

Epigenética de la endometriosis y su perspectiva terapéutica en el marco de un sistema integral de atención de la infertilidad: revisión y propuesta de investigación

Epigenetics of endometriosis and its therapeutic perspective in the framework of an integral system for infertility care: A review and research proposal / Epigenética da endometriose e sua perspectiva terapêutica no marco de um sistema integral de atenção da infertilidade: revisão e proposta de investigação

Fecha de recibido:

15 de diciembre de 2014

Fecha de aprobación:

11 de mayo de 2015

Alejandro Leal Esquivel¹, Fabio Alfaro Albertazzi², José M. Uribe Salazar¹

RESUMEN

La endometriosis consiste en la presencia ectópica de glándulas endometriales y células estromales fuera de la cavidad uterina (principalmente en ovarios y superficies de órganos internos de la cavidad pélvica). Es uno de los desórdenes ginecológicos benignos más comunes en las mujeres que están en edad reproductiva. Hay diversas teorías para explicar la endometriosis. La más aceptada es la denominada "menstruación retrógrada". Las mujeres con endometriosis presentan dolor en la región pélvica-abdominal, dismenorrea, dispareunia, mucho sangrado en la menstruación, dolor pélvico no-menstrual, dolor al ovular, disquecia, disuria, fatiga crónica y sub-fertilidad. Diversos estudios han relacionado la endometriosis con aparición de cáncer ovárico, con un desarrollo de carcinomas en 5% - 10% de los casos de mujeres con endometriomas ováricos. El desarrollo efectivo de estrategias terapéuticas para el control de la endometriosis depende de una correcta identificación de los patrones epigenéticos y de genes candidatos, que serían el blanco en los tratamientos.

Palabras clave: endometriosis; terapéutica; genética; fenotipo; genotipo.

ABSTRACT

Endometriosis consists in the ectopic presence of endometrial glands and stromal cells outside the uterine cavity (mainly in ovaries and on the surface of internal organs of the pelvic cavity). It is one of the most common benign gynecological disorders in reproductive-age women. There are various theories to explain endometriosis. The most widely accepted theory is known as "retrograde menstruation". Common endometriosis symptoms include pelvic or abdominal pain, dysmenorrhea, dyspareunia, heavy menstrual bleeding, non-menstrual pelvic pain, ovulation pain, dyschezia, dysuria, chronic fatigue syndrome, and fertility problems. Various studies have associated endometriosis with the onset of ovarian cancer, with carcinoma development in 5 to 10% of women with ovarian endometriomas. The successful development of therapeutic strategies to control endometriosis depends on a correct identification of the epigenetic patterns and gene candidates to be targeted by treatment.

Keywords: endometriosis; therapeutics; genetics; phenotype; genotype.

RESUMO

A endometriose consiste na presença ectópica de glândulas endometriais e células estromais fora da cavidade uterina (principalmente em ovários e superfícies de

Forma de citar este

artículo: Leal A, Alfaro F, Uribe JM. Epigenética de la endometriosis y su perspectiva terapéutica en el marco de un sistema integral de atención de la infertilidad: revisión y propuesta de investigación. Med U.P.B. 2015;34(1):61-69

1. Sección de Genética y Biotecnología, Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica
2. Sección de Ginecología y Obstetricia, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica

Dirección de

correspondencia: Alejandro Leal Esquivel. Correo electrónico: aleal@cariari.ucr.ac.cr

órgãos internos da cavidade pélvica). É um dos desordens ginecológicos benignos mais comuns nas mulheres que estão em idade reprodutiva. Há diversas teorias para explicar a endometriose. A mais aceita é a denominada “menstruação retrógrada”. As mulheres com endometriose apresentam dor na região pélvica-abdominal, dismenorrea, dispareunia, muito sangrado na menstruação, dor pélvico não-menstrual, dor ao ovular, disquesia, disúria, fadiga crónica e subfertilidade. Diversos estudos hão relacionado a endometriose com aparição de câncer ovárico, com um desenvolvimento de carcinomas em 5% - 10% dos casos de mulheres com endometriomas ováricos. O desenvolvimento efetivo de estratégias terapêuticas para o controle da endometriose depende de uma correta identificação dos padrões epigenéticos e de genes candidatos, que seriam o alvo nos tratamentos.

Palavras chave: endometriose; terapêutica; genética; fenótipo; genótipo.

INTRODUCCIÓN

La endometriosis es definida como la presencia ectópica de glándulas endometriales y células estromales fuera de la cavidad uterina, principalmente en los ovarios y las superficies de los órganos internos de la cavidad pélvica¹⁻³. Esta enfermedad es considerada como uno de los desórdenes ginecológicos benignos más comunes que afecta a las mujeres en su edad reproductiva^{4,5}, la cual puede ocurrir espontáneamente en mujeres y primates no humanos¹. Según diversos estudios realizados en otros países, se presume que la prevalencia de endometriosis entre mujeres asintomáticas va del 2% al 22%, mientras que en mujeres infértiles asciende del 35% al 77%^{6,7}.

Existen diversas teorías para tratar de explicar el desarrollo de endometriosis. La más aceptada es la denominada “menstruación retrógrada”, que consiste en un reflujo del fluido menstrual a través de las trompas de Falopio hacia la cavidad abdominal^{7,8}. Los fragmentos de endometrio, entonces, se adhieren a las estructuras interiores del abdomen, particularmente las paredes del peritoneo y los ovarios, para comenzar la formación de lesiones endometriósicas⁸. Los métodos para el diagnóstico de endometriosis, si no se toman muestras histológicas, tienen apenas una sensibilidad del 50% en los casos con un desarrollo mínimo o leve⁹. Por lo tanto, cuando se sospecha que se padece de endometriosis se analizan muestras de tejidos provenientes de las lesiones y se categoriza el grado de desarrollo como

mínimo (etapa I), leve (etapa II), moderado (etapa III) y severo (etapa IV), basados en el tamaño total de las lesiones, presencia de adhesiones, localización y cantidad de parches endometriósicos^{9,10}. Sin embargo, es reconocido que el progreso en las diferentes etapas puede no estar correlacionado con los síntomas que experimentan las pacientes porque, en las etapas más leves, pueden experimentar síntomas severos¹⁰.

Las mujeres con endometriosis suelen presentar dolor en la región pélvica-abdominal, dismenorrea, dispareunia, mucho sangrado en la menstruación, dolor pélvico no menstrual, dolor al ovular, disquesia, disuria y fadiga crónica^{10,11}. También, se ha asociado el desarrollo de endometriosis con subfertilidad de las pacientes^{8,10,12}. Se ha identificado una fuerte asociación entre la severidad de la enfermedad y el impacto en la fertilidad, probablemente por daños en trompas de Falopio, endometriomas ováricos, inflamación pélvica, posible reducción en la calidad de los oocitos y reducción en su recepción por el endometrio¹⁰. Además, diversos estudios han encontrado una relación de la presencia de endometriosis con cáncer ovárico, con un desarrollo de carcinomas en 5% - 10% de los casos de mujeres con endometriomas ováricos¹³. Entonces, a pesar de ser considerada una enfermedad benigna, podría derivar en un tumor por su crecimiento sin control, incremento de vascularización, invasión de tejidos y metástasis¹³.

Estos síntomas y padecimientos, asociados con la endometriosis, aumentan el costo económico social, además de reducir la productividad personal y calidad de vida¹⁰.

Estimaciones recientes de los costos para la remoción de lesiones ocasionadas por endometriosis son de alrededor de 17.3 billones de dólares anuales solo en Estados Unidos¹, por lo que se hacen necesarias estrategias de prevención, diagnóstico temprano y técnicas de tratamiento. En diversos países, incluido Costa Rica, la extracción de las lesiones ocasionadas por la endometriosis representa el principal tratamiento para la enfermedad, pues se ha demostrado que es la terapia vigente más eficaz¹⁴. Sin embargo, puede ocasionar daños en los tejidos ováricos y las reservas de ovarios en las pacientes¹⁴. Además, se ha demostrado recurrencia de endometriosis en mujeres sometidas a cirugía antes de los 32 años de edad y entre los cinco años después de realizada la operación¹². Más recientemente, se han desarrollado pseudoterapias hormonales (con hormonas artificiales) que buscan reducir los niveles de estrógenos circulantes para reducir la vascularización de los parches endometriósicos, pero los resultados no han sido del todo satisfactorios y solamente han logrado disminuir los síntomas^{5,15}.

La endometriosis es considerada como una enfermedad multifactorial compleja⁹. La fisiopatología incluye factores hormonales, anatómicos, genéticos, inmunes e inflamatorios que pueden aumentar el riesgo de enfermar¹⁶. Se estima que hasta un 90% de las mujeres en edad reproductiva sufre cierta cantidad de menstruaciones retrógradas normalmente, pero solo en una porción se produce la enfermedad¹. Debido a esto, el proceso de desarrollo de la enfermedad incluye una combinación de menstruación retrógrada, anomalías eutópicas del endometrio como alteración en la secreción de ciertas proteínas, expresión de diversos genes y anomalías en el sistema inmune¹. La contribución genética en el desarrollo de endometriosis ha sido ampliamente estudiada y se han identificado mayores tasas de endometriosis entre parientes de casos diagnosticados cuando se comparan con los controles^{4,9,17,18}. El riesgo de padecer la enfermedad puede ser hasta 2.34 veces mayor entre hermanas de una mujer afectada en comparación con el riesgo general de la población⁹.

Es difícil hallar las variantes genéticas que contribuyan con enfermedades complejas por cuanto es pequeño el aporte de genes individuales y muchos genes colaboran para el aumento de riesgo y este riesgo puede ser modificado por el ambiente⁹. Los estudios para encontrar genes candidatos que contribuyan a la aparición de endometriosis han resultado en unos 76 genes cuyas modificaciones se han asociado con un aumento en la susceptibilidad⁹. Estos genes candidatos incluyen genes de las vías de desintoxicación, vías de síntesis de hormonas sexuales y citoquinas, moléculas involucradas en procesos de adhesión y regulación del ciclo celular^{9,19}. Estudios del genoma han identificado mutaciones en

loci potenciales para el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, mutaciones genéticas en los *loci* candidatos por sí solos no han logrado explicar completamente la herencia de la enfermedad en estudios poblacionales, debido a que, en muchas ocasiones, se trata de mutaciones puntuales con una prevalencia muy baja en la población. Por lo tanto, se ha sugerido que variaciones en el ácido desoxirribonucleico (ADN) como tal, no explican totalmente la enfermedad¹.

Este vacío en la identificación de patrones de herencia y genes candidatos en el padecimiento de endometriosis, ha dado espacio para un campo de mucho interés, el análisis epigenético¹. La epigenética es definida como información heredable durante la división celular aparte de la secuencia del ADN²⁰. Esto incluye el estudio de las alteraciones, como modificaciones de las histonas o las bases nitrogenadas citosinas, que afectan la expresión de los genes, debido a la modificación en el grado de condensación del ADN y acceso de la maquinaria transcripcional¹. Diversos estudios apuntan a que en la endometriosis, lo que prevalece es una desregulación de varios genes²¹⁻²³, lo que provoca un linaje celular con ciertos cambios que están fuera del ADN y son las marcas epigenéticas las que mantienen estos cambios y provocan la enfermedad²³.

Se ha asociado la endometriosis con patrones de metilación o acetilación modificados, que podrían resultar en cambios en la expresión de ciertas proteínas involucradas con el desarrollo de la enfermedad¹⁴. La presencia de una elevada cantidad de macrófagos peritoneales, células de sistema inmune u hormonas en el fluido peritoneal podrían afectar el estado de metilación del genoma del embrión, feto en desarrollo o mujer adulta^{1,24}. Las marcas epigenéticas establecidas durante la gametogénesis o proceso de gestación pueden persistir durante el desarrollo de la mujer, lo que podría incrementar el riesgo de padecer endometriosis¹. Se ha descubierto que estas marcas epigenéticas en el genoma pueden ser reversibles ante ciertas condiciones ambientales como dieta o ejercicio, pero también pueden ser agravadas con hábitos como fumar o con el de estrés²⁵.

En los últimos años, se han desarrollado estudios que analizan el estado de metilación de secuencias reguladoras de genes asociados con vías candidatas, que aumenten el riesgo de endometriosis^{14,26}. Un análisis del gen *HOXA10* identificó patrones de hipermetilación en las regiones promotoras del gen en pacientes con endometriosis¹⁴. Esta metilación aberrante podría ser la respuesta a la expresión anormal del gen *HOXA10* durante la fase secretoria en mujeres con endometriosis^{14,27}. Este gen pertenece a la familia de genes *HOX*, caracterizados por la secuencia *homeobox*, que corresponde a genes involucrados en el desarrollo temprano del embrión²⁸.

El gen *HOXA10* ha sido identificado como un factor de transcripción de diversas vías asociadas con el desarrollo temprano del sistema reproductor²⁸. En mujeres adultas, este gen se expresa normalmente en el endometrio y se ha logrado demostrar que tiene un patrón dinámico de expresión temporal a través del ciclo menstrual y se aumenta en la fase secretoria inducido por la progesterona, para cumplir un importante papel en la implantación del óvulo fecundado^{1,14,29}. Por estar involucrado con la implantación, se ha sugerido que este gen podría estar asociado con la implantación del tejido endometrial durante el desarrollo de la endometriosis. Por lo tanto, ha surgido mucho interés en confirmar estos patrones de metilaciones aberrantes en las secuencias reguladoras de este gen. Además, es vital analizar otros genes candidatos que formen parte de algún proceso que se haya identificado como crucial para la enfermedad, como los receptores de las hormonas sexuales o ciertos factores esteroideogénicos, entre otros¹⁴.

La endometriosis es predominantemente desarrollada y mantenida por desórdenes en hormonas sexuales^{1,30,31}. Los receptores de las hormonas sexuales cumplen una función decisiva para el desarrollo normal de un ciclo menstrual, debido a la importancia de que las hormonas ingresen a las células correspondientes y cumplan su función¹. Diversos estudios han confirmado que la enfermedad es dependiente de las hormonas progesterona y estrógeno^{1,21,32}. La progesterona es una hormona sexual involucrada principalmente en el desarrollo y la diferenciación de tejidos reproductivos³². Hay evidencia de patrones de metilación diferencial en el promotor de la isoforma B del receptor de progesterona (*PR-B*) en el endometrio de mujeres con endometriosis, en comparación con controles de proteínas y del ácido ribonucleico mensajero (ARNm)^{1,21,31}. Un estudio identificó patrones de hipermetilación en los promotores de *PR-B* en el 66% de las pacientes con endometriosis, mientras que ninguna de las mujeres controles presentó hipermetilación³¹. Esta metilación aberrante podría responder a la expresión mayoritaria de la isoforma A del receptor de la progesterona en la zona eutópica del endometrio en pacientes con endometriosis, en comparación con la expresión de ambas isoformas (A y B) en controles²¹. Esta regulación negativa de *PR-B* podría ser la consecuencia de que la endometriosis se asocie con una resistencia a la progesterona, por lo que se utiliza como tratamiento el consumo de esta hormona para aliviar el dolor y suprimir la inflamación²¹.

Por su parte, la hormona estrógeno participa en el crecimiento y desarrollo de tejidos reproductivos, como el útero y los ovarios³³. A pesar de que no hay estudios del estado de metilación de los promotores de los genes que codifican para sus receptores, sí se ha confirmado una

asociación de la endometriosis con una disminución en la expresión endometrial de la isoforma β del receptor de estrógeno (*ER- β*)³⁴. Además, se ha reportado que la disminución de *ER- β* provoca un aumento en la proliferación celular^{34,35}. Por lo tanto, la disminución de *ER- β* podría promover la proliferación del tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, lo que favorecería la endometriosis. Por ello, resulta fundamental el análisis del estado epigenético de *PR-B* y *ER- β* , para discernir si una metilación aberrante es la causa de su expresión disminuida en las mujeres afectadas en comparación con controles.

La invasión de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina es prerrequisito para la formación de lesiones endometrióticas, pero requiere la creación de nuevos vasos sanguíneos a partir de tejidos adyacentes (angiogénesis)⁸. Esta formación de vasos se origina a través del brote de vascularización adyacente y la incorporación de precursores endoteliales circulantes a los sitios de vascularización, para asegurar el transporte de oxígeno, nutrientes, excreción de catabolitos y el mantenimiento del balance de fluidos⁸. La citoquina IL-1 se encuentra presente en diversas patologías humanas, debido a que regula procesos de inflamación, angiogénesis, hematopoyesis y cognición^{36,37}. Se ha encontrado que fluido peritoneal de mujeres con endometriosis presenta niveles elevados de IL-1, lo que podría mediar la inflamación y ser un componente clave en la manifestación de la enfermedad³⁷. Esta IL-1 posee varios receptores celulares, entre los que está su receptor tipo II (IL1R2), que funciona como inhibidor de la IL-1 al secuestrarla e impedir que ingrese a las células³⁸. Estudios han identificado una expresión reducida del gen *IL1R2* en tejido endometrial extrauterino, por lo que es posible que esta reducción de IL1R2 esté asociada con la enfermedad^{36,37}. Además, un estudio realizado en ratones demostró que la aplicación exógena de IL1-R2 (hsIL-1R2) redujo la angiogénesis y disminuyó la cantidad de lesiones endometrióticas^{37,39}. Por este motivo, el gen *IL1R2* es un candidato para un análisis epigenético, con el objetivo de identificar si su expresión disminuida es consecuencia de un silenciamiento por patrones de metilación aberrantes.

La invasión, adhesión y crecimiento de células endometriales fuera de la cavidad uterina está regulada por múltiples factores, pero hay uno que se ha considerado como clave: NME1, que proviene de la familia de genes no-metastásicos 23 (NME)^{2,40}. En un estudio se identificó que una disminución de NME1 puede promover la angiogénesis de células endometriales, por lo que se sugiere que una disminución de NME1 está involucrada en el aumento de angiogénesis en la cavidad abdominal y la formación de lesiones asociadas con endometriosis². En mujeres con endometriosis se ha identificado una

disminución de la expresión de *NME1* en tejido endometrial ectópico proveniente de las lesiones endometrióticas, en comparación con tejido endometrial eutópico de mujeres controles y con endometriosis⁴⁰. También, el silenciamiento de *NME1* provocó un aumento en la expresión de *VEGF* y *IL-8*². Estos genes expresan el factor de crecimiento vascular endotelial (*VEGF*) y quimiocina (*IL-8*), respectivamente, que están asociadas con el desarrollo de endometriosis a través de la vascularización y crecimiento de los tejidos endometriales fuera de la cavidad uterina⁸. Además, un estudio reportó que cuando se da un silenciamiento de *NME1* en ratones, el índice de invasión de tejido fuera de la cavidad uterina disminuyó significativamente⁴⁰. Por estas razones, es menester hacer un análisis epigenético del gen *NME1*, para buscar si existe algún patrón de metilación aberrante que ocasione su silenciamiento en mujeres con endometriosis.

Los patrones de metilación aberrantes en el ADN identificados en varias enfermedades, incluida la endometriosis, pueden estar influenciados por factores ambientales, incluida la dieta, nutrición, fumado, entre otros¹⁴. La literatura sugiere que el estrés oxidativo juega un papel en el desarrollo y progreso de la endometriosis y una alta concentración en la peroxidación de lípidos podría aumentar el crecimiento y adhesión de tejido endometrial^{7,41}. Un estudio sobre la relación entre el consumo de antioxidantes (vitaminas y minerales) en mujeres con endometriosis, identificó que en mujeres a quienes se les aplicó una dieta alta en antioxidantes se disminuyeron los marcadores de estrés oxidativos en la sangre periférica⁷. También, factores como la contractibilidad del músculo liso, niveles de estrógenos, inflamación y metabolismo de prostaglandinas, que contribuyen con la aparición de endometriosis, pueden ser influenciados por la dieta¹⁶. Se ha identificado una menor tasa de diagnóstico de endometriosis en mujeres con gran consumo de ácidos grasos de cadena larga omega 3, mientras que el consumo de grasas y una dieta alta en grasa animal pueden estar asociados con un aumento en el riesgo de padecer la enfermedad¹⁶. Existen otros factores que no han sido asociados directamente con la endometriosis; sin embargo, se han relacionado con aumento en los patrones de metilación generales del genoma. Uno de los factores más mencionados es el tabaquismo porque altera el estado de metilación global del genoma y, posiblemente, altera la expresión de varios genes⁴². El ejercicio agudo es otro hábito que altera los patrones generales de metilación de promotores en el genoma⁴³. En ratones, se ha evidenciado que incluso condiciones de estrés pueden alterar la metilación⁴⁴. Debido a esta flexibilidad de los patrones de metilación del genoma ante factores ambientales, resulta necesario analizar si algunos de estos factores aumentan el riesgo de silenciamiento

de genes involucrados con la endometriosis a través de patrones de hipermetilación en ciertos genes críticos para el desarrollo de la enfermedad.

Es preciso resaltar que el análisis de una enfermedad multifactorial tan compleja como la endometriosis, considera estos aspectos y patrones de la vida cotidiana de las mujeres en riesgo o afectadas por la enfermedad y su posible asociación con el padecimiento. Muchos esfuerzos de investigación se concentran en el desarrollo de algún tratamiento o droga que regule la expresión de ciertos genes asociados con la endometriosis, como el agente desmetilante 5-Azacitidina (5-ac) o la N-acetilcisteína (NAC)^{5,14}. El agente desmetilante 5-ac puede revertir los patrones de metilación aberrante que silencian genes importantes en la invasión, expansión, adhesión y crecimiento del tejido endometrial fuera del útero¹⁴. Por su parte, la NAC ha logrado disminuir el tamaño y la cantidad de endometriomas con un mejor resultado que los tratamientos hormonales actuales⁵. Ciertamente, el desarrollo efectivo de tratamientos para el control de la endometriosis, depende de una correcta identificación de los patrones epigenéticos en estos y otros genes candidatos, que serían el blanco en los tratamientos.

Justificación de un estudio de epigenética de la endometriosis

Una vez considerada esta información sobre el estado actual del estudio de la endometriosis y sus posibles factores asociados, resulta necesario obtener mayor conocimiento acerca del estado epigenético de las secuencias reguladoras de genes clave en los diferentes procesos de la enfermedad. Se plantea un estudio para analizar el estado de metilación de los genes involucrados en la recepción de hormonas sexuales (*PR-B* y *ER-β*), el proceso de implantación del tejido endometrial (*HOXA10*) y vascularización de los quistes (*IL1R2* y *NME1*), los cuales son procesos críticos para el desarrollo de la enfermedad, y hasta la fecha no se han estudiado de manera simultánea.

A pesar de que se conoce la participación de los genes escogidos en este proyecto con la patogénesis de la enfermedad, son limitados los estudios que han relacionado los patrones de metilación con la endometriosis y no han sido replicados y cuentan con tamaños de muestra pequeños, inferiores a 32 mujeres entre casos y controles (Tabla 1). Sin embargo, aun con tamaños de muestra reducidos, los estudios previos ya han logrado identificar ciertos patrones, por lo que planteamos un aumento considerable de estos tamaños de muestra para confirmar los resultados con mayor certeza. Además, un avance del estudio planteado es la introducción de otros factores al análisis de los patrones epigenéticos, porque se pretende obtener la mayor cantidad de información

acerca de hábitos, estilos de vida, antecedentes familiares, factores ambientales, entre otros, para realizar el análisis pertinente e identificar si alguno de estos factores aumenta el riesgo de padecer la enfermedad.

Cuando se determina si hay factores que aumenten el riesgo de endometriosis, se identifica si son los que influyen sobre los patrones observados de metilación. Los resultados de esta investigación podrían dar bases a futuros estudios que tengan como objetivo conocer el aumento de riesgo que podrían significar ciertos estilos de vida, así como estrategias de prevención y tratamiento. Finalmente, se planea estudiar los patrones de metilación de los genes *IL1R2* y *NME1* que, aunque han sido relacionados con endometriosis, todavía se desconoce si en esta relación la epigenética está involucrada. (Ver tabla 1)

Objetivos del estudio planteado en esta revisión

De acuerdo con lo anterior, el objetivo general de la investigación es analizar el estado de metilación de los genes *PR-B*, *ER-β*, *HOXA10*, *IL1R2* y *NME1* y su asociación con la endometriosis para someter a prueba una posible relación con factores de la vida cotidiana de las pacientes.

Los objetivos específicos del estudio serían: i) comparar el estado de metilación de los genes *PR-B*, *ER-β*, *HOXA10*, *IL1R2* y *NME1* en tejido endometrial de mujeres con endometriosis, con el de mujeres libres de focos de endometriosis identificables, así como con tejido de lesiones endometriósicas de las mismas mujeres afectadas; ii) determinar si los factores (condiciones demográficas, hábitos, antecedentes familiares o factores ambientales) están relacionados con el fenotipo, tanto en mujeres con la enfermedad como en controles y iii) analizar si existe relación entre los factores epigenéticos con

el padecimiento de endometriosis, así como la influencia de otros factores.

Metodología del estudio planteado

Serán consultadas las mujeres que han sido referidas a una laparoscopia diagnóstica de endometriosis sobre si desean o no participar en esta investigación. Aquellas que den su consentimiento, deberán llenar una encuesta que incluya factores sociodemográficos, nutricionales, de actividad física y de estrés, ansiedad y depresión. Posteriormente, se someterán a la laparoscopia. Aquellas que sean diagnosticadas de endometriosis constituirán el grupo probando, las que no, constituirán el grupo control. A las del grupo probando (n=80) se les tomará una biopsia de la lesión endometriósica, así como una biopsia de endometrio. A las del grupo control (n=80) se les tomará solamente una biopsia de endometrio. A la lesión endometriósica se le hará un análisis histológico y se aislará el material genético (ADN). Se obtendrá ADN también del tejido endometrial de ambos grupos. Seguidamente se analizará el perfil de metilación de cada uno de los tejidos. Posteriormente, se realizará un análisis de regresión con las variables epigenéticas, sociodemográficas, nutricionales, de actividad física y de estado de ánimo.

Papel de los métodos de reconocimiento de la fertilidad en el estudio planteado

La expresión genética de las células endometriales depende de la estimulación hormonal, que varía según la fase del ciclo ovárico. Los estados de ánimo pueden ser distintos en diferentes momentos del ciclo. Tanto las hormonas sexuales como los estados de ánimo y otros factores podrían intervenir para modificar los niveles de

Tabla 1. Estudios de análisis de metilación en genes relacionados con endometriosis. Se indica el tamaño de muestra, tanto en casos como controles, la procedencia del tejido analizado, el porcentaje de metilación en casos y controles, la probabilidad asociada con la comparación entre casos y controles, y su respectiva referencia.

Gen	Casos / Controles	Tejido en mujeres con endometriosis*	Metilación (casos)	Metilación (controles)	p	Ref.
HOXA10	11/11	Endometrio (eutópico)	13.9% (DE: 2.9%)	9.7% (DE: 2.9%)	0.002	Fambrini et al. 2010
HOXA10	17/15	Endometrio (eutópico)	82%	27%	0.006	Szczepanska et al. 2010
ESR2	8/8	Endometriótico (ectópico)	12.7%	54.2%	0.0001	Xue et al. 2013
PR-B	8/9	Endometriótico (ectópico)	66% hipermetilados	0% hipermetilados	0.05	Nie et al. 2010

*El tejido utilizado en el grupo control siempre fue endometrial eutópico.

metilación de genes implicados en la endometriosis. Por esta razón, es conveniente que todas las mujeres que van a ser muestreadas se encuentren en la misma fase del ciclo, ya sea en la fase proliferativa o en la fase lútea. Los Métodos de Reconocimiento de la Fertilidad son una herramienta útil para determinar con precisión la fase del ciclo en la que se encuentra la mujer. La correcta identificación del día pico constituye un signo sumamente útil porque es un signo del evento ovulatorio que define el paso de una fase a otra. Se utilizará el modelo Creighton para estimar la fase del ciclo en la que se encuentra la mujer, y el día del ciclo en función del día pico se utilizará como una variable más en el análisis de regresión.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los aspectos teóricos revisados, proponemos un estudio que pretende identificar factores etiológicos de la endometriosis, y obtener datos que permitan conocer mejor su patogénesis. Esto daría paso a futuros estudios de prevención para evitar exponerse a los factores que se encuentren asociados con la en-

fermedad. Adicionalmente, se pueden evaluar medidas terapéuticas para mujeres afectadas por endometriosis con modificaciones nutricionales, de actividad física, de estado de ánimo, etc. Se podrá evaluar, además, si estas acciones correctivas modifican los perfiles de expresión de los genes evaluados.

La comprensión de las causas y medidas preventivas y terapéuticas de la endometriosis contribuiría con el tratamiento integral de la infertilidad. El descubrimiento de las causas subyacentes de la infertilidad y su tratamiento, de acuerdo con la naturaleza física y ontológica de la persona, es una contribución de la biomedicina restaurativa para las mujeres y parejas que sufren esta dolorosa condición.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión fue presentada en el IV Congreso Internacional en Reconocimiento de la Fertilidad celebrado en la Universidad Pontificia Bolivariana, dentro del área temática denominada: Un tratamiento clínico de la infertilidad razonable.

REFERENCIAS

1. Stille JA, Birt JA, Sharpe-Timms KL. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell Tissue Res.* 2012 Sep;349(3):849-62.
2. Hang KK, Liu LB, Jin LP, Meng YH, Shao J, Wang Y, et al. NME1 suppression of endometrial stromal cells promotes angiogenesis in the endometriotic milieu via stimulating the secretion of IL-8 and VEGF. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013 15;6(10):2030-8.
3. Jeong JW. In search of molecular mechanisms in endometriosis. *Endocrinology.* 2014;155(4):1178-80.
4. Campbell IG, Thomas EJ. Endometriosis: candidate genes. *Hum Reprod Update.* 2001;7(1):15-20.
5. Porpora MG, Brunelli R, Costa G, Imperiale L, Krasnowska EK, Lundeberg T, et al. A promise in the treatment of endometriosis: an observational cohort study on ovarian endometrioma reduction by N-acetylcysteine. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:240702.
6. Hilgers TW. The medical and surgical practice of NaProtechnology. Omaha: Pope Paul VI Institute; 2004.
7. Mier-Cabrera J, Aburto-Soto T, Burrola-Méndez S, Jiménez-Zamudio L, Tolentino MC, Casanueva E, et al. Women with endometriosis improved their peripheral antioxidant markers after the application of a high antioxidant diet. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:54.
8. Capobianco A, Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front Immunol.* 2013;4:9.
9. Montgomery GW, Nyholt DR, Zhao ZZ, Treloar SA, Painter JN, Missmer SA, et al. The search for genes contributing to endometriosis risk. *Hum Reprod Update.* 2008;14(5):447-57.
10. Johnson NP, Hummelshoj L; World Endometriosis Society Montpellier Consortium. Consensus on current management of endometriosis. *Hum Reprod.* 2013;28(6):1552-68.
11. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d'Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril.* 2011;96(2):366-373.
12. Ouchi N, Akira S, Mine K, Ichikawa M, Takeshita T. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision: risk factors and prevention. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014;40(1):230-6.
13. Prowse AH, Manek S, Varma R, Liu J, Godwin AK, Maher ER, et al. Molecular genetic evidence that endometriosis is a precursor of ovarian cancer. *Int J Cancer.* 2006;119(3):556-62.
14. Fambrini M, Sorbi F, Bussani C, Cioni R, Sisti G, Andersson KL. Hypermethylation of HOXA10 gene in mid-luteal endometrium from women with ovarian endometriomas. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2013;92(11):1331-4.

15. Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, Et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2014;29(3):400-12.
16. Missmer SA, Chavarro JE, Malspeis S, Bertone-Johnson ER, Hornstein MD, Spiegelman D, et al. A prospective study of dietary fat consumption and endometriosis risk. *Hum Reprod.* 2010;25(6):1528-35.
17. Stefansson H, Geirsson RT, Steinthorsdottir V, Jonsson H, Manolescu A, et al. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis. *Hum Reprod.* 2002;17(3):555-9.
18. Treloar S, Hadfield R, Montgomery G, Lambert A, Wicks J, Barlow DH, et al. The International Endogene Study: a collection of families for genetic research in endometriosis. *Fertil Steril.* 2002;78(4):679-85.
19. Falconer H, D'Hooghe T, Fried G. Endometriosis and genetic polymorphisms. *Obstet Gynecol Surv.* 2007;62(9):616-28.
20. Feinberg AP. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature.* 2007;447(7143):433-40.
21. Wu Y, Strawn E, Basir Z, Halverson G, Guo SW. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics.* 2006;1(2):106-11.
22. Pelch KE, Schroder AL, Kimball PA, Sharpe-Timms KL, Davis JW, Nagel SC. Aberrant gene expression profile in a mouse model of endometriosis mirrors that observed in women. *Fertil Steril.* 2010;93(5):1615-1627.
23. Guo SW. Epigenetics of endometriosis. *Mol Hum Reprod.* 2009;15(10):587-607.
24. Hill JA, Faris HM, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril.* 1988;50(2):216-22.
25. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 2003;33 Suppl:245-54.
26. Wu Y, Halverson G, Basir Z, Strawn E, Yan P, Guo SW. Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(2):371-80.
27. Szczepańska M, Wirstlein P, Luczak M, Jagodziński PP, Skrzypczak J. Reduced expression of HOXA10 in the midluteal endometrium from infertile women with minimal endometriosis. *Biomed Pharmacother.* 2010;64(10):697-705.
28. Kim JJ, Taylor HS, Lu Z, Ladhani O, Hastings JM, Jackson KS, et al. Altered expression of HOXA10 in endometriosis: potential role in decidualization. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(5):323-32.
29. Taylor HS. The role of HOX genes in human implantation. *Hum Reprod Update.* 2000;6(1):75-9.
30. Xue Q, Lin Z, Cheng YH, Huang CC, Marsh E, Yin P, et al. Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis. *Biol Reprod.* 2007;77(4):681-7.
31. Jichan Nie, Xishi Liu, Guo SW. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in adenomyosis and its rectification by a histone deacetylase inhibitor and a demethylation agent. *Reprod Sci.* 2010 ;17(11):995-1005.
32. Smid-Koopman E, Kuhne LC, Hanekamp EE, Gielen SC, De Ruiter PE, Grootegoed JA, et al. Progesterone-induced inhibition of growth and differential regulation of gene expression in PRA- and/or PRB-expressing endometrial cancer cell lines. *J Soc Gynecol Investig.* 2005;12(4):285-92.
33. Silva RC, Costa IR, Bordin BM, Silva CT, Souza SR, Júnior CL, et al. RsaI polymorphism of the ER β gene in women with endometriosis. *Genet Mol Res.* 2011;10(1):465-70.
34. Hapangama DK, Turner MA, Drury JA, Quenby S, Saretzki G, Martin-Ruiz C, et al. Endometriosis is associated with aberrant endometrial expression of telomerase and increased telomere length. *Hum Reprod.* 2008;23(7):1511-9.
35. Stettner M, Kaulfuss S, Burfeind P, Schweyer S, Strauss A, Ringert RH, et al. The relevance of estrogen receptor-beta expression to the antiproliferative effects observed with histone deacetylase inhibitors and phytoestrogens in prostate cancer treatment. *Mol Cancer Ther.* 2007;6(10):2626-33.
36. Akoum A, Al-Akoum M, Lemay A, Maheux R, Leboeuf M. Imbalance in the peritoneal levels of interleukin 1 and its decoy inhibitory receptor type II in endometriosis women with infertility and pelvic pain. *Fertil Steril.* 2008;89(6):1618-24.
37. Peters VA, Joesting JJ, Freund GG. IL-1 receptor 2 (IL-1R2) and its role in immune regulation. *Brain Behav Immun.* 2013;32:1-8.
38. Guay S, Michaud N, Bourcier N, Leboeuf M, Lemyre M, Mailloux J, et al. Distinct expression of the soluble and the membrane-bound forms of interleukin-1 receptor accessory protein in the endometrium of women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2011;95(4):1284-90.
39. Khoufache K, Bondza PK, Harir N, Daris M, Leboeuf M, Mailloux J, et al. Soluble human IL-1 receptor type 2 inhibits ectopic endometrial tissue implantation and growth: identification of a novel potential target for endometriosis treatment. *Am J Pathol.* 2012;181(4):1197-205.
40. Li MQ, Shao J, Meng YH, Mei J, Wang Y, Li H, et al. NME1 suppression promotes growth, adhesion and implantation of endometrial stromal cells via Akt and MAPK/Erk1/2 signal pathways in the endometriotic milieu. *Hum Reprod.* 2013;28(10):2822-31.
41. Ngô C, Chéreau C, Nicco C, Weill B, Chapron C, Batteux F. Reactive oxygen species controls endometriosis progression. *Am J Pathol.* 2009 Jul;175(1):225-34.

42. Breitling LP, Yang R, Korn B, Burwinkel B, Brenner H. Tobacco-smoking-related differential DNA methylation: 27K discovery and replication. *Am J Hum Genet.* 2011 Apr 8;88(4):450-7.
43. Barrès R, Yan J, Egan B, Treebak JT, Rasmussen M, Fritz T, et al. Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metab.* 2012 Mar 7;15(3):405-11.
44. Meaney MJ, Szyf M. Environmental programming of stress responses through DNA methylation: life at the interface between a dynamic environment and a fixed genome. *Dialogues Clin Neurosci.* 2005;7(2):103-23.