

## Mecanismos patogénicos de la infertilidad asociada con endometriosis\*

Sajal Gupta, Jeffrey M Goldberg, Nabil Aziz, Eric Goldberg, Natalie Krajcir, Ashok Agarwal

### RESUMEN

**Objetivo:** revisar los mecanismos mediante los cuales la endometriosis puede afectar la función reproductiva.

**Diseño:** revisión de la bibliografía en inglés desde 1986 hasta 2007 después de realizar una búsqueda en Medline, EMBASE, Cochrane, y BIOSIS, así como resúmenes de congresos.

**Marco:** el centro de investigación de fertilidad y el departamento de ginecología y obstetricia de un hospital de tercer nivel de atención.

**Resultados:** existen pruebas convincentes en la bibliografía de que la endometriosis tiene efectos perjudiciales en la función ovárica y de las trompas y en la receptividad uterina, dando como resultado infertilidad femenina. Los mecanismos de infertilidad asociados con la endometriosis siguen siendo controversiales e incluyen foliculogénesis anormal, estrés oxidativo elevado, función inmunológica alterada, y entorno hormonal en los ambientes folicular y peritoneal, y receptividad endometrial reducida. Estos factores dan como resultado mala calidad de los oocitos, y deterioro de la fertilización y la implantación.

**Conclusión:** desenredando los mecanismos por los cuales la endometriosis conduce a la infertilidad, los investigadores están seguros de encontrar un medio no quirúrgico para diagnosticar endometriosis, probablemente a través de marcadores séricos y peritoneales. Las citocinas, interleucinas, marcadores de estrés oxidativo y las moléculas solubles de adhesión celular muestran potencial para ser utilizados como un marcador confiable para el diagnóstico de endometriosis. Después de analizar los mecanismos patogénicos de la endometriosis, parece que el tratamiento futuro de este padecimiento puede incluir inhibidores de ciclo-oxigenasa, inmunomoduladores, o terapia de supresión hormonal para eliminar la necesidad del tratamiento quirúrgico de la endometriosis.

**Palabras clave:** endometriosis, calidad de oocito, fertilización, implantación, embarazo, reproducción asistida.

### ABSTRACT

**Objective:** To review the mechanisms by which endometriosis may affect reproductive function.

**Design:** Review of the English literature from 1986 to 2007 after searching Medline, EMBASE, Cochrane, and BIOSIS, as well as relevant meeting abstracts.

**Setting:** Fertility research center and obstetrics and gynecology department in a tertiary care hospital.

**Result(s):** There is compelling evidence in the literature that endometriosis has detrimental effects on ovarian and tubal function and uterine receptivity, resulting in female infertility. The mechanisms of infertility associated with endometriosis remain controversial and include abnormal folliculogenesis, elevated oxidative stress, altered immune function, and hormonal milieu in the follicular and peritoneal environments, and reduced endometrial receptivity. These factors lead to poor oocyte quality, impaired fertilization, and implantation.

**Conclusion(s):** Through unraveling the mechanisms by which endometriosis leads to infertility, researchers are sure to find a nonsurgical means to diagnose endometriosis, most likely through serum and peritoneal markers. Cytokines, interleukins, oxidative stress markers, and soluble cellular adhesion molecules all show potential to be used as a reliable marker for diagnosing endometriosis. After analyzing the pathogenic mechanisms of endometriosis, it seems that the future treatment of this entity may include cyclo-oxygenase-2 inhibitors, immunomodulators, or hormonal suppressive therapy to eliminate the need for surgical treatment of endometriosis.

**Key words:** endometriosis, oocyte quality, fertilization, implantation, pregnancy, assisted reproduction.

**C**ontinúa la controversia sobre si la endometriosis es una causa de subfertilidad o un hallazgo accidental. En la bibliografía reiteradamente se ha reportado una asociación

entre la endometriosis y la infertilidad, pero aún no se ha confirmado una relación causa-efecto absoluta.<sup>1,2</sup> Se han propuesto numerosos mecanismos para explicar el deterioro de la fertilidad. Éstos incluyen foliculogénesis alterada,<sup>3</sup> que da como resultado disfunción ovulatoria y oocitos de mala calidad, así como defectos de la fase lútea,<sup>4</sup> fertilización disminuida<sup>5</sup> y embriogénesis anormal.<sup>6</sup>

La mayor parte de los estudios reporta que las tasas de embarazo son menores en mujeres con endometrio-

\* Traducido de: Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, et al. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 2008;90:247-257.

sis que en controles normales, pero los mecanismos específicos que pueden explicar esta diferencia están poco comprendidos. La tasa de fecundidad mensual para parejas sanas en edad reproductiva típicamente es de alrededor de 30% para los primeros tres ciclos y disminuye a 4% cuando las parejas han estado intentando concebir por más de un año. Las parejas que concibieron dentro de los primeros meses son las más fértiles, y 18% de las parejas no concibieron al término de un año en el estudio.<sup>7</sup> Sin embargo, la tasa de fecundidad mensual en parejas con diagnóstico de endometriosis e infertilidad es de 2 a 10% por mes.<sup>8</sup> Incluso una endometriosis mínima puede estar asociada con una marcada subfertilidad.<sup>9</sup>

En contraste, algunos estudios no reportaron ningún efecto de la existencia y severidad de la endometriosis en los resultados reproductivos. En una extensa serie de 2,080 mujeres con infertilidad, a 1,263 mujeres (60.7%) se les diagnosticó endometriosis mediante laparoscopia. Las tasas de concepción analizadas retrospectivamente mediante la prueba de ji al cuadrado ( $\chi^2$ ) fueron idénticas en mujeres con y sin endometriosis, causando incertidumbre sobre una relación causa-efecto.<sup>10</sup>

La reducción de la infertilidad asociada con endometriosis se ha investigado con modalidades terapéuticas médicas y quirúrgicas, individualmente o en combinación. Los tratamientos médicos han sido ineficaces y los estudios quirúrgicos han sido inconsistentes. Dos estudios controlados, con distribución al azar, que investigaron los efectos del tratamiento quirúrgico de la endometriosis leve-mínima arrojaron resultados contradictorios.<sup>11,12</sup> Los estudios del manejo quirúrgico de los endometriomas ováricos antes de la reproducción asistida también produjeron resultados contradictorios.<sup>13,14</sup>

En este artículo revisamos los mecanismos mediante los cuales la endometriosis puede afectar la función reproductiva en la mujer y examinamos la influencia de la endometriosis en los gametos masculinos una vez que han sido depositados en el aparato genital femenino.

## AMBIENTE FOLICULAR Y FOLICULOGÉNESIS EN MUJERES CON ENDOMETRIOSIS

La foliculogénesis alterada en las pacientes con endometriosis puede contribuir a la disfunción ovulatoria, la mala calidad de los oocitos, la reducida tasa de fer-

tilización, embriones de bajo grado y tasas reducidas de implantación.<sup>15,16</sup> Sin embargo, aunque en pacientes con endometriosis se han documentado anomalías relacionadas con la foliculogénesis, se piensa que su repercusión negativa en la tasa de fecundidad mensual de pacientes con endometriosis es sutil.<sup>17</sup> En un estudio observacional de fertilización *in vitro* utilizando ciclos naturales, en pacientes con endometriosis mínima o leve la fase folicular fue significativamente más larga y la tasa de fertilización fue menor en comparación con mujeres con infertilidad sin explicación o por factor tubario.<sup>18</sup> Se observó que las mujeres con endometriosis tienen una tasa de crecimiento folicular más lenta<sup>3</sup> y un tamaño reducido del folículo dominante en comparación con mujeres con infertilidad no explicable.<sup>19</sup> Trinder y Cahill<sup>17</sup> también concluyeron que las pacientes con endometriosis tienen desarrollo folicular, ovulación y función lútea anormales. A la inversa, Mahmood y col.<sup>20</sup> encontraron que las mujeres con endometriosis no experimentaron diferencias significativas en la duración de su fase folicular, y que el desarrollo del folículo dominante no era afectado por la enfermedad. Es difícil establecer una conclusión definitiva acerca de la relación de las modificaciones foliculares y la endometriosis debido a los resultados contradictorios de los estudios mencionados previamente.

## FUNCIÓN DE LA CÉLULA GRANULOSA

Los cambios en la cinética del ciclo celular de la granulosa pueden ser responsables del deterioro del crecimiento folicular y de la maduración del oocito en los pacientes con endometriosis.<sup>21</sup> El análisis de citometría de flujo fue utilizado para determinar el ciclo celular de las células granulosas en pacientes con y sin endometriosis. Se documentó un número disminuido de células granulosas en la fase G<sub>2</sub>/M y un aumento en la fase S y de células apoptóticas en mujeres con endometriosis.<sup>21,22</sup>

La calidad de los oocitos también puede estar influida por la apoptosis de la célula granulosa. La apoptosis de la célula granulosa aumentó proporcionalmente con la severidad de la enfermedad y dio como resultado una mala calidad de los oocitos y una reducción de las tasas de fertilización y embarazo.<sup>23</sup> Un porcentaje más alto de apoptosis de células

granulosas se asoció con tasas de embarazo significativamente reducidas en pacientes con endometriosis o infertilidad por factor tubario en quienes se llevó a cabo fertilización *in vitro*.<sup>24</sup>

Otro factor estudiado en conjunto con la endometriosis y las células granulosas es el estrés oxidativo. Los marcadores de estrés oxidativo, tales como 8-hidroxi-2-nonenal, utilizado para la evaluación del daño oxidativo del ADN y 4-hidroxi-2-nonenal, un producto de la peroxidación de lípidos, estuvieron significativamente elevados en células granulosas de pacientes con endometriosis.<sup>21</sup> Se ha sugerido que la elevación de las especies de oxígeno reactivo (EOR) causantes del estrés oxidativo son producidas a partir de eritrocitos y células apoptóticas de endometrioma, así como de los macrófagos activados que son reclutados para fagocitar las células apoptóticas.<sup>25</sup> Además, las especies de oxígeno reactivo productoras de la enzima xantina oxidasa, la cual se considera otro factor contribuyente para el exceso de EOR, se expresan en mayores cantidades en mujeres con endometriosis.<sup>26</sup>

El estrés oxidativo desempeña un papel importante en la infertilidad, y su efecto es ejercido a través de múltiples mecanismos. Además, se ha demostrado que el estrés oxidativo induce la degeneración y apoptosis de los oocitos mediante la alteración del huso meiótico. Otra manera en que las células son dañadas a través del estrés oxidativo es mediante la peroxidación de lípidos, que es la destrucción oxidativa de ácidos grasos poliinsaturados en la membrana plasmática.<sup>27</sup> Esto lleva al “aumento en la permeabilidad de la membrana, la degradación de la integridad membranal, enzimas inactivadas y daño estructural del ADN; la muerte celular sigue rápidamente”.<sup>28</sup> El exceso de especies de oxígeno reactivo también puede interferir con la fertilización *in vitro* disminuyendo la probabilidad de fertilización, induciendo la fragmentación embrionaria cuando se utiliza una inyección intracitoplasmática de espermatozoides y obstaculizando el desarrollo *in vitro* del blastocisto.<sup>27</sup> Además, el estrés oxidativo induce inflamación local, lo que da como resultado concentraciones elevadas de citocinas y otros factores que promueven la endometriosis, como se discute posteriormente.<sup>25</sup>

## ALTERACIONES EN LA FUNCIÓN INMUNOLÓGICA DEL LÍQUIDO FOLICULAR

La endometriosis está asociada con cambios inflamatorios en los ambientes del líquido folicular y en el líquido peritoneal. En un estudio de casos y controles se observó un elevado porcentaje de linfocitos B, células asesinas naturales y macrófagos-monocitos en el líquido folicular de pacientes con endometriosis en comparación con pacientes con otras causas de infertilidad. Esto sugiere la posibilidad de una función inmunológica alterada en el líquido folicular de pacientes con endometriosis.<sup>29</sup>

En el líquido folicular de pacientes con endometriosis se han documentado concentraciones elevadas de interleucinas IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), así como disminución del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).<sup>30-32</sup> Los cambios inmunológicos en el líquido peritoneal y el suero de mujeres con endometriosis pueden ser responsables, en parte, de las alteraciones patológicas asociadas con la infertilidad en pacientes con endometriosis.<sup>33</sup> Por ejemplo, se ha demostrado que el VEGF mejora la salud y la vascularización folicular.<sup>33</sup> Las concentraciones reducidas de VEGF en mujeres con endometriosis<sup>31</sup> pueden estar asociadas con una calidad del embrión reducida y tasas de implantación reducidas.<sup>16</sup> Se han reportado concentraciones significativamente elevadas de TNF- $\alpha$  en cultivos de células granulosas de mujeres con endometriosis<sup>34</sup> y también pueden estar relacionadas con la infertilidad. Se demostró que el factor de necrosis tumoral alfa aumenta la adhesividad de las células del estroma endometrial al mesotelio peritoneal. La hipótesis que se planteó es que esto era resultado del aumento en la expresión de moléculas de adhesión celular ICAM1 y Sele inducido por TNF- $\alpha$ .<sup>35,36</sup>

Las alteraciones del ciclo de la célula granulosa observadas previamente en pacientes con endometriosis también pueden ser influidas por cambios en las citocinas.<sup>21</sup> Por ejemplo, se demostró que la IL-10 elevada previene la regulación a la baja de p27, provocando arresto en la fase G0.<sup>37</sup> Muchas otras citocinas, cuyas concentraciones están elevadas en el líquido folicular de pacientes con endometriosis, tales como IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8 o IL-1 $\alpha$ , también inducen diversas anomalías

en el ciclo celular, contribuyendo probablemente a la subfertilidad en estas pacientes (Cuadro 1).<sup>21</sup>

Los cambios en las vías enzimáticas de los esteroides ováricos pueden ser modulados por citocinas secretadas por el ovario y los leucocitos.<sup>16,38</sup> Tedeschi y col.<sup>39</sup> reportaron que la endotelina 1 era un potente inhibidor *in vitro* de la esteroidogénesis en la célula granulosa de

ratas. De acuerdo con Abae y su grupo,<sup>40</sup> la endotelina 1 inmunorreactiva estaba elevada en el líquido folicular de pacientes con infertilidad asociada con endometriosis. También se demostró que las concentraciones elevadas de IL-6 en los folículos preovulatorios de pacientes con endometriosis daban como resultado una disminución en la actividad de la aromatasa mediante la vía de

**Cuadro 1.** Papel de los factores inmunológicos alterados en la infertilidad asociada con endometriosis

<i>Factores inmunológicos afectados</i>	<i>Concentraciones del factor inmunológico en mujeres con endometriosis</i>	<i>Acciones de los factores inmunológicos afectados</i>	<i>Efecto del factor alterado en la fertilidad</i>
<b>Estudios de líquido folicular</b>			
VEGF <sup>31</sup>	Disminuido	Disminuye la salud folicular y la vascularización	Disminución de la calidad del embrión y de las tasas de implantación
IL-6 <sup>30</sup>	Aumentado	Disminuye la actividad de la aromatasa dentro de los folículos	Disminución las concentraciones intrafoliculares de E2, lo que conduce a disminución de la fertilidad y de la capacidad de fertilización
<b>Estudios de líquido peritoneal</b>			
RANTES <sup>101</sup>	Aumentado	Atrae monocitos y células T de memoria hacia las áreas inflamadas	Aumento de la inflamación, efectos citotóxicos en células sanas, y producción de estrés oxidativo, lo que conduce a disminución de la fertilidad
IL-10 <sup>55</sup>	Aumentado	Previene la regulación a la baja de p27 en las células granulosas en desarrollo	Arresto G0 del ciclo de la célula granulosa, dando como resultado oocitos de baja calidad
VEGF <sup>57</sup>	Aumentado	Induce la formación de matriz de fibrina promotora de la angiogénesis en la cavidad peritoneal	Aumento en la adhesión de tejido endometrial libre dentro de la cavidad peritoneal
TNF alfa <sup>28</sup>	Aumentado	Causa aumento en la producción de prostaglandinas por las células de epitelio endometrial	Aumento en la adhesión de tejido endometrial libre dentro de la cavidad peritoneal y aumento en la inflamación, dando como resultado subfertilidad
TNF alfa <sup>59</sup>	Aumentado	Disminuye el efecto de TIMP	Aumenta los efectos de MMP, dando como resultado aumento de la invasividad del tejido endometriósico
PAPP-A <sup>54</sup>	Aumentado	Aumenta la síntesis folicular de androstenediona	Aumento en la conversión de androstenediona en E2 por el tejido endometriósico, dando como resultado aumento en la proliferación de tejido
Catepsina D <sup>61</sup>	Aumentado	Inicia eventos proteolíticos dañinos	Degradación de la membrana basal y componentes de la matriz extracelular
<b>Factores inmunológicos alterados en el líquido peritoneal y sus efectos adversos en los espermatozoides</b>			
IL-6 <sup>55</sup>	Aumentado	Induce la liberación de gp130 por los espermatozoides	Disminución de la movilidad espermática
TNF alfa <sup>28</sup>	Aumentado	Inicia una cascada de Caspasa	Apoptosis espermática y a/oligospermia
TNF alfa <sup>78</sup>	Aumentado	Induce producción de especies de oxígeno reactivo desde los espermatozoides	Peroxidación de lípidos de la membrana plasmática espermática y función espermática anormal

MMP: metaloproteinasas de matriz; TNF alfa: factor de necrosis tumoral alfa; PAPP-A: proteína plasmática asociada con el embarazo; VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular; TIMP: inhibidores tisulares de MMP.

señalización MAPK. La disminución de la actividad de la aromatasas causa disminución de la conversión intrafolicular de androstenediona en estrona y, por tanto, una disminución de la conversión de androstenediona en testosterona, la cual es aromatizada y convertida en E2.<sup>41,42</sup> La disminución resultante de las concentraciones foliculares de E2 puede entonces dar origen a problemas de fertilidad, incluida la disminución de la capacidad de fertilización.<sup>41</sup> También se han encontrado concentraciones alteradas de progesterona en el líquido folicular de pacientes con endometriosis, lo que indica que la esteroidogénesis alterada muy probablemente juega un papel significativo en la infertilidad asociada con endometriosis. Sin embargo, aún tiene que establecerse una relación directa entre la infertilidad y la modificación de las concentraciones de progesterona.<sup>16</sup>

Otros han implicado el daño en la producción de hormona luteinizante (LH) en la fisiopatología primaria causante del daño en la ovulación.<sup>43</sup> Se sugirió que el factor atenuante del pico de gonadotropina (GnSAF), que es un pequeño polipéptido en el líquido folicular producido por folículos pequeños, participa en la disminución de las concentraciones de LH en pacientes con endometriosis. El factor atenuante del pico de gonadotropinas disminuye la capacidad del E2 de sensibilizar la hipófisis a la hormona liberadora de gonadotropinas, reduciendo de este modo el potencial de la pituitaria de producir LH. Debido a que las concentraciones de estrógeno son menores en el líquido folicular de pacientes con endometriosis, es probable que las acciones antagonistas del GnSAF contra la producción de LH den como resultado concentraciones subóptimas de LH y alteración en la ovulación.<sup>44</sup>

## ENDOMETRIOSIS, AMBIENTE PERITONEAL Y FUNCIÓN INMUNOLÓGICA

Las alteraciones en el ambiente del líquido peritoneal de pacientes con endometriosis típicamente dan como resultado el crecimiento, proliferación e inflamación de tejido endometrial ectópico (Cuadro 1).<sup>45</sup> Se han encontrado alteraciones de la inmunidad humoral y de la mediada por células en el ambiente peritoneal de pacientes con endometriosis.<sup>46</sup> Además, se observaron depósitos de inmunoglobulinas y complemento en el

endometrio ectópico de pacientes con endometriosis.<sup>47</sup> Mathur y col.<sup>48</sup> demostraron autoanticuerpos a antígenos endometriales en mujeres con endometriosis. Se cree que estos anticuerpos antiendometriales se desarrollan como una respuesta fisiológica para contrarrestar la endometriosis. También se ha observado la activación autoinmunitaria de células B policlonales en asociación con la endometriosis.<sup>49</sup>

Los diversos componentes de la inmunidad mediada por células, tales como los macrófagos activados pélvicos, están aumentados en el líquido peritoneal de pacientes infértiles con endometriosis, dando como resultado una cascada inflamatoria local peritoneal.<sup>45</sup> Se propuso que esta respuesta inflamatoria puede originar el aumento de la implantación ectópica del tejido endometrial, así como su crecimiento y proliferación. Los linfocitos T y las células asesinas naturales (NK) del líquido peritoneal también están aumentados. Las células NK son responsables del reconocimiento y la destrucción de líneas celulares extrañas trasplantadas, células tumorales y células infectadas del huésped.<sup>45</sup> Oosterlynck y col.<sup>46</sup> demostraron que en mujeres con endometriosis hay actividad supresora significativa del líquido peritoneal en la citotoxicidad de las células NK y los leucocitos. El uso de tales mecanismos de supresión puede ser un intento adicional del cuerpo de limitar la progresión de la endometriosis, y apoya la idea de que la cascada inflamatoria puede, en parte, ser responsable de la infertilidad asociada con endometriosis.

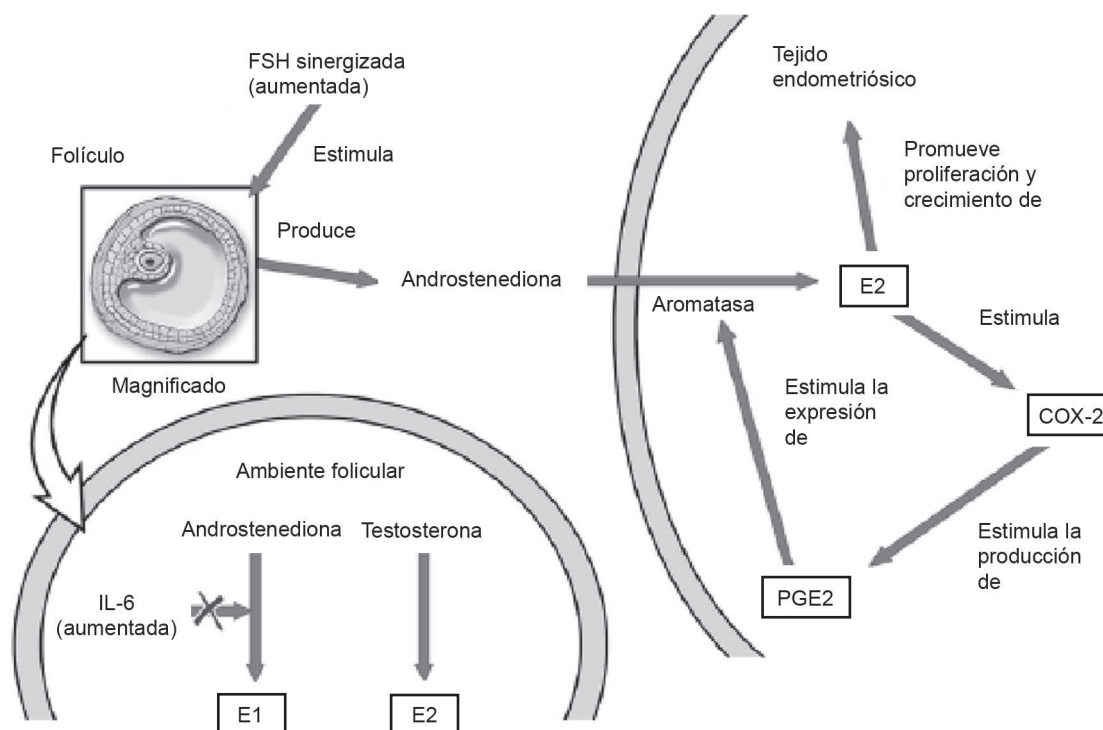
Las anomalías inmunológicas peritoneales resultan en la proliferación de células del estroma endometrial, la proliferación de linfocitos, el aumento en la activación cíclica de los macrófagos y la presencia de autoanticuerpos no órgano-específicos. Los leucocitos y otras células secretan citocinas y factores de crecimiento hacia el espacio extracelular endometrial donde funcionan como mediadores de la comunicación intercelular llevando a cabo la actividad paracrina del sistema inmunitario. Las citocinas y factores de crecimiento del líquido peritoneal están elevados como una respuesta directa al aumento de los leucocitos presentes en el ambiente peritoneal de las pacientes con endometriosis.<sup>45,50</sup> La secreción de RANTES (citocina expresada y secretada por la célula T normal en función de su activación), una citocina presente en el líquido

peritoneal, está aumentada en mujeres con endometriosis (Cuadro 1). Éste es un quimioatrayente para monocitos y células T de memoria, así como un mediador de la inflamación con numerosos sitios potenciales de fijación para factores de transcripción. La producción de RANTES es estimulada en respuesta a IL-1 $\beta$ , cuya secreción es inducida por macrófagos activados.<sup>45</sup> Como se ha establecido previamente, estas anomalías inmunológicas pueden afectar directamente el desarrollo y la inflamación de tejido endometrial ectópico, exhibir efectos citotóxicos sobre células saludables, y además, como se discutirá más adelante, producir radicales libres dañinos que contribuyen a la infertilidad asociada con endometriosis (Cuadro 1).

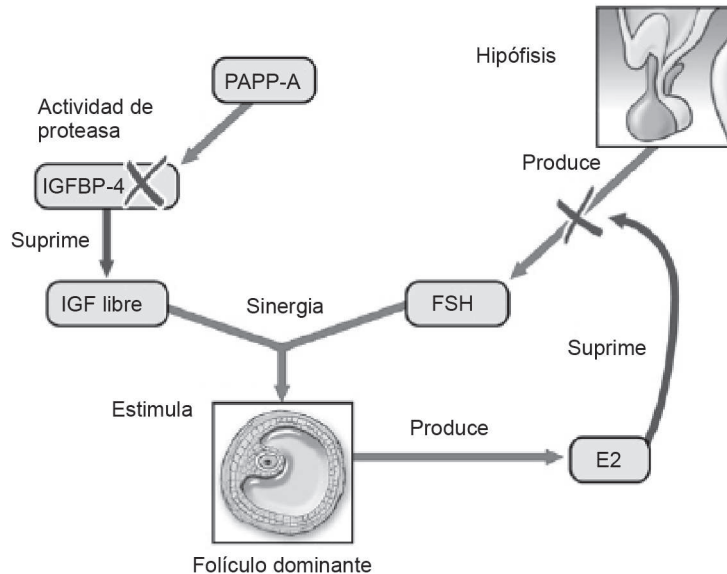
Se demostró que las concentraciones altas de E2 en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis estimulan la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2), la cual estimula la producción de prostaglandina E2 (PGE2, Figura 1). La prostaglandina E2 es el estimulante más potente de la expresión de aromatasa en el tejido endo-

metrial<sup>51</sup> y da lugar a una producción elevada de E2, estimulando además su propia proliferación y crecimiento.<sup>52</sup> El E2 y la PGE2 entonces estimulan la COX-2 para iniciar un ciclo de retroalimentación positiva, que resulta en un estado endometriótico persistente.<sup>51</sup>

La proteína plasmática asociada con el embarazo (PAPP-A) es producida por el endometrio, el ovario y la placenta, y exhibe actividad de proteasa hacia la proteína fijadora de factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 4 (IGFBP-4). La actividad de proteasa de la PAPP-A conduce a una disminución de IGFBP-4, lo que resulta en aumento de las concentraciones de factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF) libres, los cuales pueden entonces ejercer sinergismo con la FSH (Figura 2). El IGF hace sinergia con la LH para aumentar la producción de androstenediona y testosterona, las cuales son aromatizadas en E1 y E2, respectivamente, bajo la influencia de FSH.<sup>42,53</sup> Normalmente, esta conversión sería llevada a cabo por una aromatasa folicular. Sin embargo, debido a que hay una



**Figura 1.** Papel de la COX-2 y la aromatasa en un estado endometriótico persistente.



**Figura 2.** Endometriosis, ventana peritoneal biológica y el papel de las citocinas.

actividad disminuida de aromataza en los folículos de pacientes con endometriosis, la conversión se lleva a cabo en el tejido endometriósico donde hay una expresión de aromataza anormalmente aumentada, que resulta en un estado endometriósico más pronunciado. Esto es apoyado por un estudio donde se reportó el aumento de PAPP-A en el microambiente peritoneal de pacientes con endometriosis, y se demostró que el grado de elevación tenía correlación con la severidad de la enfermedad.<sup>54</sup>

La IL-6 es una citocina que regula las respuestas inflamatoria e inmunológica en el ambiente peritoneal a través de la activación de linfocitos T, así como la diferenciación de linfocitos B. Se han reportado concentraciones de IL-6 elevadas y normales en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis.<sup>25,55</sup> La IL-6 es producida por células del estroma y del epitelio endometrial en respuesta a la inducción de los estrógenos por la IL-1 y el TNF- $\alpha$ .<sup>56</sup> Un aumento en las concentraciones de IL-6 del líquido peritoneal puede estar asociado con efectos dañinos en la motilidad espermática. El mecanismo se discute posteriormente.<sup>41</sup>

El exceso de TNF- $\alpha$  en el líquido peritoneal es producido por linfocitos activados, macrófagos y células NK en pacientes con endometriosis. Éste causa un aumento en la producción de prostaglandinas por las células del

epitelio endometrial, inicia una oleada de citocinas inflamatorias y también promueve la adherencia de células endometriales ectópicas al peritoneo.<sup>35</sup> También se ha reportado una concentración elevada de VEGF en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis.<sup>57</sup> Sin embargo, no se ha determinado el origen de la secreción de VEGF en mujeres con endometriosis. El factor de crecimiento del endotelio vascular induce la formación de una matriz de fibrina promotora de la angiogénesis en la cavidad peritoneal, lo que puede contribuir a la formación de adherencias pélvicas y aumentar la tasa de captación de tejido endometrial libre dentro de la cavidad. Estos factores posteriormente estimularían la progresión de la endometriosis.<sup>45</sup>

El factor de necrosis tumoral alfa y la IL-1 son estimulantes de las metaloproteinasas de matriz (MMP) que regulan el recambio de matriz extracelular y pueden aumentar la invasividad de los fragmentos endometriales. Debido a que las concentraciones de TNF- $\alpha$  e IL-1 están elevadas en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis,<sup>28,58</sup> es probable que las MMP estén elevadas en estas pacientes, aunque los estudios no han confirmado este concepto. Se cree que el factor de necrosis tumoral alfa disminuye el efecto *in vitro* de los inhibidores tisulares de MMP (TIMP), de tal modo que aumenta el

efecto *in vitro* de las MMP. Se propuso la hipótesis de que los autoanticuerpos T-semejantes aumentan el efecto patológico de las MMP mediante la fijación a un antígeno que posee un dominio hemopexina presente en casi todas las MMP. Se cree que esto conduce a la desregulación de la expresión de MMP y TIMP, estimulando de este modo la invasividad del tejido endometriótico.<sup>59</sup>

Los resultados terapéuticos han proporcionado una idea en cuanto a la relación causal entre el TNF- $\alpha$  y la endometriosis. En un reporte de caso de nuestra institución donde una paciente con endometriosis severa fue tratada con el inmunomodulador infliximab, la severidad de la enfermedad persistió. Por tanto, podría suponerse que la alteración en el ambiente inmunológico es el resultado y no la causa asociada con la enfermedad.<sup>60</sup>

La cathepsina D es una proteasa ácido aspártico distribuida ampliamente en células animales y humanas cuya expresión genética está regulada de forma diferencial por hormonas esteroideas sexuales. Ésta inicia eventos proteolíticos que dan como resultado la degradación de la membrana basal y de componentes de la matriz extracelular. Las concentraciones de cathepsina D estuvieron elevadas en el líquido peritoneal de pacientes en estadio III/IV en comparación con pacientes estadio I/II y fueron menores en pacientes tratadas con agonistas de GnRH.<sup>61</sup>

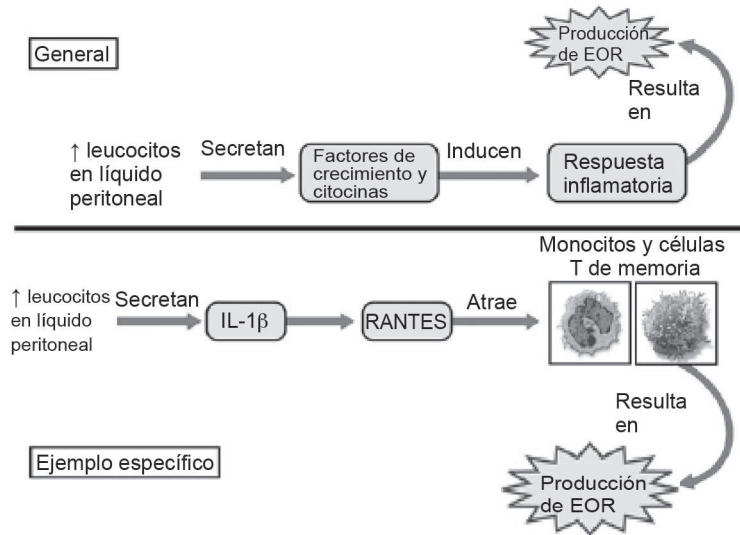
## ENDOMETRIOSIS, AMBIENTE PERITONEAL Y ESTRÉS OXIDATIVO

Se ha reportado la producción de grandes cantidades de especies de oxígeno reactivo por un elevado número de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis.<sup>62</sup> Dos estudios de nuestro grupo también encontraron elevación de especies de oxígeno reactivo en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, aunque las concentraciones no fueron significativamente diferentes a las de los controles sin enfermedad.<sup>28,63</sup> Con estos estudios, se cree que el desarrollo de estrés oxidativo en el ambiente peritoneal local puede ser uno de los vínculos en la cadena de eventos que conduce a la infertilidad asociada con endometriosis (Figura 3).<sup>25</sup> También se propuso que las concentraciones redox pueden modular la severidad, dinámica y progresión de la enfermedad.

El aumento en el número y la actividad de los macrófagos en la endometriosis está acompañado por la liberación de citocinas adicionales y otros mediadores inmunológicos, como óxido nítrico.<sup>64</sup> El óxido nítrico es un radical libre y un biorregulador de la apoptosis.<sup>65</sup> Las concentraciones bajas de óxido nítrico son importantes en la función ovárica y la implantación. Sin embargo, en el endometrio de mujeres con endometriosis se observan cantidades más altas de óxido nítrico y sintasa de óxido nítrico (SON).<sup>66</sup> Esto, en parte, se debe al hecho de que los macrófagos peritoneales expresan concentraciones más altas de SON, tienen mayor actividad de la enzima SON y se ha demostrado que producen más óxido nítrico en respuesta a la estimulación inmunológica *in vitro*.<sup>67</sup>

Se ha reportado que concentraciones altas de óxido nítrico disminuyen la fertilidad al exhibir efectos dañinos en la función oviductal y la movilidad espermática, y se ha demostrado que el óxido nítrico es tóxico para los embriones e inhibe la implantación. Por tanto, se sugirió que una reducción en la producción de óxido nítrico en el líquido peritoneal o el bloqueo de los efectos del óxido nítrico mejoraría la fertilidad en mujeres con endometriosis. La fertilización *in vitro* puede mejorar la tasa de concepción en mujeres con endometriosis impidiendo el contacto de los gametos y embriones con factores peritoneales y oviductales potencialmente tóxicos (por ejemplo, sintasa óxido nítrico, especies de oxígeno reactivo).<sup>67</sup>

La activación de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos también resulta en el aumento de la producción de especies de oxígeno reactivo (Figura 3).<sup>62</sup> Algunos estudios que investigaron la asociación entre óxido nítrico, peroxidación de lípidos y especies de oxígeno reactivo en el líquido peritoneal, no encontraron diferencias significativas entre pacientes con y sin endometriosis. En otros estudios se obtuvieron resultados contradictorios.<sup>68</sup> Sin embargo, se tiene evidencia indirecta a partir de reportes de concentraciones elevadas de lipoproteínas de baja densidad oxidadas en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis pélvica ya establecida<sup>69</sup> o en desarrollo. En el líquido peritoneal de mujeres con infertilidad asociada con endometriosis, la capacidad antioxidante total estuvo reducida, y las enzimas antioxidantes individuales, tales como la superóxido dismutasa, fueron significativamente más bajas. Además, las concentraciones de peróxido de lípidos fueron más



**Figura 3.** Endometriosis, ambiente peritoneal y estrés oxidativo. EOR: especies de oxígeno reactivo.

altas en las pacientes con endometriosis, lo que sugiere un posible papel de las especies de oxígeno reactivo en la aparición de endometriosis.<sup>68</sup> La existencia de un desequilibrio antioxidante-oxidante se ha reportado en muchos de los estudios que han investigado el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis.

Se ha planteado que las especies de oxígeno reactivo pueden participar en la formación de adherencias asociadas con endometriosis. Aunque se sabe que las adherencias a causa de endometriosis disminuyen la fertilidad, el mecanismo por el que esto ocurre aún no ha sido comprendido completamente.<sup>70</sup> Además, las alteraciones de la foliculogénesis, presumiblemente causadas por especies de oxígeno, pueden deteriorar la calidad del oocito y se han propuesto como una causa de subfertilidad asociada con endometriosis. Las concentraciones del marcador de estrés oxidativo, 8-hidroxi 1-desoxiguanosina, fueron más altas en pacientes con infertilidad asociada con endometriosis que en pacientes con infertilidad tubaria, por factor masculino o idiopática.<sup>21</sup> En los endometriomas ováricos se demostraron concentraciones seis veces mayores de 8-hidroxi 1-desoxiguanosina y peróxido de lípido en comparación con el tejido endometrial normal.

También se demostró que el estrés oxidativo induce daño genómico y en el ADN mitocondrial,<sup>71</sup> lo que con-

duce directamente a disminución en la fertilidad.<sup>72</sup> En recientes estudios de nuestro centro, se encontró que los espermatozoides exhibían aumento en la fragmentación del ADN cuando eran incubados con líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, y la extensión de la fragmentación aumentaba con el estadio de la endometriosis y la duración de la infertilidad.<sup>73</sup> Igualmente, los oocitos exhibieron aumento del daño al ADN al ser incubados en líquido peritoneal de pacientes con endometriosis, y la extensión del daño fue dependiente de la duración de la exposición al líquido peritoneal.<sup>74</sup> Como se esperaba, encontramos que los embriones incubados en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis también exhibieron fragmentación de ADN, como lo indicó el aumento en la apoptosis.<sup>75</sup> El aumento en el daño al ADN del espermatozoide, oocito y del embrión resultante se propone como responsable del aumento en el número de abortos involuntarios y fallas en la fertilización e implantación en pacientes con endometriosis.<sup>73</sup>

## ENDOMETRIOSIS Y FUNCIÓN ESPERMÁTICA

Como se discutió previamente, en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis se ha reportado un aumento en la generación de especies de oxígeno reactivo por los macrófagos activados y puede inducir fragmenta-

ción del ADN en células espermáticas. La peroxidación de lípidos es una de las formas más destructivas de oxidación debido al efecto directo de las especies de oxígeno reactivo en los ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en las membranas celulares.<sup>76</sup> La peroxidación de lípidos causa una serie de efectos perjudiciales, como aumento en la permeabilidad de la membrana, pérdida de la integridad de membrana e inactivación enzimática en los espermatozoides.<sup>27</sup> Adicionalmente, el estrés oxidativo severo puede conducir a infertilidad a través de su repercusión negativa en la reacción del acrosoma y la fusión espermatozoide-oocito.<sup>77</sup>

Las concentraciones elevadas de TNF- $\alpha$  en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis tienen efectos adversos en la función e integridad espermática, como se discutió en un estudio *in vitro* efectuado por nuestro grupo (Cuadro 1). Se propuso que los efectos tóxicos del TNF- $\alpha$  podrían ser el resultado de su capacidad de estimular la apoptosis en las células espermáticas mediante el inicio de una cascada de caspasa a través de la proteína cinasa 1 que interactúa con el receptor a TNF. Otra explicación podría ser que el TNF- $\alpha$  estimula a los espermatozoides para generar especies de oxígeno reactivo, lo que resulta en la peroxidación de lípidos y la disminución del potencial de los espermatozoides para fertilizar un huevo y producir un niño sano.<sup>78</sup>

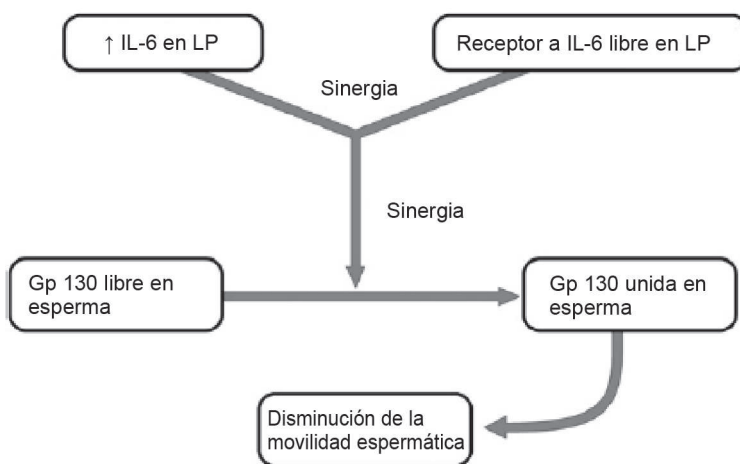
La endometriosis puede afectar negativamente la interacción entre el espermatozoide y el epitelio del endosalpinx. Aunque se conoce poco acerca de las vías

moleculares que median la interacción entre el espermatozoide y el endosalpinx, se han observado diversas alteraciones relacionadas en mujeres con endometriosis, y se cree que esas alteraciones juegan un papel importante en la disminución de la fertilidad de dichas pacientes. Por ejemplo, en pacientes con endometriosis, el epitelio del ámpula tubaria tiende a fijar espermatozoides con más fuerza de lo normal, lo que resulta en la disminución en la cantidad de espermatozoides libres disponibles para viajar a través de la luz e intentar la fertilización.<sup>79</sup>

En el líquido peritoneal, se cree que las concentraciones elevadas de diversas citocinas, como IL-1 e IL-6, contribuyen a la subfertilidad de pacientes con endometriosis, en parte debido a sus efectos en la movilidad espermática en el útero (Figura 4). Un mecanismo propuesto es que la IL-6 se combina con un receptor soluble a IL-6, presente también en el líquido peritoneal, y en conjunto se asocian con la glucoproteína-130 (gp-130) que se expresa en los espermatozoides. Aunque aún no está claro el mecanismo por el cual la gp-130 promueve la movilidad espermática, se demostró que la movilidad espermática disminuye cuando la gp-130 está ligada al complejo IL-6.<sup>41</sup>

## ENDOMETRIOSIS Y FERTILIZACIÓN

Existen datos contradictorios acerca de una relación causal entre la endometriosis y el deterioro en la fertilización. Varios artículos reportaron una tasa reducida de fertilización con fertilización *in vitro*.<sup>5,17,18,80-84</sup> Pal y



**Figura 4.** Endometriosis; repercusión en la función espermática. LP: líquido peritoneal.

col.<sup>82</sup> reportaron una reducción significativa en las tasas de fertilización relacionada con los estadios III y IV de la endometriosis en comparación con los estadios I y II. En contraste con estos estudios, otros no fueron capaces de identificar un efecto significativo en la tasa de fertilización.<sup>85,86</sup> Sin embargo, se ha demostrado que el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis inhibe la unión de los espermatozoides a la zona pelúcida.<sup>87,88</sup>

Un posible mecanismo para explicar las reducidas tasas de fertilización es el daño de la calidad del oocito, puesto que se ha demostrado que donadoras de oocitos con endometriosis establecen embarazos en tasas menores a las de donadoras sanas.<sup>83,89</sup> Un estudio de nuestro centro encontró cambios microtubulares y cromosómicos en oocitos de baja calidad, lo cual podría explicar potencialmente las tasas reducidas de fertilización, así como las reducidas tasas de implantación.<sup>74</sup> Además, se observó una correlación directa entre la enfermedad y la prevalencia de aberraciones nucleares y citoplasmáticas en embriones de preimplantación obtenidos de mujeres sometidas a ciclos de fertilización *in vitro* por infertilidad asociada con endometriosis.<sup>90</sup>

Otro posible mecanismo incluye el efecto del líquido folicular en la interacción de los gametos. El líquido folicular normal induce la reacción del acrosoma e intensifica la fijación espermática a la zona pelúcida. Qiao y col.<sup>91</sup> reportaron que el líquido folicular de pacientes con endometriosis sometidas a fertilización *in vitro* dio como resultado una disminución significativa en la fijación de los espermatozoides a la zona en comparación con pacientes infértiles por factor tubario.

## ENDOMETRIOSIS E IMPLANTACIÓN

La falta de comprensión de los mecanismos fisiológicos normales de la implantación embrionaria hace difícil explicar por qué las mujeres con endometriosis pueden tener una capacidad de implantación disminuida que resulta en tasas bajas de embarazo.<sup>6</sup> Sin embargo, la reducción en la receptividad endometrial puede ser secundaria al retraso en la maduración histológica o a alteraciones bioquímicas.<sup>92,93</sup> Otro mecanismo propuesto para explicar la alteración en la implantación implica la molécula de adhesión celular  $\alpha\beta 3$  integrina. Lessey y su grupo<sup>92,94,95</sup> demostraron que la expresión de  $\alpha\beta 3$

integrina en el endometrio está aumentada durante la ventana de implantación, pero está reducida o ausente en pacientes con endometriosis. Además, estas pacientes tienen una expresión aumentada de  $\alpha\beta 3$  integrina en los vasos sanguíneos, y se reportaron variaciones cíclicas en la expresión de integrina.<sup>96,97</sup> También se encontró que la desregulación de otros genes seleccionados en el endometrio de pacientes con endometriosis puede conducir a deterioro de la fijación embrionaria, embriotoxicidad, disfunción inmunológica y apoptosis durante la ventana de implantación.<sup>98</sup> También se propuso un deterioro funcional de la zona como causa de la alteración de la implantación en mujeres con endometriosis. Sin embargo, la incubación asistida realizada para superar este problema no mejoró las tasas de implantación o embarazo.<sup>99</sup>

En un intento por determinar la causa primaria de la baja tasa de fecundidad mensual en pacientes con endometriosis, se diseñaron estudios de donación de oocitos. Estos estudios compararon las tasas de éxito de mujeres sanas que recibieron oocitos de mujeres con endometriosis, con mujeres con endometriosis que recibieron oocitos normales. Si se encontraba que las mujeres sanas que recibían oocitos de pacientes con endometriosis tenían tasas de éxito menores, entonces podría deducirse que la principal causa de subfertilidad en pacientes con endometriosis se deriva de tener oocitos disfuncionales y no de una alteración en el ambiente de los oocitos. Se han efectuado diversos estudios de donación de oocitos y se han obtenido datos contradictorios. Algunos estudios mostraron que las mujeres sanas que recibieron oocitos donados de pacientes con endometriosis tuvieron tasas de éxito menores, mientras que otros estudios no encontraron diferencia significativa.<sup>100</sup>

En conclusión, en la bibliografía sobre endometriosis el término enfermedad enigmática se utiliza con frecuencia. No hay un consenso claro sobre si los estadios más leves de la endometriosis son causa de infertilidad o simplemente un hallazgo incidental en algunas pacientes con infertilidad no explicable. De manera similar, no se sabe si la fertilidad reducida en estadios severos de la enfermedad se debe primariamente a un trastorno anatómico o a una alteración fisiológica. Los resultados discordantes se deben, en parte, a las limitaciones en el diseño de los estudios, que incluyen grupos heterogéneos de pacientes,

diferencias en la severidad de la enfermedad, ausencia de pacientes fértiles con endometriosis como controles, diferentes modalidades médicas y quirúrgicas utilizadas como tratamiento de la endometriosis, variación en los resultados estudiados de la fertilización *in vitro* (FIV), ausencia de criterios de inclusión estrictos, y otros factores compuestos que influyen en los resultados de la FIV en pacientes con endometriosis. Se necesitan estudios controlados con distribución al azar con grupos de pacientes comparables para evaluar la repercusión de la endometriosis en la fertilidad.

Hemos revisado los diversos cambios hormonales, químicos e inmunológicos reportados con la endometriosis, así como la manera en que estos pueden afectar la ovulación y la calidad del oocito, la función tubaria, la función espermática, la fertilización y la implantación. Se requiere una mejor comprensión de estos mecanismos para lograr los objetivos de diseñar métodos no invasivos para el diagnóstico de la endometriosis, así como cambiar el enfoque actual de la destrucción o extirpación quirúrgica de la enfermedad hacia el tratamiento médico.

*Traducción: Adriana Jardón A*

## REFERENCIAS

- ASRM. Endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 2004;82(Suppl 1):S40-S45.
- Mahutte NG, Arici A. New advances in the understanding of endometriosis related infertility. *J Reprod Immunol* 2002;55:73-83.
- Doody MC, Gibbons WE, Buttram VC Jr. Linear regression analysis of ultrasound follicular growth series: evidence for an abnormality of follicular growth in endometriosis patients. *Fertil Steril* 1988;49:47-51.
- Grant A. Additional sterility factors in endometriosis. *Fertil Steril* 1966;17:514-519.
- Wardle PG, Mitchell JD, McLaughlin EA, Ray BD, et al. Endometriosis and ovulatory disorder: reduced fertilisation *in vitro* compared with tubal and unexplained infertility. *Lancet* 1985;2:236-239.
- Garrido N, Navarro J, Garcia-Velasco J, Remoh J, et al. The endometrium *versus* embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Hum Reprod Update* 2002;8:95-103.
- Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril* 1996;65:503-509.
- Strzempko Butt F, Chesla C. Relational patterns of couples living with chronic pelvic pain from endometriosis. *Qual Health Res* 2007;17:571-585.
- Guzick DS, Silliman NP, Adamson GD, Buttram VC Jr, et al. Prediction of pregnancy in infertile women based on the American Society for Reproductive Medicine's revised classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1997;67:822-899.
- Inoue M, Kobayashi Y, Honda I, Awaji H, Fujii A. The impact of endometriosis on the reproductive outcome of infertile patients. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:278-282.
- Marcoux S, Maheux R, Berube S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med* 1997;337:217-222.
- Parazzini F. Ablation of lesions or no treatment in minimal-mild endometriosis in infertile women: a randomized trial. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. *Hum Reprod* 1999;14:1332-1334.
- Garcia-Velasco JA, Arici A. Surgery for the removal of endometriomas before *in vitro* fertilization does not increase implantation and pregnancy rates. *Fertil Steril* 2004;81:1206.
- Suzuki T, Izumi S, Matsubayashi H, Awaji H, et al. Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2005;83:908-913.
- Garrido N, Pellicer A, Remohi J, Simon C. Uterine and ovarian function in endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:183-192.
- Pellicer A, Albert C, Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55:109-119.
- Trinder J, Cahill DJ. Endometriosis and infertility: the debate continues. *Hum Fertil (Camb)* 2002;5:S21-S27.
- Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull MG. Ovarian dysfunction in endometriosis-associated and unexplained infertility. *J Assist Reprod Genet* 1997;14:554-557.
- Tummon IS, Maclin VM, Radwanska E, Binor Z, Dmowski WP. Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertil Steril* 1988;50:716-720.
- Mahmood TA, Templeton A. Folliculogenesis and ovulation in infertile women with mild endometriosis. *Hum Reprod* 1991;6:227-231.
- Saito H, Seino T, Kaneko T, Nakahara K, et al. Endometriosis and oocyte quality. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53(Suppl 1):46-51.
- Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, et al. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 2000;73:344-350.
- Nakahara K, Saito H, Saito T, Ito M, et al. Incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa of the patients participating in an *in vitro* fertilization program. *Fertil Steril* 1997;67:302-308.
- Sifer C, Benifla JL, Bringuier AF, Porcher R, et al. Could induced apoptosis of human granulosa cells predict *in vitro* fertilization-embryo transfer outcome? A preliminary study of 25 women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;103:150-153.
- Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, Alvarez JG. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod Biomed Online* 2006;13:126-134.

26. Ota H, Igarashi S, Tanaka T. Xanthine oxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril* 2001;75:785-790.
27. Agarwal A, Gupta S, Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006;18:325-332.
28. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluidmarkers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002;17:426-431.
29. Lachapelle MH, Hemmings R, Roy DC, Falcone T, Miron P. Flow cytometric evaluation of leukocyte subpopulations in the follicular fluids of infertile patients. *Fertil Steril* 1996;65:1135-1140.
30. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, et al. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril* 1998;70:425-431.
31. Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000;6:67-74.
32. Wunder DM, Mueller MD, Birkhauser MH, Bersinger NA. Increased ENA-78 in the follicular fluid of patients with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85:336-342.
33. Lucena E, Cubillos J. Immune abnormalities in endometriosis compromising fertility in IVF-ET patients. *J Reprod Med* 1999;44:458-464.
34. Carlberg M, Nejaty J, Froya B, Guan Y, et al. Elevated expression of tumour necrosis factor alpha in cultured granulosa cells from women with endometriosis. *Hum Reprod* 2000;15:1250-1255.
35. 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;59:1196-1201.
36. Rojas-Cartagena C, Appleyard CB, Santiago OI, Flores I. Experimental intestinal endometriosis is characterized by increased levels of soluble TNFRSF1B and downregulation of Tnfrsf1a and Tnfrsf1b gene expression. *Biol Reprod* 2005;73:1211-1218.
37. Perrin GQ, Johnson HM, Subramaniam PS. Mechanism of interleukin-10 inhibition of T-helper cell activation by superantigen at the level of the cell cycle. *Blood* 1999;93:208-216.
38. Noble LS, Simpson ER, Johns A, Bulun SE. Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:174-179.
39. Tedeschi C, Lohman C, Hazum E, Ittoop O, et al. Rat ovarian granulosa cell as a site of endothelin reception and action: attenuation of gonadotropin-stimulated steroidogenesis via perturbation of the A-kinase signaling pathway. *Biol Reprod* 1994;51:1058-1065.
40. Abae M, Glassberg M, Majercik MH, Yoshida H, et al. Immunoreactive endothelin-1 concentrations in follicular fluid of women with and without endometriosis undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1994;61:1083-1087.
41. Yoshida S, Harada T, Iwabe T, Taniguchi F, et al. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod* 2004;19:1821-1825.
42. Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13:467-476.
43. Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull G. Pituitary-ovarian dysfunction as a cause for endometriosis-associated and unexplained infertility. *Hum Reprod* 1995;10:3142-3146.
44. Dafopoulos K, Kotsovassilis CG, Milingos S, Kallitsaris A, et al. Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. *Hum Reprod* 2004;19:1985-1992.
45. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1-10.
46. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Koninckx PR, Van-deputte M. Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1993;82:206-212.
47. Weed JC, Arquembourg PC. Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol* 1980;23:885-893.
48. Mathur S, Peress MR, Williamson HO, Youmans CD, et al. Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin Exp Immunol* 1982;50:259-266.
49. Badawy SZ, Cuenca V, Kaufman L, Stitzel A, Thompson M. The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1989;51:770-773.
50. Bedaiwy MA, Falcone T. Peritoneal fluid environment in endometriosis. Clinicopathological implications. *Minerva Ginecol* 2003;55:333-345.
51. Attar E, Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update* 2006;12:49-56.
52. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM, Putman JM, Johns DA, Hinshelwood MM, et al. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:600-606.
53. Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:109-126.
54. Arici A, Matalliotakis I, Goumenou A, Koumantakis G, et al. Increased pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) concentrations in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003;49:70-74.
55. Punnonen J, Teisala K, Ranta H, Bennett B, Punnonen R. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1522-1526.
56. Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, et al. Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1beta. *Mol Hum Reprod* 2000;6:269-275.
57. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod* 1998;13:1686-1690.
58. Kondera-Anasz Z, Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Jonca M. Concentrations of interleukin (IL)-1alpha, IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1 receptor antagonist (IL-

- 1 Ra) in the peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;123:198-203.
59. Siristatidis C, Nissotakis C, Chrelias C, Iacovidou H, Salamelekis E. Immunological factors and their role in the genesis and development of endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res* 2006;32:162-170.
60. Shakiba K, Falcone T. Tumour necrosis factor-alpha blockers: potential limitations in the management of advanced endometriosis? A case report. *Hum Reprod* 2006;21:2417-2420.
61. Suzumori N, Ozaki Y, Ogasawara M, Suzumori K. Increased concentrations of cathepsin D in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2001;7:459-462.
62. Zeller JM, Henig I, Radwanska E, Dmowski WP. Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987;13:78-82.
63. Wang Y, Sharma RK, Falcone T, Goldberg J, Agarwal A. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1997;68:826-830.
64. Dong M, Shi Y, Cheng Q, Hao M. Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis. *J Reprod Med* 2001;46:887-891.
65. Chung HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR, Kim YM. Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:1075-1079.
66. Khorram O, Lessey BA. Alterations in expression of endometrial endothelial nitric oxide synthase and alpha(v) beta(3) integrin in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:860-864.
67. Osborn BH, Haney AF, Misukonis MA, Weinberg JB. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril* 2002;77:46-51.
68. Szczepanska M, Kozlik J, Skrzypczak J, Mikolajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril* 2003;79:1288-1293.
69. Murphy AA, Palinski W, Rankin S, Morales AJ, Parthasarathy S. Macrophage scavenger receptor(s) and oxidatively modified proteins in endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:1085-1091.
70. Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Female infertility and free radicals: potential role in adhesions and endometriosis. *J Soc Gynecol Invest* 2006;13:390-398.
71. Aitken RJ, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 2001;122:497-506.
72. Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7:175-189.
73. Mansour G, Goldberg J, Agarwal A, Sharma R, et al. Correlation between sperm DNA damage, stage of endometriosis and the duration of infertility. ASRM 63rd annual meeting 2007 (accepted abstract).
74. Mansour G, Agarwal A, Radwan E, Sharma R, et al. DNA damage in metaphase II oocytes is induced by peritoneal fluid from endometriosis patients. ASRM 63rd annual meeting 2007 (accepted abstract).
75. Mansour G, Radwan E, Sharma R, Agarwal A, et al. DNA damage to embryos alpha in human spermatozoa: an in vitro model. *Fertil Steril* 2005;83:1665-1673.
79. Reeve L, Lashen H, Pacey AA. Endometriosis affects sperm-endosalpingeal interactions. *Hum Reprod* 2005;20:448-451.
80. Azem F, Lessing JB, Geva E, Shahar A, et al. Patients with stages III and IV endometriosis have a poorer outcome of in vitro fertilization-embryo transfer than patients with tubal infertility. *Fertil Steril* 1999;72:1107-1109.
81. Hull MG, Williams JA, Ray B, McLaughlin EA, et al. The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13:1825-1830.
82. Pal L, Shifren JL, Isaacson KB, Chang Y, et al. Impact of varying stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 1998;15:27-31.
83. Simon C, Gutierrez A, Vidal A, de los Santos MJ, et al. Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from *in-vitro* fertilization and oocyte donation. *Hum Reprod* 1994;9:725-729.
84. Harlow CR, Cahill DJ, Maile LA, Talbot WM, et al. Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:426-429.
85. Matson PL, Yovich JL. The treatment of infertility associated with endometriosis by *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 1986;46:432-434.
86. Mahmood TA, Messinis IE, Templeton A. Follicular development in spontaneous and stimulated cycles in women with minimal-mild endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:783-788.
87. Coddington CC, Oehninger S, Cunningham DS, Hansen K, et al. Peritoneal fluid from patients with endometriosis decreases sperm binding to the zona pellucida in the hemizona assay: a preliminary report. *Fertil Steril* 1992;57:783-786.
88. Faber BM, Chegini N, Mahony MC, Coddington CC 3rd. Macrophage secretory products and sperm zona pellucida binding. *Obstet Gynecol* 2001;98:668-673.
89. 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(Suppl 2):91-97.
90. Brizek CL, Schlaff S, Pellegrini VA, Frank JB, Worriow KC. Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis—an association with endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:106-112.
91. Qiao J, Yeung WS, Yao YQ, Ho PC. The effects of follicular fluid from patients with different indications for IVF treatment on the binding of human spermatozoa to the zona pellucida. *Hum Reprod* 1998;13:128-131.
92. Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, Lei Y, et al. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994;62:497-506.

93. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1997;12:1393-1398.
94. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, et al. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:643-649.
95. Creus M, Balasch J, Ordi J, Fabregues F, et al. Integrin expression in normal and out-of-phase endometria. *Hum Reprod* 1998;13:3460-3468.
96. Bridges JE, Prentice A, Roche W, Englefield P, Thomas EJ. Expression of integrin adhesion molecules in endometrium and endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:696-700.
97. Hii LL, Rogers PA. Endometrial vascular and glandular expression of integrin alpha(v)beta3 in women with and without endometriosis. *Hum Reprod* 1998;13:1030-1035.
98. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, et al. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 2003;144:2870-2881.
99. Nadir Ciray H, Bener F, Karagenc L, Ulug U, Bahceci M. Impact of assisted hatching on ART outcome in women with endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20:2546-2549.
100. Navarro J, Garrido N, Remohi J, Pellicer A. How does endometriosis affect infertility? *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003;30:181-192.
101. Bersinger NA, von Roten S, Wunder DM, Raio L, et al. PAPP-A and osteoprotegerin, together with interleukin-8 and RANTES, are elevated in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:103-108.