC et al, 2014). Hay también múltiples trabajos recientes, que han validado, tanto las escalas VAS de dolor, como el cuestionario EHP-30 como evaluadores de la efectividad de diversos tratamientos en términos de dolor y calidad de vida (Bailly E et al, 2013; Caruso S et al, 2015; Shokeir T et al 2015; Grandhi G et al, 2015). En este aspecto, hemos comprobado también en nuestro estudio que tanto la escala VAS de dolor, como el cuestionario EHP-30 suponen un buen instrumento para evaluar la eficacia del tratamiento. Se observó una disminución significativa tras la cirugía de todos los valores VAS, (excepto la disuria) y los valores de todos los dominios de que consta el cuestionario EHP-30 (excepto la esterilidad).

Observamos mayores valores de VAS prequirúrgico en todos los tipos de dolor, en las pacientes con endometriosis profunda, alcanzando la significación estadística en el dolor pélvico crónico y la disquecia.

Dichos valores podrían ser útiles para predecir la existencia de endometriosis profunda, pero sólo se podrían emplear en las pacientes que presentan este tipo de

dolor. Para evitar esto, creamos la variable sumatorio (Σ VAS) de todos los tipos VAS de dolor. Dicha variable podría ser aplicable a todas las pacientes, y a pesar de que algunos o todos los tipos de dolor no están presentes en determinadas pacientes, encontramos un valor significativamente elevado del Σ VAS precirugía, en las pacientes en que la cirugía confirmó endometriosis profunda. Lo mismo sucedió con el Σ VAS postcirugía.

A diferencia de la escala VAS de dolor, no hay estudios que relacionen el cuestionario de calidad de vida en endometriosis EHP-30, con la presencia de endometriosis profunda. Sin embargo, al analizar el cuestionario central **EHP-30**, observamos aún más diferencias que con los valores VAS. Todos los dominios de evaluación del cuestionario (Dolor, Autocontrol, Bienestar emocional, Apoyo social y Autoimagen) presentaban valores antes de la cirugía significativamente mayores en las EIP. Esto sucedía también con la mayoría de valores EHP-30 postcirugía.

Al igual que con el Σ VAS, empleamos el Σ EHP30, a modo de sencillo índice que aglutinara los valores de todos los dominios del EHP-30 y que sería aplicable a cualquier paciente que complete el cuestionario EHP-30 precirugía. Encontramos también con el sumatorio Σ EHP30 precirugía, valores de afectación de calidad de vida significativamente mayores en las pacientes con endometriosis profunda.

Al comprobar que ambos sumatorios podían discriminar la presencia de EIP y podían ser aplicables a todas las pacientes, se buscó el mejor punto de corte en estas dos variables clínicas para predecir endometriosis profunda. Se objetivó en las curvas ROC que el mejor punto para la variable Σ VAS precirugía es el valor 90 (Sensibilidad 61,5% y Especificidad 82,4%); y para la variable Σ EHP30 precirugía el valor 120 (Sensibilidad 82,5% y Especificidad 92,3%). El Σ VAS presentó un área bajo la curva de 0,79 y el Σ EHP30 una amplia área bajo la curva de 0,91, mostrándose como una muy buena variable para discriminar entre presencia/ausencia de EIP.

Se analizaron también los biomarcadores CA-125 y CA-19.9 pre y postcirugía respecto a presencia de endometriosis profunda. Se observaron cifras de CA-125 mayores en el grupo de no EIP, aunque no estadísticamente significativas. El CA-125

no parece tener relación con la EIP. Los valores de CA-19.9 fueron normales y sin diferencias en ambos grupos.

Analizamos también, los valores de angiomiRNAs en endometrio eutópico entre ambos grupos. No se observaron diferencias significativas en la expresión de dichos miRNAs entre las pacientes con o sin EIP. No obstante, al igual que observamos un perfil de expresión diferente de dichos miRNAs en las lesiones profundas, respecto al endometrio eutópico, creemos que con un mayor número de casos, encontraremos posiblemente diferencias en el perfil de expresión de angiomiRNAs entre el endometrio eutópico de pacientes con endometriosis profunda, respecto a las que no tienen.

Diagnóstico por imagen

Pasando al diagnóstico por imagen en endometriosis, hemos observado que para la endometriosis ovárica, tanto la ecografía como la RNM tienen un elevado rendimiento diagnóstico con una elevada sensibilidad y especificidad (S 93,7%, E 94,7%; y S 91,3%, E 92,5% respectivamente). Dichos datos son congruentes con los encontrados en la literatura (Guerriero S et al, 2009; Tammaa A et al, 2015).

La valoración de determinados signos ecográficos (ausencia de *acoustic streaming*, calcificaciones en la pared quística, ausencia de vascularización intraquística, presencia de bilateralidad o varias imágenes quísticas en un mismo ovario) y de resonancia (*shading* y *T2 dark spot sign*) contribuyen a dichas cifras de elevada precisión diagnóstica.

El diagnóstico por imagen de las lesiones endometriósicas profundas es técnicamente más difícil, pasando habitualmente desapercibidas en las exploraciones habituales y siendo causa importante del retraso diagnóstico en esta enfermedad. En nuestro trabajo hemos encontrado para las diferentes técnicas de imagen una elevada capacidad diagnóstica en la detección de presencia vs ausencia de enfermedad profunda con una alta sensibilidad (ETV 93,1%, RNM 90%, RNM gel 94,7%) y especificidad máxima (100% en las tres) por ausencia de falsos positivos. Este dato que es importante para la detección de enfermedad, no es suficiente para un manejo

adecuado de la misma. Es necesaria una detección precisa de la localización y extensión de las lesiones para una planificación adecuada del tratamiento.

En este sentido el mapeo adecuado de todas las posibles lesiones, mediante técnicas de imagen, nos pueden aportar muchos datos para dicha planificación:

-decidir entre un tratamiento médico o quirúrgico en función de la clínica y la extensión de las lesiones. La endometriosis profunda puede tener un abordaje médico de entrada, salvo en casos de uropatía obstructiva, estenosis intestinales clínicamente manifiestas o ante lesiones anexiales de naturaleza dudosa (Vercellini P et al, 2009b).

-seleccionar un cirujano avanzado. Se ha demostrado que el porcentaje de recidiva y la persistencia del dolor pueden ser debidas a excisiones incompletas de las lesiones (Fedele L et al, 2005; Vercellini P et al, 2009a; Dousset B et al, 2010).

-ayuda al cirujano que lesiones tratar. Muchas de estas lesiones están ocultas bajo un cuadro adherencial, son retroperitoneales y en muchos casos múltiples, de modo que pueden pasar desapercibidas, incluso en cirujanos expertos (Chapron C et al, 2012).

-seleccionar un equipo multidisciplinar. Es habitual en el abordaje de la endometriosis profunda, el diagnóstico preoperatorio únicamente de endometriomas, detectándose las lesiones profundas tras la realización de una laparoscopia. En una segunda intervención un cirujano más avanzado detecta lesiones que precisan de actuación por coloproctólogos o urólogos de manera urgente o se planifica una tercera intervención. Es importante en la medida de lo posible, cambiar esta vía de abordaje, mediante un mapeo preoperatorio adecuado de las posibles lesiones, que permita planificar una única cirugía en la que intervenga un equipo multidisciplinar.

-planificación del quirófano. En este trabajo hemos demostrado que empleando un sistema de puntuación tras el mapeo de las lesiones (Endometriosis Surgical Ultrasonographic System, -ESUS-) (Exacoustos C et al, 2014), podemos hacer una estimación aproximada de los tiempos quirúrgicos.

El mapeo de las lesiones mediante técnicas de imagen es por tanto mandatorio para una planificación óptima del tratamiento. En este contexto, analizamos la precisión diagnóstica de la ETV, la RNM y RNM con gel, para cada posible localización de enfermedad.

Para la endometriosis vesical las tres técnicas presentan una especificidad máxima sin falsos positivos, sin embargo las tres presentan cifras de sensibilidad moderadas. Se escapan los casos de afectación difusa sin presencia de nódulos definidos. Se objetiva que la opacificación vagino rectal con gel en la RNM no mejora la sensibilidad de la ecografía.

Respecto a la endometriosis retrocervical, tanto la ETV como la RNM tienen una elevada especificidad, aunque una sensibilidad moderada. La RNM con gel, aunque sólo estudió 2 casos, presentó una sensibilidad y especificidad máximas y se intuye como la mejor técnica a este nivel.

En la endometriosis rectal, hemos observado que la ETV aparece como la mejor técnica con una elevada sensibilidad y especificidad máxima. Además de presentar un alto rendimiento diagnóstico, tanto en la exclusión como en la detección de enfermedad, la ETV nos permite definir mejor que la RNM, una serie de características importantes en las lesiones profundas rectales de cara a la decisión del tratamiento quirúrgico. Permite delimitar adecuadamente el número de nódulos, su tamaño, su morfología, y el grado de infiltración de la lesión endometriósica, tanto en profundidad como en superficie. Esta superioridad sobre la RNM, con o sin gel, posiblemente sea debida a que las imágenes de RNM se deterioran con los movimientos intestinales.

A pesar del excaso número de casos de resección intestinal, se han estudiado cuales de estas características son más predictoras para una posible resección intestinal, encontrando que un tamaño del nódulo mayor de 3cm, la infiltración por el nódulo de la submucosa rectal y una infiltración por dicho nódulo superior al 50 % de la circunferencia rectal; son las 3 variables con mayor asociación a resección intestinal.

De forma complementaria a ésto último, en el transcurso del estudio, observamos que en todos los casos con infiltración >50% de superficie, se visualizaba en un corte sagital del recto, que el nódulo localizado en cara anterior rectal contactaba con la pared posterior. Dicha imagen representa la presencia de una obstrucción intestinal significativa y podría constituir un sencillo y nuevo signo ecográfico altamente predictor de resección intestinal (**Vídeo 10**).

Otro dato importante de cara a la cirugía es la distancia del nódulo al margen anal. En este aspecto La RNM es superior a la ETV, aunque mediante ETV se hizo estimación precisa (100%) de las lesiones que estaban a una distancia inferior a 6 cm del margen anal, dato que marca la necesidad de realizar una posible ileostomía de descarga en estos casos de resecciones tan bajas y con elevado riesgo de dehiscencia de la anastomosis rectal termino-terminal.

Es sabido que la decisión de resección intestinal o de ileostomía de descarga no se puede predecir preoperatoriamente al 100% y esa decisión sólo se puede resolver intraoperatoriamente en función de los hallazgos quirúrgicos (Alabiso G et al, 2015). De todos modos es importante hacer una predicción lo más exacta posible. Estamos ante pacientes jóvenes y en un contexto no oncológico donde determinadas acciones más radicales pueden ser no bien aceptadas, por lo que es importante informar a las pacientes de la extensión de la enfermedad, de las opciones terapéuticas y su correspondiente consentimiento informado.

Pasando a la localización rectovaginal, tanto la ETV como RNM demuestran una muy alta especificidad, aunque una baja sensibilidad. En la ecografía el uso asociado de la ecografía transperineal 3D consigue aumentar dicha sensibilidad, ya que aumenta la precisión en lesiones más pequeñas y en un nivel más caudal del TRV. La RNM con gel presenta para esta localización una sensibilidad y especificidad máximas.

Respecto a la endometriosis de localización vaginal, la ETV y la RNM tienen también una alta especificidad, aunque muy baja sensibilidad. Para esta localización la RNM con gel tiene también sensibilidad y especificidad máximas.

Es importante recalcar que todos los casos no detectados por ETV o RNM, si fueron detectados mediante exploración física. En este sentido, algunos investigadores (Koninckx PR et al, 2012) demuestran que el diagnóstico preciso de la DIE basado en la exploración física es posible, cuestionando la precisión tanto de la ETV, como la RNM, definiéndolas como técnicas muy operador dependientes. La mayor precisión de la exploración física, respecto a la ETV, para la detección de endometriosis vaginal reflejada en nuestro estudio, confirma que la exploración digital es superior a la ETV

en esta localización. Sin embargo, aunque en este estudio no fue evaluada la precisión de la exploración física por localizaciones, sabemos que ésta puede fácilmente no detectar lesiones rectales altas y no es capaz de describir precisamente las dimensiones y localización exacta de las lesiones profundas, especialmente en el compartimento lateral y anterior (Exacoustos C et al, 2014).

En la endometriosis a nivel del compartimento lateral: LUS y parametrial, las tres técnicas demuestran alta especificidad, aunque escasa sensibilidad por bastantes falsos negativos. Este hecho de la baja sensibilidad de las técnicas de imagen en el diagnóstico preoperatorio de endometriosis profunda en los LUS, supone un menor problema, ya que dichas lesiones son más fácilmente detectables y solucionables intraoperatoriamente por cualquier cirujano. Por contra en la endometriosis parametrial-ureteral, su falta de detección preoperatoria conlleva un importante problema, ya que su detección intraoperatoria es compleja, sobre todo cuando no hay afectación-dilatación ureteral, pasando habitualmente desapercibida. Además dicha localización, suele requerir maniobras quirúrgicas avanzadas, la presencia de un urólogo o planificar cateterizaciones ureterales que faciliten la cirugía.

Es conveniente recordar que en nuestro estudio, todos los casos diagnosticados presentaban ureterohidronefrosis asociada por la compresión ureteral a nivel parametrial. El hallazgo de dilatación ureteral facilita la búsqueda o sospecha de posibles nódulos endometriósicos a dicho nivel, por ello en toda exploración ecográfica ginecológica en general, pero sobre todo en un contexto de endometriosis, debería incluir una valoración ecográfica abdominal de los riñones en busca de una posible hidronefrosis.

Hemos observado que el hallazgo de dos, de estos tres signos ecográficos: la ausencia de hidronefrosis más la visualización del jet ureteral a nivel vesical o la observación la movilidad ureteral a nivel de la porción intramural de la vejiga, descartan ampliamente endometriosis parametrial con afectación ureteral, con un VPN del 100% (**Vídeo 8**).

En resumen, observamos que la ETV tiene una alta capacidad confirmatoria en la detección de enfermedad en todas las localizaciones, pero una moderada sensibilidad en general, escapándose cierto número de lesiones. La RNM no mejora

los resultados de la ETV. Esta baja sensibilidad es subsanada con la RNM con gel, especialmente para la localización retrocervical, TRV y vaginal. La ETV es la mejor técnica para la evaluación de la endometriosis rectal. La endometriosis parametrial con afectación ureteral es bien detectada por cualquiera de las tres técnicas, siendo la endometriosis parametrial sin dilatación ureteral el principal reto a mejorar de las técnicas de imagen.

En definitiva todos estos datos, y de acuerdo con otros autores (Hudelist G et al, 2011, Vimercati A et al, 2012; Guerriero s et al, 2015; Noventa M et al, 2015), nos llevan a la conclusión de que la ecografía debe ser la técnica de elección inicial para el diagnóstico de la endometriosis profunda por su alta especificidad en la detección de lesiones. Las indicaciones de la RNM, en especial asociada a la opacificación vagino-rectal con gel, quedarían para aquellos casos dudosos o negativos por ecografía, pero en los que hay alta sospecha de endometriosis profunda dada por la exploración clínica y/o los marcadores clínicos también analizados en este estudio.

Hemos demostrado que el diagnóstico de la enfermedad profunda mediante ecografía es posible con una alta precisión diagnóstica general, sin embargo se ha visto que dicho diagnóstico sólo es efectivo en manos expertas (Hudelist G et al, 2011a,b) y requiere un gran entrenamiento. Se estima que son necesarias alrededor de 30-40 exploraciones para conseguir (Piessens S et al, 2014; Tammaa A et al, 2014) cifras óptimas de efectividad diagnóstica, siendo este hecho difícil de conseguir fuera de unidades especializadas. Es por tanto necesario, al igual que con los marcadores clínicos y biomarcadores analizados en el presente estudio, buscar una serie de signos ecográficos sencillos que faciliten y simplifiquen la sospecha de enfermedad profunda para la mayoría de ginecólogos. En este trabajo, tras una búsqueda en la literatura de posibles candidatos, hemos validado una serie de signos ecográficos, que hemos llamado indirectos y que pueden ayudar en esta tarea.

El signo de deslizamiento negativo, el hallazgo de "kissing ovaries", la presencia de un útero en anteversión-retroflexión y la detección de ovarios fijos no móviles, han demostrado una asociación significativa y elevada especificidad (90,4%, 90,4%, 100% y 91,6% respectivamente) con la presencia de endometriosis profunda del compartimento posterior. Su hallazgo, antes de visualizar directamente las lesiones, es altamente sugestivo de endometriosis profunda posterior. Estos signos

presentan sin embargo, bajas cifras de sensibilidad. La presencia de un signo de deslizamiento positivo o la ausencia de los otros tres signos, no excluye la presencia de enfermedad.

El signo de deslizamiento, sin embargo presenta una asociación significativa y alta correlación ($r: 0.913$) con la presencia de un Douglas ocluido, es decir con endometriosis profunda del compartimento posterior severa. Presenta para este aspecto una especificidad del 93,3% y una Sensibilidad máxima (100%). Así, en función de nuestros resultados, la presencia de un deslizamiento positivo no descarta endometriosis profunda posterior, pero si que descarta completamente sus formas más severas. El signo de deslizamiento, aparece por tanto, como un buen candidato para el cribaje de endometriosis profunda severa del compartimento posterior por su sencillez, y sensibilidad y VPN máximos (**Vídeo 2**).

Pronóstico de recidiva

En la serie retrospectiva, al igual que en la parte prospectiva, observamos unos buenos resultados postquirúrgicos en términos de dolor y calidad de vida. Se observa tras la cirugía, valores medios VAS de los diferentes tipos de dolor más bajos. Se analizó el porcentaje de pacientes con mejoría (desaparación u disminución de valor VAS postquirúrgico): en dismenorrea (89,5% de las pacientes), dispareunia (74,1%), dolor crónico (92%), disquecia (93,3%) y disuria (66,6%). Se objetiva también menores valores EHP 30 postquirúrgicos, en todos los dominios del cuestionario central y el modular.

Hemos observado durante el periodo analizado (2-9 años), una tasa de recidiva del 23,2% (tiempo medio recidiva: 25,12 meses). Sin embargo, varios estudios que analizaron también diversos grados de endometriosis (I a IV) y con un amplio margen de observación (5-7años), pero en poblaciones mayores, han demostrado incluso una mayor tasa de recidiva en torno al 34-58% (Cheong et al, 2008 ; Shakiba et al, 2008). El riesgo de recidiva o reintervención en la endometriosis es por tanto elevado, por lo que resulta interesante buscar elementos que consigan predecirla, y además de una manera no invasiva. Hemos observado que determinados marcadores clínicos y biomarcadores pueden darnos información en este aspecto.

En los valores **VAS de dolor**, se observan una tendencia de mayores valores VAS para todos los tipos de dolor, tanto prequirúrgicos como postquirúrgicos, en las pacientes con recidiva. Están significativamente aumentados los valores VAS prequirúrgicos de dismenorrea y dolor crónico; y los valores VAS postquirúrgicos de dismenorrea, dispareunia y disquecia.

Al igual que en el estudio prospectivo se empleó la variable sumatorio de todos los tipos VAS de dolor (Σ VAS), ya que dicha variable podría ser aplicable a todas las pacientes, y a pesar de que algunos tipos de dolor no están presentes en determinadas pacientes, encontramos unos valores significativamente elevados, tanto del Σ VAS precirugía, como del Σ VAS postcirugía en las pacientes que posteriormente recidivan.

Al analizar el cuestionario central **EHP-30**, observamos aún más diferencias que con los valores VAS. Todos los dominios de evaluación del cuestionario (Dolor, Autocontrol, Bienestar emocional, Apoyo social y Autoimagen) presentaban valores antes de la cirugía significativamente mayores en las recidivas. Esto sucedía también con la mayoría de valores EHP-30 postcirugía.

Al igual que con el Σ VAS precirugía, encontramos con el sumatorio Σ EHP30 precirugía valores de afectación de calidad de vida significativamente mayores en las pacientes que presentarán una recaída meses después. Esta variable sería también aplicable a cualquier paciente que complete el cuestionario EHP-30 precirugía.

Buscando el mejor punto de corte en estas dos variables clínicas para predecir una posible recidiva, observamos en las curvas ROC que el mejor punto para la variable Σ VAS precirugía es el valor 285 (Sensibilidad 60% y Especificidad 85%); y para la variable Σ EHP30 precirugía el valor 280 (Sensibilidad 90% y Especificidad 80%). El área bajo la curva se mostró superior en el Σ EHP30 (0,89) que en el Σ VAS (0,78).

En el análisis de los biomarcadores **CA-125** y **CA-19.9**, observamos que el marcador tumoral CA-125 antes de la cirugía está aumentado en menos de la mitad de pacientes (escaso valor diagnóstico) al igual que en serie prospectiva. Se observa que de los valores aumentados precirugía, se negativizan el 80%, coincidiendo con mejoría sintomática. Aparece, por tanto, como un marcador de respuesta inicial al tratamiento en aquellos casos que está aumentado previamente. Respecto a la recidiva, los valores de CA-125 precirugía son significativamente mayores en el grupo que desarrolla recidiva posterior. No encontramos ninguna correlación entre el valor de CA-125 con ninguna variable clínica de dolor o afectación de calidad de vida. Posiblemente un aumento de CA-125 no se traduciría en una mayor agresividad clínica, sino con un comportamiento biológico del tejido endometriósico diferente que tiende a la recidiva.

En referencia al CA-19.9, el 97,2 % de determinaciones antes de la cirugía y el 100% tras ella, son valores normales no aumentados. El CA19.9 no presenta valor diagnóstico, ni evaluador de respuesta al tratamiento. No parece, por tanto, relacionado con la endometriosis. No son tenidas en cuenta tampoco, por tanto, sus variaciones en relación a la recidiva.

Pasando a los biomarcadores (**proteínas y miRNAs**) analizados precirugía en **endometrio eutópico** se ha observado en las pacientes recidivantes:

-valores significativamente menores de VEGF-A y mayores de TSP-1. El VEGF-A es una proteína implicada en angiogénesis y la TSP-1 es una inhibidora de dicha angiogénesis. Estudios previos han demostrado un aumento de VEGFA en endometrio eutópico de pacientes con endometriosis en general (Braza Böils A et al, 2014). Así, estos valores de VEGF-A significativamente menores hallados en las pacientes con recidiva, supone una menor capacidad angiogénica, que podría influir en una menor biodisponibilidad farmacológica a nivel del tejido migrado, reduciendo el efecto preventivo que la medicación hormonal tiene en la reducción de la recidiva (Vercelli P et al, 2009)

-valores menores de uPA y significativamente menores de PAI-1. Estudios previos han demostrado un aumento de uPA en endometrio eutópico de pacientes con endometriosis. Dicha proteína produce un estímulo de la fibrinólisis implicada en la degradación de la matriz extracelular durante el establecimiento del implante endometriósico (Gilabert-Estellés J et al, 2003). No hay estudios que analicen estas proteínas en función de la recidiva y desconocemos la explicación de porqué existen menores valores de uPA y PAI-1 en estos casos recidivantes. Si esto se comprueba ampliando el número de casos, podría explicar un comportamiento biológico diferencial del endometrio en la patogénesis de la recidiva.

Analizando el perfil de expresión de diferentes miRNAs relacionados con angiogénesis y fibrinólisis en endometrio eutópico, hemos encontrado:

- el miR-21 se encuentra infraexpresado y el miR-424-5p sobreexpresado, ambos de forma significativa, en el endometrio de las pacientes que desarrollarán recidiva.

-una tendencia sin diferencias significativas, a la sobreexpresión de miR-16-5p, miR-138-5p y miR-411-5p; y a la infraexpresión del miR-20a. Con un mayor número de casos, estos valores detectados, estarían posiblemente, diferencialmente expresados en el endometrio eutópico de las paciente recidivantes.

Es interesante la correlación detectada entre la sobreexpresión del miR-424-5p y otras variables asociadas en nuestro estudio a la presencia de recidiva posterior: valores elevados de Σ VAS precirugía, Σ EHP30 precirugía y CA-125 precirugía. En espera de confirmar estos resultados con más casos, estas serían las variables a tener en cuenta para la creación de un *score* o algoritmo diagnóstico no invasivo predictor de recidiva, por su asociación significativa y su obtención antes de la cirugía.

Se ha analizado también el perfil de expresión de estos biomarcadores en función de la recidiva, en **endometrioma** y **nódulos de EIP**.

-en el endometrioma, en el grupo de recidiva: se observan mayores valores de VEGF-A, menores de TSP-1, menores de uPA, aunque sin diferencias significativas;

y significativamente mayores de PAI-1. No se observan diferencias significativas en los perfiles de expresión de miRNAs entre ambos grupos.

-en los nódulos de endometriosis profunda, en el grupo de recidiva: se observan menores valores de VEGF-A, mayores de TSP-1, mayores de uPA y menores de PAI-1, aunque sin diferencias significativas. Los miR-373-3p y miR-556-3p están significativamente infraexpresados.

Son pocos los casos analizados en endometrioma y nódulos de EIP para la comparativa entre recidiva vs no recidiva posterior, por lo que necesitamos más casos, para confirmar estas tendencias y encontrar una posible explicación a éstas. En cualquier caso, estos hallazgos no establecerían un perfil de recidiva no invasivo, sino determinaciones obtenidas tras la cirugía que pudieran influir en nuestras decisiones clínicas de forma postquirúrgica.

Conocer a priori el riesgo de recidiva puede servir de ayuda para la toma de decisión de ciertas actitudes clínicas: decidir el tratamiento inicial (médico o quirúrgico), la actitud quirúrgica, el tipo de tratamiento tras la cirugía o la necesidad de un mayor seguimiento.

Respecto a la decisión de **tratamiento inicial**, al no existir tratamiento etiológico, y por tanto, imposibilidad de curación completa en la actualidad, el tratamiento se basa en 3 principales objetivos: 1) reducir el dolor, 2) aumentar la posibilidad de embarazo si existe deseo genésico y 3) retrasar la recurrencia, tanto como sea posible (Donnez J et al, 2004). Si se pudiera conocer a priori con fiabilidad las posibilidades de recurrencia, este perfil de recidiva pasaría de ser un objetivo a ser un criterio para seleccionar el tipo de tratamiento más adecuado.

En la **endometriosis profunda** el tratamiento quirúrgico ha demostrado ser claramente efectivo para el primero de los objetivos, consiguiendo además una reducción del dolor de forma rápida (Fritzer N et al, 2014; Meuleman C et al, 2014). Sin embargo, dicho tratamiento no está exento de efectos secundarios severos como lesiones viscerales y nerviosas. Por otro lado el tratamiento farmacológico, sólo si es prolongado, también ha demostrado reducir el dolor en la EIP, aunque de una forma más progresiva y con menos efectos adversos severos (Vercellini P et al, 2009). Ante

esto, algunos autores proponen la excisión quirúrgica de las lesiones en EIP, cuando los síntomas dolorosos persisten tras tratamientos farmacológicos como primera línea; y a excepción de los casos con uropatía obstructiva por compromiso ureteral o estenosis intestinales sintomáticas, donde si hay consenso en que la cirugía sería el abordaje de elección inicial (Ferrero S et al, 2015). Teniendo en cuenta todas estas consideraciones, parece razonable en las pacientes con endometriosis profunda con un alto perfil de recidiva y reintervención, plantear de entrada un tratamiento farmacológico continuo y prolongado, dejando la cirugía para los casos que no mejoren con dicho tratamiento, evitando así las cirugías repetidas.

Respecto al tratamiento de **infertilidad** asociado a **Endometriosis profunda**, hay series de casos que afirman un beneficio con la cirugía, basado en una tasa de embarazos del 42% tras ésta (Somigliana E y García-Velasco JA, 2015). En nuestro estudio, a pesar de los pocos casos, hemos encontrado una tasa de embarazo tras cirugía de 50% (50% por FIV, 33,3% ovodonación, 16,7% espontáneos), aunque una tasa de recién nacido vivo del 25% (66,7% por FIV, 33,3% ovodonación). Sin embargo estos datos son cuestionables, hay muchos factores de confusión en la esterilidad y posiblemente se sobreestima el beneficio de la intervención. Aunque faltan estudios comparativos, la FIV/ICSI puede ser una alternativa válida de entrada en la EIP, aunque menos efectiva que en otras indicaciones y tampoco exenta de riesgos (Somigliana E y García-Velasco JA, 2015). Aunque algunos autores no encuentran una progresión de los síntomas con la estimulación ovárica, se ha sugerido que la estimulación ovárica puede hacer progresar las lesiones, describiéndose casos de complicaciones ureterales, intestinales, neumotórax o rotura de vasos pélvicos. Estos efectos adversos, afortunadamente escasos, parecen haberse visto más en los casos más severos y recidivantes (Setúbal A et al, 2015). Según esto, en los casos con un perfil alto de recidiva, parece más seguro decantarnos por un tratamiento quirúrgico previo a iniciar un proceso de estimulación ovárica para FIV/ICSI; Los casos con perfil bajo de recidiva posiblemente serían candidatos a realizar FIV/ICSI de entrada.

En el caso de la **endometriosis ovárica** y predominio de **dolor**, el tratamiento médico puede aliviar éste y conseguir una temporal reducción del tamaño de los endometriomas, aunque no su completa resolución. Aquí si parece claro que la cirugía

es el tratamiento de elección inicial de de los endometriomas grandes y sintomáticos (Chapron C et al, 2002). En concreto, la quistectomía se ha visto más efectiva que el drenaje o la coagulación/ablación del quiste, en la reducción del dolor y recidivas (Hart RJ et al, 2008). En dichas pacientes con endometrioma, predominio del dolor y no deseos genésicos inmediatos, conocer un perfil alto de recidiva podría hacernos valorar la obtención y congelación de ovocitos de forma precoz tras la cirugía, sobre todo en las pacientes de edad más avanzada.

Más controversia existe en el abordaje de los **endometriomas** en pacientes con **esterilidad** (cirugía vs técnicas de reproducción asistida). Sólo parece claro que los tratamientos hormonales farmacológicos independientemente de la cirugía o administrados antes o después de ésta, no aumentan las tasas de gestación (Dunselman GAJ et al, 2014). Algunos estudios han visto un aumento de las tasas de embarazo al comparar cirugía vs pauta expectante (60,9% vs 23,4%) (Alborzi S et al, 2004; Vercellini P et al, 2006). En nuestros casos, tras la cirugía del endometrioma, hubo una tasa de embarazo y nacido vivo del 70% en ambas. Otros autores no encuentran beneficios en intervenir endometriomas para aumentar tasas de gestación (Hart RJ et al, 2008; Benschop L et al, 2010) e incluso la cirugía produce una disminución en la respuesta folicular a gonadotrofinas, folículos de peor calidad, así como una reducción de la reserva ovárica (García-Velasco J et al, 2009; Keyhan S et al, 2015). Además la presencia de endometriomas no parecen influir en los resultados de FIV (Hamdan M et al, 2015).

Las evidencias más recientes señalan decantarse por una u otra en función del perfil de la paciente. Cirugía: estériles sintomáticas y jóvenes. FIV directamente sin cirugía previa: estériles asintomáticas de mayor edad, baja reserva ovárica, endometriomas bilaterales y las recidivantes con cirugías previas. Según esto las pacientes con alto perfil de recidiva serían candidatas a FIV de entrada, sin embargo en nuestro estudio hemos visto un paralelismo entre las pacientes más sintomáticas con peor calidad de vida y la recidiva y por lo tanto candidatas a cirugía y posteriormente FIV.

Cuando se decide cirugía, conocer el perfil de recidiva, también puede orientar nuestra **actitud quirúrgica**. En la EIP, algunos autores han detectado que la extirpación incompleta aumenta el riesgo de recurrencia (Abott et al, 2003; Dousset et

al, 2010). Estudios más recientes afirman que la exéresis incompleta de las lesiones está relacionada con la persistencia de la enfermedad y los síntomas, pero no con la recidiva. Extirpaciones incompletas, a veces no recidivan; y algunas exhaustivas, sí lo hacen (Vercellini P et al, 2015). En nuestro estudio el perfil de recidiva, corresponde con las pacientes más sintomáticas y pero calidad de vida, por lo que se exige una exéresis lo más completa posible para corregir los síntomas, pero con una radicalidad contenida para evitar lesiones viscerales o nerviosas, ya que posiblemente, aun con una exéresis completa no prevendremos la recidiva. En este sentido, cobran importancia la técnicas de preservación nerviosa, desarrolladas con el objetivo de preservar nervios, tanto somáticos como viscerales, en el transcurso de una cirugía radical, pero que además liberan dichos nervios atrapados por las lesiones, contribuyendo a disminuir los efectos adversos, a la vez que mejoran el dolor (Ceccaroni M et al, 2010).

Por otra parte, cuando se decide la cirugía, algunos autores opinan que es interesante valorar la indicación de histerectomía con doble anexetomía, especialmente en mujeres mayores de 40 años, deseo genésico cumplido, y/o adenomiosis. Tomando siempre en cuenta los riesgos de la castración ovárica (Borghese B et al, 2014). En este tipo de pacientes, la presencia de un perfil de recidiva elevado, nos puede ayudar en la toma de esta decisión

Respecto a la **decisión de tratamiento tras la cirugía**, se ha recomendado en general, realizar un tratamiento farmacológico regular y prolongado en todas las pacientes que no busquen embarazo, para prevenir el riesgo de recurrencia (Somigliana E et al, 2009). La pauta continua es más eficaz que la pauta cíclica en los anticonceptivos, especialmente para la recurrencia de dismenorrea. El DIU liberador de levonorgestrel ha demostrado disminuir la recurrencia de la dismenorrea y posiblemente lesiones de endometriosis; y el Dienogest, un nuevo gestágeno, parece reducir la recurrencia de los endometriomas (Koga K et al, 2015). Los tratamientos farmacológicos hormonales, aunque carentes de efectos adversos severos en general, no están exentos de efectos trombóticos, problemas de mala tolerancia y adherencia al tratamiento. Cada vez más, se plantea la endometriosis como una enfermedad inflamatoria crónica estrógenodependiente, y por tanto precisa de un tratamiento

médico crónico prolongado, de forma similar a otras enfermedades crónicas y recidivantes como la enfermedad inflamatoria intestinal o la artritis reumatoide (Vercellini P et al, 2015). Así conocer un perfil alto de recidiva obligará a asegurar el cumplimiento de un tratamiento farmacológico regular y prolongado, después de la cirugía.

Por último, conocer un alto perfil de recidiva, nos obligará a un mayor seguimiento mediante control de los síntomas y monitorización por US (valorar crecimiento de implantes, aparición de hidronefrosis, etc) (Ferrero S et al, 2015). Faltaría establecer su periodicidad óptima.

El hallazgo de un perfil de recidiva mediante marcadores prequirúrgicos (Σ VAS precirugía, Σ EHP-30 precirugía, CA-125 precirugía, miRNAs en endometrio eutópico) y confirmado mediante marcadores de recidiva postquirúrgicos (Σ VAS postcirugía y miRNAs en endometrioma o nódulo EIP), podría orientar de manera aún más fiable en estos últimos dos aspectos comentados (tipo de tratamiento médico tras cirugía, seguimiento).

En cualquier caso, no hay unanimidad en como abordar la endometriosis, persistiendo el debate. Esto hace más interesante, la definición de marcadores de un perfil de recidiva, para poder comparar de forma prospectiva que tipos de tratamiento pueden ser más efectivos para evitar la recaída (médico vs quirúrgico, cirugía conservadora vs radical, comparativas entre fármacos, etc), en lugar de los habituales estudios retrospectivos tras la detección de la recidiva.

De todas estas variables que hemos demostrado relación con la recidiva, resultan de especial interés, aquellas determinadas antes de la cirugía, ya que constituirían los marcadores de recidiva realmente no invasivos. Obtenidos sin necesidad de cirugía, tras una entrevista clínica, una determinación sanguínea y/o un análisis endometrial obtenido en la consulta; y que podrían darnos un perfil de recidiva para cada paciente, ayudándonos en la toma de determinadas decisiones clínicas (Tabla 5.1).

No obstante, hace falta un mayor número de casos para confirmar estos resultados, determinar con mayor exactitud el perfil de recidiva y posiblemente,

encontrar diferencias significativas en ciertas tendencias observadas con los nuevos biomarcadores (miRNAs) en los casos que posteriormente recidivan.

Clínicos

- **Suma VAS precirugía**
- **Suma VAS postcirugía**
- **Suma EHP-30 precirugía**

Biomarcadores clásicos

- **CA 125 precirugía**

Nuevos Biomarcadores (endometrio eutópico)

- **VEGF proteína**
- **PAI-1 proteína**
- **miR-21**
- **miR-424-5p**

Nuevos Biomarcadores (endometrioma)

- **PAI-1 proteína**

Nuevos Biomarcadores (TRV)

- **miR-373**
- **miR-556**

Tabla 5.1. Resumen de posibles marcadores clínicos y biomarcadores predictores de recidiva en endometriosis. Variables que han demostrado diferencias significativas al comparar grupos con o sin recidiva.

Pronóstico reproductivo

Al igual que en las diferentes partes de este trabajo analizamos una serie de biomarcadores y marcadores clínicos, en este caso respecto al Índice de Fertilidad en Endometriosis (EFI). Índice ya validado, para establecer un pronóstico reproductivo,

en función de una serie de datos clínicos, más los hallazgos quirúrgicos obtenidos en la intervención de una paciente con endometriosis.

La presencia de un valor EFI bajo supone una baja posibilidad de embarazo de forma espontánea tras la cirugía que requerirá posiblemente necesidad de técnicas de reproducción asistida. Así, por ejemplo, en pacientes estériles de edad avanzada, endometriomas de moderado-gran tamaño y moderada sintomatología existe duda si realizar cirugía previa o FIV directamente. En estos casos la presencia de un perfil de EFI bajo orientaría a realizar FIV directamente en lugar de cirugía.

En relación a los biomarcadores, hemos visto que no existe asociación entre el índice EFI y el valor CA-125, ni el CA-19.9.

En las pacientes con EFI bajo los valores de VEGF son mayores, menores los de TSP-1 y menores los de uPA, de forma no significativa. Hay un significativo menor valor de PAI-1, en el grupo de EFI bajo. No se ha detectado tampoco, diferencias significativas en el perfil de expresión de los miRNAs analizados en función del valor EFI.

Respecto a los marcadores clínicos hemos observado más dolor (mayor Σ VAS precirugía) y peor calidad de vida (Σ EHP30 precirugía) en el grupo de valores bajos de EFI (0-4), aunque de forma no significativa. El índice EFI disminuye con valores elevados de la clasificación rASRM y el mayor compromiso tubárico. Estos valores suelen estar más afectados en los estadios más avanzados y por tanto podrían estar asociados con los casos de más dolor y peor calidad de vida, por lo que posiblemente, con mayor número de casos esta tendencia observada, pudiera ser significativamente diferente.

Sería muy interesante encontrar una serie de marcadores clínicos o biológicos que presentaran una buena asociación con el Índice de Fertilidad en Endometriosis (EFI), índice ya validado, para establecer un pronóstico reproductivo en función de una serie de datos clínicos más los hallazgos quirúrgicos obtenidos en la intervención

de una paciente con endometriosis. Esto permitiría obtener un perfil de buen/mal pronóstico reproductivo no invasivo, sin necesidad de cirugía.

VI. CONCLUSIONES

1. La escala analógica visual de dolor (VAS) y el cuestionario de calidad de vida EHP-30 son útiles en la predicción clínica de endometriosis profunda, especialmente la utilización del sumatorio de todos los valores de dolor y los valores del cuestionario central del EHP-30.
2. Un valor del **sumatorio VAS mayor de 90** y un **sumatorio EHP-30 central mayor de 120** pueden utilizarse como predictores de enfermedad profunda .
3. Un valor del **Sumatorio VAS mayor de 285** y un **sumatorio del EHP-30 central mayor de 280** son buenos predictores de recidiva en pacientes con endometriosis.
4. La **ecografía transvaginal de alta resolución (ETV)** tiene una alta especificidad para la detección de enfermedad profunda pero una moderada sensibilidad. Es además la mejor técnica para la evaluación de la endometriosis rectal y debería ser considerada la técnica de elección inicial.
5. La **RNM** convencional no mejora los resultados de la ETV. La **RNM con gel** mejora la sensibilidad de la técnica, especialmente para la localización retrocervical, rectovaginal y vaginal. Esta técnica debería reservarse para los casos dudosos o negativos por ecografía, en los que hay alta sospecha de endometriosis profunda por la exploración clínica y/o por los biomarcadores de enfermedad.
6. Entre los todos los **signos ecográficos indirectos** estudiados, el signo de deslizamiento es el mejor como método de cribaje de endometriosis profunda y severa del compartimento posterior, por su sencillez y elevada sensibilidad.
7. La determinación sérica de **CA-125** puede emplearse como marcador de respuesta inicial al tratamiento quirúrgico y se asocia a una mayor

posibilidad de recidiva en las pacientes que presentan valores prequirúrgicos aumentados.

8. Existe una **sobreexpresión de miRNAs** relacionados con la angiogénesis en el endometrio eutópico de pacientes con endometriosis profunda, lo que indica su potencial como biomarcadores de enfermedad.
9. Se ha encontrado correlación de diversos miRNAs con la recidiva de enfermedad (miR-21, miR-424-5p). Además, el miR-424-5p presenta una alta correlación positiva con el valor sérico de CA-125 y los marcadores clínicos analizados en el presente estudio.
10. En los nódulos de endometriosis profunda de las pacientes que posteriormente recidivan, se encuentra un perfil diferencial en la expresión de angiomiRs (miR-373-3p, miR-556-3p).
11. La combinación de marcadores clínicos (sumatorio de VAS y EHP-30 central), biomarcadores en sangre periférica (CA-125) y biomarcadores en endometrio eutópico (VEGF-A, PAI-1, miR-21 y -424-5p) podrían utilizarse como **modelo no invasivo predictor de recidiva** en endometriosis. La obtención de un perfil no invasivo de recidiva individualizado para cada paciente sería útil en la toma de ciertas decisiones clínicas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril* 2010;94:1609-15.
- Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, Singh SS, Thomas R, Tayade C. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis. *Biomed Res Int* 2015;2015:795976.
- Aksglaede L, Juul A, Olsen LW, Sørensen TI. Age at puberty and the emerging obesity epidemic. *PLoS One* 2009;4:e8450.
- Al-Fozan H, Tulandi T. Left lateral predisposition of endometriosis and endometrioma. *Obstet Gynecol* 2003;101:164-6.
- Alabiso G, Alio L, Arena S, di Prun AB, Bergamini V, Berlanda N, Busacca M, Candiani M, Centini G, Di Cello A, Exacoustos C, Fedele L, Gabbi L, Geraci E, Lavarini E, Incandela D, Lazzeri L, Luisi S, Maiorana A, Maneschi F, Mattei A, Muzii L, Pagliardini L, Perandini A, Perelli F, Pinzauti S, Remorgida V, Sanchez AM, Seracchioli R, Somigliana E, Tosti C, Venturella R, Vercellini P, Viganò P, Vignali M, Zullo F, Zupi E. How to Manage Bowel Endometriosis: The ETIC Approach. *J Minim Invasive Gynecol* 2015;22:517-29.
- Alborzi S, Momtahan M, Parsanezhad ME, Dehbashi S, Zolghadri J, Alborzi S. A prospective, randomized study comparing laparoscopic ovarian cystectomy versus fenestration and coagulation in patients with endometriomas. *Fertil Steril* 2004;82:1633-37.
- Ambros V, Lee RC. Identification of microRNAs and other tiny noncoding RNAs by cDNA cloning. *Methods Mol Biol* 2004;265:131-58.
- Anaf V, Simon P, El Nakadi I, Fayt I, Simonart T, Buxant F, Noel JC. Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis. *Hum Reprod* 2002;17:1895-900.
- Anaf V, El Nakadi I, De Moor V, Chapron C, Pistofidis G, Noel JC. Increased nerve density in deep infiltrating endometriotic nodules. *Gynecol Obstet Invest* 2011;71:112-7.
- Asante A, Taylor RN. Endometriosis: the role of neuroangiogenesis. *Annu Rev Physiol* 2011;73:163-82.
- Asch E, Levine D. Variations in appearance of endometriomas. *J Ultrasound Med* 2007;26:993-1002.
- Attar E, Tokunaga H, Imir G, Yilmaz MB, Redwine D, Putman M, Gurates B, Attar R, Yaegashi N, Hales DB, Bulun SE. Prostaglandin E2 via steroidogenic factor-1 coordinately regulates transcription of steroidogenic genes necessary for estrogen synthesis in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:623-31.
- Autiero M, Lutun A, Tjwa M, Carmeliet P: Placental growth factor and its receptor, \square vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue \square revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J Thromb Haemost* 2003;1:1356-70.
- Bagot CN, Troy PJ, Taylor HS. Alteration of maternal Hoxa10 expression by in vivo gene transfection affects implantation. *Gene Ther* 2010;7:1378-84
- Bailly E, Margulies AL, Letohic A, Fraieu-Louër B, Renouvel F, Panel P. Evolution of symptoms and quality of life of patients after surgery of digestive endometriosis. *Gynecol Obstet Fertil* 2013;41:627-34.

- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell* 2004; 116:281-97.
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009;136:215-33.
- Batt RE. Invited comment on the paper by Benagiano et al. Entitled 'the history of endometriosis'. *Gynecol Obstet Invest* 2014;78:10-1.
- Bazot M, Daraï E. Sonography and MR imaging for the assessment of deep pelvic endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2005;12:178-85
- Bazot M, Lafont C, Rouzier R, Roseau G, Thomassin-Naggara I, Daraï E. Diagnostic accuracy of physical examination, transvaginal sonography, rectal endoscopic sonography, and magnetic resonance imaging to diagnose deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2009;92:1825-33.
- Becker CM, Rohwer N, Funakoshi T, Cramer T, Bernhardt W, Birsner A, Folkman J, D'Amato RJ. 2 - methoxyestradiol inhibits hypoxia-inducible factor-1 {alpha} and suppresses growth of lesions in a mouse model of endometriosis. *Am J Pathol* 2008;172:534-44.
- Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluidmarkers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002;17:426-31.
- Belaisch J, Audebert A, Brosens I, Canis M, Leroy J, Tran D: Physiopatologie de l'endometriose. In *L'endometriose*. Edited by Masson. Paris; 1999: 13-24
- Beliard A, Noel A, Goffin F, Frankenne F, Foidart JM. Adhesion of endometrial cells labeled with 111Indium-tropolonate to peritoneum: a novel in vitro model to study endometriosis. *Fertil Steril* 2003;79:724-9
- Benagiano G, Brosens I. Who identified endometriosis? *Fertil Steril* 2011;95:13-6.
- Benagiano G, Brosens I, Lippi D. The history of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2014a;78:1-9.
- Benagiano G, Brosens I, Habiba M. Structural and molecular features of the endomyometrium in endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod Update* 2014b;20:386-402.
- Benschop L, Farquhar C, van der Poel N, Heineman MJ. Interventions for women with endometrioma prior to assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD008571.
- Bergamini V, Ghezzi F, Scarperi S, Raffaelli R, Cromi A, Franchi M. Preoperative assessment of intestinal endometriosis: a comparison of transvaginal sonography with water-contrast in the rectum, transrectal sonography, and barium enema. *Abdom Imaging* 2010;35:732-736.
- Borghese B, Santulli P, Streuli I, Lafay-Pillet MC, de Ziegler D, Chapron C. [Recurrence of pain after surgery for deeply infiltrating endometriosis: How does it happen? How to manage?]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2014;43:12-8.
- Borrelli GM, Abrão MS, Mechsner S. Can chemokines be used as biomarkers for endometriosis? A systematic review. *Hum Reprod* 2014;29:253-66.

- Bourdel N, Alves J, Pickering G, Ramilo I, Roman H, Canis M. Systematic review of endometriosis pain assessment: how to choose a scale? *Hum Reprod Update* 2015;21:136-52.
- Braza-Boils A, Gilabert-Estellés J, Ramón LA et al. Peritoneal fluid reduces angiogenesis-related microRNA expression in cell cultures of endometrial and endometriotic tissues from women with endometriosis. *PLoSOne* 2013; 8:62370.
- Braza-Boils A, Mari-Alexandre J, Gilabert J, Sánchez-Izquierdo D, España F, Estellés A, Gilabert-Estellés J. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors. *Hum Reprod* 2014 May;29:978-88.
- Braza-Boils A, Salloum-Asfar S, Mari-Alexandre J, Arroyo AB, González-Conejero R, Barceló-Molina M, García-Oms J, Vicente V, Estellés A, Gilabert-Estellés J, Martínez C. Peritoneal fluid modifies the microRNA expression profile in endometrial and endometriotic cells from women with endometriosis. *Hum Reprod* 2015;30:2292-302.
- Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol* 2006;248:94-103.
- Bulun SE, Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Zhou J, Sebastian S. Role of aromatase in endometrial disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001;79:19-25.
- Bulun SE. Endometriosis. *N Engl J Med*. 2009;360:268-79.
- Bulun SE, Monsivais D, Kakinuma T, Furukawa Y, Bernardi L, Pavone ME, Dyson M. Molecular biology of endometriosis: from aromatase to genomic abnormalities. *Semin Reprod Med* 2015;33:220 4.
- Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Nyegaard M, Nezhat CR, Lessey BA, Giudice LC. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology* 2007;148:3814-26.
- Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2012;98:511-9.
- Butrick CW. Patients with chronic pelvic pain: endometriosis or interstitial cystitis/painful bladder syndrome? *JSLs* 2007;11:182-9.
- Capobianco A, Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front Immunol* 2013;4:9.
- Carneiro MM, Filogônio ID, Costa LM, de Ávila I, Ferreira MC. Clinical prediction of deeply infiltrating endometriosis before surgery: is it feasible? A review of the literature. *Biomed Res Int* 2013;2013:564153.
- Caruso S, Iraci M, Cianci S, Casella E, Fava V, Cianci A. Quality of life and sexual function of women affected by endometriosis-associated pelvic pain when treated with dienogest. *J Endocrinol Invest* 2015;38:1211-8.
- Ceccaroni M, Clarizia R, Alboni C, Ruffo G, Bruni F, Roviglione G, Scioscia M, Peters I, Minelli L. Laparoscopic nerve-sparing transperitoneal approach for endometriosis infiltrating the pelvic wall and somatic nerves: anatomical considerations and surgical technique. *Surg Radiol Anat* 2010;32:601-4.

- Chamié LP, Blasbalg R, Pereira RM, Warmbrand G, Serafini PC. Findings of pelvic endometriosis at transvaginal US, MR imaging, and laparoscopy. *Radiographics* 2011;31:E77-100.
- Chamié LP, Pereira RM, Zanatta A, Serafini PC. Transvaginal US after bowel preparation for deeply infiltrating endometriosis: protocol, imaging appearances, and laparoscopic correlation. *Radiographics* 2010;30:1235-49.
- Chapron C, Dubuisson JB, Pansini V, Vieira M, Fauconnier A, Barakat H, et al. Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002a;9:115-9.
- Chapron C, Vercellini P, Barakat H, Vieira M, Dubuisson JB. Management of ovarian endometriomas. *Hum Reprod Update* 2002b;8:591-7
- Chapron C, Fauconier A, Viera M, *et al.* Anatomical distribution of deeply infiltrating endometriosis: surgical implications and proposition for a classification. *Hum Reprod.* 2003a;18:157-61.
- Chapron C, Fauconnier A, Dubuisson JB, Barakat H, Vieira M, Breart G. Deep infiltrating endometriosis: relation between severity of dysmenorrhea and extent of disease. *Hum Reprod* 2003b;18:760-6.
- Chapron C, Chopin N, Borghese B, Foulot H, Dousset B, Vacher-Lavenu MC, Vieira M, Hasan W, Bricou A. Deeply infiltrating endometriosis: pathogenetic implications of the anatomical distribution. *Hum Reprod* 2006;21:1839-45.
- Chapron C, Lafay-Pillet MC, Monceau E, Borghese B, Ngo C, Souza C, de Ziegler D. Questioning patients about their adolescent history can identify markers associated with deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2011;95:877-81.
- Chapron C, Santulli P, de Ziegler D, Noel JC, Anaf V, Streuli I, Foulot H, Souza C, Borghese B. Ovarian endometrioma: severe pelvic pain is associated with deeply infiltrating endometriosis. *Hum Reprod* 2012; 27:702 – 11.
- Chassang M, Novellas S, Bloch-Marcotte C, Delotte J, Toullalan O, Bongain A, Chevallier P. Utility of vaginal and rectal contrast medium in MRI for the detection of deep pelvic endometriosis. *Eur Radiol* 2010;20:1003-10.
- Cheewadhanaraks S, Peeyananjarassri K, Dhanaworavibul K, Liabsuetrakul T. Positive predictive value of clinical diagnosis of endometriosis. *J Med Assoc Thai* 2004;87:740-4.
- Chopin N, Ballester M, Borghese B, Fauconnier A, Foulot H, Malartic C, Chapron C. Relation between severity of dysmenorrhea and endometrioma. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85:1375 – 80.
- Chung H, Lee J, Moon H, Hur S, Park M, Wen Y, Polan M: Matrix metalloproteinase-2, membranous type 1 matrix metalloproteinase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in ectopic and eutopic endometrium. *Fertil Steril* 2002;78:787-95.
- Clarke L, Edwards A, Pollard K. Acoustic streaming in ovarian cysts. *J Ultrasound Med.* 2005;24:617-21.
- Clement PB. The pathology of endometriosis: a survey of the many faces of a common disease emphasizing diagnostic pitfalls and unusual and newly appreciated aspects. *Adv Anat Pathol.* 2007;14:241-60.

- Colón-Caraballo M, Monteiro JB, Flores I. H3K27me3 is an Epigenetic Mark of Relevance in Endometriosis. *Reprod Sci* 2015;22:1134-42.
- Corwin MT, Gerscovich EO, Lamba R, Wilson M, McGahan JP. Differentiation of ovarian endometriomas from hemorrhagic cysts at MR imaging: utility of the T2 dark spot sign. *Radiology* 2014;271:126-32.
- Cosin R, Gilabert-Estelles J, Ramon L, España F, Gilabert J, Romeu A, Estelles A. Vascular endothelial growth factor polymorphisms (L460C/T, D405G/C, and 936C/T) and endometriosis: their influence on vascular endothelial growth factor expression. *Fertil Steril* 2009;92:1214-20.
- Cosin R, Gilabert-Estellés J, Ramón LA, Gómez-Lechón MJ, Gilabert J, Chirivella M, Braza-Boils A, España F, Estellés A. Influence of peritoneal fluid on the expression of angiogenic and proteolytic factors in cultures of endometrial cells from women with endometriosis. *Hum Reprod* 2010;25:398-405.
- Cullen TS. The distribution of adenomyomata containing uterine mucosa. *Arch Surg* 1920;1: 215–83.
- D'Hooghe TM, Bambra CS, Suleman MA, Dunselman GA, Evers HL, Koninckx PR. Development of a model of retrograde menstruation in baboons (*Papio anubis*). *Fertil Steril* 1994;62:635-8.
- D'Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68:613-25.
- D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Semin Reprod Med* 2003; 21: 243–54
- Daftary GS, Taylor HS. Hydrosalpinx fluid diminishes endometrial cell HOXA10 expression. *Fertil Steril* 2002;78:577-80.
- De la Cruz C, Reis FM. The role of TGFβ superfamily members in the pathophysiology of endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2015;31:511-5.
- De Sanctis P, Elmakky A, Farina A, Caramelli E, Seracchioli R, Mabrouk M, Mignemi G, Venturoli S, Villa G, Guerrini M, Manuzzi L, Montanari G, Valvassori L, Zucchini C. Matrix metalloproteinase-3 mRNA: a promising peripheral blood marker for diagnosis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2011;71:118-2
- Del Frate C, Girometti R, Pittino M, Del Frate G, Bazzocchi M, Zuiani C. Deep retroperitoneal pelvic endometriosis: MR imaging appearance with laparoscopic correlation. *Radiographics* 2006;26:1705-18.
- Dinulescu DM, Ince TA, Quade BJ, Shafer SA, Crowley D, Jacks T. Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med* 2005;11:63-70.
- Donnez J, Squifflet J, Casanas-Roux F, Pirard C, Jadoul P, Van Langendonck A. Typical and subtle atypical presentations of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003;30:83-93.
- Donnez J, Pirard C, Smets M, Jadoul P, Squifflet J. Surgical management of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:329-348.

- Dousset B, Leconte M, Borghese B, Millischer AE, Roseau G, Arkwright S, Chapron C. Complete surgery for low rectal endometriosis: long-term results of a 100-case prospective study. *Ann Surg* 2010;251:887-95.
- Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, Heikinheimo O, Horne AW, Kiesel L, Nap A, Prentice A, Saridogan E, Soriano D, Nelen W; European Society of Human Reproduction and Embryology. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod* 2014;29:400-12.
- Dupuis CS, Kim YH. Ultrasonography of adnexal causes of acute pelvic pain in premenopausal non-pregnant women. *Ultrasonography* 2015 May 9. doi:10.14366/usg.15013. [Epub ahead of print]
- Dyson MT, Roqueiro D, Monsivais D, Ercan CM, Pavone ME, Brooks DC, Kakinuma T, Ono M, Jafari N, Dai Y, Bulun SE. Genome-wide DNA methylation analysis predicts an epigenetic switch for GATA factor expression in endometriosis. *PLoS Genet* 2014;10:e1004158.
- Edwards A, Clarke L, Piessens S, Graham E, Shekleton P. Acoustic streaming: a new technique for assessing adnexal cysts. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;22(1):74-8.
- Eriksson M, Meadows SK, Basu S, Mselle TF, Wira CR, Sentman CL. TLRs mediate IFN-gamma production by human uterine NK cells in endometrium. *J Immunol* 2006 May 15;176:6219-24.
- ExacoustosC, Malzoni M, Di Giovanni A, et al. Ultrasound mapping system for the surgical management of deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2014; 102:143–50.
- Fabiano G, Pezzolla A, Maiorino R, Ferrarese F. Peritoneal adhesions:pathophysiology. *G Chir* 2008 Mar;29:115-25.
- Fassbender A, Burney RO, O DF, D'Hooghe T, Giudice L. Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. *Biomed Res Int* 2015;2015:130854.
- Fassbender A, Vodolazkaia A, Saunders P, Lebovic D, Waelkens E, De Moor B, D'Hooghe T. Biomarkers of endometriosis. *Fertil Steril* 2013;99:1135-45.
- Fauconnier A, Chapron C. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications. *Hum Reprod Update* 2005;11:595-606.
- Fedele L, Bianchi S, Zanconato G, Berlanda N, Borruto F, Frontino G. Tailoring radicality in demolitive surgery for deeply infiltrating endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:114-7.
- Fedele L, Parazzini F, Bianchi S, Arcaini L, Candiani GB. Stage and localization of pelvic endometriosis and pain. *Fertil Steril* 1990;53:155-8.
- Ferrara N: Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:1-30.
- Ferrero S, Biscaldi E, Morotti M, Venturini PL, Remorgida V, Rollandi GA, Valenzano Menada M. Multidetector computerized tomography enteroclysis vs. rectal water contrast transvaginal ultrasonography in determining the presence and extent of bowel endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:603-13.

- Ferrero S, Alessandri F, Racca A, Leone Roberti Maggiore U. Treatment of pain associated with deep endometriosis: alternatives and evidence. *Fertil Steril* 2015;104:771-92
- Fiaschetti V, Crusco S, Meschini A, Cama V, Di Vito L, Marziali M, Piccione E, Calabria F, Simonetti G. Deeply infiltrating endometriosis: evaluation of retro-cervical space on MRI after vaginal opacification. *Eur J Radiol* 2012;81:3638-45.
- Filigheddu N, Gregnanin I, Porporato PE, Surico D, Perego B, Galli L, Patrignani C, Graziani A, Surico N. Differential expression of microRNAs between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:369549.
- Forman RG, Robinson JN, Mehta Z, Barlow DH. Patient history as a simple predictor of pelvic pathology in subfertile women. *Hum Reprod* 1993;8:53 – 55.
- Forte A, Cipollaro M, Galderisi U. Genetic, epigenetic and stem cell alterations in endometriosis: new insights and potential therapeutic perspectives. *Clin Sci* 2014;126:123-38.
- Fritzer N, Tammaa A, Salzer H, Hudelist G. Dyspareunia and quality of sex life after surgical excision of endometriosis: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;173:1–6.
- Fuentes A, Escalona J, Céspedes P, Espinoza A, Johnson MC. [Prevalence of endometriosis in 287 women undergoing surgical sterilization in Santiago Chile]. *Rev Med Chil* 2014;142:16-9.
- Fujii S. Secondary müllerian system and endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:219-25.
- Garcia-Velasco JA, Somigliana E. Management of endometriomas in women requiring IVF: to touch or not to touch. *Hum Reprod.* 2009;24:496-501.
- Gargett CE, Schwab KE, Brosens JJ, Puttemans P, Benagiano G, Brosens I. Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early onset endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2014;20:591-8.
- Garry R. The Endometriosis Syndromes: a clinical classification in the presence of aetiological confusion and therapeutic anarchy. *Hum Reprod* 2004;19:760-8.
- Gerlinger C, Schumacher U, Faustmann T, Colligs A, Schmitz H, Seitz C. Defining a minimal clinically important difference for endometriosis-associated pelvic pain measured on a visual analog scale: analyses of two placebo-controlled, randomized trials. *Health Qual Life Outcomes* 2010;8:138.
- Ghezzi F, Raio L, Cromi A, Duwe DG, Beretta P, Buttarelli M, Mueller MD. "Kissing ovaries": a sonographic sign of moderate to severe endometriosis. *Fertil Steril* 2005;83:143-7.
- Gilabert-Estellés J, Estellés A, Gilabert J, Castelló R, España F, Falcó C, Romeu A, Chirivella M, Zorio E, Aznar J: Expression of several components of the plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in endometriosis. *Hum Reprod* 2003;18:1516-22.
- Gilabert-Estelles J, Ramon LA, España F, Gilabert J, Castello R, Estelles A. Expression of the fibrinolytic components in endometriosis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006;35:136-40.

- Gilabert-Estellés J, Ramón LA, España F, Gilabert J, Vila V, Réganon E, Castelló R, Chirivella M, Estellés A. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Hum Reprod* 2007;22:2120-7.
- Gilabert-Estelles J, Zorio E, Castello JM, Estelles A, Gilabert-Aguilar J. Laparoscopic approach to right diaphragmatic endometriosis with argon laser: case report. *J Minim Invasive Gynecol* 2010;17:124-7.
- Gilabert-Estellés J. Nuevas perspectivas en la endometriosis: Desde la fisiopatología al tratamiento médico de la enfermedad. *Rev Iberoam Fert* 2011; 28:17-33.
- Gilabert-Estelles J, Braza-Boils A, Ramon LA, Zorio E, Medina P, Espana F, Estelles A. Role of microRNAs in gynecological pathology. *Curr Med Chem* 2012;19:2406-13
- Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *N Engl J Med* 2010;362:2389-98.
- Glastonbury CM. The shading sign. *Radiology* 2002;224:199-201.
- Gonçalves MO, Dias JA Jr, Podgaec S, Averbach M, Abrão MS. Transvaginal ultrasound for diagnosis of deeply infiltrating endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2009;104:156-60.
- Goncalves MO, Podgaec S, Dias JA Jr, Gonzalez M, Abrao MS. Transvaginal ultrasonography with bowel preparation is able to predict the number of lesions and rectosigmoid layers affected in cases of deep endometriosis, defining surgical strategy. *Hum Reprod* 2010;25:665-71.
- Govatati S, Kodati VL, Deenadayal M, Chakravarty B, Shivaji S, Bhanoori M. Mutations in the PTEN tumor gene and risk of endometriosis: a case-control study. *Hum Reprod* 2014;29:324-36.
- Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res* 2008;36(Database issue):D154-8.
- Guerriero S, Ajossa S, Gerada M, D'Aquila M, Piras B, Melis GB. "Tenderness-guided" transvaginal ultrasonography: a new method for the detection of deep endometriosis in patients with chronic pelvic pain. *Fertil Steril* 2007;88:1293-7.
- Guerriero S, Ajossa S, Gerada M, Virgilio B, Angioni S, Melis GB. Diagnostic value of transvaginal "tenderness-guided" ultrasonography for the prediction of location of deep endometriosis. *Hum Reprod* 2008; 23:2452–57.
- Guerriero S, Ajossa S, Orozco R, Perniciano M, Jurado M, Melis GB, Alcazar JL. Diagnostic accuracy of transvaginal ultrasound for diagnosis of deep endometriosis in the recto-sigmoid: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015a [Epub ahead of print]
- Guerriero S, Ajossa S, Minguez JA, Jurado M, Mais V, Melis GB, Alcazar JL. Diagnostic accuracy of transvaginal ultrasound for diagnosis of deep endometriosis regarding locations other than recto-sigmoid: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015b [Epub ahead of print]
- Gui Y, Zhang J, Yuan L, Lessey BA. Regulation of HOXA-10 and its expression in normal and abnormal endometrium. *Mol Hum Reprod* 1999;5:866–73.
- Guo SW. Epigenetics of endometriosis. *Mol Hum Reprod*. 2009 Oct;15(10):587-607.
- Halban J. Metastatic hysteroadenosis. *Wien Klin Wochenschr* 1924;37:1205-1206.

- Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984;64:151-4.
- Hamdan M, Dunselman G, Li TC, Cheong Y. The impact of endometrioma on IVF/ICSI outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2015 [Epub ahead of print]
- Hart RJ, Hickey M, Maouris P, Buckett W. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata. *Cochran Database Syst Rev* 2008;2:CD004992.
- Hawkins SM, Creighton CJ, Han DY, Zariff A, Anderson ML, Gunaratne PH, Matzuk MM. Functional microRNA involved in endometriosis. *Mol Endocrinol* 2011;25:821-32.
- He RH, Yao WM, Wu LY, Mao YY. Highly elevated serum CA-125 levels in patients with non-malignant gynecological diseases. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283 Suppl 1:107-10.
- Hellewell AL, Gong X, Schärlich K, Christofidou ED, Adams JC. Modulation of the Extracellular Matrix Patterning of Thrombospondins by Actin Dynamics and Thrombospondin Oligomer State. *Biosci Rep* 2015 [Epub ahead of print]
- Hey-Cunningham AJ, Fazleabas AT, Braundmeier AG, Markham R, Fraser IS, Berbic M. Endometrial stromal cells and immune cell populations within lymph nodes in a nonhuman primate model of endometriosis. *Reprod Sci* 2011;18:747-54.
- Hirsch M, Davis CJ. Preoperative assessment and diagnosis of endometriosis: are we any closer? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2015;27:284-90.
- Huang X. Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:1213-24.
- Hudelist G, Ballard K, English J, Wright J, Banerjee S, Mastoroudes H, Thomas A, Singer CF, Keckstein J. Transvaginal sonography vs. clinical examination in the preoperative diagnosis of deep infiltrating endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:480-7.
- Hudelist G, Tuttlies F, Rauter G, Pucher S, Keckstein J. Can transvaginal sonography predict infiltration depth in patients with deep infiltrating endometriosis of the rectum? *Hum Reprod.* 2009;24:1012-7.
- Hull ML, Charnock-Jones DS, Chan CL, Bruner-Tran KL, Osteen KG, Tom BD, Fan TP, Smith SK. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2889-99.
- Husby GK, Haugen RS, Moen MH. Diagnostic delay in women with pain and endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003;82:649-53.
- Iwanoff N. Drusiges cystenhaltiges Uterusfibrom compliciert durch Sarcom und Carcinom. *Monatsschr Geburtshilfe Gynakol* 1898;5: 295-300.
- Izawa M, Taniguchi F, Terakawa N, Harada T. Epigenetic aberration of gene expression in endometriosis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2013;5:900-10.
- Javert CT. Pathogenesis of endometriosis based on endometrial homeoplasia, direct extension, exfoliation and implantation, lymphatic and hematogenous metastasis, including five case reports of endometrial tissue in pelvic lymph nodes. *Cancer* 1949;2:399-410.

- Javert CT. The spread of benign and malignant endometrium in the lymphatic system with a note on coexisting vascular involvement. *Am J Obstet Gynecol* 1952;64:780-806.
- Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986;67:335-8.
- Jerman LF, Hey-Cunningham AJ. The role of the lymphatic system in endometriosis: a comprehensive review of the literature. *Biol Reprod* 2015;92:64.
- Jha P, Farooq A, Agarwal N, Buckshee K. In vitro sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Am J Reprod Immunol* 1996;36: 235-7.
- Jia SZ, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2013;28:322-30.
- Jones G, Kennedy S, Barnard A, Wong J, Jenkinson C. Development of an endometriosis quality-of-life instrument: The Endometriosis Health Profile-30. *Obstet Gynecol* 2001;98:258-64 Jones G, Jenkinson C, Kennedy S. Evaluating the responsiveness of the Endometriosis Health Profile Questionnaire: the EHP-30. *Qual Life Res* 2004;13:705-13.
- Jones G, Jenkinson C, Taylor N, Mills A, Kennedy S. Measuring quality of life in women with endometriosis: tests of data quality, score reliability, response rate and scaling assumptions of the Endometriosis Health Profile Questionnaire. *Hum Reprod* 2006;21:2686-93.
- Kerner H, Gatón E, Czernobilsky B. Unusual ovarian, tubal and pelvic mesothelial inclusions in patients with endometriosis. *Histopathology* 1981;5:277-83.
- Kianpour M, Nematbakhsh M, Ahmadi SM, Jafarzadeh M, Hajjarian M, Pezeshki Z, Safari T, Eshraghi-Jazi F. Serum and peritoneal fluid levels of vascular endothelial growth factor in women with endometriosis. *Int J Fertil Steril* 2013;7:96-9.
- Kitawaki J, Koshiba H, Ishihara H, Kusuki I, Tsukamoto K, Honjo H. Progesterone induction of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 during the secretory phase occurs in the endometrium of estrogen dependent benign diseases but not in normal endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3292-6.
- Knapp VJ. How old is endometriosis? Late 17th- and 18th-century European descriptions of the disease. *Fertil Steril* 1999;72:10-4.
- Koga K, Takamura M, Fujii T, Osuga Y. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis. *Fertil Steril* 2015;104:793-801.
- Koks C, Groothuis P, Slaats P, Dunselman G, de Goeij A, Evers J: Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in antegradely shed menstruum and peritoneal fluid. *Fertil Steril* 2000;73:604-12.
- Koks CA, Groothuis PG, Dunselman GA, de Goeij AF, Evers JL. Adhesion of shed menstrual tissue in an in-vitro model using amnion and peritoneum: a light and electron microscopic study. *Hum Reprod* 1999;14:816-22
- Koninckx PR, Meuleman C, Demeyere S, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991;55:759-65

- Koninckx PR, Ussia A, Adamyan L, Wattiez A, Donnez J. Deep endometriosis: definition, diagnosis, and treatment. *Fertil Steril* 2012;98(3):564-71.
- Lafay Pillet MC, Huchon C, Santulli P, Borghese B, Chapron C, Fauconnier A. A clinical score can predict associated deep infiltrating endometriosis before surgery for an endometrioma. *Hum Reprod* 2014;29:1666-76.
- Laing FC, Allison SJ. US of the ovary and adnexa: to worry or not to worry? *Radiographics* 2012;32:1621-39
- Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1-10.
- León M, Vaccaro H, Alcázar JL, Martínez J, Gutierrez J, Amor F, Iturra A, Sovino H. Extended transvaginal sonography in deep infiltrating endometriosis: use of bowel preparation and an acoustic window with intravaginal gel: preliminary results. *J Ultrasound Med* 2014;33:315-21.
- Leyendecker G, Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Mall G, Kissler S, Noe M, Wildt L. Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1034:338-55.
- Li X, Charnock-Jones D, Zhang E, Hiby S, Malik S, Day K, Licence D, Bowen J, Gardner L, King A, et al: Angiogenic growth factor messenger ribonucleic acids in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1823-34.
- Lu Z, Zhang W, Jiang S, Zou J, Li Y. Effect of lesion location on endometriotic adhesion and angiogenesis in SCID mice. *Arch Gynecol Obstet* 2014;289:823-30.
- Mabrouk M, Elmakky A, Caramelli E, Farina A, Mignemi G, Venturoli S, Villa G, Guerrini M, Manuzzi L, Montanari G, De Sanctis P, Valvassori L, Zucchini C, Seracchioli R. Performance of peripheral (serum and molecular) blood markers for diagnosis of endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* 2012;285:1307-12.
- Macario S, Chassang M, Novellas S, Baudin G, Delotte J, Toullalan O, Chevallier P. The value of pelvic MRI in the diagnosis of posterior cul-de-sac obliteration in cases of deep pelvic endometriosis. *AJR Am J Roentgenol* 2012;199:1410-5.
- 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. Extrapelvic endometriosis: a rare entity or an under diagnosed condition? *Diagn Pathol* 2013;8:194.
- Maiorana A, Incandela D, Giambanco L, Alio W, Alio L. Ultrasound diagnosis of pelvic endometriosis. *Journal of Endometriosis* 2011;3:105 - 119
- Malvezzi H, Aguiar VG, Paz CC, Tanus-Santos JE, Penna IA, Navarro PA. Increased circulating MMP-2 levels in infertile patients with moderate and severe pelvic endometriosis. *Reprod Sci* 2013;20(5):557-62.
- Mari-Alexandre J, García-Oms J, Barceló-Molina M, Gilabert-Aguilar J, Estellés A, Braza-Boíls A, Gilabert-Estellés J. MicroRNAs and angiogenesis in endometriosis. *Thromb Res* 2015;135 Suppl 1:S38-40.
- Matsuzaki S, Canis M, Pouly JL, Rabischong B, Botchorishvili R, Mage G. Relationship between delay of surgical diagnosis and severity of disease in patients with symptomatic deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2006;86:1314-6

- Mattei M, Borg J, Rosnet O, Marmé D, Birnbaum D: Assignment of vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PLGF) genes to human chromosome 6p12-p21 and 14q24-q31 regions, respectively. *Genomics* 1996;32:168-9.
- May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2010 Nov-Dec;16:651-74.
- McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Hum Reprod Update*. 2000;6:45-55.
- Medeiros LR, Rosa MI, Silva BR, Reis ME, Simon CS, Dondossola ER, da Cunha Filho JS. Accuracy of magnetic resonance in deeply infiltrating endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2015;291:611-21.
- Menada MV, Remorgida V, Abbamonte LH, Fulcheri E, Ragni N, Ferrero S. Transvaginal ultrasonography combined with water-contrast in the rectum in the diagnosis of rectovaginal endometriosis infiltrating the bowel. *Fertil Steril* 2008;89:699-700.
- Merrill JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 1966;94:780-90.
- Meuleman C, Tomassetti C, Wolthuis A, van Cleynenbreugel B, Laenen A, Penninckx F, et al. Clinical outcome after radical excision of moderate-severe endometriosis with or without bowel resection and reanastomosis: a prospective cohort study. *Ann Surg* 2014;259:522–31.
- Meyer R. Eine unbekannte Art von Adenomyom des Uterus mit einer kritischen Besprechung der Urnierenhypothese v. Recklinghausens. *Z Geburtshilfe Gynakol* 1903;49:464–507.
- Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, Simsa P, Pochet N, De Smet F, De Moor B, Meuleman C, Billen J, Blanckaert N, Vodolazkaia A, Fulop V, D'Hooghe TM. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Hum Reprod* 2010;25:654-64.
- Millauer B, Wizigmann-Voos S, Schnürch H, Martinez R, Møller N, Risau W, Ullrich A: High affinity VEGF binding and developmental expression suggest Flk-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis. *Cell* 1993;72:835-46.
- Miller EJ, Fraser IS. The importance of pelvic nerve fibers in endometriosis. *Womens Health* 2015. [Epub ahead of print]
- Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol* 2004;160: 784–96.
- Mohamed ML, El Behery MM, Mansour SA. Comparative study between VEGF-A and CA-125 in diagnosis and follow-up of advanced endometriosis after conservative laparoscopic surgery. *Arch Gynecol Obstet* 2013;287:77-82.
- Mok-Lin EY, Wolfberg A, Hollinquist H, Laufer MR. Endometriosis in a patient with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and complete uterine agenesis: evidence to support the theory of coelomic metaplasia. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2010;23:e35-7.

- Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PM. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998;70:1101-8.
- Monteiro JB, Colón-Díaz M, García M, Gutierrez S, Colón M, Seto E, Laboy J, Flores I. Endometriosis is characterized by a distinct pattern of histone 3 and histone 4 lysine modifications. *Reprod Sci* 2014;21:305-18.
- Muñoz JL, Jiménez JS, Tejerizo A, López G, Duarte J, Sánchez F. Rectosigmoid deep infiltrating endometriosis and ureteral involvement with loss of renal function. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;162:121-4.
- Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril*. 1997;68:585-96.
- Nnoaham KE, Hummelshoj L, Kennedy SH, Jenkinson C, Zondervan KT, for the WERF WHSS Consortium. Developing symptom-based predictive models of endometriosis as a clinical screening tool: results from a multi-centre study. *Fertil Steril* 2012;98:692-701.
- Noventa M, Saccardi C, Litta P, Vitagliano A, D'Antona D, Abdulrahim B, Duncan A, Alexander-Sefre F, Aldrich CJ, Quaranta M, Gizzo S. Ultrasound techniques in the diagnosis of deep pelvic endometriosis: algorithm based on a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2015 Aug;104(2):366-383.
- Ohlsson Teague EM, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, Perry N, Wagaarachchi P, Robertson SA, Print CG, Hull LM. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis. *Mol Endocrinol*. 2009 Feb;23(2):265-75.
- Pabalan N, Jarjanazi H, Christofolini DM, Barbosa CP, Bianco B. Association of the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphisms with endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2015;292:843-51.
- Painter JN, Nyholt DR, Morris A, Zhao ZZ, Henders AK, Lambert A, Wallace L, Martin NG, Kennedy SH, Treloar SA, Zondervan KT, Montgomery GW. High-density fine-mapping of a chromosome 10q26 linkage peak suggests association between endometriosis and variants close to CYP2C19. *Fertil Steril* 2011;95:2236-40.
- Pascual MA, Guerriero S, Hereter L, Barri-Soldevila P, Ajossa S, Graupera B, Rodriguez I. Diagnosis of endometriosis of the rectovaginal septum using introital three-dimensional ultrasonography. *Fertil Steril* 2010;94:2761-5.
- Patel MD, Feldstein VA, Chen DC, Lipson SD, Filly RA. Endometriomas: diagnostic performance of US. *Radiology* 1999; 210:739–745.
- Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohi J, Simon C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995;10:91–7.
- Pereira RM, Zanatta A, de Mello Bianchi PH, Chamié LP, Gonçalves MO, Serafini PC. Transvaginal ultrasound after bowel preparation to assist surgical planning for bowel endometriosis resection. *Int J Gynaecol Obstet* 2009;104:161.

- Piessens S, Healey M, Maher P, Tsaltas J, Rombauts L. Can anyone screen for deep infiltrating endometriosis with transvaginal ultrasound? *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2014;54(5):462-8.
- Piketty M, Chopin N, Dousset B, Millischer-Bellaische AE, Roseau G, Leconte M, Borghese B, Chapron C. Preoperative work-up for patients with deeply infiltrating endometriosis: transvaginal ultrasonography must definitely be the first-line imaging examination. *Hum Reprod* 2009;24:602-7.
- Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 2010;28:1057-68.
- Possover M, Tersiev P, Angelov DN. Comparative study of the neuropeptide-Y sympathetic nerves in endometriotic involved and noninvolved sacrouterine ligaments in women with pelvic endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2009;16:340-3.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:591-8.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion. *Fertil Steril* 2014;101:927-35.
- Prieto L, Quesada JF, Cambero O, Pacheco A, Pellicer A, Codoceo R, Garcia-Velasco JA. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertil Steril* 2012;98:126-30.
- Qin B, Yang H, Xiao B. Role of microRNAs in endothelial inflammation and senescence. *Mol Biol Rep* 2012;39:4509-18.
- Rahimi RA, Leof BE. TGF- β signaling: a tale of two responses. *J Cell Biochem* 2007;102:593-608.
- Ramón L, Gilabert-Estellés J, Castelló R, Gilabert J, España F, Romeu A, Chirivella M, Aznar J, Estellés A: mRNA analysis of several components of the plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in endometriosis using a real-time quantitative RT-PCR assay. *Hum Reprod* 2005;20:272-8.
- Ramon LA, Gilabert-Estelles J, Cosin R, Gilabert J, España F, Castello R, Chirivella M, Romeu A, Estelles A. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G polymorphism and endometriosis. Influence of PAI-1 polymorphism on PAI-1 antigen and mRNA expression. *Thrombosis Research* 2008;122:854-60.
- Ramón LA, Braza-Boïls A, Gilabert-Estellés J, Gilabert J, España F, Chirivella M, Estellés A. microRNAs expression in endometriosis and their relation to angiogenic factors. *Hum Reprod* 2011;26:1082-90.
- Ramón LA, Braza-Boïls A, Gilabert J, Chirivella M, España F, Estellés A, Gilabert-Estellés J. microRNAs related to angiogenesis are dysregulated in endometrioid endometrial cancer. *Hum Reprod* 2012;27:3036-45.
- Redwine DB. 'Invisible' microscopic endometriosis: a review. *Gynecol Obstet Invest* 2003;55:63-7.
- Reid S, Condous G. Transvaginal sonographic sliding sign: accurate prediction of pouch of Douglas obliteration. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41:605-7.

- Reid S, Lu C, Hardy N, Casikar I, Reid G, Cario G, Chou D, Almashat D, Condous G. Office gel sonovaginography for the prediction of posterior deep infiltrating endometriosis: a multicenter prospective observational study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:710-8.
- Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67:817-21.
- Riazi H, Tehranian N, Ziaei S, Mohammadi E, Hajizadeh E, Montazeri A. Clinical diagnosis of pelvic endometriosis: a scoping review. *BMC Womens Health* 2015;15:39.
- Rocha AL, Reis FM, Taylor RN. Angiogenesis and endometriosis. *Obstet Gynecol Int* 2013;2013:859619.
- Rokitansky C. Über Uterusdrüsen-Neubildung in Uterus- und Ovarial-Sarcomen. *Z Ges Aerzte Wien* 1860;16:577-81.
- Romaine SP, Tomaszewski M, Condorelli G, Samani NJ. MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians. *Heart* 2015;101:921-8.
- Russel WW. Aberrant portions of the müllerian duct found in an ovary. *John Hopkins Hosp Bull* 1899;10:8-10.
- Saha R, Pettersson HJ, Svedberg P, Olovsson M, Bergqvist A, Marions L, Tornvall P, Kuja-Halkola R. Heritability of endometriosis. *Fertil Steril* 2015;104:947-52.
- Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927a;14: 422-69.
- Sampson JA. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. *Am J Pathol* 1927b;3:93-110.
- Sampson JA. The development of the implantation theory for the origin of peritoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1940: 40: 549-57.
- Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2008 ;1127:106-15.
- Schenken, R. S. - Pathogenesis in Endometriosis, Philadelphia, J. B. Lippincott, 1999. cap. 1, p.1-48.
- Scurry J, Whitehead J, Healey M. Classification of ovarian endometriotic cysts. *Int J Gynecol Pathol* 2001;20:147-54.
- Seear K. The etiquette of endometriosis: stigmatisation, menstrual concealment and the diagnostic delay. *Soc Sci Med* 2009;69:1220-7.
- Seracchioli R, Mabrouk M, Guerrini M, Manuzzi L, Savelli L, Frascà C, Venturoli S. Dyschezia and posterior deep infiltrating endometriosis: analysis of 360 cases. *J Minim Invasive Gynecol* 2008;15:695-9.
- Setúbal A, Sidiropoulou Z, Torgal M, Casal E, Lourenço C, Koninckx P. Complications of deep endometriosis during pregnancy or in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2014;101:442-6.
- Shah MY, Calin GA. The mix of two worlds: non-coding RNAs and hormones. *Nucleic Acid Ther* 2013;23:2-8.

- Sharpe-Timms KL, Zimmer RL, Ricke EA, Piva M, Horowitz GM. Endometriotic haptoglobin binds to peritoneal macrophages and alters their function in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:810–9.
- Shokeir T, Mousa S. A randomized, placebo-controlled, double-blind study of hysteroscopic-guided pertubal diluted bupivacaine infusion for endometriosis-associated chronic pelvic pain. *Int J Gynaecol Obstet* 2015;130:219-22.
- Signorile PG, Baldi F, Bussani R, D'Armiento M, De Falco M, Baldi A. Ectopic endometrium in human foetuses is a common event and sustains the theory of müllerianosis in the pathogenesis of endometriosis, a disease that predisposes to cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2009a;28:49.
- Signorile PG, Campioni M, Vincenzi B, D'Avino A, Baldi A. Rectovaginal septum endometriosis: an immunohistochemical analysis of 62 cases. *In Vivo* 2009b;23:459-64.
- Signorile PG, Baldi F, Bussani R, D'Armiento M, De Falco M, Boccellino M, Quagliuolo L, Baldi A. New evidence of the presence of endometriosis in the human fetus. *Reprod Biomed Online* 2010;21:142-7.
- Simoens S, Hummelshoj L, Dunselman G, Brandes I, Dirksen C, D'Hooghe T. Endometriosis cost assessment (the EndoCost study): a cost-of-illness study protocol. *Gynecol Obstet Invest* 2011a;71:170–176.
- Simoens S, Meuleman C, D'Hooghe T. Non-health-care costs associated with endometriosis. *Hum Reprod* 2011b;26:2363–2367.
- Simpson JL, Elias S, Malinak LR, Buttram VC Jr. Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;137:327-31.
- Sinaii N, Plumb K, Cotton L, Lambert A, Kennedy S, Zondervan K, Stratton P. Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease. *Fertil Steril* 2008;89:538 – 545.
- Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. 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* 2013;100:127-34.
- Socolov R, Butureanu S, Angioni S, Sindilar A, Boiculese L, Cozma L, Socolov D. The value of serological markers in the diagnosis and prognosis of endometriosis: a prospective case-control study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;154:215-7.
- Somigliana E, Infantino M, Candiani M, Vignali M, Chiodini A, Busacca M, Vignali M. Association rate between deep peritoneal endometriosis and other forms of the disease: pathogenetic implications. *Hum Reprod* 2004;19:168-71.
- Somigliana E, Vigano P, Barbara G, Vercellini P. Treatment of endometriosis-related pain: options and outcomes. *Front Biosci (Elite Ed)* 2009;1:455-65.
- Somigliana E, Vercellini P, Vigano' P, Benaglia L, Crosignani PG, Fedele L. Non-invasive diagnosis of endometriosis: the goal or own goal? *Hum Reprod* 2010;25:1863-8.
- Somigliana E, Garcia-Velasco JA. Treatment of infertility associated with deep endometriosis: definition of therapeutic balances. *Fertil Steril* 2015;104:764-70.

- Stepniowska A, Pomini P, Bruni F, Mereu L, Ruffo G, Ceccaroni M, Scioscia M, Guerriero M, Minelli L. Laparoscopic treatment of bowel endometriosis in infertile women. *Human Reproduction* 2009;24:1619-25
- Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000;403:41-5.
- Streuli II, de Ziegler D, Santulli P, Marcellin L, Borghese B, Batteux F, Chapron C. An update on the pharmacological management of endometriosis. *Expert Opin Pharmacother.* 2013;14:291-305.
- Suárez Y, Sessa WC. MicroRNAs as novel regulators of angiogenesis. *Circ Res* 2009;27:442-54.
- Suryawanshi S, Vlad AM, Lin HM, Mantia-Smaldone G, Laskey R, Lee M, Lin Y, Donnellan N, Klein-Patel M, Lee T, Mansuria S, Elishaev E, Budiu R, Edwards RP, Huang X. Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:1213-24.
- Suzuki H, Maruyama R, Yamamoto E, Kai M. Epigenetic alteration and microRNA dysregulation in cancer. *Front Genet* 2013;4:258.
- Szamatowicz J, Ludański P, Tomaszewska I: Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1: a possible role in the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod* 2002;17:284-8.
- Szubert M, Suzin J, Duechler M, Szulawska A, Czyż M, Kowalczyk-Amico K. Evaluation of selected angiogenic and inflammatory markers in endometriosis before and after danazol treatment. *Reprod Fertil Dev* 2014;26:414-20.
- Tabibzadeh S. Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum Reprod* 1992 ;7:876-82.
- Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, Nezhat CN, Kempson R, Lessey BA, Nayak NR, Giudice LC. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology* 2006;147:1097-121.
- Tammaa A, Fritzer N, Lozano P, Krell A, Salzer H, Salama M, Hudelist G. Interobserver agreement of non-invasive diagnosis of endometriosis by transvaginal sonography (TVS). *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015 [Epub ahead of print]
- Tan BK, Maillou K, Mathur RS, Prentice A. A retrospective review of patient-reported outcomes on the impact on quality of life in patients undergoing total abdominal hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy for endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;170:533-8
- Taylor HS, Igarashi P, Olive DL, Arici A. Sex steroids mediate HOXA11 expression in the human periimplantation endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1129-35.
- Taylor HS, Vanden Heuvel GB, Igarashi P. A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol Reprod* 1997;57:1338-45.

- Taylor RN, Hummelshoj L, Stratton P, Vercellini P. Pain and endometriosis: Etiology, impact, and therapeutics. *Middle East Fertil Soc J* 2012;17:221-225.
- Thiruchelvam U, Wingfield M, O'Farrelly C. Natural Killer Cells: Key Players in Endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2015;74:291-301.
- Tuten A, Kucur M, Imamoglu M, Kaya B, Acikgoz AS, Yilmaz N, Ozturk Z, Oncul M. Copeptin is associated with the severity of endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* 2014;290:75-82.
- Tuttles F, Keckstein J, Ulrich U, Possover M, Schweppe KW, Wustlich M, Buchweitz O, Greb R, Kandolf O, Mangold R, Masetti W, Neis K, Rauter G, Reeka N, Richter O, Schindler AE, Sillem M, Terruhn V, Tinneberg HR. ENZIAN-score, a classification of deep infiltrating endometriosis. *Zentralbl Gynakol.* 2005;127:275-81.
- Van Langendonck A, Luyckx M, Gonzalez MD, Defrere S, Donnez J, Squifflet J. Differential expression of genes from the homeobox A cluster in deep endometriotic nodules and peritoneal lesions *Fertil Steril* 2010;94:1995-2000.
- Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O, Cortesi I, Parazzini F, Crosignani PG. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertil Steril* 1996;65:299-304.
- Vercellini P, Aimi G, De Giorgi O, Maddalena S, Carinelli S, Crosignani PG. Is cystic ovarian endometriosis an asymmetric disease? *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:1018-21.
- Vercellini P, Busacca M, Aimi G, Bianchi S, Frontino G, Crosignani PG. Lateral distribution of recurrent ovarian endometriotic cysts. *Fertil Steril* 2002;77:848-9.
- Vercellini P, Chapron C, Fedele L, Frontino G, Zaina B, Crosignani PG. Evidence for asymmetric distribution of sciatic nerve endometriosis. *Obstet Gynecol* 2003;102:383-7.
- Vercellini P et al. Deep endometriosis: definition, pathogenesis, and clinical management. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2004; 11:153-161.
- Vercellini P, Fedele L, Aimi G, De Giorgi O, Consonni D, Crosignani PG. Reproductive performance, pain recurrence and disease relapse after conservative surgical treatment for endometriosis: the predictive value of the current classification system. *Hum Reprod* 2006;21: 2679 – 2685.
- Vercellini P, Fedele L, Aimi G, Pietropaolo G, Consonni D, Crosignani PG. Association between endometriosis stage, lesion type, patient characteristics and severity of pelvic pain symptoms: a multivariate análisis of over 1000 patients. *Hum Reprod* 2007a;22:266-71.
- Vercellini P, Abbiati A, Viganò P, Somigliana ED, Daguati R, Meroni F, Crosignani PG. Asymmetry in distribution of diaphragmatic endometriotic lesions: evidence in favour of the menstrual reflux theory. *Hum Reprod* 2007b;22:2359-67.
- Vercellini P, Crosignani PG, Abbiati A, Somigliana E, Viganò P, Fedele L. The effect of surgery for symptomatic endometriosis: the other side of the story. *Hum Reprod Update* 2009a;15:177-88.

- Vercellini P, Crosignani PG, Somigliana E, Berlanda N, Barbara G, Fedele L. Medical treatment for rectovaginal endometriosis: what is the evidence? *Hum Reprod* 2009b;24:2504-14.
- Vercellini P, Crosignani PG, Abbiati A, Somigliana E, Viganò P, Fedele L. The effect of surgery for symptomatic endometriosis: the other side of the story. *Hum Reprod Update* 2009c;15:177-88.
- Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:261-75.
- Vercellini P. Introduction: Management of endometriosis: moving toward a problem-oriented and patient-centered approach. *Fertil Steril* 2015;104:761-3.
- Verit FF, Erel O, Celik N. Serum paraoxonase-1 activity in women with endometriosis and its relationship with the stage of the disease. *Hum Reprod* 2008;23:100-4.
- Vignali M, Infantino M, Matrone R et al. Endometriosis: novel etiopathogenetic concepts and clinical perspectives. *Fertil Steril* 2002;78: 665–78.
- Villa G, Mabrouk M, Guerrini M, Mignemi G, Montanari G, Fabbri E, Venturoli S, Seracchioli R. Relationship between site and size of bladder endometriotic nodules and severity of dysuria. *J Minim Invasive Gynecol.* 2007;14:628-32.
- Vimercati A, Achilarré MT, Scardapane A, Lorusso F, Ceci O, Mangiatordi G, Angelelli G, Van Herendael B, Selvaggi L, Bettocchi S. Accuracy of transvaginal sonography and contrast-enhanced magnetic resonance-colonography for the presurgical staging of deep infiltrating endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;40:592-603.
- Virgilio B, Melis GB. Diagnosis of the most frequent benign ovarian cysts: is ultrasonography accurate and reproducible? *J Womens Health* 2009;18:519-27.
- Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM, Fassbender A, Bokor A, Schols D, Huskens D, Meuleman C, Peeraer K, Tomassetti C, Gevaert O, Waelkens E, Kasran A, De Moor B, D'Hooghe TM. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod* 2012;27:2698-711.
- von Recklinghausen F. *Die Adenomyomata und Cystadenomata der Uterus und Tubenwandung: Ihre Abkunft von Resten des Wolffischen Koerpers.* Berlin: August Hirschwald Verlag, 1896.
- Wang C, Jin A, Huang W, Tsang LL, Cai Z, Zhou X, Chen H, Chan HC. Up-regulation of Bcl-2 by CD147 Through ERK Activation Results in Abnormal Cell Survival in Human Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:E955-63.
- Wang WT, Zhao YN, Han BW, Hong SJ, Chen YQ. Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:281-9.
- Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, et al. The microRNA spectrum in 12 bodyfluids. *Clin Chem* 2010; 56:1733–41.
- WHO. Funding dilemmas in a fast changing world. Health and philanthropy: Leveraging change. University of Indiana, August 2006.

- Witz CA, Thomas MR, Montoya-Rodriguez IA, Nair AS, Centonze VE, Schenken RS. Short-term culture of peritoneum explants confirms attachment of endometrium to intact peritoneal mesothelium. *Fertil Steril* 2001;75:385-90.
- Wölfler MM, Meinhold-Heerlein IM, Henkel C, Rath W, Neulen J, Maass N, Bräutigam K. Reduced hemopexin levels in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2013;100:777-81.
- Young VJ, Brown JK, Saunders PT, Horne AW. The role of the peritoneum in the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod Update* 2013;19:558-69.
- Zeitoun K, Takayama K, Sasano H, Suzuki T, Moghrabi N, Andersson S, Johns A, Meng L, Putman M, Carr B, Bulun SE. Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(12):4474-80.
- Zhang RJ, Wild RA, Ojago JM. Effect of tumor necrosis factor-alpha on adhesion of human endometrial stromal cells to peritoneal mesothelial cells: an in vitro system. *Fertil Steril* 1993;59:1196-201.
- Zorio E, Medina P, Rueda J, Millán JM, Arnau MA, Beneyto M, Marín F, Gimeno JR, Osca J, Salvador A, España F, Estellés A. Insights into the role of microRNAs in cardiac diseases: from biological signalling to therapeutic targets. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2009;7:82-90.
- Zullo A, Hassan C, Romiti A, Giusto M, Guerriero C, Lorenzetti R, Campo SM, Tomao S. Follow-up of intestinal metaplasia in the stomach: When, how and why. *World J Gastrointest Oncol* 2012;4:30-6.

VIII. ANEXOS

Anexo 1



HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Proyecto. Fondo de Investigación Sanitaria-Intituto de Salud Carlos III,	Fecha: Julio 2014
Investigador Principal: Dr. Gilbert-Estellés (Hospital General Universitario; areaclinikamaterno_infantil_hgv@gva.es)	
CENTRO: Área Maternoinfantil, Hospital General Universitario, Valencia	
Título del proyecto de investigación Marcadores clínicos y biológicos no invasivos en el diagnóstico y pronóstico de la endometriosis	

1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigaciones Clínicas y la Comisión de Investigación del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportunas.

2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

Procedimientos del estudio.

Se estudiarán muestras provenientes de pacientes con endometriosis y mujeres control. Las muestras de sangre menstrual provenientes de tampones higiénicos o muestras de sangre se obtendrán cuando se realice la analítica preoperatoria.

Objetivo del estudio: El propósito de esta investigación es caracterizar y validar diversos biomarcadores para el diagnóstico de la endometriosis empleando para ello diferentes fluidos biológicos obtenidos de forma no invasiva. Con este estudio se pretende profundizar en las causas de estas enfermedades para poder prevenirlas, así como en investigar posibles tratamientos futuros.

Metodología empleada

Normas éticas. El estudio se realizará siguiendo las normas de la declaración de Helsinki y posteriores modificaciones.

El consentimiento informado para participar en el estudio, será obtenido de todos los pacientes y siempre con motivo de la exploración quirúrgica oportuna para el diagnóstico y/o tratamiento de la enfermedad.



4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:

Beneficios esperados

Este estudio beneficia a las pacientes y a la sociedad en general, al lograr un mayor conocimiento de las causas de estas enfermedades, aunque la paciente probablemente no se beneficiará directamente de los resultados del estudio.

Incomodidades y riesgos derivados del estudio.

La obtención de la muestra no causará incomodidad a las pacientes y controles ya que las muestras de sangre menstrual provenientes de tampones higiénicos o muestras de sangre se obtendrán cuando se realice la analítica preoperatoria.

5. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con secretaría del Área Maternoinfantil en el número de teléfono 963131800 ext 437127

6. CONFIDENCIALIDAD:

Confidencialidad y Protección de los datos.

La comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/99 de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal.

De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual se deberá dirigir a su médico del estudio.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio / colaboradores podrán relacionar dichos datos con Usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio / colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios) y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente en nuestro país.

En relación a las muestras biológicas extraídas: Tal y como se ha indicado, las muestras se utilizarán para realizar los estudios indicados, manteniendo en todo momento la confidencialidad requerida. En todos los casos, se almacenará muestra congelada para poder realizar en el futuro nuevos estudios. El titular del registro es el investigador principal. De acuerdo con el Comité Ético de nuestro hospital, entendemos que el material es entregado de forma desinteresada al equipo investigador por las personas incluidas en el estudio, con el ánimo de contribuir a mejorar la salud pública a sabiendas de que ellos probablemente no verán los beneficios directos de los conocimientos derivados del estudio. Así pues, opinamos que esta entrega no tiene carácter de propiedad permanente y que la donación debe estar limitada a unos objetivos claros y concretos y a un tiempo razonable (no superior a los seis años), durante el cual el equipo investigador tendrá la oportunidad y ventaja de realizar el estudio sobre dichas muestras con exclusividad (y sin competencias) así como de desarrollar tantas patentes como pueda y le sean autorizadas.



Transcurrido ese tiempo:

- 1- Los datos de la información derivados del estudio deben ser públicos y/o podrán ser fácilmente consultados.
- 2- El material dejará de ser propiedad del equipo investigador y el destino del mismo debe ser decidido y/o regulado por los Organismos Gubernamentales del país de procedencia de las muestras o bien destruido.
- 3- Bajo ningún concepto y en ningún momento las muestras serán motivo de lucro directo, bien sea por la venta del material o de los derechos para realizar estudios sobre los mismos.

En relación con posibles estudios futuros: Se podrán utilizar los datos derivados de este protocolo con motivo de nuevos estudios que en un futuro se puedan plantear en la investigación sobre la endometriosis o el cáncer endometrial, manteniendo en todo momento las detalladas arriba de confidencialidad y protección de datos. Si el sujeto estudiado hubiera fallecido, con la firma de este consentimiento autoriza a que se puedan utilizar sus datos con este motivo.

Equipos responsables del estudio y de informar al paciente.

- Área Maternoinfantil del Hospital General Universitario: Dr Juan Gilabert Estellés, Dr. Javier García Oms, Dra. Royo, Dr. Díaz García Donato, Dr. Barea.
- Instituto de Investigación Sanitaria La Fe: Dra. Aitana Braza Boïls, D. Josep Mari, Dra. A. Estellés

7. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo, por lo que su participación en éste no le supondrá ningún gasto.

8. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:

Cualquier nueva información referente a los fármacos utilizados en el estudio que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la mediación en estudio o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio. El promotor podrá suspender el estudio siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en la legislación vigente.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y que su médico considere el más adecuado para su enfermedad, pero es posible que no se le pueda seguir administrando la medicación objeto del presente estudio. Por lo tanto, ni el investigador, ni el promotor, adquieren compromiso alguno de mantener dicho tratamiento fuera de este estudio.

Departamento de salud València-Hospital General. Av. Tres Cruces, 2 – 46014 – Tel. 96 313 18 00 – www.hospitalgeneral.es



MODELO DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio: MARCADORES CLÍNICOS Y BIOLÓGICOS NO INVASIVOS EN EL DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE LA ENDOMETRIOSIS

Yo, _____ (nombre y apellidos).

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: Dr. _____

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio, en el cual se realizará:

- Encuestas de evaluación y seguimiento.
- Toma de las muestras especificadas (líquido peritoneal, sangre, biopsia endometrial y de tejidos extirpados durante la cirugía) las cuales tendrán un uso para investigación.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:
Fecha:

Nombre:
Fecha:

Consentimiento Informado 4/4

Anexo 2




Consorcio Hospital General Universitario de Valencia
Comité Ético de Investigación Clínica

APROBACIÓN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN - ANEXO 11 -

Este CEIC tras evaluar en su reunión de **28 de Marzo de 2013** el Proyecto de Investigación:

Título:	Papel de los microRNAs en la endometriosis como biomarcadores de enfermedad. Influencia de los micro RNAs en los sistemas angiogénico y proteolítico en pacientes con endometriosis.		
I.P.:	Dr. Juan Gilibert Estellés	Servicio/Unidad	Área Maternoinfantil

Acuerda respecto a esta documentación:

- Que el Proyecto de Investigación y Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado presentado reúnen las condiciones exigidas por este CEIC, por tanto se decide su APROBACIÓN.

Los miembros que evaluaron esta documentación:

		Presente	Ausente	Disculpa
Presidente	Dr. Severiano Marín			X
Vocales	D. Ernesto Bataller	X		
	D. Alejandro Moner	X		
	D. Germán García		X	
	Dr. D. José Manuel Iranzo		X	
	Dr. D. Miguel Armengot	X		
	Dr. D. Julio Cortijo	X		
	Dra. Dña. Elena Rubio	X		
	Dr. D. Gustavo Juan	X		
	Dra. Pilar Blasco	X		
	Dña. M ^a Teresa Jareño	X		
	Dra. M ^a José Safont	X		
	Dra. Ana Blasco			X
	Dr. Antonio Martorell	X		
	Dr. Aurelio Quesada			X
	Dra. Begoña Peris			X
	Dr. Fco. Javier Cervera			X
	Dr. José Vta. Roig Vila			X

Anexo 11
1
CEIC - CHGUV

Aprobación por Comité Ético 1/2



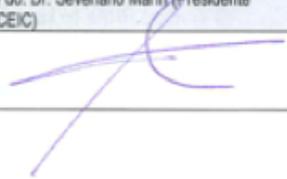
Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

Comité Ético de Investigación Clínica

Dra. Inmaculada Sáez			X
Dr. Alberto Berenguer			X
Dra. Goitzane Marcaida	X		
Dr. Javier Milara	X		
Dña. Encarna Domingo	X		
Secretario Dra. Ana Minguez	X		

Lo que comunico a efectos oportunos:

Fdo. Dr. Severiano Marín (Presidente CEIC)





CONSORCIO
HOSPITAL GENERAL
UNIVERSITARI
VALÈNCIA

COMITÉ ÈTIC DE
INVESTIGACIÓ CLÍNICA

Anexo II 2 CEIC - CHGUV

Aprobación por Comité Ético 2/2

Anexo 3



Paciente: _____

Fecha EHP-30: _____

EHP-30 Parte 1: cuestionario básico

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ... ha sido incapaz de ir a eventos sociales debido al dolor?					
2. ...ha sido incapaz de hacer las tareas del hogar debido al dolor?					
3. ... ha tenido dificultad para estar de pie debido al dolor?					
4. ... ha tenido dificultad para estar sentada debido al dolor?					
5. ... ha tenido dificultad para andar debido al dolor?					
6. ... ha tenido dificultad para hacer ejercicio o actividades de ocio debido al dolor?					
7. ... ha perdido el apetito y/o ha sido incapaz de comer debido al dolor?					
8. ... ha sido incapaz de dormir adecuadamente debido al dolor?					
9. ...ha tenido que irse a la cama/acostarse debido al dolor?					
10. ... ha sido incapaz de hacer las cosas que quería debido al dolor?					
11. ... ha sentido que es incapaz de hacer frente al dolor?					
12. ... ha sentido malestar generalizado?					
13. ... ha sentido frustración porque sus síntomas no mejoran?					
14. ... ha sentido frustración porque no es capaz de controlar sus síntomas?					

Por favor, compruebe que ha marcado una casilla en cada pregunta antes de pasar a la siguiente página.



Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
14. ... ha sentido frustración porque no es capaz de controlar sus síntomas?					
15. ... ha sido incapaz de olvidarse de sus síntomas?					
16. ... ha sentido que sus síntomas dominan su vida?					
17. ... ha sentido que sus síntomas están quitándole la vida?					
18. ... se ha sentido deprimida?					
19. ... ha tenido ganas de llorar?					
20. ... se ha sentido desgraciada?					
21. ... ha tenido cambios de humor?					
22. ... ha tenido mal humor?					
23. ... se ha sentido violenta o agresiva?					
24. ... ha sentido incapaz de decir a los demás cómo se siente?					
25. ... ha sentido que los demás no entienden por lo que está pasando?					
26. ... ha sentido como si los demás pensarán que es una quejica?					
27. ...ha sentido sola?					
28. ...ha sentido frustrada por no poder llevar la ropa que le gustaría?					
29. ...ha sentido que su apariencia se ha visto afectada?					
30. ... ha perdido la confianza?					

Por favor, compruebe que ha marcado una casilla en cada pregunta antes de pasar a la siguiente página.

EHP-30 Parte 2: cuestionario modular

Sección A: estas preguntas se refieren al efecto que la endometriosis produjo en su trabajo en las últimas 4 semanas. Si usted no ha tenido ningún trabajo voluntario o remunerado en las últimas 4 semanas, por favor marque una X aquí y pase a la sección B.



Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...tuvo que ausentarse del trabajo debido al dolor?					
2. ...ha sido incapaz de llevar a cabo tareas del trabajo debido al dolor?					
3. ... se ha sentido avergonzada por sus síntomas en el trabajo?					
4. ...se ha sentido culpable por ausentarse del trabajo?					
5. ...se ha sentido preocupada por no ser capaz de hacer su trabajo?					

Sección B: estas preguntas conciernen al efecto que la endometriosis tiene en la relación con sus hijos durante las últimas 4 semanas. Si no tiene hijos, por favor marque una X aquí y pase a la sección B.

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...tuvo dificultad para cuidar de sus hijos?					
2. ...se ha sentido incapaz de jugar con sus hijos?					

Por favor, compruebe que ha contestado cada sección antes de pasar a la siguiente página.

Sección C: estas preguntas conciernen al efecto de la endometriosis sobre sus relaciones sexuales en las últimas 4 semanas.

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...ha sentido dolor durante o después del coito? <i>Si no es relevante marque aquí <input type="checkbox"/></i>					
2. ...se ha sentido preocupada por tener relaciones debido al dolor? <i>Si no es relevante marque aquí <input type="checkbox"/></i>					
3. ... ha evitado tener relaciones debido al dolor?					



Si no es relevante marque aquí <input type="checkbox"/>					
4. ...se ha sentido culpable por no querer tener relaciones?					
Si no es relevante marque aquí <input type="checkbox"/>					
5. ...se ha sentido frustrada por no poder disfrutar de las relaciones?					
Si no es relevante marque aquí <input type="checkbox"/>					

Por favor, compruebe que ha contestado cada sección antes de pasar a la siguiente página.

Sección D: estas preguntas conciernen a sus sentimientos respecto a la profesión médica durante las últimas 4 semanas. Si esta sección no es relevante para usted, por favor marque una X aquí y pase a la sección B.

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...ha sentido que los médicos no hacen nada por usted?					
2. ...ha sentido que los médicos piensan que está todo en su mente?					
3. ... se ha sentido frustrada por la falta de conocimiento de los médicos sobre la endometriosis?					
4. ...se ha sentido como si estuviera haciendo perder el tiempo de los médicos?					

Sección E: estas preguntas conciernen a sus sentimientos respecto al tratamiento de la endometriosis durante las últimas 4 semanas. Tratamiento significa cualquier cirugía o medicamento recetado para su endometriosis. Si esta sección no es relevante para usted, por favor marque una X aquí y pase a la sección B.

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...se ha sentido frustrada porque el tratamiento no hace efecto?					
2. ...ha tenido dificultad para hacer frente a los efectos secundarios del tratamiento?					
3. ... se ha sentido molesta por la cantidad de medicación que tiene que tomar?					

Por favor, compruebe que ha contestado cada sección antes de pasar a la siguiente página.



Sección F: estas preguntas conciernen a sus problemas para concebir durante las últimas 4 semanas. Si esta sección no es relevante para usted, por favor marque una X aquí y pase a la parte 3.

Durante las últimas 4 semanas, ¿cuántas veces debido a su endometriosis...

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Frecuentemente	Siempre
1. ...se ha sentido preocupada por la posibilidad de no tener hijos/más hijos?					
2. ...se ha sentido incómoda por no ser capaz de tener hijos/más hijos?					
3. ... se ha sentido deprimida por la posibilidad de no tener hijos/más hijos?					
4. ...ha sentido que la posibilidad de no poder concebir ha ejercido una presión sobre su relación personal?					

Por favor, compruebe que ha contestado cada sección que es revelante para usted antes de pasar a la parte 3.

Anexo 4



**THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS**

Patient's Name _____ Date _____

Stage I (Minimal) - 1-5 Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Stage II (Mild) - 6-15 Recommended Treatment _____
 Stage III (Moderate) - 16-40
 Stage IV (Severe) - >40
 Total _____ Prognosis _____

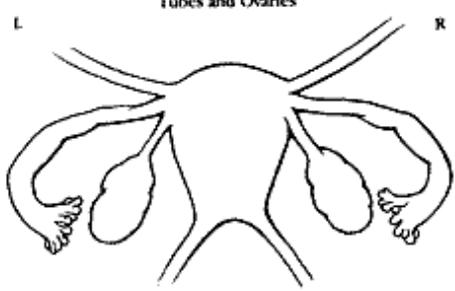
PERTONEUM	ENDOMETRIOSIS	< 1cm	1-5cm	> 5cm	
	Superficial	1	2	4	
Deep	2	4	6		
OVARY	R Superficial	1	2	4	
	Deep	4	16	20	
	L Superficial	1	2	4	
	Deep	4	16	20	
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION		Partial 4	Complete 40		
OVARY	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure	
	R Filmy	1	2	4	
	Dense	4	8	16	
	L Filmy	1	2	4	
	Dense	4	8	16	
	TUBE	R Filmy	1	2	4
		Dense	4*	8*	16
		L Filmy	1	2	4
Dense		4*	8*	16	

*If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.

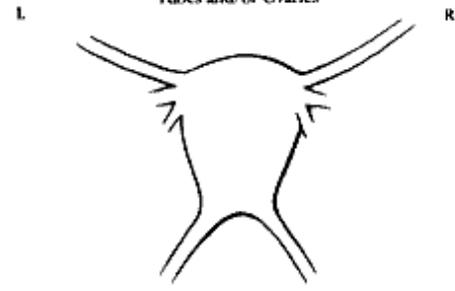
Additional Endometriosis: _____

Associated Pathology: _____

To Be Used with Normal
Tubes and Ovaries



To Be Used with Abnormal
Tubes and/or Ovaries



Clasificación Revisada de Endometriosis de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (rASRM)

Anexo 5



CONSORCIO
HOSPITAL GENERAL
UNIVERSITARIO
VALENCIA

Unidad de Endometriosis. CHGUV



Área Materno-infantil

CLASIFICACIÓN ENDOMETRIOSIS PROFUNDA

Fecha: _____
Paciente: _____

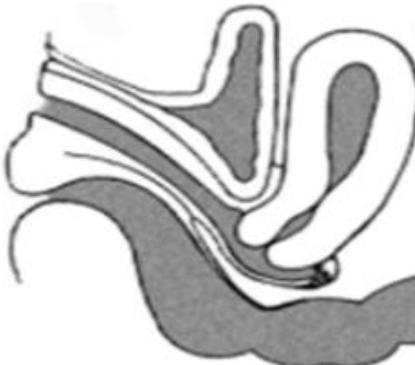
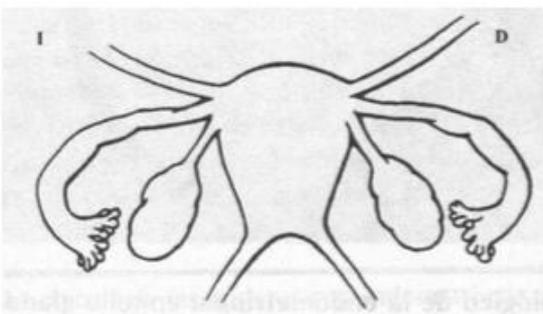
VALORACIÓN: A: _____
P: _____
L: _____

A: Anterior DIE
A1: vejiga cúpulacm
A2: vejiga retrotrigonalcm

P: Posterior DIE
P1: Retrocervicalcm
P2: Rectovaginalcm
P3: intestino....cm
Única / Múltiple
Rectal / Ileal / Rectosigma / Apendicular
Distancia unión rectoanal:cm
-sin infiltración de mucosa vagina (V-)
-con infiltración de mucosa vagina (V+)

L: Lateral DIE
L1: ligamento uterosacro (nodular)cm
L2: Parametrial proximalcm
L3: Parametrial distal....cm
U+: Implicación uréter U-: No implicación
Uh: Ureterohidronefrosis

*Nota: Dar volumen en cm (3 dimensiones)
Ej: P1 (2cm) V+ L1 (1cm): Nódulo rectovaginal 2 cm con infiltración de vagina y nódulo uterosacro de 1 cm sin afectación de uréter*



Clasificación de Endometriosis profunda de Chapron

Anexo 6

**ENDOMETRIOSIS FERTILITY INDEX (EFI)
SURGERY FORM**

LEAST FUNCTION (LF) SCORE AT CONCLUSION OF SURGERY

Score	Description		Left	Right
4	= Normal	Fallopian Tube	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3	= Mild Dysfunction	Fimbria	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2	= Moderate Dysfunction	Ovary	<input type="text"/>	<input type="text"/>
1	= Severe Dysfunction			
0	= Absent or Nonfunctional			

To calculate the LF score, add together the lowest score for the left side and the lowest score for the right side. If an ovary is absent on one side, the LF score is obtained by doubling the lowest score on the side with the ovary.

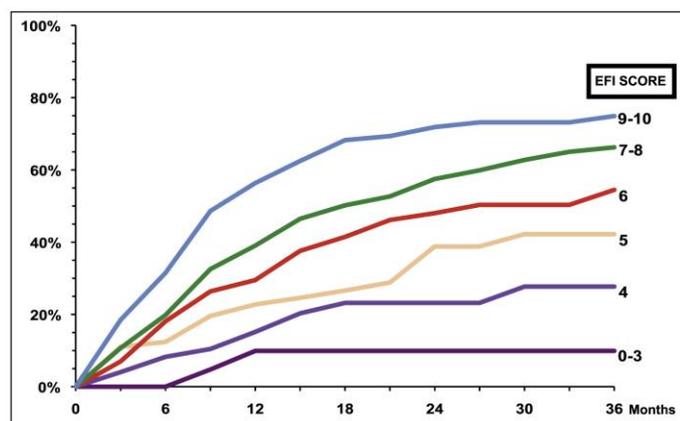
Lowest Score	<input type="text"/>	+	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
	Left		Right		LF Score

ENDOMETRIOSIS FERTILITY INDEX (EFI)

Historical Factors			Surgical Factors		
Factor	Description	Points	Factor	Description	Points
<u>Age</u>	If age is ≤ 35 years	2	<u>LF Score</u>	If LF Score = 7 to 8 (high score)	3
	If age is 36 to 39 years	1		If LF Score = 4 to 6 (moderate score)	2
	If age is ≥ 40 years	0		If LF Score = 1 to 3 (low score)	0
<u>Years Infertile</u>	If years infertile is ≤ 3	2	<u>AFS Endometriosis Score</u>	If AFS Endometriosis Lesion Score is < 16	1
	If years infertile is > 3	0		If AFS Endometriosis Lesion Score is ≥ 16	0
<u>Prior Pregnancy</u>	If there is a history of a prior pregnancy	1	<u>AFS Total Score</u>	If AFS total score is < 71	1
	If there is no history of prior pregnancy	0		If AFS total score is ≥ 71	0
Total Historical Factors			Total Surgical Factors		

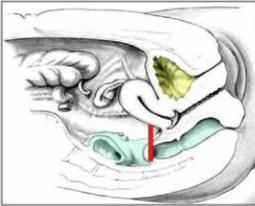
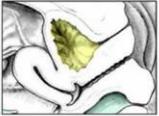
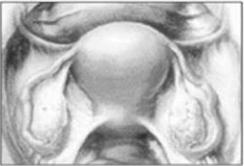
EFI = TOTAL HISTORICAL FACTORS + TOTAL SURGICAL FACTORS: Historical + Surgical = EFI Score

ESTIMATED PERCENT PREGNANT BY EFI SCORE



Endometriosis Fertility Index (EFI)

Anexo 7

LOCATION	LESION																																
<p>UTEROSACRAL LIGAMENTS (USL) and TORUS</p>  <p>PARAMETRIA and URETERS</p> <p>RECTO-VAGINAL SEPTUM and VAGINA</p>  <p>CRANIAL and CAUDAL RECTUM</p>	<p>POSTERO-LATERAL DIE</p> <p>NODULE</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes <1 cm</td> <td>Yes 1-3 cm</td> <td>Yes > 3cm</td> </tr> </table> <p>RIGHT USL</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>LEFT USL</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>TORUS</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>RIGHT PARAMETRIUM</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>LEFT PARAMETRIUM</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>RIGHT URETER</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Compression</td> <td>Dilatation</td> </tr> </table> <p>LEFT URETER</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Compression</td> <td>Dilatation</td> </tr> </table> <p>RVS</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>VAGINA</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> </tr> </table> <p>CRANIAL RECTUM</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>Wall infiltration grade</p> <table border="1"> <tr> <td>Superficial</td> <td>Full thickness</td> </tr> </table> <p>CAUDAL RECTUM</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table> <p>Wall infiltration grade</p> <table border="1"> <tr> <td>Superficial</td> <td>Full thickness</td> </tr> </table>	No	Yes <1 cm	Yes 1-3 cm	Yes > 3cm	No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Compression	Dilatation	No	Compression	Dilatation	No	Yes	No	Yes mm	No	Yes	Superficial	Full thickness	No	Yes	Superficial	Full thickness
	No	Yes <1 cm	Yes 1-3 cm	Yes > 3cm																													
	No	Yes																															
	No	Yes																															
	No	Yes																															
	No	Yes																															
	No	Yes																															
	No	Compression	Dilatation																														
	No	Compression	Dilatation																														
	No	Yes																															
	No	Yes mm																															
	No	Yes																															
	Superficial	Full thickness																															
	No	Yes																															
	Superficial	Full thickness																															
<p>DOUGLAS (D)</p>																																	
<p>DOUGLAS POUCH OBLITERATION</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes partial</td> <td>Yes complete</td> </tr> </table>		No	Yes partial	Yes complete																													
No	Yes partial	Yes complete																															
<p>ANTERIOR DIE</p>																																	
<p>BLADDER</p> 	<p>BLADDER</p> <p>NODULE</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> <td>site :</td> </tr> </table> <p>Distance from right ureter: mm</p> <p>Distance from left ureter: mm</p> <p>ADHESIONS</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes</td> </tr> </table>	No	Yes mm	site :	No	Yes																											
	No	Yes mm	site :																														
	No	Yes																															
	<p>ADNEXAL ENDOMETRIOSIS</p>																																
<p>ADNEXA</p> 	<p>ADNEXA</p> <p>ENDOMETRIOMA (right ovary)</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> </tr> </table> <p>ADHESIONS (right ovary)</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes site:</td> </tr> </table> <p>RIGHT TUBE</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> </tr> </table> <p>ENDOMETRIOMA (left ovary)</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> </tr> </table> <p>ADHESIONS (left ovary)</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes site:</td> </tr> </table> <p>LEFT TUBE</p> <table border="1"> <tr> <td>No</td> <td>Yes mm</td> </tr> </table>	No	Yes mm	No	Yes site:	No	Yes mm	No	Yes mm	No	Yes site:	No	Yes mm																				
	No	Yes mm																															
	No	Yes site:																															
	No	Yes mm																															
	No	Yes mm																															
	No	Yes site:																															
	No	Yes mm																															
<p>OTHER SITES</p>																																	

Endometriosis Surgical Ultrasonographic System (ESUS)

