
Genética y Endometriosis

Prof. Dr. Luis M. Auge

Introducción

La endometriosis es una enfermedad proteiforme, enigmática y aun poco conocida en muchos aspectos, por lo que todo aquello que nos ayude a saber más sobre la misma, como por ejemplo los aspectos genéticos, contribuirá al mejor conocimiento de la enfermedad.

Estamos seguros que la investigación básica y clínica sobre los temas más controvertidos como por ejemplo la etiopatogenia, nos permitirá explicar entre otros el inicio y desarrollo de la misma, las causas de las altas tasas de recidiva, así como los verdaderos mecanismos de la infertilidad asociada a ella para luego poder ser aplicadas a futuras estrategias terapéuticas.

En base a los conocimientos genéticos actuales se ha podido conocer que existe en el endometrio de las pacientes con endometriosis, una expresión génica alterada que lo diferencia del endometrio de pacientes que no desarrollan endometriosis. Estos factores genéticos en general no actúan en forma aislada sino en conjunto con factores ambientales y dietarios, que determinan la susceptibilidad a la aparición, desarrollo y recidiva de la enfermedad.

A partir del proyecto genoma humano con el logro de la creación del mapa genético, se ha producido una verdadera revolución genómica que a cambiado el foco de investigación en endometriosis.

Esto a permitido realizar en endometrio, a través de las micro matrices de ADN, en la cual la secuencia de muchos genes se ordenan en una matriz, habiendo en la actualidad disponibles de 10.000 a 20.000 genes, o bien matrices que contienen grupos específicos de genes, el estudio genómico del mismo, es decir, el análisis de expresión de genes en el endometrio de pacientes con y sin endometriosis, pudiendo también realizar el estudio proteómico a través del estudio las proteínas expresadas en ambos endometrios¹. Esto ha permitido demostrar que estos endometrios son fundamentalmente diferentes debido a la aberrante expresión de múltiples genes, y poder así sugerir que tiene una relación causal con el desarrollo y recidiva de la enfermedad, así como con la subfertilidad asociada a la endometriosis².

Los resultados publicados por el Grupo Internacional para la investigación de la genética de la endometriosis, por Susan Treolar de Australia y Stephan Kennedy de Inglaterra sobre más de 2300 familias de pacientes con endometriosis que tuvieran dos o más familiares directos afectados de la enfermedad, permitió descubrir que son múltiples los genes candidatos rela-

cionado con la endometriosis. Sugieren además que la región del genoma en que estos se agrupan es el cromosoma 10, brazo largo (q) locus 26.

Esto permitió asegurar que la endometriosis es una enfermedad poligénica con una incidencia aumentada en pacientes con parientes de primer grado de 1 en 5, comparada con la incidencia general de 1 en 9³.

Desarrollo y recidiva

La biología del endometrio ectópico de pacientes con endometriosis esta íntimamente ligado al riesgo de desarrollar la enfermedad, debido a alteraciones genéticas con aberrante expresión de múltiples genes^{4,5,6}.

Han sido descriptos 983 genes involucrados y expresados en forma aberrante en el endometrio de pacientes con endometriosis, relacionados con los diferentes mecanismos de adhesión, de proliferación, de inflamación, de muerte celular programada y muchos genes aun no categorizados^{7,8}.

La expresión aberrante de muchos de estos genes están relacionados con la alteración de los procesos celulares que ocurren en el endometrio de pacientes con endometriosis, conocidos y descriptos por varios autores hace ya muchos años; hoy se puede conocer la expresión génica responsable de la mismas.

Las más conocidas de estas alteraciones celulares son: el aumento de la actividad proliferativa en el endometrio de pacientes con endometriosis, que presenta un incremento del índice mitótico del epitelio glandular y del estroma a lo largo de todo el ciclo menstrual, al igual que en las lesiones activas del endometrio ectópico⁹. Hoy se sabe que ésta es debida a la sobreexpresión del gen C fos, identificado como responsable de este aumento de la actividad proliferativa del tejido endometrial.

El aumento de la actividad de la familia de las metaloproteinasas de 1 a 13 en el endometrio de pacientes con endometriosis, sobreexpresando el sistema enzimático de la familia de las mismas en la fase secretora, aumentando la capacidad de dicho endometrio de producir la rotura de la barrera mesotelial al depositarse sobre la superficie peritoneal¹⁰. Esta se debe a la sobreexpresión del gen Cyr 61 identificado como el responsable del control de la familia de las MMP.

El aumento de los factores angiogénicos en el epitelio glandular y estroma del tejido endometrial ectópico en la fase secretora tardía de pacientes con endometriosis, al igual que en las lesiones activas ectópicas,

en las que se expresa una mayor cantidad del factor de crecimiento vascular entre otros, comparado con pacientes sin endometriosis¹¹.

Éste y otros factores angiogénicos serían consecuencia de la sobreexpresión del gen Enm Prim.

La susceptibilidad del tejido endometrial de las pacientes con endometriosis a la apoptosis espontánea es significativamente más baja que en los pacientes del grupo control sin endometriosis¹². Ésta se debería a la alteración de la expresión de los genes antic y pro apoptóticos identificados como Bcl 2/Bax.

El endometrio eutópico y ectópico de casi todas las pacientes con endometriosis sobreexpresan la enzima P450 aromataasa, a diferencia del tejido endometrial de pacientes sin endometriosis en que sólo lo expresan en un bajo porcentaje^{13,14}. Esto se debería a la sobreexpresión del gen CyP17.

Estas múltiples alteraciones en los procesos celulares presentes dentro del endometrio eutópico de mujeres con endometriosis, están regulados por la expresión aberrante de múltiples genes, a los que se debería una alteración del receptor de progesterona (R.P.) en sus dos isoformas RP-A/RP-B.

La alteración del receptor de progesterona que muestra un descenso del índice RPB/RPA por reducción de la isoforma B, provoca como consecuencia una resistencia a la acción de la progesterona, permitiendo sugerir a muchos autores que la endometriosis es una enfermedad progesterona resistente^{15,16}.

El polimorfismo, también presente en estas pacientes, de los genes responsables de la expresión del receptor estrogénico, sobre todo en su isoforma α y del gen citocromo P450 17 α (CyP17), hacen continuar pensando que la endometriosis sigue siendo además una enfermedad estrógeno dependiente¹⁷.

Los factores ambientales que, como hemos dicho, actúan concomitantemente con los factores genéticos, influyen también en la etiopatogenia de la endometriosis. Entre ellos los más conocidos son la familia de los hidrocarburos aromáticos clorados (TCDD), el más importante de los cuales es la dioxina, contaminante de muchos procesos industriales, herbicidas, pesticidas, etc. Son resistentes a la degradación y poseen un importante actividad lipofílica, lo que le permite contaminar alimentos como la leche, la carne, el pescado, verduras etc. siendo, de esta manera, la forma más probable de exposición de los humanos a dichas toxinas.

Estas sustancias se mueven libremente dentro de las células, produciendo interferencia con los procesos genéticos celulares uniéndose al ADN de las mismas, alterando los receptores de esteroides actuando a través de la disrupción endocrino protéica, e interfiriendo con

un sin número de procesos enzimático y con el transporte sérico de los mismos.

Actuando además sobre los receptores de la inflamación, los que actúan activando mecanismos de inflamación local, aumentando la expresión de citoquinas como la TNF α y IL-8 y IL-6 alterando la diferenciación tisular¹⁰.

A nivel del receptor de progesterona la dioxina produce, tanto in-vitro como in-vivo, alteración similar a las evidenciadas en pacientes con endometriosis, con una reducción de la relación PRB/RPA del receptor de progesterona, creando una mayor insensibilidad a la acción de la progesterona.

A nivel del receptor de estrógenos produce una acción antagonista sobre la isoforma α , reduciendo la inducción de dicho receptor¹⁸.

Así también esta aberrante expresión génica permite que varias citoquinas, factores de crecimiento, integrinas, prostaglandinas etc., estén elevadas en el endometrio de pacientes con endometriosis, contribuyendo a afectar la comunicación entre las células epiteliales y estromales del endometrio, incrementando además la alteración de la relación del receptor de progesterona, aumentando aun más la resistencia progestínica y alterando la maduración y desarrollo del mismo¹⁰.

Implantación endometrial

En cuanto a la infertilidad asociada a la endometriosis, atribuida en parte a los trastornos de la implantación de origen genético, se ha generado una gran información sobre la regulación y desregulación génica en todas las fases del endometrio y, principalmente, en el período crucial de la ventana de implantación. Esta situación se observa tanto en mujeres fértiles como infértiles, y en éstas en ciclos naturales, estimulados, en condiciones de refractariedad endometrial (pacientes con DIU inerte, o tratadas con RU 486) o en pacientes con endometriosis.

Ha sido demostrada una fuerte correlación entre el genoma y la clasificación histopatológica del endometrio, usada como único dato desde mucho tiempo atrás y aun hoy, para el estudio del mismo en sus 4 diferentes fases: proliferativa, secretora temprana, media y tardía.

En ventana de implantación en ciclos naturales, la receptividad endometrial ha sido analizada en 5 importantes publicaciones, mostrando diferencias en el número de genes sobre e infra expresados en cada uno de ellos, pero pese a esto los datos obtenidos han brindado la oportunidad de desarrollar una "base de datos endometriales" de los genes expresados en la ventana de implantación en estos ciclos.

En ventana de implantación en ciclos estimulados, el genoma ha mostrado que, pese a los datos estructurales y funcionales que muestran disminución de

Tabla 1: Different studies performed at the time of implantation in human using wide genomic analysis

| Study | Samples | RNA pooled | First sample (day of cycle) | Second sample (day of cycle) | Fold-change | Up | Down |
|---------------------------------|---------|------------|-----------------------------|------------------------------|-------------|-----|------|
| Kao <i>et. al.</i> (2002) | 11 | No | Proliferative phase (8-10) | LH + (8-10)(21-13) | >2.0 | 156 | 377 |
| Carson <i>et. al.</i> (2002) | 6 | Yes | LH + (2-4)(15-17) | LH + (7-9)(20-22) | >2.0 | 323 | 370 |
| Borthwick <i>et. al.</i> (2003) | 10 | Yes | Proliferative phase (9-11) | LH + (6-8)(19-21) | >2.0 | 90 | 46 |
| Riesewijk <i>et. a.l</i> (2003) | 10 | No | LH + 2 (15) | LH + 7(20) | >3.0 | 153 | 58 |
| Mirkin <i>et. a.l</i> (2005) | 8 | No | Early-lutheal(16) | Mid-luteal (21) | >2.0 | 49 | 58 |

(Adaptada de L.C. Kao et al Endocrinology 2003)

la receptividad, la expresión génica no sufre mayores impactos en la receptividad endometrial, mostrando una diferencia de expresión en no más de 100 genes disregulados con respecto a los ciclos naturales.

Algo similar ha sido mostrado en pacientes en condiciones de refractariedad endometrial (DIU inerte o tratadas con RU 486) con entre 100 y 140 genes disregulados.

En pacientes con endometriosis sobre 12686 genes analizados, 91 fueron significativamente sobre-expresados y 115 fueron significativamente infra-expresados, los que fueron divididos en 3 grupos:

Grupo 1: genes normalmente sobreexpresados en ventana de implantación en pacientes sin endometriosis, pero significativamente reducido en pacientes con endometriosis, entre los cuales los más representativos son: IL1, prolina, B 61, acetilglucosamida glicodelina, sulfotransferasa, etc.

Grupo 2: genes normalmente infraexpresados en la ventana de implantación de pacientes sin endometriosis, pero significativamente disminuidos en endometrio de pacientes con endometriosis: semaforin, neuronal olfactomedin, sam 68, fosfotiroxine, etc.

Grupo 3: Compuesto de un solo gen significativamente infra-expresado en ventana de implantación en endometrio de mujeres con endometriosis: neuronal pentraxin II.

La desregulación de genes en ventana de implantación incluye genes involucrados en el pegamiento embrionario, la toxicidad embrionaria, la disfunción inmune, la respuesta apoptótica, la expresión de aromatasa, los receptores de progesterona, los factores angiogénicos, etc.

La identificación y validación de los genes seleccionados y sus funciones pueden contribuir al conocimiento de las fallas de implantación en pacientes con endometriosis e infertilidad, así como futuras intervenciones sobre los mismos¹⁹.

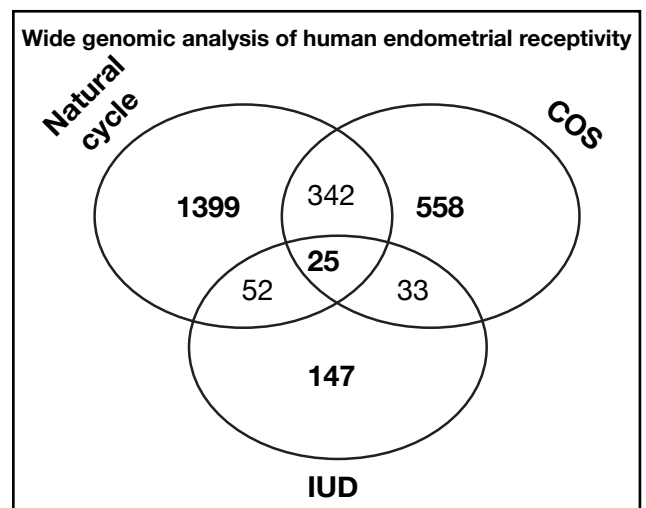
En un consenso de genes en la receptividad endometrial, los clásicos involucrados en las alteraciones de la misma en ciclos naturales, estimulados, y situaciones de refractariedad son 25 genes, de los cuales los más característicos son la glicodelina, el factor inhibidor de la leucemia (LIF) y las A caterinas, los que han sido

hallados también en situaciones patológicas tales como la endometriosis.

En cuanto al análisis proteómico de la receptividad endometrial en pacientes con endometriosis en la era genómica, las proteínas génicas aberrantes expresadas serían: las Integrinas A5 B3 con ausencia de expresión de retardo histológico (T 1) o sin retardo (T 2) pero ambos con alteración de función presentes también en otra patologías relacionadas a la alteración de la implantación endometrial además de la endometriosis tales como el hidrosalpinx, el síndrome de ovario poliquístico, el LIF, el factor de crecimiento del hepatocito (HCF), el factor de sangrado endometrial (EBF), las metalo proteinasas (MMP), las aromatasas, las 17 hidroxisteroid dehydrogenas y los receptores de progesterona con sus dos isoformas (PRA /PRB).

Conclusiones

En conclusión, creemos que si bien es mucho lo que se ha progresado en el conocimiento, tanto de la etiopatogenia como en las causas responsables de la infertilidad asociado a esta enfermedad, sobre la base de los estudios genético, es mucho aún lo que se desconoce de la misma. Sólo continuar investigando sobre éste y



(J.A. Hocabajas Endocrinology 2006)

otros aspectos nos permitirá mejorar la calidad de vida de las pacientes a través de poder actuar terapéuticamente sobre las causas que le dan origen, que permiten su recidiva o que impide la fertilidad.

Los cambios biológicos e histológicos que ocurren en el endometrio en las diferentes etapas del ciclo menstrual bajo la influencia de las hormonas esteroideas, son el resultado de modificaciones en el nivel de transcripción génica y cambios epigenéticos post transcripcionales.

Estudios moleculares sobre los factores involucrados en la implantación endometrial en pacientes con endometriosis, han permitido afirmar que hay una disminución en la tasa de implantación cuando se las compara con un grupo control, y que son muchos los genes (más de 200) los considerados como responsable de dicha alteración.

Por último creemos que tanto el desarrollo y recidiva de la endometriosis, como la receptividad endometrial son uno de los grandes desafíos que aún tenemos por resolver para poder tratar adecuadamente y sobre la base de fundamentos fisiopatológicos esta compleja enfermedad.

Bibliografía

1. Taylor RN, Lundeen SG, Giudice LE. Emerging role of genomics in endometriosis research. *Fertil-Steril* 2002;78:694-8
2. Kao LC, Tulac S, Lobo S, Imani B, Yang JP, Germeyer A, Osteen K, Taylor RN, Lessey BA, Giudice LC. *Endocrinology* 2002;143:2119-38
3. Treloar SA, Wicks J, Nyholt DR, Montgomery GW, Bahlo M, Smith V, Dawson G, Mackay IJ, Weeks DE, Bennett ST, Carey A, Ewen-White KR, Duffy DL, O'Connor DT, Barlow DH, Martin NG, Kennedy SH. Genomewide linkage study in 1,176 affected sister pair families identifies a significant susceptibility locus for endometriosis on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 2005;77:365-76
4. Giudice LC. Genomics' role in understanding the pathogenesis of endometriosis. *Semin Reprod Med* 2003;21:119-24
5. Guo SW, Wu Y, Strawn E, Basir Z, Wang Y, Halverson G, Montgomery K, Kajdacsy-Balla A. Genomic alterations in the endometrium may be a proximate cause for endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;116:89-99
6. Osteen KG, Bruner-Tran KL, Eisenberg E. Endometrial biology and the etiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2005;84:33-4
7. Giudice LC. Endometriosis World Congress, 2005. Abstract Plenary Session: Progesterone-regulated genes and endometriosis
8. Eyster KM, Boles AL, Brannian JD, Hansen KA. DNA microarray analysis of gene expression markers of endometriosis. *Fertil Steril* 2002;77:38-42
9. Nisolle M, Casanas-Roux F, Donnez J. Immunohistochemical analysis of proliferative activity and steroid receptor expression in peritoneal and ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68:912-9
10. Osteen KG, Bruner-Tran KL, Eisenberg E. Reduced progesterone action during endometrial maturation: a potential risk factor for the development of endometriosis. *Fertil-Steril* 2005;83:529-37
11. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Human Reprod* 1998;13:1686-90
12. Gebel HM, Braun DP, Tambur A, Frame D, Rana N, Dmowski WP. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:1042-7
13. Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, Sasano H. Estrogen biosynthesis in endometriosis: molecular basis and clinical relevance. *J Mol Endocrinol* 2000;25:35-42
14. Dheenadayalu K, Mak I, Gordts S, Campo R, Higham J, Puttemans P, White J, Christian M, Fusi L, Brosens J. Aromatase P450 messenger RNA expression in eutopic endometrium is not a specific marker for pelvic endometriosis. *Fertil-Steril* 2000;78:825-9
15. Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clinical Endocrinol Metab* 2000;85:2897-902
16. Igarashi TM, Bruner-Tran KL, Yeaman GR, Lessey BA, Edwards DP, Eisenberg E, Osteen KG. Reduced expression of progesterone receptor-B in the endometrium of women with endometriosis and in cocultures of endometrial cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fertil Steril* 2005;84:67-74
17. Luisi S, Galleri L, Marini F, Ambrosini G, Brandi ML, Petraglia F. Estrogen receptor gene polymorphisms are associated with recurrence of endometriosis. *Fertil Steril* 2006;85:764-6
18. Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y, Kato S. Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 2003;423(6939):545-50
19. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 2003;144:2870-81