

Implicancia de las prostaglandinas en la fisiopatología de la endometriosis

Role of prostaglandins in the pathophysiology of endometriosis

Gabriela F. Meresman y Carla N. Olivares

Doctoras de la Universidad de Buenos Aires (Ph.D.)

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET)

Vuelta de Obligado 2490, (1428) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

E-mail: gabriela.meresman@gmail.com

Resumen

Las prostaglandinas son lípidos bioactivos que poseen múltiples y variadas funciones. En biología reproductiva, participan en la regulación de la ovulación, en la fisiología endometrial y en el proceso de menstruación. Asimismo, los niveles de las ciclooxigenasas (COX), enzimas clave en la producción de prostaglandinas, se han hallado aumentados en procesos patológicos tumorales e inflamatorios. En endometriosis, las prostaglandinas no sólo están implicadas en el dolor, sino que son partícipes clave del desarrollo y establecimiento de la enfermedad. Los altos niveles de prostaglandina E₂ (PGE₂) hallados en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis, no sólo favorecen la proliferación celular estimulando la actividad de aromatasa con su consiguiente producción de estrógenos, sino que, además, los mismos estrógenos aumentan la síntesis de PGE₂ estimulando la actividad de las COX-2. La PGE₂ además estimula la angiogénesis y está involucrada en la alteración inmunológica peritoneal que se observa en endometriosis. Los inhibidores de las COX-2 fueron y son actualmente utilizados en numerosos ensayos preclínicos y clínicos en distintos tipos de cáncer. En estudios realizados tanto in vitro como in vivo, hemos demostrado que el inhibidor selectivo de las COX-2, el celecoxib, fue eficaz para inhibir la endometriosis experimental. Resulta importante buscar nuevos horizontes en la terapéutica de la endometriosis. Las prostaglandinas y sus enzimas clave de síntesis, las ciclooxigenasas, representan hoy un blanco atractivo para desarrollar nuevas terapéuticas que ataquen directamente a las moléculas involucradas en las causas de esta patología.

Palabras clave: endometriosis, prostaglandinas, ciclooxigenasa (COX), inhibidor de COX-2.

Abstract

Prostaglandins are bioactive lipids that possess multiple and diverse functions. In reproductive biology, they are involved in the regulation of ovulation, in endometrial physiology and in the process of menstruation.

Furthermore, cyclooxygenases (COX) levels, which are key enzymes for the synthesis of prostaglandins, have been found to be elevated in pathologic, tumoral and inflammatory processes. In endometriosis, prostaglandins are not only implicated in pain, but they are also critical for the establishment as well as for the development of the disease. The high levels of prostaglandin E₂ (PGE₂) found in the peritoneal fluid from patients with endometriosis, not only favor cellular proliferation by stimulating the activity of aromatase with the consequent estrogen production, but also these estrogens are responsible for enhancing PGE₂ synthesis by stimulating COX-2 activity. PGE₂ also stimulates angiogenesis and is implicated in the peritoneal immunologic alterations observed in endometriosis. COX-2 inhibitors were and are used in a vast number of preclinical and clinical studies in different types of cancer. In studies conducted both in vitro and in vivo, we have demonstrated that the selective COX-2 inhibitor, celecoxib, was efficient in inhibiting experimental endometriosis. It is important to search for new horizons in endometriosis treatment. Prostaglandins and the enzymes in charge of their synthesis, COXs, represent an attractive target for developing new therapies that target directly the molecules involved in the causes of this pathology.

Keywords: endometriosis, prostaglandins, cyclooxygenases (COX), COX-2 inhibitor.

1. Las prostaglandinas

Las prostaglandinas (PG), los tromboxanos (TX) y los leucotrienos (LT), denominados en forma colectiva eicosanoides, son productos de la actividad de ciclooxigenasas (COX) y lipooxigenasas (LOX). Los prostanoides, PG y TX son efectores de una amplia variedad de acciones en una enorme cantidad de células y tejidos. Se han descripto acciones de los eicosanoides en diversos mecanismos fisiopatológicos como contracción y relajación muscular, neurotransmisión, fiebre, inducción del sueño, apoptosis, proliferación celular, oncogénesis. Asimismo, se sabe que estas moléculas son clave

en la funcionalidad del sistema reproductor femenino y en endometriosis, que es el tema que vamos a abordar en este capítulo (1,2).

1.1 Síntesis de prostaglandinas

La COX-2 pertenece a la familia de las ciclooxigenasas, enzimas responsables de la producción de PG a partir de ácido araquidónico (AA). Se han descrito dos genes *COX* hasta el momento y están altamente conservados entre las especies. El gen de *COX-1* posee distintas variantes de corte y empalme o “*splicing*”: la enzima COX-1, que es la más conocida, y las menos conocidas, COX-3 y otras proteínas más pequeñas, variantes de COX-1 (3,4). La proteína COX-1 se expresa de manera ubicua y constitutiva. Por mucho tiempo se creyó que la COX-1 estaba involucrada solamente en procesos fisiológicos, pero se ha demostrado su sobreexpresión en varios carcinomas y su participación en tumorigénesis (5-7). Por otro lado, se conoce una única variante de *splicing* para el gen de *COX-2*. La enzima COX-2 es estimulada fisiológica y patológicamente por factores de crecimiento y citoquinas e interviene en la síntesis de PG cuando las concentraciones de AA son bajas (8).

La fosfolipasa A₂ escinde el AA de los fosfolípidos de membrana y, una vez en el citosol, las enzimas COX lo ciclan, oxigenan y reducen al intermediario PGH₂. Existen sintetetas específicas que toman este in-

termediario para producir los distintos prostanoides terminales: la sintetasa de PGE₂ (PGES) sintetiza PGE₂; la sintetasa de PGF_{2α} (PGFS) sintetiza PGF_{2α}, la sintetasa de prostaciclina (PGIS) sintetiza prostaciclina (PGI₂), la sintetasa de PGD₂ (PGDS) sintetiza PGD₂, y la sintetasa de tromboxano (TXS) sintetiza tromboxano (TX) A₂ (Figura 1).

Una vez sintetizados, los prostanoides son rápidamente exportados fuera de la célula a través de un transportador de PG y actúan muy cerca de su lugar de liberación de manera autocrina o paracrina. Sus funciones biológicas las realizan a través de receptores específicos para cada prostanoides. Estos receptores son de la familia de los receptores de siete pasos transmembrana acoplados a proteína G (GPCR). Los DP, EP, FP, IP y TP son los receptores para PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂ y TXA₂, respectivamente. Hasta el momento se conocen 4 subtipos para EP (EP1-4), cada uno de los cuales está codificado por un gen distinto, y el EP3 tiene además 8 variantes de *splicing*, lo que le otorga una gran variabilidad en las funciones que realiza la PGE₂. Por otro lado, los receptores TP y FP tienen dos variantes de *splicing* cada uno (8). En la Figura 1 se resumen las acciones de cada uno de estos prostanoides.

En cuanto a la señalización intracelular, luego de la unión del ligando con los receptores GPCR, se genera una serie de segundos mensajeros solubles, responsables

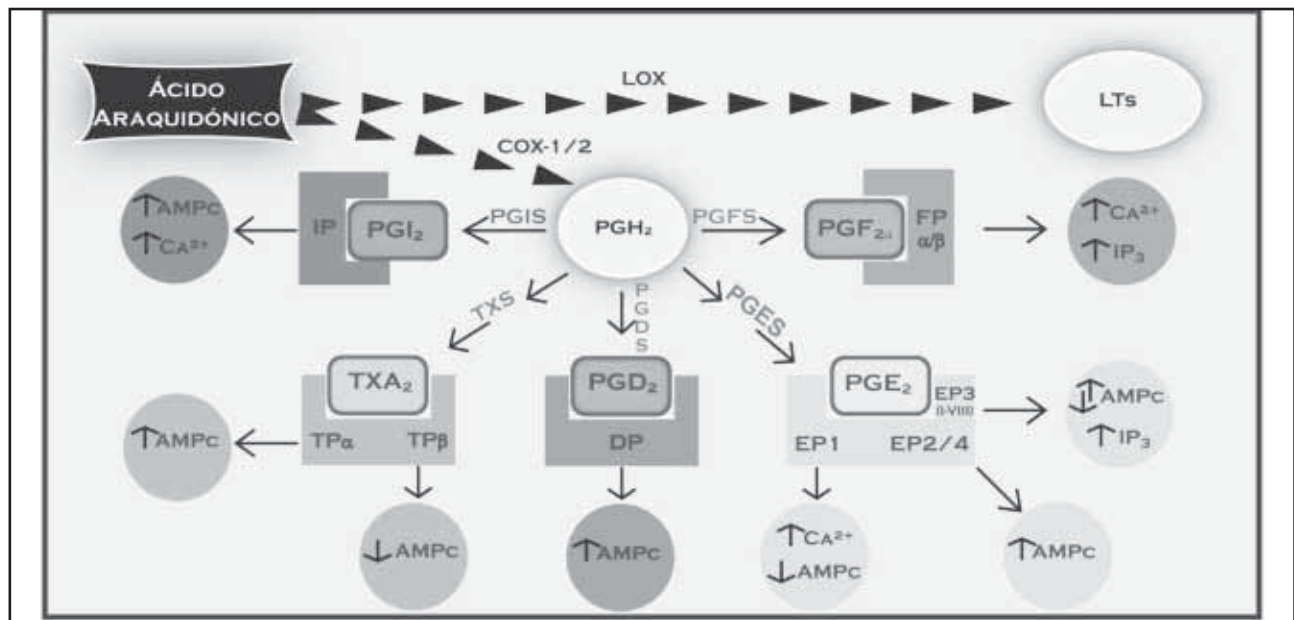


Figura 1. Esquema de la síntesis de prostaglandinas y sus vías de señalización.

El ácido araquidónico es el precursor de la síntesis de leucotrienos y prostaglandinas. Cada prostaglandina se une a un receptor de siete pasos transmembrana específico y dispara una cascada de señales característica. LOX: lipooxigenasa; LT: leucotrienos; COX-1/2: ciclooxigenasa-1/2; PGI₂: prostaciclina; PGIS: sintetasa de PGI₂; TXA₂: tromboxano A₂; TXS: sintetasa de TXA₂; PGD₂: prostaglandina D₂; PGDS: sintetasa de PGD₂; PGE₂: prostaglandina E₂; PGES: sintetasa de PGE₂; PGF_{2α}: prostaglandina F_{2α}; PGFS: sintetasa de PGF_{2α}; IP, TPα/β, DP, EP1-EP4, FPα/β: receptores específicos de cada prostaglandina; AMPc: adenosín monofosfato cíclico; Ca²⁺: calcio; IP₃: inositol trifosfato.

del inicio de la señal. El receptor DP se acopla a Gq e incrementa la concentración de *adenosín monofosfato cíclico* (AMPc). El receptor IP se acopla con Gs y estimula no sólo los niveles de AMPc, sino que actúa a través del fosfatidilinositol, incrementando la concentración de Ca^{2+} (1). A su vez, ambas isoformas de TP activan la fosfolipasa C (PLC), sin embargo, el TP α activa la adenilato ciclasa, mientras que el TP β la inhibe (1). Los receptores FP actúan a través de Gq, PLC y secreción de Ca^{2+} , mientras que los receptores EP poseen señales distintas dependiendo de cada subtipo: el EP1 se acopla a Gi y a los canales de Ca^{2+} , EP2 y EP4 comparten la vía de señalización acoplándose a Gs e incrementando la concentración de AMPc intracelular, mientras que el EP3 posee una respuesta específica que depende de la variante de *splicing*, pero usualmente se asume como un receptor inhibitorio acoplado a Gi (8) (Figura 1).

Las PG son lípidos bioactivos que poseen múltiples y variadas funciones. En biología reproductiva se ha encontrado que participan en la regulación de la ovulación, en la fisiología endometrial y en el proceso de menstruación (9). Se ha observado que en procesos patológicos como en distintos tipos de cáncer (mama, próstata, vejiga, páncreas, pulmón, colon), muchas veces la expresión de COX-2 se encuentra aumentada y su alta expresión se correlaciona con un mal pronóstico para el paciente. En otros procesos inflamatorios, como en adenomiosis y endometriosis, también su expresión se ha hallado incrementada (10-12).

2. Función de las prostaglandinas en la fisiología reproductiva

El útero cumple una función crucial en el proceso de implantación del óvulo fertilizado. Si no ocurre la fertilización, parte del tejido endometrial de las mujeres y de las hembras primates del viejo mundo se descama. Este proceso cíclico se encuentra minuciosamente regulado: el endometrio es un tejido dinámico que atraviesa por etapas controladas de proliferación, diferenciación y degradación en forma constante. Las PG son actores importantes de ese proceso y se ha reportado que las COX y sus productos juegan un rol activo en diferentes etapas de la reproducción (9).

La COX-2 se expresa en forma fisiológica a lo largo del ciclo menstrual. Se ha demostrado que los niveles de COX-2 son bajos durante la ovulación y comienzan a aumentar durante la fase secretoria, alcanzando un pico en la fase secretoria tardía y menstrual, luego de la cual comienzan nuevamente a decaer (13).

La importancia de la COX y de las PG en reproducción fue evidenciada a partir de estudios que se realizaron en animales deficientes de estas moléculas o *knock-out*. A pesar de que los ratones deficientes en

COX-1 demostraron ser fértiles, se observó que su período de gestación fue más prolongado y el número de partos y de nacidos vivos disminuyó. Estos hallazgos demostraron que la expresión de COX-1 resulta esencial para que se desarrolle el parto en forma adecuada en el ratón (9,14).

Por otro lado, la ablación selectiva de COX-2 provocó desórdenes en la ovulación, fertilización e implantación; y la combinación de la inhibición de COX-2 en los ratones COX-1(-/-) provocó una falla reproductiva completa, lo que sugiere una ausencia de vías alternativas para la síntesis de PG (15).

Asimismo, otros autores que estudiaron ratones deficientes en EP y FP han demostrado que las PGE₂ y PGF_{2 α} cumplen roles específicos en reproducción. En estos trabajos se ha observado que los receptores EP₂ son esenciales para que se produzca la ovulación y la fertilización (16,17) y los receptores FP son indispensables para la correcta presentación del parto (18). De esta manera, estos estudios sugieren no sólo un rol crítico de la PGE₂ en el proceso de fertilización, sino también la importancia de la PGF_{2 α} en el parto natural.

Además, ha sido descripto que las PG cumplen funciones de ligandos endógenos de receptores nucleares. Al respecto, algunos prostanoides han sido identificados como agonistas de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR). Entre ellos, 15-deoxi- Δ -12,14-prostaglandina J₂ (15dPGJ₂), es un ligando natural que posee una alta afinidad por los PPAR- γ y ha sido propuesto como un regulador de la respuesta inflamatoria (19,20). Otro ligando endógeno, en este caso del receptor nuclear PPAR- δ , es PGI₂ que cumple una función importante en los procesos de decidualización e implantación (21).

El proceso de implantación embrionaria es considerado análogo a un evento proinflamatorio y, por consiguiente, se ha sugerido que las PG juegan un papel fundamental en su regulación (22-24). En consecuencia, se ha reportado que diversos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), entre ellos los inhibidores selectivos de COX-2, están implicados en la inhibición de la permeabilidad vascular endometrial y en la disminución de la implantación en diversas especies animales (25,26).

En particular en el endometrio, tanto las COX como las PG están involucradas en la iniciación de la decidualización y en la implantación embrionaria (22,27). Desde hace varios años se conoce que la permeabilidad vascular y la proliferación y diferenciación de las células estromales endometriales a células deciduales son procesos que están mediados por las PG (24,28). Específicamente, los estudios de Chakraborty y colaboradores sugirieron un papel fundamental de las PG en el proceso de implantación, al demostrar la importancia crítica de la

expresión de COX-2 específicamente durante la adhesión del embrión al sitio de implantación (29).

A pesar de que distintos autores confirmaron la presencia de receptores de PGE y PGF en el endometrio periimplantatorio, no se ha podido identificar a un único tipo de PG asociada inequívocamente a este evento, habiéndose hallado diferencias entre las distintas especies evaluadas (27).

3. Función de PGE₂ en la etiopatogénesis de la endometriosis

3.1 Endometriosis

La endometriosis se define como la presencia de focos de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina (30). Una vez en su sitio ectópico, este tejido prolifera y se vasculariza, formando los quistes o lesiones característicos de la enfermedad.

Los sitios más comunes donde se pueden encontrar las lesiones son: los ovarios, los ligamentos uterosacros, la fosa ovárica peritoneal, el peritoneo de fondo de saco y el septo rectovaginal (31). Sin embargo, se han descrito lesiones endometriósicas en sitios ectópicos extraordinarios como vejiga urinaria, pulmón, pleura, apéndice, recto, intestino delgado, ombligo, espacio retroperitoneal, cuello uterino y vagina (32,33).

Aproximadamente el 10% de la población femenina en edad reproductiva padece de endometriosis; existen además casos aislados de mujeres posmenopáusicas y de niñas prepúberes con anomalías uterinas que sufren de esta enfermedad (34). En mujeres que presentan problemas de infertilidad, los casos de endometriosis aumentan al 25-40% (35,36) y pueden llegar al 50% cuando, además, presentan una dismenorrea moderada a severa (37). En mujeres fértiles, el padecimiento de la enfermedad varía entre el 0,5 y 5% (35). Además, otro inconveniente importante para las pacientes con endometriosis es la elevada frecuencia de recidivas luego de la finalización de los tratamientos, que varía entre el 4 y el 25% (38).

Si bien se conocen casos de pacientes asintomáticas, los síntomas comúnmente asociados a la endometriosis son el dolor pelviano y la infertilidad (39). El dolor pelviano puede manifestarse en forma de dismenorrea, dispareunia o dolor crónico, e incluso si las lesiones se ubican sobre la vejiga o sobre el recto, las pacientes pueden tener episodios de disuria y proctalgi (36,40). Se ha reportado que dado que las lesiones endometriósicas responden a las hormonas sexuales de manera similar al endometrio eutópico, el dolor también puede manifestarse de forma cíclica (36).

Es sabido además que la infertilidad y la endometriosis están altamente asociadas y llegan a afectar aproximadamente al 50% de las pacientes (41,42). Los mecanismos por los cuales gran parte de las mujeres con

endometriosis son infértiles no se conocen aún con certeza. Algunas de las causas posibles propuestas para explicar el origen de la infertilidad en endometriosis son: presencia de adherencias endometriósicas que causan distorsiones anatómicas y/o impedimentos mecánicos que afectan una correcta fertilización (43), alteraciones inmunológicas y activación macrofágica en el líquido peritoneal que resulta tóxico para la función espermática o para la supervivencia embrionaria (44), defectos endometriales implantatorios y defectos en la calidad ovocitaria (45,46). Además, el dolor que experimentan algunas pacientes con lesiones infiltrantes profundas puede ser tan fuerte, que consigue provocar largos períodos de abstinencia sexual, con la consiguiente disminución de la tasa de natalidad (47).

Asimismo, la calidad de vida de las pacientes que sufren esta enfermedad muchas veces se ve afectada debido no sólo a los fuertes dolores que padecen, sino al hecho de que deben someterse a tratamientos largos e invasivos, los cuales no siempre resultan realmente efectivos (30).

3.2 Crecimiento de las lesiones endometriósicas y desarrollo de la enfermedad

La hipótesis mejor aceptada para explicar la etiología de la endometriosis peritoneal es la teoría de la implantación propuesta por Sampson (48), la cual postula que el paso de fluido menstrual en sentido retrógrado a través de las trompas de Falopio esparce fragmentos endometriales en la cavidad peritoneal, los cuales tienen la capacidad de sobrevivir, adherirse y establecer una lesión ectópica en la superficie de los órganos peritoneales. Cabe destacar que el paso retrógrado de fluido menstrual es un evento muy frecuente. Alrededor del 90% de las mujeres presenta menstruación retrógrada, sin embargo, sólo el 10% de ellas desarrolla endometriosis. Esto sugiere que existirían más elementos que provocan susceptibilidad en determinadas mujeres para desarrollar la enfermedad.

Las pacientes con endometriosis presentan alteraciones inmunológicas y hormonales que favorecen el establecimiento, implantación y crecimiento del tejido endometrial en un sitio ectópico (42).

Se ha reportado que debris celular recolectado de la cavidad peritoneal al momento de la cirugía se adhiere y prolifera de manera más rápida *in vitro*, cuando procede de pacientes con endometriosis comparado con el mismo tejido de mujeres sanas (49). Esto indica que las mismas características de las células endometriales juegan un papel central en la implantación y posterior desarrollo de la enfermedad (47).

En las mujeres sanas con menstruación retrógrada, es el sistema inmunológico el que se encarga de eliminar las células endometriales que alcanzan la cavidad

peritoneal. Las pacientes con endometriosis presentan alteraciones en este sistema y se ha propuesto que éstas favorecen la implantación del tejido endometrial en un sitio ectópico. Se sugirió que en las mujeres con endometriosis, las células endometriales provenientes del reflujo menstrual no son destruidas en forma eficaz. Esto sucedería por una incapacidad del sistema inmunológico de la paciente para responder a los antígenos endometriales, ya sea porque esos antígenos son anormales o porque el reflujo es tan abundante que supera la capacidad de desafío de las células inmunitarias peritoneales (50). Asimismo, varios investigadores, de manera independiente, han reportado defectos funcionales en la población de células citotóxicas naturales o “*natural killer*” (NK) periféricas y/o peritoneales provenientes de pacientes con endometriosis (51-53). Las células NK son linfocitos citotóxicos efectores que pueden reconocer e inducir la lisis de células deletéreas (54). Se desconoce si la disminución en la funcionalidad de células NK es causa o consecuencia de la endometriosis. Algunos autores postulan que esta anomalía se produce como resultado de un estímulo antigénico prolongado, como es el caso del tejido endometrial implantado en un sitio ectópico (55) y otros consideran que se debe a factores solubles presentes en el líquido peritoneal que inhibirían la actividad de las células NK (56-58).

Los macrófagos son componentes habituales del líquido peritoneal. Su función fisiológica en la cavidad peritoneal se remite a la degradación de restos endometriales, espermatozoides y células foliculares. Las pacientes con endometriosis presentan un aumento tanto en el número de macrófagos peritoneales como en su activación funcional (59-61). Los macrófagos activados segregan una serie de factores de crecimiento e interleuquinas que resultan de suma importancia en el proceso de la enfermedad (62,63). La interleuquina-1b (IL-1b) es una citoquina producida por macrófagos en estado de activación cuyos niveles se encuentran aumentados en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis y que ha sido involucrada en la alteración de la fertilidad en las pacientes que sufren esta patología (64,65).

Por otro lado, las hormonas esteroides juegan un importante papel en la patogénesis de la endometriosis. Aunque se han reportado casos de mujeres menopáusicas con endometriosis (66,67), éstos son raros, y es aceptado que la enfermedad retrocede en esta etapa de la vida de la mujer (68). Los datos experimentales y clínicos sugieren que los estrógenos son importantes en el crecimiento y mantenimiento de las lesiones endometrióticas (69).

En un estudio realizado por Tenenbaum y colaboradores, se observó un aumento en la concentración de estrógenos en el líquido peritoneal proveniente de pacientes de todos los estadios de la endometriosis y un aumento de los niveles de progesterona en estadios III y IV, respecto de

mujeres sanas (70). Sin embargo, estos datos son controvertidos, ya que otros autores no han hallado diferencias significativas en la concentración de estas hormonas en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis (59).

Para explicar la mayor predisposición de algunas mujeres a desarrollar endometriosis, varios estudios se han focalizado en las diferencias de expresión de los receptores hormonales entre el tejido endometrial eutópico y el ectópico (71,72). Se hallaron polimorfismos tanto de los receptores para estradiol (71) como para los de progesterona (PR) (73,74), así como alteraciones en la expresión de PR-A y PR-B (75) en asociación con endometriosis. Sin embargo, los resultados no son concluyentes ya que existen diferencias entre los autores en cuanto al hallazgo de alteraciones de estos receptores asociadas a la endometriosis.

En los últimos años, el estudio del endometrio eutópico de las pacientes con endometriosis ha cobrado real importancia (76). La apoptosis o muerte celular programada es un proceso fisiológico fundamental para el mantenimiento de la homeostasis de distintos tejidos en organismos multicelulares (77). El proceso de apoptosis está involucrado en el mantenimiento del ciclo menstrual actuando activamente en la eliminación de células senescentes de la capa funcional del endometrio uterino durante la fase secretoria tardía y la fase menstrual (78). Diferentes autores han detectado anomalías en el tejido endometrial eutópico de las pacientes con endometriosis (79-82). En ese sentido, datos previos de nuestro grupo han demostrado que las pacientes con endometriosis poseen una actividad proliferativa aumentada e índices de apoptosis disminuidos en el tejido endometrial eutópico, hechos que favorecerían su crecimiento y supervivencia en un sitio ectópico (83). Asimismo, este estudio reveló un aumento significativo en la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 en el endometrio de pacientes con endometriosis con respecto a las mujeres del grupo control (83). Además, se observaron niveles de apoptosis disminuidos en el endometrio ectópico comparado con el endometrio eutópico (84). Estos hechos sugieren una predisposición de las células endometriales a ser resistentes a la apoptosis y a continuar sobreviviendo, lo que tendría importantes consecuencias en el crecimiento del tejido endometrial ectópico.

Como hemos señalado anteriormente, la endometriosis ha sido identificada como una patología dependiente de estrógenos (69,71). En ese sentido, uno de los hallazgos más relevantes ha sido la detección de aromataza P450, enzima responsable de la conversión de andrógenos a estrógenos, en el tejido endometrial eutópico y ectópico de pacientes con endometriosis (85,86). Además, se ha visto que los estrógenos estimulan la actividad de COX-2 y, en consecuencia, la síntesis de PGE₂.

Se ha propuesto, entonces, que la producción de estradiol (E_2) en el tejido endometriósico estaría induciendo un proceso de retroalimentación positiva hacia el aumento de transcripción de COX-2, síntesis de PGE_2 y expresión de aromatasa P450 (9,69,87,88). Este proceso favorecería la acumulación de estrógenos y potenciaría la inflamación.

En la Figura 2 se resumen las alteraciones más importantes halladas en las pacientes con endometriosis relacionadas con el establecimiento y desarrollo de la enfermedad.

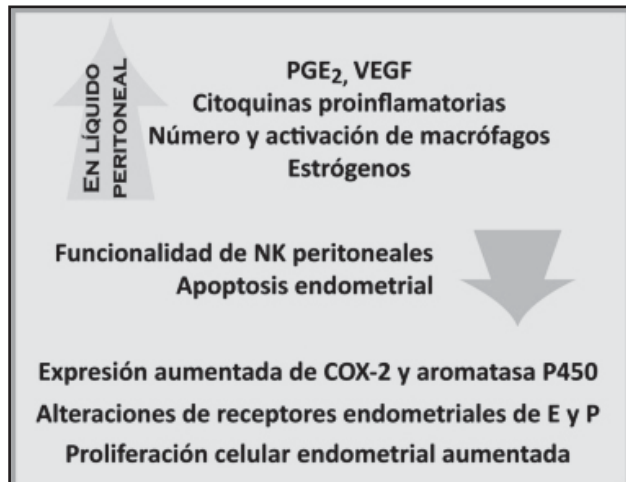


Figura 2. Alteraciones que favorecen el desarrollo de la endometriosis.

Resumen de las alteraciones más importantes halladas en las lesiones endometriósicas, en el tejido endometrial y en la cavidad peritoneal en endometriosis. Todos estos parámetros están además, asociados a la etiopatogenia de la enfermedad.

3.3 Las prostaglandinas como mediadores inmunológicos e inflamatorios en endometriosis

Como ya hemos señalado, es un hecho conocido que la endometriosis es una enfermedad que involucra desarreglos inmunológicos, evidenciados sobre todo en la cavidad peritoneal (62,89). Ya hemos expuesto que el número de macrófagos está aumentado en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis y que estas células se hallan en un estado de hiperactivación (60,61). En consecuencia, la producción por parte de estos macrófagos de citoquinas proinflamatorias como MCP-1, IL-1 β , TNF- α e IL-6 se encuentra aumentada en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis (90). Además, los macrófagos presentan un aumento de la expresión de COX-2 así como de la secreción de PGE_2 (12,60,91,92).

La deficiencia de la capacidad fagocítica de los macrófagos peritoneales en las pacientes con endometriosis ha sido sugerida como uno de los mecanismos involucrados en la implantación y en el crecimiento del tejido endometrial en un sitio ectópico (93) (Figura 3). En estudios previos, Braun y colaboradores habían re-

portado que esta capacidad citotóxica alterada de los macrófagos peritoneales en endometriosis es regulada por la síntesis de PG (94). Más recientemente, para dilucidar el mecanismo molecular implicado en esta regulación, trabajos realizados *in vitro* e *in vivo* demostraron que la PGE_2 , a través de la unión al receptor EP2, inhibe la expresión del receptor que media la fagocitosis CD36 en los macrófagos peritoneales. La reducción de la expresión de este tipo de receptores produce una disminución de la capacidad fagocítica de los macrófagos (95).

Por otro lado, se ha sugerido que tanto la expresión como la actividad enzimática de MMP-9, una metaloproteinasa que cumple importantes funciones en la regulación de la actividad fagocítica de los macrófagos, se ven inhibidas por la PGE_2 en los macrófagos peritoneales provenientes de las mujeres con endometriosis en comparación con los controles (96). Wu y colaboradores reportaron también que el efecto inhibitorio de PGE_2 es mediado por la vía EP2/EP4-dependiente de PKA (96).

Estos datos permiten explicar algunas de las disfunciones halladas en los macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis (59,97).

3.4 Ciclooxigenasa-2 y prostaglandinas como actores involucrados en la etiopatogenia de la endometriosis

De manera similar al hallazgo de la expresión aumentada de aromatasa en endometriosis, el descubrimiento de la sobreexpresión de la enzima COX-2 en pacientes con la enfermedad respecto a mujeres controles fue un hecho sumamente importante. La presencia de estas dos enzimas clave en la síntesis de estrógenos y de PGE_2 explica en gran parte el estado de activa proliferación de las lesiones endometriósicas y los fuertes dolores que experimentan las pacientes.

Tanto en la fase proliferativa como en la secreto-ria del ciclo menstrual, la COX-2 se encuentra altamente expresada en pacientes con endometriosis comparadas con mujeres sin la enfermedad (12). Asimismo, Wu y colaboradores describieron que la COX-2 se expresa en células estromales y epiteliales provenientes de pacientes con endometriosis y confirmaron que su expresión es mayor en mujeres que sufren de esta patología (98).

Los niveles elevados de PG que se encuentran en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis son principalmente producidos por los macrófagos peritoneales y el tejido endometriósico (59,60,98,99) donde también se observa una expresión aumentada de COX-2 con respecto a mujeres controles (12,96,98,100).

Los altos niveles de PG no sólo favorecen la proliferación celular estimulando la actividad de aromatasa con su consiguiente producción de estrógenos, sino que además los mismos estrógenos aumentan la síntesis de PGE_2 estimulando la actividad de COX-2 (101).

La PGE₂ además estimula la producción del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) (102,103). Esta molécula es central para la formación de una red vascular nueva en la lesión endometriósica, lo que resulta indispensable para su desarrollo y crecimiento. Se describió además que pacientes con endometriosis poseen concentraciones elevadas de VEGF en el líquido peritoneal (104) y que además este factor es capaz de estimular la expresión de COX-2 (105).

De esta forma, se establece un círculo de retroalimentación positivo en el que intervienen aromatasa, estrógenos, COX-2, PGE₂ y VEGF; todos ellos interrelacionados de manera tal que se activan y aumentan la producción y/o actividad de los otros, y estimulan la proliferación celular, la angiogénesis, la inflamación y, por consiguiente, el dolor (Figura 3).

3.5 Las prostaglandinas y el dolor pelviano

La endometriosis ha sido tradicionalmente incluida entre las causas más importantes de dolor pelviano en las mujeres en edad reproductiva. Al respecto, un estudio realizado por Ballard y colaboradores ha demostrado que el 73% de las mujeres con endometriosis había reportado dolor abdomino-pelviano, dismenorrea o menorragia contra sólo el 20% de mujeres controles que eventualmente presentaron algunos de estos síntomas (106).

Las PG han sido identificadas como las moléculas responsables del dolor en mujeres que padecen

menorragia y dismenorrea (23). La dismenorrea se define como el dolor excesivo durante la menstruación y la menorragia como el sangrado abundante durante el período menstrual. Estos eventos pueden ser desórdenes primarios, o bien, pueden ser secundarios a una patología endometrial, como la endometriosis (23,107).

En cuanto a la dismenorrea, se ha adjudicado una relación directa entre la severidad de los síntomas y la producción de PG en endometriosis (108-110). Asimismo, el análisis de fluido menstrual de mujeres que sufren de dismenorrea reveló niveles aumentados de PGE₂ y PGF_{2α} (111-113).

El incremento de la síntesis de PGE₂ y PGF_{2α} en el endometrio posee importantes implicancias en el proceso de menstruación (114). La PGE₂ es un potente vasodilatador involucrado en el edema y contribuye a la aparición del dolor durante la menstruación. Asimismo, el aumento de COX-2 y la amplificación de la producción de AMPc dependiente de PGE₂-EP, han sido reportados por Smith y colaboradores en el endometrio de mujeres con abundante flujo menstrual. Estos autores sugirieron que la expresión aumentada de las enzimas limitantes de la síntesis de PG en el endometrio de estas pacientes conlleva un aumento de su producción y una magnificación de la inflamación (115).

Las propiedades hiperalgésicas de las PG han sido reportadas por diversos autores en distintas patologías. Se ha demostrado además que la PGE₂ es capaz

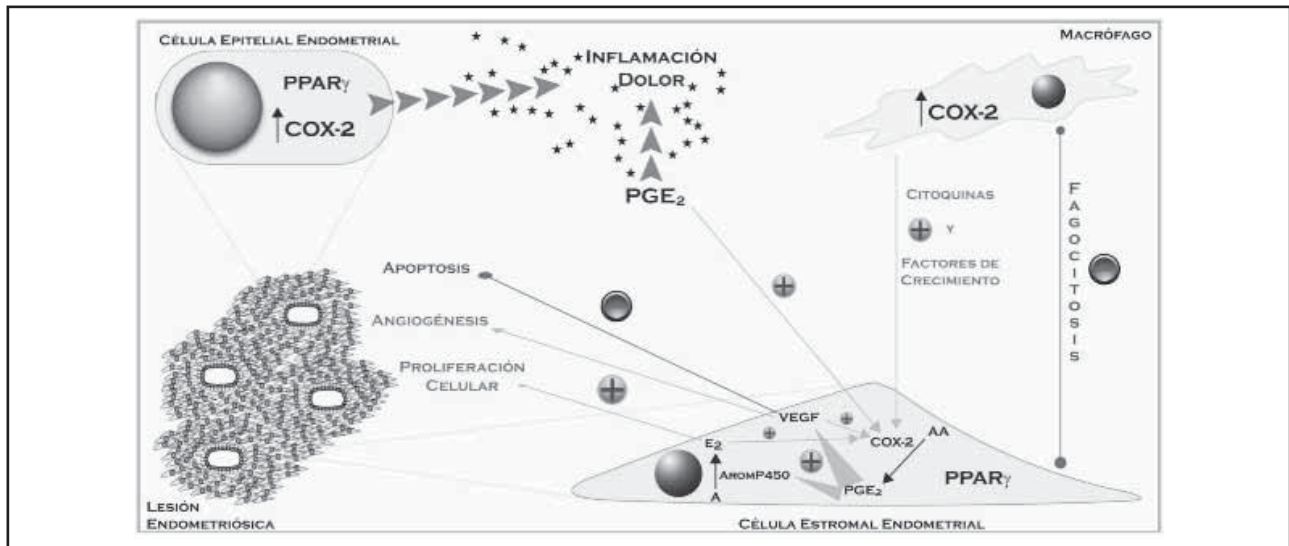


Figura 3. Alteraciones del ambiente peritoneal en endometriosis.

Los macrófagos peritoneales sintetizan y liberan PGE₂, además de citoquinas y factores de crecimiento, como IL-1β y VEGF. Todos estos factores estimulan la expresión y/o actividad de COX-2 produciéndose de esa manera concentraciones aún más altas de PGE₂ en el ambiente peritoneal. La PGE₂ estimula la expresión del factor proangiogénico VEGF y de aromatasa, aumentando la síntesis de E₂ y, en consecuencia, la proliferación celular endometriósica. El resultado de estas interacciones implica niveles de angiogénesis e inflamación aumentados y de apoptosis disminuidos. La PGE₂ también disminuye la capacidad fagocítica de los macrófagos, lo que impide la fagocitosis del tejido endometrial que alcanzó la cavidad peritoneal de forma retrógrada y permite la implantación y proliferación de la lesión endometriósica. A: androstenediona; AA: ácido araquidónico; AromP450: aromatasa P450; COX-2: ciclooxigenasa-2; E₂: estradiol; PGE₂: prostaglandina E₂; VEGF: factor de crecimiento de endotelio vascular; PPAR_γ: receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma.

de inducir dolor en pacientes sanas (116). Asimismo, los receptores EP se han hallado elevados en neuronas sensoras, lo que se relacionó con un aumento de la percepción del dolor (117,118). Siendo así, no es sorprendente hallar que la inhibición de la síntesis de PG usualmente resuelva el dolor.

Por otro lado, la manipulación hormonal y la cirugía han sido eficaces en el manejo del dolor pelviano asociado a la endometriosis (119). Un estudio reciente sugiere que la mejor modalidad para aliviar sustancialmente el dolor en endometriosis es la supresión de la función ovárica llevando a la paciente a una anovulación y eventualmente a una amenorrea (119). Los anticonceptivos orales, los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), el danazol y las progestinas han demostrado que reducen la producción de PG y, por lo tanto, alivian el dolor pelviano en endometriosis (30,120).

Sobre la base de estos datos, se torna necesario continuar investigando nuevas estrategias destinadas a inhibir la producción de PG en endometriosis con el objeto de lograr controlar el dolor y el desarrollo de esta patología.

3.6 Tratamiento del dolor en endometriosis con inhibidores de la síntesis de prostaglandinas

El fuerte dolor pelviano que sufren las pacientes con endometriosis es uno de los síntomas que provoca más problemas a las mujeres que pretenden llevar un ritmo de vida normal. Este síntoma se puede manifestar como dolor pelviano crónico, dolor previo o durante el período menstrual, dispareunia, disuria o proctalgia. Frente a esta problemática, es importante poder ofrecerles a las pacientes un alivio de sus síntomas y una mejor calidad de vida.

Las concentraciones elevadas de PGE₂ en el líquido peritoneal de las pacientes se consideran la principal causa del proceso del dolor y de inflamación en la endometriosis (98). Con el objeto de reducir los niveles de PG en endometriosis, se han realizado numerosos estudios que se han enfocado en la inhibición de la actividad de la COX, ya sea bloqueando en forma simultánea las COX-1 y COX-2 o utilizando inhibidores selectivos de las COX-2.

Los AINE son una gran familia de drogas que inhiben la actividad de las COX disminuyendo la producción de PG y, en consecuencia, el dolor. Son comúnmente utilizados para el tratamiento de todo tipo de dolencia. Entre ellos se encuentran: ibuprofeno, naproxeno, aspirina, diclofenac. Todos estos compuestos inhiben de manera indiscriminada la actividad de las dos isoformas de la COX y no es raro que a largo plazo produzcan efectos secundarios adversos como una úlcera gastrointestinal debido a la inhibición de la actividad de COX-1 (121). Justamente para hacer frente a estos efectos, se desarrollaron inhibidores

específicos de COX-2, comúnmente llamados coxibs. Los coxibs desde su desarrollo fueron y son utilizados en el tratamiento de la artritis.

El celecoxib pertenece a esta categoría de AINE que inhiben de manera selectiva la COX-2. Otros coxibs como valdecoxib o rofecoxib fueron desarrollados, pero luego fueron retirados del mercado por la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA, por su sigla en inglés) por causar efectos cardiovasculares adversos. El celecoxib no ha sido aprobado aún para ser utilizado en el tratamiento de la endometriosis y no se han realizado estudios que evalúen su capacidad antiinflamatoria en mujeres que sufren la enfermedad. Sólo se ha reportado un estudio piloto, en el que se utilizó rofecoxib un tiempo antes de ser retirado del mercado, que arrojó resultados muy positivos respecto a la utilización de este tipo de drogas en el manejo del dolor asociado a endometriosis (Cobellis 2004).

4. Terapéutica de la endometriosis

Hasta el momento, los tratamientos para la endometriosis se basan en la extirpación de las lesiones endometriósicas durante la laparoscopia y en el mantenimiento de un ambiente hipoestrogénico para evitar el crecimiento de las lesiones. Durante la laparoscopia exploratoria, en el momento que se obtiene material tisular para realizar el diagnóstico preciso, las lesiones son extirpadas y las adherencias, liberadas. Este es el primer paso en el tratamiento de la enfermedad. Luego de la cirugía se puede administrar un tratamiento hormonal o no, según criterio médico. Los tratamientos hormonales incluyen los anticonceptivos orales y los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) como tratamientos de primera línea; también se utilizan los progestágenos y, en menor medida, los agentes androgénicos.

Los anticonceptivos orales combinados son utilizados en el tratamiento de la endometriosis ya sea en forma cíclica o continua, especialmente en mujeres jóvenes que no buscan un embarazo y/o que padecen grados variables de dismenorrea. También se los utiliza como método preventivo para evitar la recurrencia de la endometriosis en pacientes que han sido tratadas quirúrgicamente, aunque la eficacia de este tipo de tratamiento no tiene una documentación sólida en la literatura.

Los anticonceptivos orales inhiben la ovulación, disminuyen los niveles de gonadotropinas y reducen el flujo menstrual (122). En estudios realizados en nuestro laboratorio se observó también que disminuyen la proliferación celular y aumentan la apoptosis del tejido endometrial eutópico proveniente de pacientes con endometriosis (123).

Las píldoras anticonceptivas son utilizadas en el tratamiento de esta patología por tener muy buena

tolerancia, menor costo y menor impacto metabólico que el danazol y los agonistas de GnRH (122). Algunos efectos secundarios no deseados incluyen: sangrado irregular, ganancia de peso, hinchazón y dolores de cabeza (30). Es importante tener en cuenta también que los anticonceptivos orales tienen un componente estrogénico y esto podría producir una estimulación de la enfermedad (122). Además, los que se administran en forma cíclica, al permitir la menstruación, provocarían contaminación de la cavidad peritoneal con tejido endometrial y podrían estimular el crecimiento de los implantes endometriósicos (30).

Los agonistas de GnRH se han constituido en la opción terapéutica médica más utilizada, particularmente en pacientes con dolor pelviano severo, donde esta forma de tratamiento administrada por vía inyectable y en forma mensual ha mostrado una eficacia significativa en la reducción de las lesiones (124). Los agonistas de GnRH de depósito generan un estado de hipoestrogenemia a través de un mecanismo de supresión hipofisaria y secundariamente gonadal, lo que lleva a la atrofia de los implantes endometriósicos peritoneales. Es justo mencionar que este tipo de terapia no ha mostrado ser eficaz para revertir la esterilidad, ya que luego de la finalización del tratamiento con agonistas de GnRH la tasa de embarazo no se ve modificada en comparación con las mujeres a las que se les administra placebo (125-127). Por otro lado, los agonistas de GnRH tampoco han sido eficaces como tratamiento en algunas pacientes peri o posmenopáusicas con endometriosis y dolor pelviano, ya que en estos casos la fisiopatología del mantenimiento de los implantes estaría basada en un mecanismo extragonadal, distinto al de la producción ovárica de estrógenos (30).

Por su modo de acción, los agonistas de GnRH son hipoestrogénicos y provocan síntomas menopáusicos. Algunos ejemplos de estos compuestos utilizados para tratar la endometriosis son: nafarrelina, buserrelina y leuprolide (30). Los efectos colaterales a corto plazo incluyen sofocones, sequedad vaginal, pérdida de la libido e inestabilidad emocional; asimismo utilizándolos por largos períodos de tiempo provocan disminución de la densidad ósea (34,36). Por esta razón se eligen esquemas cortos de tratamiento con agonistas de GnRH y en la actualidad se están utilizando en combinación con otros medicamentos para disminuir los efectos negativos sobre el hueso.

Las progestinas constituyen otra opción terapéutica y actúan suprimiendo el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, lo que provoca una represión de la ovulación y disminución de los niveles de estrógenos en plasma (128). Tienen efectos directos sobre el endometrio causando la atrofia tanto del tejido endometrial eutópico como de las lesiones endometriósicas (129) y se han demostrado también sus efectos antiangiogénicos (130).

La eliminación del flujo menstrual, evitando la contaminación de la zona peritoneal, sumado a los efectos descritos anteriormente, significan un beneficio para la paciente que se somete a este tipo de tratamiento (131). Dado que estos compuestos tienen buena tolerancia y reducidos efectos metabólicos, su utilización de forma prolongada en el tratamiento de la endometriosis puede ser una alternativa apropiada si la paciente no busca el embarazo (131).

El danazol es un agente androgénico de administración oral que induce la amenorrea suprimiendo el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, aumentando la concentración sérica de andrógenos y disminuyendo la de estrógenos (34). Varios estudios realizados confirmaron la eficacia del danazol en el alivio de los dolores asociados a la endometriosis (132-134). Sin embargo, este compuesto tiene la desventaja de poseer propiedades anabólicas, lo que se traduce en efectos secundarios tales como ganancia de peso, mialgia, acné, piel grasa, bochornos e hirsutismo (135). El límite de duración del tratamiento recomendado debido a estos efectos es de seis meses, y en los últimos años su uso ha disminuido y ha sido reemplazado por las otras opciones terapéuticas mencionadas (34).

4.1 Inhibidores de la ciclooxigenasa-2 y control del crecimiento de las lesiones endometriósicas

Los tratamientos disponibles hasta el día de hoy para tratar la endometriosis no son enteramente eficaces, ya que si bien los síntomas de la enfermedad disminuyen mientras se los está administrando, ninguna de estas terapias reduce de manera real las recidivas a las que las pacientes están expuestas. Es importante también recordar que la terapéutica que se les ofrece a las pacientes con endometriosis posee efectos secundarios adversos. Además, la imposibilidad del embarazo mientras se está bajo los efectos del tratamiento es un factor que limita su uso por períodos prolongados en mujeres deseadas de concebir.

Por estos motivos, la investigación en endometriosis se centra principalmente en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para minimizar los efectos colaterales, disminuir los casos de recidivas y para permitir que las mujeres puedan tener la posibilidad de intentar un embarazo aunque se encuentren bajo tratamiento médico. Los avances en los conocimientos sobre la fisiopatología de la endometriosis han permitido que los investigadores piensen en nuevos medicamentos que actúen en forma más directa sobre los implantes en sí, que inhiban los mecanismos involucrados en el desarrollo de la enfermedad, y que potencialmente sean más eficaces en su acción de erradicar las lesiones endometriósicas (30,124).

Los cultivos de células epiteliales de endometrio eutópico fueron utilizados en nuestro laboratorio

como modelo para estudiar el impacto del inhibidor de la COX-2, celecoxib, sobre el crecimiento endometrial. Este trabajo lo comenzamos estudiando los efectos de este compuesto sobre células en cultivo provenientes de pacientes con endometriosis y de mujeres sin la enfermedad. Obtuvimos resultados alentadores al descubrir que el celecoxib no sólo lograba inhibir la proliferación celular, sino que aumentaba los niveles de apoptosis tanto para el caso de las células endometriales de pacientes como de mujeres sin endometriosis (136). Estos datos coinciden con los reportados por otros autores, que utilizaron inhibidores de la COX-2 y lograron inhibir el crecimiento tumoral (137-140).

Los inhibidores específicos de la COX-2 han mostrado poseer la habilidad de inhibir el crecimiento celular e inducir apoptosis y detención del ciclo celular en distintos modelos *in vivo* y en líneas celulares tumorales (138,141,142). El tratamiento de distintas líneas celulares tumorales con celecoxib induce la detención del ciclo celular en fase G1, lo que está acompañado de una disminución en la expresión de las ciclinas A, B y D, un aumento en la expresión de inhibidores del ciclo celular y una pérdida en la actividad de las quinasas dependientes de ciclinas (143,144). Asimismo se ha propuesto que el celecoxib estaría inhibiendo el ciclo celular a través de la inhibición de la proteína quinasa B o por la enzima río arriba de ésta, la quinasa dependiente de fosfoinositol 1 (145,146). Es posible que el mecanismo de la inhibición de la proliferación celular observado en los cultivos de células epiteliales endometriales utilizados en nuestro trabajo sea semejante a los observados en los modelos descriptos más arriba, sin embargo, son necesarios estudios complementarios para dilucidar los procesos moleculares implicados.

La importancia de estos resultados en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para tratar la endometriosis es promisorio dado que, como ya hemos aclarado, la COX-2 se sobreexpresa en las lesiones endometrióticas (12). La sobreexpresión de la COX-2 induce la proliferación celular e inhibe la apoptosis (147). Siendo así, es posible especular que el celecoxib resultaría eficaz para el control del crecimiento endometriótico. Sin embargo, la inhibición de la actividad de la COX-2 no sería la única vía posible de acción del celecoxib en la disminución del crecimiento celular ya que algunos trabajos advierten que esta droga podría actuar por una vía independiente de la expresión de la COX-2 (141,147,148).

La angiogénesis es un proceso fundamental implicado en la vascularización y, por lo tanto, en el desarrollo de la lesión endometriótica (59,149). Se han hallado altos niveles de VEGF, principalmente producido por las células endometrióticas y por los macrófagos peritoneales, en el fluido peritoneal de pacientes con endometriosis

(98,99,150). Se ha propuesto al VEGF como uno de los factores responsables del establecimiento de la lesión y de la angiogénesis patológica en endometriosis. Siendo así, la importancia de hallar una droga que además de inhibir el crecimiento endometrial reduzca los niveles de este factor angiogénico es primordial.

La sobreexpresión de la COX-2 en células tumorales induce la angiogénesis ya que el aumento de eicosanoides aumenta la expresión del VEGF y estimula la migración y proliferación de células endoteliales (151,152). Inhibiendo la actividad de la COX-2, se eliminaría también la producción de PG, lo que llevaría a una menor producción de VEGF y, por consiguiente, a una inhibición de la angiogénesis así como de la progresión de la endometriosis (102). En consecuencia, nos propusimos investigar el efecto del celecoxib sobre la producción de PGE₂ y VEGF en células endometriales provenientes de pacientes con endometriosis.

Nuestros resultados indicaron que el celecoxib fue eficaz para inhibir la producción de PGE₂ por parte de las células epiteliales endometriales en cultivo en todas las concentraciones evaluadas (136). Este efecto es el reflejo de la inhibición de la actividad de la COX-2 por parte del celecoxib y coincidió con lo observado en distintos trabajos realizados *in vitro* (137,144,147,153,154). Sin embargo, y coincidiendo con lo reportado anteriormente, la concentración de celecoxib requerida para inhibir la proliferación celular e inducir apoptosis en nuestro sistema (50 µM) fue mayor que la necesaria para inhibir la actividad de la COX-2 (25 µM), lo que indica que el bloqueo de la actividad enzimática no sería suficiente para inhibir el crecimiento endometrial (137,154). Más aun, cuando se adicionó de manera exógena PGE₂ a los cultivos, no se obtuvo una reversión en los efectos sobre la proliferación celular (136).

En nuestro estudio, además, hemos observado que el celecoxib indujo una disminución significativa de la producción de VEGF por parte de las células epiteliales endometriales, hecho que se relacionaría con la inhibición de la angiogénesis (136). Estos datos son coincidentes con trabajos previos que reportaron que el celecoxib inhibe la angiogénesis e induce la apoptosis de células endoteliales tanto *in vivo* como *in vitro* (102,155). Acordando con nuestros resultados se ha observado también que este compuesto disminuye los niveles de VEGF en distintos sistemas celulares (102,137,139).

Estudios recientes advierten que la administración de agonistas del receptor nuclear PPARγ en combinación con inhibidores selectivos de la COX-2 resulta efectiva para inhibir el crecimiento tumoral (156). Basándonos en esos datos y en nuestros estudios realizados en células en cultivo, administramos celecoxib en conjunto con rosiglitazona a ratones con endometriosis inducida

quirúrgicamente. El modelo de endometriosis en ratón con el que contamos en el laboratorio está amplia y extensamente aceptado para el estudio de esta enfermedad (157-159).

Nuestros resultados nos permitieron confirmar que el tratamiento con celecoxib inhibió tanto el establecimiento como el crecimiento de las lesiones endometriósicas luego de cuatro semanas de tratamiento. Además, la terapéutica combinada tuvo efectos inhibitorios sobre el número de lesiones establecidas. De acuerdo con nuestros datos, podemos sugerir que el celecoxib sería el responsable de la inhibición del número de lesiones provocada por la terapéutica combinada ya que la rosiglitazona administrada de manera individual no tuvo efecto sobre este parámetro y tampoco mejoró el resultado individual del celecoxib al administrarla de manera conjunta. Por lo tanto, podemos especular que en el tiempo de tratamiento y con las dosis utilizadas, el celecoxib resultaría ser un inhibidor más potente del establecimiento endometriósico que la rosiglitazona (159).

Para investigar acerca de los mecanismos implicados en la inhibición de la endometriosis experimental estudiamos la proliferación celular, la apoptosis y la densidad vascular en las lesiones endometriósicas desarrolladas luego de los distintos tratamientos administrados.

Pudimos observar que luego de administrar celecoxib, rosiglitazona o su combinación, las lesiones endometriósicas presentaron una disminución significativa de células en activa proliferación celular, una reducción de la densidad vascular y un aumento de los niveles de apoptosis. Sin embargo, en ningún caso obtuvimos un efecto benéfico adicional al combinar las drogas que al administrarlas por separado (159).

En cuanto a la inhibición del crecimiento y vascularización, y en concordancia con nuestros datos, se ha reportado que los inhibidores de la COX-2 suprimen el crecimiento de tumores establecidos en animales, reducen el riesgo de cáncer en pacientes y previenen la tumorigénesis (160). Asimismo, se han probado diversos inhibidores selectivos de la COX-2 en distintos modelos de roedores, y se ha demostrado su eficacia para prevenir el establecimiento de los implantes endometriósicos (161) y el crecimiento de las lesiones ya establecidas (162,163). Además, el grupo de Ozawa demostró que el *kk51NS398*, otro inhibidor de la COX-2, posee actividad antiangiogénica en un modelo de endometriosis en ratones con inmunodeficiencia combinada severa (162).

Para culminar, evaluamos el contenido de PG en el líquido peritoneal de los ratones y observamos que solamente el grupo que había sido tratado con el inhibidor de la COX-2 presentaba una menor concentración de los metabolitos de PGE respecto al control (159). Este dato resultó coherente con el mecanismo de acción del celeco-

xib ya que actúa inhibiendo la actividad enzimática y, por lo tanto, disminuyendo los niveles de su producto. Esta información resulta también complementaria a los resultados obtenidos *in vitro* previamente mencionados (136). El hecho de no obtener una disminución de este parámetro luego del tratamiento con rosiglitazona no nos sorprendió, ya que se ha reportado que el tratamiento con agonistas de PPAR γ no sólo no disminuye la síntesis de PGE, sino que en algunos casos puede verse aumentada (164).

Conclusiones

La importancia de las PG en la fisiopatología de la endometriosis fue abordada en este trabajo desde varios puntos de vista. Hoy conocemos que estas moléculas no sólo están implicadas en el dolor asociado a la enfermedad, sino que son partícipes clave del desarrollo y establecimiento de la endometriosis.

La investigación básica y clínica en la terapéutica del cáncer muchas veces nos inicia en nuevas drogas utilizadas para inhibir la progresión tumoral que pueden ser pensadas también para detener el crecimiento de la lesión endometriósica. Los inhibidores de la COX-2 fueron y son actualmente utilizados en numerosos ensayos preclínicos y clínicos en distintos tipos de cáncer.

El celecoxib es el único AINE que está actualmente aprobado por la FDA para el tratamiento de la poliposis adenomatosa familiar (PAF). Este tipo de cáncer hereditario es responsable del 1% de los casos de cáncer colorrectal que se diagnostican (165). Además, son diversos los protocolos que han combinado la quimioterapia estándar con celecoxib para el tratamiento del cáncer (166-172). El celecoxib ha mostrado ser el AINE más potente en inhibir la proliferación celular. Se ha observado que otros AINE tradicionales y selectivos, si bien inhiben eficazmente la producción de PGE $_2$, no poseen las cualidades antiproliferativas que posee el celecoxib (144). Además del tratamiento de la PAF, el celecoxib está indicado para aliviar los síntomas de la artritis y osteoartritis, para la dismenorrea y luego de cirugías dentales u ortopédicas.

Resulta importante buscar nuevos horizontes en la terapéutica de la endometriosis. Las PG y sus enzimas clave de síntesis, las COX, representan hoy un blanco atractivo para desarrollar nuevas terapéuticas que ataquen directamente a las moléculas involucradas en las causas de esta patología.

Referencias

1. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev*. 1999 Oct;79(4):1193-226.
2. Jabbour HN, Sales KJ. Prostaglandin receptor signalling and function in human endometrial pathology. *Trends Endocrinol Metab*. 2004 Oct;15(8):398-404.

3. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002 Oct 15;99(21):13926-31.
4. Chandrasekharan NV, Simmons DL. The cyclooxygenases. *Genome Biol*. 2004 Aug;5(9):241-7.
5. Hwang D, Scollard D, Byrne J, Levine E. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Mar 18;90(6):455-60.
6. Kitamura T, Kawamori T, Uchiya N, Itoh M, Noda T, Matsuura M, et al. Inhibitory effects of mofezolac, a cyclooxygenase-1 selective inhibitor, on intestinal carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2002 Sep;23(9):1463-6.
7. Sales KJ, Katz AA, Howard B, Soeters RP, Millar RP, Jabbour HN. Cyclooxygenase-1 is up-regulated in cervical carcinomas: autocrine/paracrine regulation of cyclooxygenase-2, prostaglandin e receptors, and angiogenic factors by cyclooxygenase-1. *Cancer Res*. 2002 Jan 15;62(2):424-32.
8. Fortier MA, Krishnaswamy K, Danyod G, Boucher-Kovalik S, Chapdalaine P. A postgenomic integrated view of prostaglandins in reproduction: implications for other body systems. *J Physiol Pharmacol*. 2008 Aug;59 Suppl 1:65-89.
9. Jabbour HN, Sales KJ, Smith OP, Battersby S, Boddy SC. Prostaglandin receptors are mediators of vascular function in endometrial pathologies. *Mol Cell Endocrinol*. 2006 Jun 27;252(1-2):191-200.
10. Ebert AD, Bartley J, David M. Aromatase inhibitors and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in endometriosis: new questions--old answers? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005 Oct 1;122(2):144-50.
11. Matsuzaki S, Canis M, Pouly JL, Wattiez A, Okamura K, Mage G. Cyclooxygenase-2 expression in deep endometriosis and matched eutopic endometrium. *Fertil Steril*. 2004 Nov;82(5):1309-15.
12. Ota H, Igarashi S, Sasaki M, Tanaka T. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod*. 2001 Mar;16(3):561-6.
13. Jones RL, Kelly RW, Critchley HO. Chemokine and cyclooxygenase-2 expression in human endometrium coincides with leukocyte accumulation. *Hum Reprod*. 1997 Jun;12(6):1300-6.
14. Gross GA, Imamura T, Luedke C, Vogt SK, Olson LM, Nelson DM, et al. Opposing actions of prostaglandins and oxytocin determine the onset of murine labor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998 Sep 29;95(20):11875-9.
15. Reese J, Zhao X, Ma WG, Brown N, Maziasz TJ, Dey SK. Comparative analysis of pharmacologic and/or genetic disruption of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 function in female reproduction in mice. *Endocrinology*. 2001 Jul;142(7):3198-206.
16. Kennedy CR, Zhang Y, Brandon S, Guan Y, Coffee K, Funk CD, et al. Salt-sensitive hypertension and reduced fertility in mice lacking the prostaglandin EP2 receptor. *Nat Med*. 1999 Feb;5(2):217-20.
17. Ushikubi F, Sugimoto Y, Ichikawa A, Narumiya S. Roles of prostanoids revealed from studies using mice lacking specific prostanoid receptors. *Jpn J Pharmacol*. 2000 Aug;83(4):279-85.
18. Sugimoto Y, Segi E, Tsuboi K, Ichikawa A, Narumiya S. Female reproduction in mice lacking the prostaglandin F receptor. Roles of prostaglandin and oxytocin receptors in parturition. *Adv Exp Med Biol*. 1998;449:317-21.
19. Nosjean O, Boutin JA. Natural ligands of PPARgamma: are prostaglandin J(2) derivatives really playing the part? *Cell Signal*. 2002 Jul;14(7):573-83.
20. Scher JU, Pillinger MH. The anti-inflammatory effects of prostaglandins. *J Investig Med*. 2009 Aug;57(6):703-8.
21. Pakrasi PL, Jain AK. Cyclooxygenase-2 derived PGE2 and PGI2 play an important role via EP2 and PPARdelta receptors in early steps of oil induced decidualization in mice. *Placenta*. 2008 Jun;29(6):523-30.
22. Tranguch S, Daikoku T, Guo Y, Wang H, Dey SK. Molecular complexity in establishing uterine receptivity and implantation. *Cell Mol Life Sci*. 2005 Sep;62(17):1964-73.
23. Maybin JA, Critchley HO, Jabbour HN. Inflammatory pathways in endometrial disorders. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Mar 15;335(1):42-51.
24. Kennedy TG. Prostaglandins and increased endometrial vascular permeability resulting from the application of artificial stimulus to the uterus of the rat sensitized for the decidual cell reaction. *Biol Reprod*. 1979 Apr;20(3):560-6.
25. Sookvanichsilp N, Pulbutr P. Anti-implantation effects of indomethacin and celecoxib in rats. *Contraception*. 2002 May;65(5):373-8.
26. Diao HL, Zhu H, Ma H, Tan HN, Cong J, Su RW, et al. Rat ovulation, implantation and decidualization are severely compromised by COX-2 inhibitors. *Front Biosci*. 2007 May;12:3333-42.
27. Kennedy TG, Gillio-Meina C, Phang SH. Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and decidualization. *Reproduction*. 2007 Nov;134(5):635-43.
28. Kennedy TG, Doktorcik PE. Effects of analogues of prostaglandin E2 and F2 alpha on the decidual cell reaction in the rat. *Prostaglandins*. 1988 Feb;35(2):207-19.
29. Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK. Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *J Mol Endocrinol*. 1996 Apr;16(2):107-22.
30. Crosignani P, Olive D, Bergqvist A, Luciano A. Advances in the management of endometriosis: an update for clinicians. *Hum Reprod Update*. 2006 Mar;12(2):179-89.
31. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol*. 1986 Mar;67(3):335-8.
32. Hilaris GE, Payne CK, Osias J, Cannon W, Nezhat CR. Synchronous rectovaginal, urinary bladder, and pulmonary endometriosis. *JSLs*. 2005 Jan;9(1):78-82.

33. D'Hooghe TM, Kyama C, Debrock S, Meuleman C, Mwenda JM. Future directions in endometriosis research. *Ann NY Acad Sci.* 2004 Dec;1034:316-25.
34. Valle RF, Sciarra JJ. Endometriosis: treatment strategies. *Ann NY Acad Sci.* 2003 Nov;997:229-39.
35. Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann NY Acad Sci.* 2008 Apr;1127:92-100.
36. Child TJ, Tan SL. Endometriosis: aetiology, pathogenesis and treatment. *Drugs.* 2001;61(12):1735-50.
37. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Semin Reprod Med.* 2003 May;21(2):243-54.
38. Meuleman C, Tomassetti C, D'Hoore A, Van Cleynenbreugel B, Penninckx F, Vergote I, et al. Surgical treatment of deeply infiltrating endometriosis with colorectal involvement. *Hum Reprod Update.* 2011 May;17(3):311-26.
39. Gazvani R, Templeton A. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Feb;76(2):117-26.
40. Milingos S, Protopapas A, Drakakis P, Liapi A, Loutradis D, Kallipolitis G, et al. Laparoscopic management of patients with endometriosis and chronic pelvic pain. *Ann NY Acad Sci.* 2003 Nov;997:269-73.
41. Halis G, Arici A. Endometriosis and inflammation in infertility. *Ann NY Acad Sci.* 2004 Dec;1034:300-15.
42. Bulletti C, Montini A, Setti PL, Palagianò A, Ubaldi F, Borini A. Vaginal parturition decreases recurrence of endometriosis. *Fertil Steril.* 2010 Aug;94(3):850-5.
43. Somigliana E, Benaglia L, Vigano P, Candiani M, Vercellini P, Fedele L. Surgical measures for endometriosis-related infertility: a plea for research. *Placenta.* 2011 Sep;32 Suppl 3:S238-S242.
44. Kyama CM, Mihalyi A, Simsa P, Falconer H, Fulop V, Mwenda JM, et al. Role of cytokines in the endometrial-peritoneal cross-talk and development of endometriosis. *Front Biosci.* 2009 Jun;1:444-54.
45. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, et al. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994 Aug;79(2):643-9.
46. Wei Q, St Clair JB, Fu T, Stratton P, Nieman LK. Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2009 May;91(5):1686-91.
47. de Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *Lancet.* 2010 Aug 28;376(9742):730-8.
48. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 1927;14:422-69.
49. Bulletti C, de Ziegler D, Setti PL, Cicinelli E, Polli V, Flamigni C. The patterns of uterine contractility in normal menstruating women: from physiology to pathology. *Ann NY Acad Sci.* 2004 Dec;1034:64-83.
50. Dmowski WP, Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004 Apr;18(2):245-63.
51. Wu MY, Yang JH, Chao KH, Hwang JL, Yang YS, Ho HN. Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2000 Dec;74(6):1187-91.
52. Wilson TJ, Hertzog PJ, Angus D, Munnery L, Wood EC, Kola I. Decreased natural killer cell activity in endometriosis patients: relationship to disease pathogenesis. *Fertil Steril.* 1994 Nov;62(5):1086-8.
53. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril.* 1991 Jul;56(1):45-51.
54. Vigano P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004 Apr;18(2):177-200.
55. Hill JA. Immunology and endometriosis. *Fertil Steril.* 1992 Aug;58(2):262-4.
56. Vigano P, Gaffuri B, Somigliana E, Busacca M, Di Blasio AM, Vignali M. Expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture. *Mol Hum Reprod.* 1998 Dec;4(12):1150-6.
57. Somigliana E, Vigano P, Gaffuri B, Candiani M, Busacca M, Di Blasio AM, et al. Modulation of NK cell lytic function by endometrial secretory factors: potential role in endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 1996 Nov;36(5):295-300.
58. Cornillie FJ, Lauweryns JM, Seppala M, Riittinen L, Koninckx PR. Expression of endometrial protein PP14 in pelvic and ovarian endometriotic implants. *Hum Reprod.* 1991 Nov;6(10):1411-5.
59. Gazvani R, Templeton A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction.* 2002 Feb;123(2):217-26.
60. Raiter-Tenenbaum A, Baranao RI, Etchepareborda JJ, Meresman GF, Rumi LS. Functional and phenotypic alterations in peritoneal macrophages from patients with early and advanced endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* 1998;261(3):147-57.
61. Halme J, Surrey ES. Endometriosis and infertility: the mechanisms involved. *Prog Clin Biol Res.* 1990;323:157-78.
62. Vinatier D, Dufour P, Oosterlynck D. Immunological aspects of endometriosis. *Hum Reprod Update.* 1996 Sep;2(5):371-84.
63. Dunselman GA, Hendrix MG, Bouckaert PX, Evers JL. Functional aspects of peritoneal macrophages in endometriosis of women. *J Reprod Fertil.* 1988 Mar;82(2):707-10.
64. Taketani Y, Kuo TM, Mizuno M. Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Jul;167(1):265-70.
65. Mier-Cabrera J, Jimenez-Zamudio L, Garcia-Latorre E, Cruz-Orozco O, Hernandez-Guerrero C. Quantita-

- tive and qualitative peritoneal immune profiles, T-cell apoptosis and oxidative stress-associated characteristics in women with minimal and mild endometriosis. *BJOG*. 2011 Jan;118(1):6-16.
66. Takayama K, Zeitoun K, Gunby RT, Sasano H, Carr BR, Bulun SE. Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril*. 1998 Apr;69(4):709-13.
 67. Ailawadi RK, Jobanputra S, Kataria M, Gurates B, Bulun SE. Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. *Fertil Steril*. 2004 Feb;81(2):290-6.
 68. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997 Jun;24(2):235-58.
 69. Bulun SE, Gurates B, Fang Z, Tamura M, Sebastian S, Zhou J, et al. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2002 May;55(1-2):21-33.
 70. Tenenbaum A, Barañao RI, Etchepareborda JJ, Lavarello M, Kessler E, Rumi LS. Functional alterations of peritoneal macrophages in patients with mild endometriosis. *Fertility and Sterility. Progress in Research and Practice*. New York: Parthenon Publications; 1994.
 71. Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshiba H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002 Dec;83(1-5):149-55.
 72. Fujishita A, Nakane PK, Koji T, Masuzaki H, Chavez RO, Yamabe T, et al. Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Fertil Steril*. 1997 May;67(5):856-64.
 73. Wieser F, Schneeberger C, Tong D, Tempfer C, Huber JC, Wenzl R. PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):309-12.
 74. Near AM, Wu AH, Templeman C, Van Den Berg DJ, Doherty JA, Rossing MA, et al. Progesterone receptor gene polymorphisms and risk of endometriosis: results from an international collaborative effort. *Fertil Steril*. 2011 Jan;95(1):40-5.
 75. Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Aug;85(8):2897-902.
 76. Brosens I, Brosens JJ, Benagiano G. The eutopic endometrium in endometriosis: are the changes of clinical significance? *Reprod Biomed Online*. 2012 May;24(5):496-502.
 77. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007 Jun;35(4):495-516.
 78. Dmowski WP, Ding J, Shen J, Rana N, Fernandez BB, Braun DP. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod*. 2001 Sep;16(9):1802-8.
 79. Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *J Soc Gynecol Investig*. 2006 Oct;13(7):467-76.
 80. Johnson MC, Torres M, Alves A, Bacallao K, Fuentes A, Vega M, et al. Augmented cell survival in eutopic endometrium from women with endometriosis: expression of c-myc, TGF-beta1 and bax genes. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005 Sep 8;3:45-52.
 81. Sharpe-Timms KL. Endometrial anomalies in women with endometriosis. *Ann NY Acad Sci*. 2001 Sep;943:131-47.
 82. Dmowski WP, Gebel H, Braun DP. Decreased apoptosis and sensitivity to macrophage mediated cytolysis of endometrial cells in endometriosis. *Hum Reprod Update*. 1998 Sep;4(5):696-701.
 83. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M, Rumi LS. Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2000 Oct;74(4):760-6.
 84. 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 Jun;69(6):1042-7.
 85. Bulun SE, Fang Z, Imir G, Gurates B, Tamura M, Yilmaz B, et al. Aromatase and endometriosis. *Semin Reprod Med*. 2004 Feb;22(1):45-50.
 86. Kitawaki J, Noguchi T, Amatsu T, Maeda K, Tsukamoto K, Yamamoto T, et al. Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biol Reprod*. 1997 Sep;57(3):514-9.
 87. Attar E, Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update*. 2006 Jan;12(1):49-56.
 88. Bulun SE, Imir G, Utsunomiya H, Thung S, Gurates B, Tamura M, et al. Aromatase in endometriosis and uterine leiomyomata. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005 May;95(1-5):57-62.
 89. Dmowski WP, Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004 Apr;18(2):245-63.
 90. Wu MH, Shoji Y, Chuang PC, Tsai SJ. Endometriosis: disease pathophysiology and the role of prostaglandins. *Expert Rev Mol Med*. 2007;9(2):1-20.
 91. Tamura M, Sebastian S, Yang S, Gurates B, Fang Z, Bulun SE. Interleukin-1beta elevates cyclooxygenase-2 protein level and enzyme activity via increasing its mRNA stability in human endometrial stromal cells: an effect mediated by extracellularly regulated kinases 1 and 2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jul;87(7):3263-73.
 92. Wu MH, Wang CA, Lin CC, Chen LC, Chang WC, Tsai SJ. Distinct regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1beta in normal and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jan;90(1):286-95.
 93. Chuang PC, Wu MH, Shoji Y, Tsai SJ. Downregulation of CD36 results in reduced phagocytic ability of peritoneal macrophages of women with endometriosis. *J Pathol*. 2009 Oct;219(2):232-41.

94. Braun DP, Gebel H, Rotman C, Rana N, Dmowski WP. The development of cytotoxicity in peritoneal macrophages from women with endometriosis. *Fertil Steril.* 1992 Jun;57(6):1203-10.
95. Chuang PC, Lin YJ, Wu MH, Wing LY, Shoji Y, Tsai SJ. Inhibition of CD36-dependent phagocytosis by prostaglandin E2 contributes to the development of endometriosis. *Am J Pathol.* 2010 Feb;176(2):850-60.
96. Wu MH, Shoji Y, Wu MC, Chuang PC, Lin CC, Huang MF, et al. Suppression of matrix metalloproteinase-9 by prostaglandin E(2) in peritoneal macrophage is associated with severity of endometriosis. *Am J Pathol.* 2005 Oct;167(4):1061-9.
97. Lousse JC, Defrere S, Colette S, Van Langendonck A, Donnez J. Expression of eicosanoid biosynthetic and catabolic enzymes in peritoneal endometriosis. *Hum Reprod.* 2010 Mar;25(3):734-41.
98. Wu MH, Sun HS, Lin CC, Hsiao KY, Chuang PC, Pan HA, et al. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis. *Mol Hum Reprod.* 2002 Dec;8(12):1103-10.
99. Wu MH, Lu CW, Chuang PC, Tsai SJ. Prostaglandin E2: the master of endometriosis? *Exp Biol Med (Maywood).* 2010 Jun;235(6):668-77.
100. Banu SK, Lee J, Speights VO, Jr., Starzinski-Powitz A, Arosh JA. Cyclooxygenase-2 regulates survival, migration, and invasion of human endometriotic cells through multiple mechanisms. *Endocrinology.* 2008 Mar;149(3):1180-9.
101. Huang JC, Dawood MY. Gene transfer to cultured human endometrial stromal cells: a model to study cyclooxygenase-2 gene regulation. *Fertil Steril.* 1998 Oct;70(4):734-9.
102. Gately S, Li WW. Multiple roles of COX-2 in tumor angiogenesis: a target for antiangiogenic therapy. *Semin Oncol.* 2004 Apr;31(2 Suppl 7):2-11.
103. Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, Yao S, Dosoretz A, Holland JF, et al. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J Biol Chem.* 2002 Dec 20;277(51):50081-6.
104. Mahnke JL, Dawood MY, Huang JC. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2000 Jan;73(1):166-70.
105. Tamura K, Sakurai T, Kogo H. Relationship between prostaglandin E2 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in angiogenesis in human vascular endothelial cells. *Vascul Pharmacol.* 2006 Jun;44(6):411-6.
106. Ballard KD, Seaman HE, de Vries CS, Wright JT. Can symptomatology help in the diagnosis of endometriosis? Findings from a national case-control study--Part 1. *BJOG.* 2008 Oct;115(11):1382-91.
107. Tietjen GE, Conway A, Utley C, Gunning WT, Herial NA. Migraine is associated with menorrhagia and endometriosis. *Headache.* 2006 Mar;46(3):422-8.
108. Nasir L, Bope ET. Management of pelvic pain from dysmenorrhea or endometriosis. *J Am Board Fam Pract.* 2004 Nov;17 Suppl:S43-S47.
109. Coco AS. Primary dysmenorrhea. *Am Fam Physician.* 1999 Aug;60(2):489-96.
110. Koike H, Egawa H, Ohtsuka T, Yamaguchi M, Ikenoue T, Mori N. Correlation between dysmenorrheic severity and prostaglandin production in women with endometriosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1992 Jun;46(2):133-7.
111. Lumsden MA, Kelly RW, Baird DT. Primary dysmenorrhoea: the importance of both prostaglandins E2 and F2 alpha. *Br J Obstet Gynaecol.* 1983 Dec;90(12):1135-40.
112. Dawood MY, Khan-Dawood FS. Differential suppression of menstrual fluid prostaglandin F2a, prostaglandin E2, 6-keto prostaglandin F1a and thromboxane B2 by suprofen in women with primary dysmenorrhea. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2007 Feb;83(1-2):146-53.
113. Dawood MY, Khan-Dawood FS. Clinical efficacy and differential inhibition of menstrual fluid prostaglandin F2alpha in a randomized, double-blind, crossover treatment with placebo, acetaminophen, and ibuprofen in primary dysmenorrhea. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Jan;196(1):35.
114. Baird DT, Cameron ST, Critchley HO, Drudy TA, Howe A, Jones RL, et al. Prostaglandins and menstruation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996 Dec;70(1):15-7.
115. Smith OP, Jabbour HN, Critchley HO. Cyclooxygenase enzyme expression and E series prostaglandin receptor signalling are enhanced in heavy menstruation. *Hum Reprod.* 2007 May;22(5):1450-6.
116. Wienecke T, Olesen J, Oturai PS, Ashina M. Prostaglandin E2(PGE2) induces headache in healthy subjects. *Cephalalgia.* 2009 May;29(5):509-19.
117. Levine JD, Taiwo YO. Hyperalgesic pain: a review. *Anesth Prog.* 1990 Mar;37(2-3):133-5.
118. Bley KR, Hunter JC, Eglen RM, Smith JA. The role of IP prostanoid receptors in inflammatory pain. *Trends Pharmacol Sci.* 1998 Apr;19(4):141-7.
119. Vercellini P, Crosignani P, Somigliana E, Vigano P, Frattaruolo MP, Fedele L. 'Waiting for Godot': a common-sense approach to the medical treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2011 Jan;26(1):3-13.
120. Venturini PL, Fasce V, Gorlero F, Ginocchio G. Chronic pelvic pain: oral contraceptives and non-steroidal anti-inflammatory compounds. *Cephalalgia.* 1997 Dec;17 Suppl 20:29-31.
121. Wadman M. The pain game. *Nature.* 2007 Jul 26;448(7152):400-1.
122. Rice VM. Conventional medical therapies for endometriosis. *Ann NY Acad Sci.* 2002 Mar;955:343-52.
123. Meresman GF, Auge L, Baranao RI, Lombardi E, Tesone M, Sueldo C. Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2002 Jun;77(6):1141-7.
124. Ferrero S, Abbamonte LH, Anserini P, Remorgida

- V, Ragni N. Future perspectives in the medical treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol Surv.* 2005 Dec;60(12):817-26.
125. Olive DL. Optimizing gonadotropin-releasing hormone agonist therapy in women with endometriosis. *Treat Endocrinol.* 2004;3(2):83-9.
126. Vercellini P, Somigliana E, Vigano P, Abbiati A, Daguati R, Crosignani PG. Endometriosis: current and future medical therapies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2008 Apr;22(2):275-306.
127. Busacca M, Somigliana E, Bianchi S, De MS, Calia C, Candiani M, et al. Post-operative GnRH analogue treatment after conservative surgery for symptomatic endometriosis stage III-IV: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2001 Nov;16(11):2399-402.
128. Luciano AA, Turksoy RN, Carleo J. Evaluation of oral medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1988 Sep;72(3 Pt 1):323-7.
129. Schweppe KW. Current place of progestins in the treatment of endometriosis-related complaints. *Gynecol Endocrinol.* 2001 Dec;15 Suppl 6:22-8.
130. Blei F, Wilson EL, Mignatti P, Rifkin DB. Mechanism of action of angiostatic steroids: suppression of plasminogen activator activity via stimulation of plasminogen activator inhibitor synthesis. *J Cell Physiol.* 1993 Jun;155(3):568-78.
131. Vercellini P, Fedele L, Pietropaolo G, Frontino G, Somigliana E, Crosignani PG. Progestogens for endometriosis: forward to the past. *Hum Reprod Update.* 2003 Jul;9(4):387-96.
132. Chang SP, Ng HT. A randomized comparative study of the effect of leuporelin acetate depot and danazol in the treatment of endometriosis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei).* 1996 Jun;57(6):431-7.
133. Fraser IS, Shearman RP, Jansen RP, Sutherland PD. A comparative treatment trial of endometriosis using the gonadotrophin-releasing hormone agonist, nafarelin, and the synthetic steroid, danazol. *Aust NZJ Obstet Gynaecol.* 1991 May;31(2):158-63.
134. Telimaa S, Puolakka J, Ronnberg L, Kauppila A. Placebo-controlled comparison of danazol and high-dose medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 1987 Mar;1(1):13-23.
135. Rotondi M, Labriola D, Rotondi M, Ammaturo FP, Amato G, Carella C, et al. Depot leuporelin acetate versus danazol in the treatment of infertile women with symptomatic endometriosis. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2002;23(6):523-6.
136. Olivares C, Bilotas M, Buquet R, Borghi M, Sueldo C, Tesone M, et al. Effects of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on endometrial epithelial cells from patients with endometriosis. *Hum Reprod.* 2008 Aug 20;23:2701-8.
137. Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, Gendler SJ, Mukherjee P. Mechanisms underlying the growth inhibitory effects of the cyclo-oxygenase-2 inhibitor celecoxib in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* 2005;7(4):R422-R435.
138. Kazanov D, Dvory-Sobol H, Pick M, Liberman E, Strier L, Choen-Noyman E, et al. Celecoxib but not rofecoxib inhibits the growth of transformed cells in vitro. *Clin Cancer Res.* 2004 Jan 1;10(1 Pt 1):267-71.
139. Wei D, Wang L, He Y, Xiong HQ, Abbruzzese JL, Xie K. Celecoxib inhibits vascular endothelial growth factor expression in and reduces angiogenesis and metastasis of human pancreatic cancer via suppression of Sp1 transcription factor activity. *Cancer Res.* 2004 Mar 15;64(6):2030-8.
140. Wu T, Leng J, Han C, Demetris AJ. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib blocks phosphorylation of Akt and induces apoptosis in human cholangiocarcinoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2004 Mar;3(3):299-307.
141. Chun KS, Surh YJ. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. *Biochem Pharmacol.* 2004 Sep 15;68(6):1089-100.
142. Connolly EM, Harmey JH, O'Grady T, Foley D, Roche-Nagle G, Kay E, et al. Cyclo-oxygenase inhibition reduces tumour growth and metastasis in an orthotopic model of breast cancer. *Br J Cancer.* 2002 Jul 15;87(2):231-7.
143. Maier TJ, Schilling K, Schmidt R, Geisslinger G, Grosch S. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent and -independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 2004 Apr 15;67(8):1469-78.
144. Kardosh A, Blumenthal M, Wang WJ, Chen TC, Schonthal AH. Differential effects of selective COX-2 inhibitors on cell cycle regulation and proliferation of glioblastoma cell lines. *Cancer Biol Ther.* 2004 Jan;3(1):55-62.
145. Zhu J, Huang JW, Tseng PH, Yang YT, Fowble J, Shiau CW, et al. From the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib to a novel class of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 inhibitors. *Cancer Res.* 2004 Jun 15;64(12):4309-18.
146. Kulp SK, Yang YT, Hung CC, Chen KF, Lai JP, Tseng PH, et al. 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1/Akt signaling represents a major cyclooxygenase-2-independent target for celecoxib in prostate cancer cells. *Cancer Res.* 2004 Feb 15;64(4):1444-51.
147. Grosch S, Maier TJ, Schiffmann S, Geisslinger G. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors. *J Natl Cancer Inst.* 2006 Jun 7;98(11):736-47.
148. Lai GH, Zhang Z, Sirica AE. Celecoxib acts in a cyclooxygenase-2-independent manner and in synergy with emodin to suppress rat cholangiocarcinoma growth in vitro through a mechanism involving enhanced Akt inactivation and increased activation of caspases-9 and -3. *Mol Cancer Ther.* 2003 Mar;2(3):265-71.
149. Groothuis PG, Nap AW, Winterhager E, Grummer R. Vascular development in endometriosis. *Angiogenesis.* 2005;8(2):147-56.
150. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and en-

- dometriotic angiogenesis. *Hum Reprod Update*. 2000 Jan;6(1):45-55.
151. Li G, Yang T, Yan J. Cyclooxygenase-2 increased the angiogenic and metastatic potential of tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Dec 20;299(5):886-90.
 152. Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Stearns ME, Holland JF, Claffey K, et al. Upregulation of vascular endothelial growth factor by cobalt chloride-simulated hypoxia is mediated by persistent induction of cyclooxygenase-2 in a metastatic human prostate cancer cell line. *Clin Exp Metastasis*. 1999;17(8):687-94.
 153. Ohneseit PA, Krebiehl G, Dittmann K, Kehlbach R, Rodemann HP. Inhibition of cyclooxygenase-2 activity by celecoxib does not lead to radiosensitization of human prostate cancer cells in vitro. *Radiother Oncol*. 2007 Jan 3;82(2):229-38.
 154. Han C, Leng J, Demetris AJ, Wu T. Cyclooxygenase-2 promotes human cholangiocarcinoma growth: evidence for cyclooxygenase-2-independent mechanism in celecoxib-mediated induction of p21waf1/cip1 and p27kip1 and cell cycle arrest. *Cancer Res*. 2004 Feb 15;64(4):1369-76.
 155. Leahy KM, Ornberg RL, Wang Y, Zweifel BS, Koki AT, Masferrer JL. Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Res*. 2002 Feb 1;62(3):625-31.
 156. Mustafa A, Kruger WD. Suppression of tumor formation by a cyclooxygenase-2 inhibitor and a peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist in an in vivo mouse model of spontaneous breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2008 Aug 1;14(15):4935-42.
 157. Bilotas M, Meresman G, Stella I, Sueldo C, Baranao RI. Effect of aromatase inhibitors on ectopic endometrial growth and peritoneal environment in a mouse model of endometriosis. *Fertil Steril*. 2010 May 15;93(8):2513-8.
 158. Ricci AG, Olivares CN, Bilotas MA, Meresman GF, Baranao RI. Effect of Vascular Endothelial Growth Factor Inhibition on Endometrial Implant Development in a Murine Model of Endometriosis. *Reprod Sci*. 2011 Jan 25;18(7):614-22.
 159. Olivares C, Ricci A, Bilotas M, Baranao RI, Meresman G. The inhibitory effect of celecoxib and rosiglitazone on experimental endometriosis. *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2):428-33.
 160. Bundred NJ, Barnes NL. Potential use of COX-2-aromatase inhibitor combinations in breast cancer. *Br J Cancer*. 2005 Aug;93 Suppl 1:S10-S15.
 161. Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Dallel R, Okamura K, Mage G. Cyclooxygenase-2 selective inhibitor prevents implantation of eutopic endometrium to ectopic sites in rats. *Fertil Steril*. 2004 Dec;82(6):1609-15.
 162. Ozawa Y, Murakami T, Tamura M, Terada Y, Yaegashi N, Okamura K. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses the growth of endometriosis xenografts via antiangiogenic activity in severe combined immunodeficiency mice. *Fertil Steril*. 2006 Oct;86 Suppl 4:1146-51.
 163. Dogan E, Saygili U, Posaci C, Tuna B, Caliskan S, Altunyurt S, et al. Regression of endometrial explants in rats treated with the cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib. *Fertil Steril*. 2004 Oct;82 Suppl 3:1115-20.
 164. Bishop-Bailey D, Warner TD. PPARgamma ligands induce prostaglandin production in vascular smooth muscle cells: indomethacin acts as a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma antagonist. *FASEB J*. 2003 Oct;17(13):1925-7.
 165. Fujimura T, Ohta T, Oyama K, Miyashita T, Miwa K. Role of cyclooxygenase-2 in the carcinogenesis of gastrointestinal tract cancers: a review and report of personal experience. *World J Gastroenterol*. 2006 Mar 7;12(9):1336-45.
 166. Chow LW, Wong JL, Toi M. Celecoxib anti-aromatase neoadjuvant (CAAN) trial for locally advanced breast cancer: preliminary report. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003 Sep;86(3-5):443-7.
 167. Pruthi RS, Derksen JE, Moore D. A pilot study of use of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib in recurrent prostate cancer after definitive radiation therapy or radical prostatectomy. *BJU Int*. 2004 Feb;93(3):275-8.
 168. Choy H, Milas L. Enhancing radiotherapy with cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors: a rational advance? *J Natl Cancer Inst*. 2003 Oct 1;95(19):1440-52.
 169. Reardon DA, Quinn JA, Vredenburgh J, Rich JN, Gururangan S, Badrudoja M, et al. Phase II trial of irinotecan plus celecoxib in adults with recurrent malignant glioma. *Cancer*. 2005 Jan 15;103(2):329-38.
 170. Merchan JR, Jayaram DR, Supko JG, He X, Bublely GJ, Sukhatme VP. Increased endothelial uptake of paclitaxel as a potential mechanism for its antiangiogenic effects: potentiation by Cox-2 inhibition. *Int J Cancer*. 2005 Jan 20;113(3):490-8.
 171. Milella M, Gelibter A, Di Cosimo S, Bria E, Ruggeri EM, Carlini P, et al. Pilot study of celecoxib and infusional 5-fluorouracil as second-line treatment for advanced pancreatic carcinoma. *Cancer*. 2004 Jul 1;101(1):133-8.
 172. Ducreux M, Kohne CH, Schwartz GK, Vanhoefter U. Irinotecan in metastatic colorectal cancer: dose intensification and combination with new agents, including biological response modifiers. *Ann Oncol*. 2003;14 Suppl 2:ii17-ii23.