



## Concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ en pacientes infértiles con disfunción ovárica\*

Víctor Saúl Vital Reyes,\*\* Sergio Téllez Velasco,\*\* Juan Carlos Hinojosa Cruz,\*\* María de Jesús Ortiz Romero,\*\* María Eugenia Chavarría Olarte,\*\*\* Alejandro Reyes Fuentes\*\*\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** algunas citocinas que participan en la modulación del ciclo ovárico, como la IL-1 $\beta$ , IL-6 y el TNF- $\alpha$  desempeñan papeles importantes durante el crecimiento y desarrollo folicular. Su cuantificación y análisis entrevé gran potencial diagnóstico y pronóstico en la enfermedad ovárica reproductiva.

**Objetivo:** cuantificar las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  en pacientes infértiles con disfunción ovárica y compararlas con las de pacientes ovulatorias.

**Pacientes y métodos:** se efectuó un estudio clínico transversal en pacientes infértiles con insuficiencia ovárica prematura, baja reserva ovárica, anovulación crónica, y pacientes ovulatorias, las cuales se clasificaron de acuerdo con los criterios clínico-hormonales vigentes. Se determinaron las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  mediante la técnica de ELISA. El análisis estadístico se efectuó con ANOVA de una vía, la prueba de Kruskal-Wallis y el análisis de correlación de Pearson.

**Resultados:** se estudiaron 40 pacientes cuyo promedio global de edad fue de 30 años; sin diferencias significativas entre los grupos. Las cifras totales promedio de IL-1 $\beta$  fueron de 13.2 pg/mL; IL-6 de 8.4 pg/mL y TNF- $\alpha$  de 1.5 pg/mL. Se observaron diferencias significativas en las cifras de TNF- $\alpha$  de las pacientes con insuficiencia ovárica prematura en comparación con las del grupo control ( $p < 0.01$ ). El análisis de Pearson mostró coeficientes de correlación no significativos.

**Conclusión:** se observó un amplio margen de dispersión en las cifras séricas de las tres citocinas estudiadas. Se encontraron concentraciones significativamente bajas de TNF- $\alpha$  en las pacientes con insuficiencia ovárica prematura. Estos hallazgos son un precedente de la posible utilidad de la determinación de estos moduladores en medicina reproductiva.

**Palabras clave:** infertilidad, disfunción ovárica, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ .

### ABSTRACT

**Background:** Some cytokines that take part in the ovarian cycle regulation, such as IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  play an important role during growth and development of ovarian follicle. Quantification of some cytokines is promissory in the work-up of ovarian reproductive pathology.

**Objective:** To determine serum levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in infertile patients with ovarian dysfunction and to compare them with those found in ovulatory patients.

**Patients and methods:** We conducted a cross-sectional study in infertile patients with premature ovarian failure, diminished ovarian reserve, chronic anovulation and ovulatory patients that were well-characterized by clinical and hormonal parameters. We determined serum concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  by an ELISA method. Statistics was conducted by using one way ANOVA, Kruskal-Wallis and Pearson correlation analyses.

**Results:** We studied a total of forty patients. The mean age was 30 years; we did not find significant differences among groups. Overall mean of cytokines concentration was: 13.2 pg/mL for IL-1 $\beta$ ; 8.4 pg/mL for IL-6; and 1.5 pg/mL for TNF- $\alpha$ . We observed a significant difference in the concentration of TNF- $\alpha$  in the premature ovarian failure group when it was compared to the control group. Pearson correlation coefficients were no significant.

**Conclusion:** A wide range of dispersion of serum cytokines concentration was observed. Serum concentrations of TNF- $\alpha$  in woman with premature ovarian failure were significantly lower than those in the control group. Our findings represent a precedent in the powerful utility of the quantification of these cytokines in reproductive medicine.

**Key words:** infertility, ovarian dysfunction, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ .

### RÉSUMÉ

**Antécédents :** quelques cytosines qui participent à la modulation du cycle ovarien, comme la IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$ , jouent des rôles importants pendant la croissance et développement folliculaire. Donc, leur quantification et analyse entrevoit un grand



potentiel diagnostique y pronostique dans la maladie ovarienne reproductive.

**Objectif :** quantifier les concentrations sériques de IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$  dans des patientes infertiles avec dysfonction ovarienne et les comparer avec celles qu'on a trouvée dans des patientes ovulatoires.

**Patientes et méthodes :** on a effectué une étude clinique transversale dans des patientes infertiles avec échec ovarien prématuré, basse réserve ovarienne, anovulation chronique, et patientes ovulatoires, lesquelles ont été classées selon les critères clinico-hormonaux en vigueur. On a déterminé les concentrations sériques de IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$  au moyen de la technique ELISA. L'analyse statistique s'est effectuée utilisant ANOVA à une voie, le test de Kruskal-Wallis et l'analyse de corrélation de Pearson.

**Résultats :** on a étudié 40 patientes, dont la moyenne globale d'âge a été de 30 ans ; sans différences significatives entre les groupes. Les chiffres totaux en moyenne ont été IL-1 $\beta$  de 13.2 pg/mL ; IL-1 $\beta$  de 8.4 pg/mL et TNF- $\alpha$  de 1.5 pg/mL. On a observé des différences significatives dans les chiffres de TNF- $\alpha$  des patientes avec échec ovarien prématuré en comparaison avec celles du groupe contrôle ( $p < 0.01$ ). L'analyse de Pearson a montré des coefficients de corrélation non significatifs.

**Conclusion :** on a observé une ample marge de dispersion dans les chiffres sériques des trois cytokines étudiées. On a trouvé des concentrations significativement basses de TNF- $\alpha$  dans les patientes avec échec ovarien prématuré. Ces découvertes sont un précédent de la possible utilité de la détermination de ces modulateurs en médecine reproductive.

**Mots-clé :** infertilité, dysfonction ovarienne, IL-1 $\beta$ , IL-6 TNF- $\alpha$ .

## RESUMO

**Antecedentes:** algumas citocinas que participam na modulação do ciclo ovárico, como a IL-1 $\beta$ , IL-6 e o TNF- $\alpha$ , realizam papéis permissivos importantes durante o crescimento e desenvolvimento folicular. Então, a sua quantificação e análise entevê grande potencial diagnóstico e pronóstico na doença ovárica reprodutiva.

**Objetivo:** quantificar as concentrações séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  e pacientes inférteis com disfunção ovárica e compara-las com as descobertas nas pacientes ovulatórias.

**Pacientes e métodos:** se fez um estudo clínico transversal em pacientes inférteis com falha ovárica prematura, baixa reserva ovárica, anovulação crônica e pacientes ovulatórias, as quais classificaram-se segundo os critérios clínico-hormonais. Determinaram-se as concentrações séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  mediante a técnica de ELISA. O análise estatístico se fez utilizando ANOVA duma via, o teste de Kruskal-Wallis e o análise de correlação de Pearson.

**Resultados:** se estudaram 40 pacientes cujo promédio global de idade foi de 30 anos; sem diferenças significativas entre os grupos. As cifras totais promédio de IL-1 $\beta$  foram de 13,2 pg/mL; IL-6 de 8,4 pg/mL e TNF- $\alpha$  de 1,5 pg/mL. Observaram-se diferenças importantes nas cifras de TNF- $\alpha$  das pacientes com falha ovárica prematura em comparação com aquelas do grupo de controle ( $p < 0,01$ ). O análise de Pearson apresentou coeficientes de correlação não significativos.

**Conclusão:** se observou uma ampla margem de dispersão nas cifras séricas das três citocinas estudadas. Se encontraram concentrações significativamente baixas de TNF- $\alpha$  nas pacientes com falha ovárica prematura. Estes descobrimentos são precedentes da possível utilidade da determinação destes moduladores em medicina reprodutiva.

**Palavras chave:** infertilidade, disfunção ovárica, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ .

\* Este trabajo se realizó con el apoyo económico de la Coordinación de Investigación Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social y el financiamiento núm. 26022-M otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México, DF.

\*\* Departamento de Biología de la Reproducción y Ginecoendocrinología, Hospital de Ginecología y Obstetricia Núm. 3, Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, DF.

\*\*\* Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, Hospital de Ginecología y Obstetricia Núm. 4 Luis Castelazo Ayala, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, DF.

Correspondencia: Dr. Víctor Saúl Vital Reyes. Departamento de Biología de la Reproducción y Ginecoendocrinología, Hospital de Ginecología y Obstetricia Núm. 3, Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social. FFCC y Avenida Vallejo, México, DF. Apartado Postal C-029 C.S.P.I. "Coahuila". Coahuila 5, Col. Roma, México, DF, 06703. E-mail: vitalito23@hotmail.com  
Recibido: marzo, 2005. Aceptado: septiembre, 2005.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

El control neuroendocrino está modulado, entre otros factores, por un grupo de mediadores celulares denominados citocinas, las cuales son producidas casi por todas las células de origen mesenquimatoso. Las citocinas participan en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular, inducen la quimiotaxis celular y regulan la expresión de otras citocinas; ejercen sus funciones de manera endocrina, paracrina o autocrina.<sup>1</sup> Las citocinas desempeñan un papel relevante en la fisiología y patología humanas y su manipulación vislumbra un gran potencial terapéutico.<sup>2</sup>

La foliculogénesis está determinada por la interrelación endocrina del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, que se regula mediante la liberación sincrónica de gonadotropinas hipofisarias, decisivas en el crecimiento folicular, la ovulación y función del cuerpo

lúteo.<sup>3</sup> Sin embargo, es necesaria la participación de otros factores reguladores del crecimiento celular acoplados a la regulación neuroendocrina y que, en su conjunto, modulan el ciclo ovárico.<sup>4</sup> Algunas citocinas intraováricas se articulan a la regulación ejercida por las gonadotropinas hipofisarias, esteroides sexuales y algunos factores de crecimiento locales en el ovario. La interleucina-1 (IL-1) estimula la proliferación de las células de la granulosa, regula la promoción de receptores para LH y mejora la síntesis de  $20\alpha$ -dihidroxi-progesterona y progesterona.<sup>5</sup> La interleucina-6 (IL-6) promueve la migración y proliferación leucocitaria en el ovario.<sup>6</sup> El factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) inhibe la diferenciación de células de la granulosa inducida por FSH y atenúa la síntesis de estrógenos y progesterona mediante la inhibición enzimática de la esteroidogénesis, iniciando así la luteólisis temprana.<sup>7</sup>

Se ha propuesto que ante un desequilibrio en la neuroinmunomodulación las citocinas pudieran ser indicadores tempranos de daño local;<sup>8</sup> se han reportado alteraciones en las concentraciones de algunas citocinas séricas en enfermedades como: endometriosis, enfermedad adherencial anexial, poliquistosis ovárica y cáncer de ovario.<sup>9-12</sup>

El objetivo de este trabajo fue determinar las concentraciones séricas de algunas citocinas implicadas en el control de la función ovárica, en tres diferentes grupos de pacientes infértiles con disfunción ovárica, y contrastar los hallazgos con un grupo de mujeres ovulatorias, con el fin de conocer la participación de estos inmunomoduladores en la fisiología ovárica.

## PACIENTES Y MÉTODO

Se realizó un estudio clínico transversal en la población de pacientes atendidas en el servicio de Biología de la Reproducción del Hospital de Ginecología y Obstetricia 3 (HGO 3) del IMSS en la Ciudad de México. Se incluyeron mujeres con diagnóstico de infertilidad y que aceptaron, voluntariamente, participar a través de consentimiento informado. El protocolo lo aprobó el comité local de investigación y el subcomité de ética.

En todas las pacientes se efectuó protocolo básico de estudio de la pareja infértil, que incluyó: historia clínica, biometría hemática, química sanguínea (glucosa, urea y creatinina), grupo y RH, VDRL, examen

general de orina, citología cervical, exudado vaginal e histerosalpingografía. Como parte del estudio del factor neuroendocrino, entre los días tres a cinco del ciclo menstrual, se determinaron las concentraciones séricas basales de hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), estradiol, testosterona y prolactina (PRL), y entre los días 21 a 23, las de progesterona. En el hombre se efectuó espermatobioscopia seriada.

Se excluyeron las pacientes que hubieran ingerido antiinflamatorios antes de la toma de las muestras sanguíneas, con enfermedad infecciosa identificada con los métodos convencionales de diagnóstico, con diagnóstico de enfermedades autoinmunitarias, con endocrinopatías, con enfermedades crónico degenerativas y las mujeres con manipulación hormonal previa al estudio.

## Grupos de estudio

De acuerdo con los parámetros clínico-hormonales se formaron cuatro diferentes grupos de estudio. Salvo en las pacientes del grupo de insuficiencia ovárica prematura, en las demás se evaluó la reserva ovárica mediante la prueba dinámica con citrato de clomifeno,<sup>13</sup> que consistió en la determinación basal de las cifras séricas de FSH, la administración de 100 mg de citrato de clomifeno (del día 5 al 9 del ciclo) y una segunda determinación de FSH sérica en el día 10 del ciclo. Las pacientes con prueba de citrato de clomifeno alterada se incluyeron en el grupo de baja reserva ovárica.

Grupos de estudio:

a) Insuficiencia ovárica prematura (FOP): incluyó mujeres menores de 40 años de edad, con amenorrea secundaria y dos determinaciones basales séricas seriadas de FSH  $\geq 40$  mU/mL y estradiol sérico  $\leq 40$  pg/mL.

b) Baja reserva ovárica (BRO): incluyó mujeres menores de 40 años de edad, con ciclos menstruales espontáneos y cifras basales de FSH sérica al día 10 del ciclo  $\geq 12$  mU/mL.<sup>14</sup>

c) Anovulación crónica (AC): incluyó mujeres menores de 40 años de edad, con ciclos menstruales espontáneos y dos determinaciones séricas seriadas de FSH basal  $\leq 11$  mU/mL y progesterona sérica determinada en la fase lútea (entre los días 21 a 23 del ciclo menstrual)  $< 5$  ng/mL.

d) Pacientes control: incluyó mujeres menores de 40 años de edad, con ciclos menstruales espontáneos y dos determinaciones séricas seriadas de FSH basal  $\leq$  11 mU/mL y de progesterona sérica determinada en la fase lútea (entre los días 21 a 23 del ciclo menstrual)  $\geq$  5 ng/mL.

### Determinaciones

#### Hormonas

Las concentraciones séricas de FSH, LH, PRL, estradiol, testosterona y progesterona se determinaron por duplicado mediante quimioluminiscencia, utilizando estuches comerciales (Immulate Kit. Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). Los coeficientes de variación inter e intraensayo fueron: 7.9-7.7% para FSH; 10-6.5% para LH; 6.4-5.7% para PRL; 6.4-6.3% para estradiol; 8-7.5% para testosterona y 5.8-6.3% para progesterona, respectivamente.

#### Citocinas

Con el fin de homogeneizar la determinación sérica de las diferentes citocinas estudiadas en las pacientes infértiles con anovulación crónica, baja reserva ovárica y mujeres ovulatorias las muestras sanguíneas se tomaron en la fase folicular del ciclo menstrual y en las pacientes infértiles con insuficiencia ovárica prematura; las muestras de sangre fueron tomadas en amenorrea.

La determinación de las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  se realizó por duplicado mediante la técnica de ELISA, utilizando estuches comerciales (Cytoscreen Immunoassay Kit. BioSource International Camarillo CA). Los coeficientes de variación inter e

intraensayo fueron: 0.93-13.5% para IL-1 $\beta$ ; 1.25-12.8% para IL-6 y 2.5-13.11% para TNF- $\alpha$ , respectivamente.

### Análisis estadístico

La descripción simple de los datos se realizó mediante medidas de tendencia central y dispersión. Para el análisis inferencial se utilizó ANOVA de una vía, prueba de Kruskal-Wallis, para los datos que mostraron distribución no normal, y análisis de correlación de Pearson. El trabajo estadístico se efectuó con el programa estadístico SPSS (SPSS 11.5. Inc., Chicago, IL). Se estableció un nivel de significado de 0.05.

### RESULTADOS

Se estudiaron 40 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión; 15 de ellas pertenecieron al grupo de insuficiencia ovárica prematura, 8 al de baja reserva ovárica, 7 al de anovulación crónica y 10 al de pacientes control. La edad global de las pacientes estudiadas fue de  $30.2 \pm 3.1$  años, con rango entre 21 y 34 años. No existieron diferencias significativas al contrastar la edad entre los grupos estudiados.

En el grupo de insuficiencia ovárica prematura 87% de las pacientes refirieron haber tenido alteraciones menstruales, del tipo opsomenorrea, antes del estudio. La duración de la amenorrea al momento de iniciar el protocolo en estas pacientes tuvo un rango de 12 a 36 meses. El 89% de las pacientes con anovulación crónica refirió opsomenorrea y 30% del grupo con baja reserva ovárica manifestó la misma alteración.

En el cuadro 1 se muestran la media y dispersión de la edad, así como las concentraciones séricas de FSH,

**Cuadro 1.** Parámetros clínico-hormonales de pacientes infértiles con disfunción ovárica y del grupo control

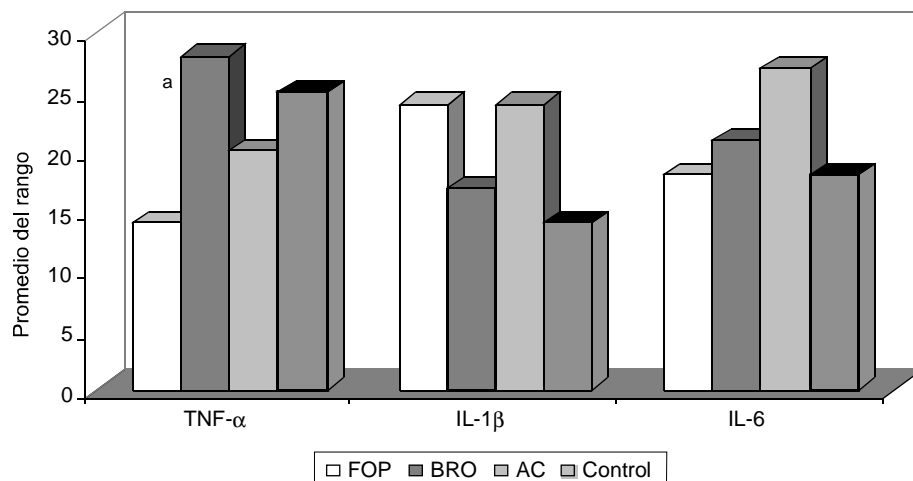
	Edad (Años)	FSH (mUI/mL)	LH (mUI/mL)	Estradiol (pg/mL)	Testosterona (ng/mL)	PRL (ng/mL)
Insuficiencia ovárica prematura (n = 15)	$30 \pm 4$	$72 \pm 27^a$	$31 \pm 13^a$	$23 \pm 8^a$	$0.7 \pm 0.2$	$9 \pm 3$
Baja reserva ovárica (n = 8)	$32 \pm 2$	$21 \pm 2$	$8 \pm 3$	$50 \pm 12$	$0.6 \pm 0.3$	$12 \pm 4$
Anovulación crónica (n = 7)	$31 \pm 2$	$4 \pm 2$	$6 \pm 3$	$91 \pm 53$	$0.5 \pm 0.2$	$17 \pm 13$
Control (n = 10)	$31 \pm 3$	$5 \pm 1$	$4 \pm 2$	$62 \pm 14$	$0.6 \pm 0.2$	$11 \pm 3$

Las cifras expresan el promedio  $\pm$  desviación estándar de cada uno de los parámetros estudiados. <sup>a</sup>El análisis estadístico efectuado mediante ANOVA reveló diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en las cifras séricas de FSH, LH y estradiol en el grupo de pacientes con insuficiencia ovárica prematura, en comparación con el control.

**Cuadro 2.** Mediana y cuartiles 25 y 75 de las concentraciones séricas de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en pacientes infértiles con disfunción ovárica y pacientes control

	<i>TNFα</i>		<i>IL-1β</i>		<i>IL-6</i>	
	pg/mL					
Insuficiencia ovárica prematura (n = 15)	0.15 <sup>a</sup>	0.13, 0.23	3.12	2.54, 4.34	0.38	0.15, 2.14
Baja reserva ovárica (n = 8)	0.31	0.18, 2.14	2.42	1.64, 3.16	0.68	0.43, 0.85
Anovulación crónica (n = 7)	0.17	0.15, 0.46	3.36	2.39, 9.50	2.39	0.20, 34.0
Pacientes control (n = 10)	0.4	0.17, 0.45	1.9	1.22, 3.54	0.38	0.16, 1.37

Las concentraciones del TNF $\alpha$  fueron significativamente menores en el grupo de mujeres con insuficiencia ovárica prematura comparadas con el grupo control utilizando la prueba de Kruskal-Wallis<sup>a</sup> ( $p < 0.05$ ).

**Figura 1.** Concentraciones séricas de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en pacientes infértiles con disfunción ovárica y grupo control. Las cifras representan el promedio del rango para cada grupo. De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis las concentraciones de TNF- $\alpha$  fueron significativamente menores en las pacientes con insuficiencia ovárica prematura que en las del grupo control <sup>a</sup>( $p = 0.01$ ).

LH, estradiol, testosterona y PRL encontradas en cada uno de los grupos estudiados. Por lo que se refiere a la caracterización clínico-hormonal, las pacientes del grupo de insuficiencia ovárica prematura manifestaron concentraciones séricas significativamente altas de FSH (rango 40.6-121 mU/mL), LH (rango 17.1-57 mU/mL) y bajas de estradiol (rango 13.2-38 pg/mL) comparadas con el grupo control ( $p < 0.01$ ). En el grupo de pacientes con baja reserva ovárica el rango de las concentraciones séricas de FSH (19-26 mU/mL) fue mayor al punto de corte establecido ( $\text{FSH} \geq 12$  mU/mL). Las cifras séricas de FSH y LH en las pacientes del grupo de anovulación crónica fluctuaron entre 1.2-7.2 mU/

mL y 0.5-8.7 mU/mL, respectivamente. El análisis inferencial efectuado para las concentraciones séricas de testosterona y PRL entre los diferentes grupos de estudio no mostró diferencias significativas.

Las concentraciones séricas expresadas en pg/mL (mediana) de las diferentes citocinas determinadas en las 40 pacientes estudiadas fueron: 2.65 (rango 0.9-410) para IL-1b; 0.48 (rango 0.06-221) para IL-6, y 0.19 (rango 0.1-49) para TNF- $\alpha$ . El análisis estadístico efectuado mediante la prueba de Kruskal-Wallis demostró concentraciones séricas significativamente bajas del TNF- $\alpha$  (mediana, 0.151 vs 0.397 pg/mL) del grupo de pacientes con insuficiencia ovárica prematura, en comparación

con el grupo control ( $p = 0.01$ ). La comparación estadística con los demás grupos de estudio no mostró diferencias significativas (cuadro 2). El promedio de los rangos de las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  para cada uno de los grupos estudiados se muestra en la figura 1.

El análisis de correlación efectuado entre las concentraciones séricas de las tres citocinas estudiadas y las cifras séricas de FSH y estradiol, controlado por grupo, reveló coeficientes de correlación débiles entre FSH/TNF- $\alpha$  (-0.17), estradiol/TNF- $\alpha$  (-0.28), FSH/IL-1 $\beta$  (-0.12), estradiol/IL-1 $\beta$  (-0.03), FSH/IL-6 (-0.14), estradiol/IL-6 (-0.04), los cuales no fueron estadísticamente significativos ( $p > 0.1$ ).

## COMENTARIO

El control de la función ovárica a lo largo de la vida reproductiva descansa en la orquestación sincronizada del eje neuroendocrino y de la interrelación con otros moduladores sistémicos y locales, entre los que resaltan ciertos factores de crecimiento y las citocinas. Con el objetivo de conocer el papel que desempeñan algunos de estos moduladores en la enfermedad ovárica reproductiva se realizó un estudio transversal en una población de pacientes infértiles en las que el factor ovárico se encontraba alterado, ya que se ha establecido que este último se encuentra alterado en alrededor del 30% de las pacientes infértiles y que la causa más común de dicha alteración está representada por la anovulación crónica.<sup>15</sup> Desde esta perspectiva y teniendo como antecedente la contribución local ovárica de algunos factores de crecimiento y de las citocinas<sup>16</sup> se decidió incluir tres grupos de pacientes con disfunción ovárica, las cuales se caracterizaron según los criterios clínico-hormonales de clasificación vigentes. Con ello se plantea la hipótesis de que como consecuencia de la insuficiencia ovárica, de la disminución de la reserva ovárica o de la disfunción ovulatoria, las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 o TNF- $\alpha$  se encontrarían alteradas al compararlas con las obtenidas en pacientes con función ovárica adecuada.

En este estudio se analizó una población de pacientes infértiles atendidas en un hospital de alta especialidad; se les seleccionó después de efectuar el protocolo de estudio básico de infertilidad y evaluar la

reserva ovárica mediante una prueba dinámica en pacientes con disfunción ovárica y mujeres ovulatorias. La edad de las pacientes incluidas es congruente con lo reportado en otros trabajos,<sup>17</sup> y la comparación intergrupar no reveló diferencias significativas. La determinación de las citocinas séricas fue estandarizada, es decir, las muestras se tomaron en condiciones basales, en la fase proliferativa temprana del ciclo menstrual, con excepción de las pacientes con falla ovárica, en las cuales se tomaron en amenorrea. De la misma manera, las determinaciones séricas se efectuaron por duplicado; se incluyó un control positivo de un paciente con septicemia y los coeficientes de variación obtenidos están dentro de los estándares permitidos para este tipo de ensayos. Las observaciones revelan gran amplitud en las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , en todos los grupos estudiados; sin embargo, hasta donde se sabe, no se han publicado los valores de normalidad de estas citocinas en sujetos sanos ni en mujeres a lo largo del ciclo menstrual. No obstante, las observaciones del estudio concuerdan con las concentraciones séricas de estas citocinas, encontradas en una cohorte de pacientes con infertilidad inexplicada y reportadas por Brannstrom y colaboradores.<sup>18</sup>

Los hallazgos de este estudio resaltan la existencia de concentraciones séricas significativamente bajas de TNF- $\alpha$  en el grupo de pacientes con insuficiencia ovárica, y en el grupo de mujeres con anovulación crónica valores elevados, aunque no significativos de IL-1 $\beta$  e IL-6. Sin embargo, en las pacientes con anovulación crónica la dispersión de las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$  e IL-6 fue muy amplia, con valores casi iguales a los de la media; esta misma observación se encontró para el TNF- $\alpha$  en las pacientes con baja reserva ovárica. Una limitación de este trabajo fue el número reducido de sujetos incluidos, ya que probablemente estas observaciones pudieran enriquecerse si se incrementara el tamaño de la muestra. Sin embargo, a pesar del reducido número de mujeres estudiadas en cada uno de los grupos incluidos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas del TNF- $\alpha$  entre las pacientes del grupo con insuficiencia ovárica prematura y el grupo control, hallazgo que sugiere que las concentraciones séricas de esta citocina pudieran estar alteradas en pacientes con insuficiencia ovárica prematura. Debe considerarse que un

tamaño de muestra reducido es una restricción, muchas veces ineludible, en los estudios clínicos donde se incluyen pruebas dinámicas o estudios invasores.

Es indiscutible el papel que desempeñan las citocinas en la fisiología reproductiva, aquí se han determinado algunas citocinas séricas implicadas en la foliculogénesis. Sin embargo, no es posible discriminar la fuente de origen de estas citocinas, ya que la contribución por elementos celulares extra-ováricos es definitiva, y más aún la regulación de la actividad de las citocinas está supeditada a la interacción con su receptor específico, por otras citocinas y por otros estimuladores exógenos de la cascada inflamatoria, ya que las citocinas han sido reconocidas como elementos fundamentales en la inmunomodulación.<sup>19</sup>

## CONCLUSIÓN

Los hallazgos de este estudio invitan a implantar diseños que analicen el papel de las citocinas en la enfermedad ovárica reproductiva, ya que la determinación sérica de estos moduladores podría ser útil como marcador temprano de daño ovárico y representar un indicador potencial para el diagnóstico y vigilancia terapéutica de algunos episodios patológicos relacionados o no con alteraciones reproductivas, como la endometriosis ovárica, el síndrome de ovarios poliquísticos, el cáncer ovárico, entre otros.

## REFERENCIAS

1. Masek K, Slansky J, Petrovicky P, Hadden JW. Neuroendocrine immune interactions in health and disease. *Int Immunopharmacol* 2003;3:1235-46.
2. Vilcek J, Feldmann M. Historical review: cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:201-9.
3. Soth SA, Yankov VI, Evans WS. Normal reproductive neuroendocrinology in the female. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1993;22:1-28.
4. Terranova PF, Rice VM. Review: cytokine involvement in ovarian processes. *Am J Reprod Immunol* 1997;37:50-63.
5. Gerard N, Caillaud M, Martoriati G, Goudet G, Lalmanach AC. The interleukin-1 system and female reproduction. *J Endocrinol* 2004;180:203-12.
6. Salmassi A, Lu S, Hedderich J, Oettinghaus, Jonat W, Mettler L. Interaction of interleukin-6 on human granulosa cell steroid secretion. *J Endocrinol* 2001;170:471-8.
7. Wang LJ, Brannstrom M, Robertson SA, Norman RJ. Tumor necrosis factor  $\alpha$  in the human ovary: presence of follicular fluids and effects on cell proliferation and prostaglandin production. *Fertil Steril* 1992;58:934-40.
8. Kennedy RL, Jones TH. Cytokines in endocrinology: their roles in health and disease. *J Endocrinol* 1991;129:167-78.
9. Carlberg M, Nejaty J, Froya B, Guan Y, et al. Elevated expression of tumour necrosis factor  $\alpha$  in cultured granulosa cells from women with endometriosis. *Hum Reprod* 2000;15:1250-5.
10. Cheong YC, Shelton JB, Laird SM, Richmond M, et al. IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$  concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions. *Hum Reprod* 2002;17:69-75.
11. Mason HD, Carr L, Leake R, Franks S. Production of transforming growth factor- $\alpha$  by normal and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2053-6.
12. Nash MA, Ferrandina G, Gordinier M, Loercher A, Freedman RS. The role of cytokines in both the normal and malignant ovary. *Endocr Relat Cancer* 1999;6:93-107.
13. Hofmann GE, Sosnowski J, Scott RT, Thie J. Efficacy of selection criteria for ovarian reserve using the clomiphene citrate challenge test in a tertiary fertility center population. *Fertil Steril* 1996;66:49-53.
14. Gulekli B, Bulbul Y, Onvural A, Yorukoglu K, Posaci C, Demir N, et al. Accuracy of ovarian reserve test. *Hum Reprod* 1999;14:2822-6.
15. Fairley-Hamilton D, Taylor A. Anovulation. *BMJ* 2003;327:546-9.
16. Machelon VE. Production of ovarian cytokines and their role in ovulation in the mammalian ovary. *Eur Cytokine Netw* 1997;8:137-43.
17. Vital Reyes VS, Cortés-Gallegos V. The critical period in natural fertility. *Ginecol Obstet Mex* 1992;60:307-10.
18. Brannstrom M, Friden BE, Jasper M, Norman RJ. Variations in peripheral blood levels of immunoreactive tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) throughout the menstrual cycle and secretion of TNF  $\alpha$  from the human corpus luteum. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;83:213-7.
19. Vilciet J. The cytokines: an overview. In: Thompson AW, Lotze MT, editors. *The cytokine handbook*. San Diego: Academic Press, 2003;pp:3-18.