



Funcionalidad y cambios endometriales asociados con la inducción de ovulación con citrato de clomifeno y FSH recombinante en mujeres con infertilidad

Francisco J. Valdez-Morales,¹ Victor Saúl Vital-Reyes,² Juan Carlos Hinojosa-Cruz,² Marco Cerbón¹

¹Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.

²Departamento de Biología de la Reproducción, Hospital de Ginecología y Obstetricia 3, Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social, México DF.

RESUMEN

En la actualidad, la infertilidad afecta a casi 20% de las parejas en edad reproductiva de todo el mundo. Aunque son diversos los factores involucrados, las disfunciones ovulatorias y particularmente la hipotálamo-hipofisaria son bastante frecuentes. El tratamiento de primera línea para estas afecciones son los inductores de ovulación, como las gonadotropinas recombinantes y el citrato de clomifeno, con los que se han conseguido altas tasas de ovulación con bajas tasas de embarazo. Por lo tanto, determinar el efecto de estos tratamientos en la morfología y las moléculas del endometrio es de suma importancia para entender la fisiología reproductiva femenina y optimizar las estrategias clínicas que permitan obtener mejores tasas de embarazo después de los tratamientos. En este artículo se detallan los estudios realizados en este campo.

Palabras clave: infertilidad, inducción de ovulación, citrato de clomifeno, hormona estimulante del folículo de origen recombinante, endometrio, alteraciones morfológicas, alteraciones moleculares.

Functionality and endometrial changes associated with induction ovulation with citrate of clomifene and recombinant FSH in infertile women

Recibido: noviembre 2013

Aceptado: enero 2014

Correspondencia

Dr. Francisco Javier Valdez Morales
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química
Edificio F, Laboratorio 206
Circuito Interior s/n, Ciudad Universitaria
04510 México DF
franciscojavier.valdez@gmail.com

ABSTRACT

It has been reported that infertility affects approximately 20% of couples in reproductive age around the world. Although many factors involved, ovulatory dysfunction and particularly the hypothalamus pituitary dysfunction are quite common. The first line treatment for these pathologies consists on the administration of inducing ovulation agents such as recombinant gonadotropins and clomiphene citrate which it was obtained high rates of ovulation but not of pregnancy. So determine the effect of these treatments on the endometrium at morphological and molecular level is very important to understand the female reproductive

Este artículo debe citarse como

Valdez-Morales FJ, Vital-Reyes S, Hinojosa-Cruz JC, Cerbón M. Funcionalidad y cambios endometriales asociados con la inducción de ovulación con citrato de clomifeno y FSH recombinante en mujeres con infertilidad. Ginecol Obstet Mex 2014;82:143-153.

physiology and optimize clinical strategies to obtain better pregnancy rates after treatments. In this paper we detailed the studies that have reported changes at the molecular and morphological level in human endometrium.

ANTECEDENTES

La infertilidad es la incapacidad de llevar un embarazo a término, que es un proceso biológicamente complejo que involucra diversos factores bioquímicos, moleculares y fisiológicos. Hoy en día es un problema frecuente porque 20% de las parejas en edad reproductiva sufre alguna afección que deriva en infertilidad. Ésta y la pérdida temprana del embrión son causadas, principalmente, por la diferenciación endometrial insuficiente o debido a una receptividad endometrial incompleta que no permitirá que se lleve a cabo la implantación.¹ Aunque los factores relacionados con la infertilidad son múltiples, para su estudio pueden agruparse en masculinos y femeninos. De los últimos, las disfunciones ovulatorias, y particularmente la disfunción hipotálamo hipofisaria, son un problema frecuente. La inducción de ovulación suele utilizarse en el tratamiento de mujeres infértiles con diagnóstico de oligo-anovulación, con la finalidad de lograr que el desarrollo folicular sea normal.² Los inductores de ovulación más utilizados en la clínica son el citrato de clomifeno, las gonadotropinas recombinantes, como FSH recombinante (FSHr) y los inhibidores de la aromatasa. Sin embargo, las tasas de embarazo obtenidas después de los tratamientos son bajas (30%), comparadas con las tasas de ovulación logradas (80%) después del tratamiento. También está reportado que existen efectos adversos de los tratamientos, como: abortos espontáneos, embarazos múltiples y un grosor endometrial re-

Key words: Infertility, ovulation inducing agents, clomiphene citrate, recombinant follicle stimulating hormone, endometrium, morphological changes, molecular changes.

ducido.³ Por tal motivo, estudiar la funcionalidad y receptividad del endometrio ha sido de gran importancia en procesos como la infertilidad y durante los tratamientos de estimulación ovárica.

Se realizó una extensa búsqueda de artículos originales y revisiones, desde los primeros trabajos publicados sobre el tema, hasta el año 2013. Se utilizó la base de datos PubMed que incluye la bibliografía indizada más importante y se usaron los términos marcados como palabras clave. En nuestro conocimiento incluimos los artículos con los hallazgos más relevantes sobre el tema.

El ciclo endometrial y el eje hipotálamo hipófisis ovario

El proceso de implantación representa un paso crítico en la función reproductiva y consiste en la conexión del blastocisto a la superficie endometrial para formar la placenta que proporcionará la interfase ideal entre el feto en crecimiento y la circulación materna. Para ello se requiere un endometrio receptivo, un embrión funcional en la etapa de blastocisto y un diálogo sincronizado entre los tejidos materno y embrionarios.⁴⁻⁶ Respecto a la preparación endometrial, enseguida se describe brevemente el ciclo que permite su desarrollo en paralelo al folicular ovárico.

La liberación de folículos maduros y la preparación del endometrio para la implantación mediante ciclos definidos de proliferación, diferenciación y eliminación de tejido uterino se



define como ciclo menstrual, que responde al ambiente endocrino predominante. Si el embarazo no se establece, la capa funcional del endometrio se elimina para regenerarse en el ciclo siguiente.⁷ Este ciclo se divide en dos, relacionados entre sí. En primer lugar, el ciclo ovárico, que consta de dos fases: la folicular, que antecede a la ovulación y posterior a esta, la fase lútea. En segundo término, el ciclo endometrial, constituido por dos fases: proliferativa que es anterior a la ovulación y posterior a ella, la fase secretora.^{8,9}

El eje fisiológico que controla el desarrollo de los folículos y del endometrio en cada ciclo involucra la participación del hipotálamo, la hipófisis y el ovario. La comunicación entre ellos se realiza mediante regulación hormonal que parte del hipotálamo mediante la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que regula su secreción y estimula a los gonadotropos localizados en la hipófisis anterior. Sus dos funciones principales: biosíntesis y liberación de gonadotropinas (FSH y LH). La GnRH se une a un receptor específico de membrana en el gonadotropo y activa a la fosfolipasa C, induciendo la fragmentación de los polifosfoinositoles y liberando inositol trifosfato (IP3) hacia el interior de la célula, con lo que se movilizan los depósitos de calcio intracelular y se liberan las gonadotropinas. Si el estímulo persiste, la liberación de un segundo depósito hormonal se mantiene gracias a la entrada de calcio extracelular a través de regulación de sus canales en la membrana plasmática. La fosfolipasa C participa en la producción de diacilglicerol (DAG) que activa a la proteína cinasa C (PKC) que regula el mecanismo primario dependiente del calcio (Figura 1).

Las gonadotropinas se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso y se acumulan en forma de gránulos en la reserva celular, de allí son enviadas a otro depósito cercano a la membrana plasmática para ser liberadas, potenciadas por GnRH mediante un proceso denominado activación.^{10,11} Los estrógenos favorecen la síntesis y la activación, pero disminuyen la sensibilidad

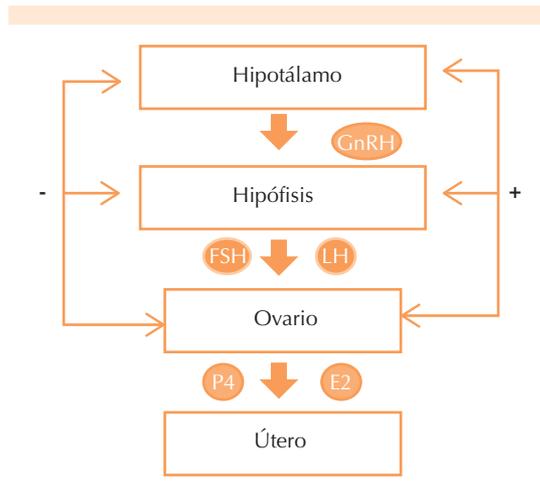


Figura 1. Estructura del eje hipotálamo hipófisis ovario. Este eje controla el crecimiento y desarrollo de los folículos en el ovario y la subsecuente secreción de hormonas esteroides que desarrollan al tejido uterino y regula negativamente la liberación de GnRH y gonadotropinas.

de la membrana a la GnRH, dificultando su liberación. Las concentraciones de estrógenos condicionan la producción de gonadotropinas porque si las concentraciones son bajas se produce mayor cantidad de FSH y en condiciones hiperestrogénicas se sintetiza principalmente LH. Otra función primordial de la GnRH es el control de la producción de cadenas alfa y beta de la LH, de la subunidad b de la FSH y su regulación postranscripcional. El ovario produce inhibina y activina que modulan de forma específica la secreción de FSH en la hipófisis. Por lo mencionado, los esteroides sexuales tienen un papel central en la comunicación del sistema hipotálamo hipofisario, lo que es decisivo para la regulación del ciclo menstrual.^{11,12}

La liberación de FSH y LH depende de la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH, que son fisiológicos entre 60 y 90 minutos. Esos pulsos tienen características diferentes durante el ciclo ovárico, son de baja amplitud y alta frecuencia durante la fase folicular, mientras que en la fase lútea son de alta amplitud y baja frecuencia. Si

la frecuencia es menor se produce anovulación y si es mayor o continua se frena la liberación de gonadotropinas.^{12,13} En el Cuadro 1 se detallan las funciones más relevantes de las gonadotropinas durante el proceso de maduración folicular.

Cuando el folículo llega a la fase de madurez, el pico preovulatorio de estradiol actúa mediante un mecanismo de retroalimentación positivo sobre la hipófisis y desencadena la liberación de LH en la mitad del ciclo (pico preovulatorio de LH).¹⁴ El pico de LH activa la señal mediada por AMPc, que suprime la división de las células de la granulosa y activa una cascada de genes relacionados con la inflamación que conducen al rompimiento de la pared del folículo por un mecanismo de proteólisis (Figura 2), la ovulación y la remodelación de la superficie ovárica con la formación de un cuerpo lúteo funcional.¹³

Inducción de ovulación

Las causas de la disfunción ovulatoria se deben a una falla en la comunicación entre el hipotálamo

y la hipófisis y una proporción importante de afecciones que derivan en infertilidad corresponde a la disfunción hipotálamo-hipofisaria. Sus características clínicas son: deficiencia en la fase lútea, amenorrea y ciclos anovulatorios.¹³ Para que la ovulación se realice se requiere la regulación endocrina y fisiológica muy fina, por lo que cualquier alteración en alguno de los niveles del eje puede conducir a la anovulación. El tratamiento primario de esta afección es la administración de compuestos inductores de ovulación para restaurar los ciclos ovulatorios; la mayor parte de las veces se logran altas tasas de ovulación, que se corroboran con las concentraciones de progesterona en el día LH +7 de la fase lútea.³

El citrato de clomifeno

La disponibilidad del citrato de clomifeno en la práctica clínica ha significado un gran avance en la endocrinología reproductiva. Este agente no esteroide, de administración oral, ha servido para tratar problemas de infertilidad por su

Cuadro 1. Funciones principales de las gonadotropinas (FSH y LH) durante el proceso de maduración folicular

FSH	LH
Formación del antro folicular e incremento de la secreción de glucosaminoglicanos al espacio extracelular.	Promueve la esteroidogénesis en las células de la teca y después del rompimiento folicular aumenta la producción de precursores estrogénicos y de progesterona en las células de la granulosa.
Estimulación de las células de la granulosa para producir estrógenos mediante la expresión del receptor de FSH.	Actúa sinérgicamente con FSH promoviendo el desarrollo del folículo y la salida del ovocito mediante un mecanismo de proteólisis.
Induce la síntesis de inhibina que actúa con los estrógenos en la retroalimentación negativa de la secreción de FSH en la adenohipófisis.	Modificaciones fisicoquímicas del ambiente intrafolicular.
En la entrada de los folículos a una fase precursora a la fase dominante y en su maduración final hasta que alcanzan 20-25 mm.	Cambios hormonales en el ambiente ovárico y desbloqueo de la meiosis en el ovocito por acción del AMP cíclico.
Promueve el aumento de receptores de LH e induce la síntesis de progesterona en las células de la granulosa y aumenta la capacidad de aromatización, transformando los precursores androgénicos en estrógenos.	

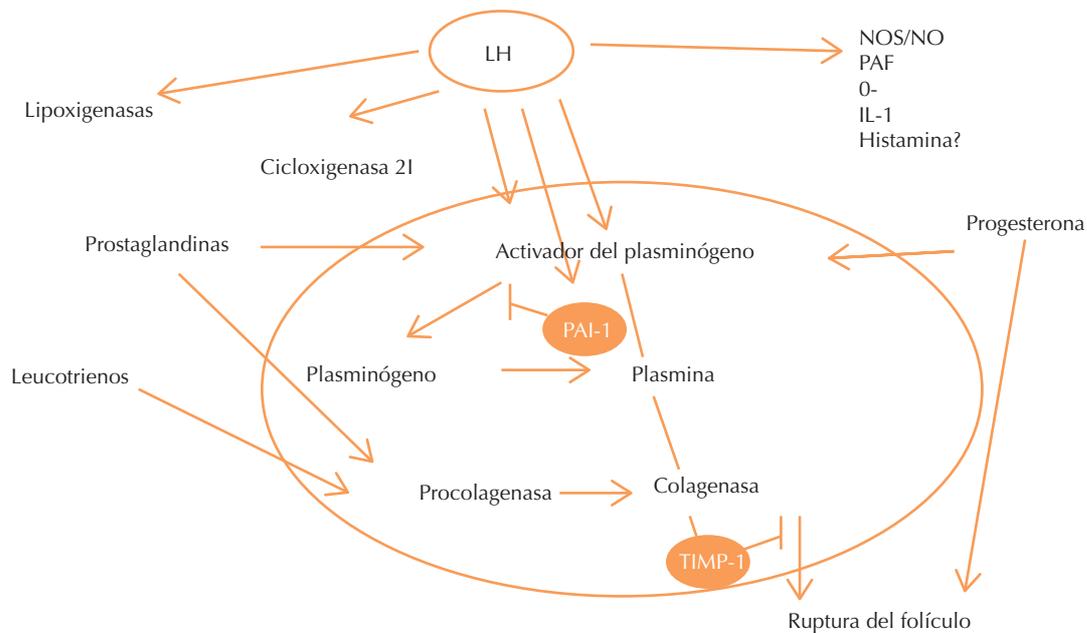


Figura 2. El estímulo del pico de LH promueve una cascada de eventos que involucran moléculas relacionadas con la inflamación y la reparación del tejido durante la ovulación. Las células de la teca expresan el receptor de LH, cuyo estímulo promueve la síntesis androgénica. La progesterona participa también en la ruptura del foliculo. Modificado de Carr y Blackwell, 1998.

efectividad en generar ovulación. Sin embargo, a casi medio siglo de su síntesis original, aún no se ha dilucidado completamente el mecanismo exacto de acción molecular. De hecho, el papel de este fármaco (que es el más prescrito en el mundo para tratar problemas de infertilidad), en el endometrio, el moco cervical, los ovarios e incluso los ovocitos aún no es completamente claro.¹⁵

El citrato de clomifeno es un miembro de la familia de los estilbenos y una mezcla racémica de citrato de enclomifeno y zuclomifeno. Éste es, por mucho, el más potente de los dos componentes con 38% del contenido total de una tableta y tiene una vida media más larga que el enclomifeno, es detectable en el plasma un mes después de su administración. La dosis más utilizada es de 50 a 250 mg por día durante 5 días, comenzando con la dosis más baja e in-

crementándose en 50 mg por día hasta que se produce un ciclo ovulatorio.³

Mecanismo de acción del citrato de clomifeno

El principal mecanismo de acción del citrato de clomifeno consiste en la unión a los receptores de estrógenos en varios sitios del sistema reproductor, incluido el hipotálamo, la hipófisis, el ovario, el endocervix y el endometrio, actúa como un agonista o antagonista de estrógenos en los tejidos sensibles a esta hormona.^{3,16} El hipotálamo y la hipófisis lo interpretan como estimulación estrogénica y disparan el mecanismo de retroalimentación positiva que resulta en la secreción de GnRH y, a su vez, esta secreción induce la descarga de FSH de la hipófisis anterior, lo que es suficiente para activar el ciclo de eventos que llevan a la ovulación.¹⁷ Hace poco se describió el mecanismo de acción del citrato

de clomifeno a nivel molecular. El reclutamiento de los coactivadores de RE es decisivo para la transcripción dependiente de RE α y, en general, para la actividad estrogénica. Se examinó la interacción entre RE α y el coactivador 1 del RE (SRC-1). Por ensayos de coimmunoprecipitación se determinó que la formación del complejo entre RE α y SRC-1 se incrementa significativamente pero se no se forma en presencia de citrato de clomifeno. Los datos indicaron que la colocalización de GFP-RE α y SRC-1 inducida por el estradiol se previene con citrato de clomifeno. La reducción de SRC-1 con un pequeño ARN de interferencia para SRC-1 resultó en la inhibición de la proliferación celular inducida por el estradiol y la activación transcripcional del gen de RE. Esto sugiere que el citrato de clomifeno puede inhibir la proliferación del epitelio endometrial inducida por el estradiol y la transactivación de RE inhibiendo el reclutamiento de SRC-1 por RE.¹⁸

Cambios morfológicos en el endometrio de mujeres tratadas con citrato de clomifeno

Diversos estudios de inducción de ovulación con citrato de clomifeno demuestran que existe una discrepancia entre las tasas de ovulación y embarazo, lo que quizá se deba al efecto antiestrogénico del citrato de clomifeno en el endometrio y el moco cervical.^{16,17} Estos estudios revelan una tasa de ovulación de 73% y una tasa de embarazo de 36% en un universo de 5,268 pacientes. De 4,054 embarazos, aproximadamente, 20% terminó en aborto espontáneo.³ Los análisis morfométricos efectuados en mujeres fértiles e infértiles con ciclos regulares en la fase secretora media sugieren que los efectos antiestrogénicos del citrato de clomifeno se observan más en las glándulas (diámetro y altura) que en el estroma.^{16,19} Está reportado que el citrato de clomifeno altera significativamente la calidad del moco cervical y la morfología endometrial de la fase secretora, a pesar de las concentraciones

fisiológicas de estradiol y progesterona.²⁰ Otro estudio demostró, mediante microscopía electrónica, que el tratamiento con citrato de clomifeno produjo cambios endometriales asociados con la fase secretora temprana, con vacuolización subnuclear y glucógeno en las células epiteliales glandulares, además de protrusiones en las células epiteliales luminales y secreción en la luz glandular.²¹ Estos cambios quizá estén asociados con la capacidad del citrato de clomifeno de producir ovulación.

En mujeres que comenzaron a tomar citrato de clomifeno los días 2 al 6 y 5 al 9 del ciclo menstrual no se demostraron diferencias en los parámetros morfológicos del endometrio. Los parámetros evaluados fueron: perfil hormonal, número de folículos dominantes, grado de vascularización folicular, grosor endometrial e índices del flujo Doppler de las arterias uterinas-subendometriales en mujeres que comienzan el tratamiento con citrato de clomifeno en el día 2 o en el día 5 del ciclo.²²

En un estudio realizado en ratas se evaluó el efecto del citrato de clomifeno en la histología del ovario, endometrio y cuello uterino y se encontró que el tratamiento a dosis altas de 100 y 200 mg incrementa el número de células de granulosa, teca y lúteas en el ovario que se corroboran con las mitosis atípicas en estos tipos celulares, lo que podría ser un factor de riesgo de tumores. En contraste, en el endometrio y cuello uterino no se observaron diferencias notables.²³

Cambios moleculares del endometrio en mujeres tratadas con citrato de clomifeno

Una de las propiedades del endometrio humano es su capacidad de crecimiento y recambio cíclico dependiente del ambiente hormonal, por lo que el estudio de los procesos de proliferación y muerte ha sido de gran importancia porque se encuentran altamente regulados. Se ha caracte-



rizado la expresión endometrial de Ki67 como marcador de proliferación celular. La inmunoreactividad para Ki-67 se observa en células en división, se reporta que Ki-67 se encuentra en las glándulas y estroma endometriales durante la fase proliferativa y también durante la primera mitad de la fase secretora pero disminuye durante la segunda mitad de esta fase.²⁴ Otros autores²⁵⁻²⁸ demostraron que Ki67 se expresa en la fase proliferativa y disminuye marcadamente en la fase secretora, principalmente en las glándulas. En pacientes infértiles con alteraciones del eje hipotálamo hipofisario se observa disminución en la expresión de Ki67 cuando son tratadas con citrato de clomifeno y rFSH en comparación con las que ovulan normalmente.²⁹

En relación con otras proteínas que participan en la proliferación y muerte celular, como: Bcl-2, que tiene actividad antiapoptótica y Bax, proapoptótica, se reconoce como la más importante a Bcl-2 porque regula la supervivencia de células sanas y patológicas al bloquear la vía de muerte celular regulada por Bax. Esta proteína tiene la capacidad de interacción proteína-proteína y de formar heterodímeros que favorecen la creación de un canal transmembranal mitocondrial que permite la salida del citocromo C, que activa la vía de las caspasas. Cuando Bcl-2 está anclada a la membrana mitocondrial mantiene su homeostasis evitando la salida de citocromo C y, por consiguiente, la muerte celular por la vía descrita. También se ha demostrado que Bcl-2 se expresa en el endometrio durante la fase proliferativa y su regulación es por control hormonal. Se ha reportado que Bcl-2 incrementa su expresión en la etapa proliferativa y disminuye en la fase secretora, sobre todo en las glándulas y desaparece en la fase secretora tardía. La expresión de Bax aumenta en las últimas etapas de la fase secretora, principalmente en las glándulas.^{26,30,31}

Hace poco se observó que en pacientes infértiles con alteración en el eje hipotálamo hipofisario

hay disminución en la expresión de Bcl-2 cuando se tratan con citrato de clomifeno y FSHr en comparación con las infértiles no tratadas y las que ovulan normalmente. Y no se observaron cambios en la expresión de Bax, lo que sugiere que hay cambios en la regulación de la muerte celular programada en este tejido.²⁹

Los receptores de estrógenos y progesterona juegan un papel mayor en la funcionalidad del endometrio durante el ciclo reproductivo. Son factores de transcripción que en las células blanco, en general, son activados por su ligando, y así como regulan la expresión de genes específicos. Existen dos isoformas descritas de los receptores de estrógenos, el RE α y RE β , que son codificados por genes diferentes y el receptor de progesterona (RP) con dos isoformas principales, RP-A y RP-B, codificadas por un mismo gen.³² La administración de citrato de clomifeno no produce cambios en la expresión del RP, mediado por el RE, en mujeres ovulatorias, lo que sugiere que no induce deficiencia en la fase lútea endometrial.¹⁵

El citrato de clomifeno inhibe el reclutamiento de SRC-1, que es un coactivador de RE α , porque la formación de este complejo es decisiva para la transcripción dependiente de RE.¹⁸ Se ha observado una disminución significativa en la proliferación celular en pacientes tratadas con citrato de clomifeno, que se sugiere se debe a que no se forma el complejo activador de la transcripción y no al contenido total del receptor en el endometrio. Esto es de suma importancia porque se había sugerido que el efecto del citrato de clomifeno era antiestrogénico, porque se desconocían los mecanismos de acción.

En otro estudio se demostró que el citrato de clomifeno disminuye la expresión del receptor de oxitocina, localizado principalmente en las células epiteliales de las glándulas en el endometrio en fase secretora media, aunque este gen también se expresó en el grupo de mujeres sin

tratamiento, hubo menor expresión en el mRNA y en la proteína cuando se administra citrato de clomifeno.³³ En el Cuadro 2 se presentan los hallazgos más relevantes respecto a las alteraciones observadas en el endometrio después del tratamiento con citrato de clomifeno.

Las gonadotropinas recombinantes: FSHr

La FSH pertenece a una familia de glucoproteínas estructuralmente relacionadas, entre ellas la LH, la gonadotropina coriónica humana (hCG) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH). La FSHr se produce por procesos moleculares que implican su clonación, sobreexpresión y purificación *in vitro*.³⁴

En pacientes infértiles con disfunción hipotálamo-hipofisaria el tratamiento con FSHr suele iniciarse cuando han fallado otros tratamientos para la inducción de ovulación, pues el inicial en la mayoría de los casos sigue siendo el citrato de clomifeno por su bajo costo y eficacia. La FSHr carece de actividad intrínseca de LH porque se ha demostrado que las concentraciones séricas elevadas de LH se relacionan con la infertilidad persistente, por lo tanto su administración puede ser adecuada para estas pacientes.³⁵

Mecanismo de acción de la FSHr

El mecanismo de acción de la FSHr es a través de su propio receptor que es expresado, principalmente, en la membrana externa de las células de la granulosa ovárica. Está acoplado al adenilato ciclasa y así estimula la división celular y la formación de líquido en el antro folicular. Incrementa la síntesis del citocromo P450 aromatasas, con lo que se efectúa la conversión de andrógenos a estrógenos. Esta hormona también controla eventos morfológicos y celulares, como la aparición de receptores de LH en las células de la granulosa y la activación de las enzimas involucradas en la biosíntesis de progesterona.³⁵ La FSH suministrada al comienzo del ciclo, en la fase folicular temprana, actúa en el grupo de folículos reclutados en los últimos días de la fase lútea del ciclo anterior, lo que permite la selección de más folículos que puedan evolucionar como dominantes. La respuesta del ovario dependerá de cada paciente en particular, pero ante el desarrollo de varios folículos y mayor producción de estradiol (150-200 pg/mL) por más de 36 horas puede producirse un pico endógeno de LH, que modificará las condiciones del ovocito para ser fertilizado.^{35,36}

Cuadro 2. Alteraciones morfológicas y moleculares en el endometrio durante el tratamiento de inducción de ovulación con citrato de clomifeno

Alteraciones morfológicas	Alteraciones moleculares	Referencias
En el diámetro y altura de las glándulas pero no en el estroma.	Expresión significativamente menor de Ki67 en el epitelio glandular.	16,19, 29
Calidad del moco cervical y cambio en la morfología endometrial durante la fase secretora.	Disminución de Bcl-2	20, 29
Vacuolación subnuclear y presencia de glucógeno en el epitelio glandular, secreción glandular y protrusiones luminales características de ovulación	Sin cambios en la expresión de los RE α y RP	21, 29
Sin cambios morfológicos relacionados con el día de inicio del tratamiento.	Inhibición del reclutamiento de SRC-1y disminución de la transcripción dependiente del RE α .	18, 22
Grosor endometrial reducido.	Menor proliferación celular.	18, 23,29
	Disminución de la expresión del receptor de oxitocina en las células del epitelio glandular.	3, 33



Cambios morfológicos y moleculares en el endometrio después de la inducción de ovulación con FSHr

El tratamiento clínico con FSHr, al igual que el citrato de clomifeno, ha producido bajas tasas de embarazo. Los efectos del tratamiento con gonadotropina recombinante se han descrito a nivel morfológico y molecular. Sin embargo, hasta hoy son pocos los estudios que han abordado este fenómeno y, en algunos casos, con resultados contradictorios.

En un estudio realizado en ratas se evaluó el efecto de FSHr en el desarrollo folicular, concentraciones séricas hormonales y en el endometrio en el periodo preimplantación. Se observó que el epitelio superficial era columnar e irregular en el grupo con tratamiento, mientras que el epitelio glandular demostró un aspecto cuboidal en todos los grupos. Los índices de mitosis en los epitelios superficial, glandular y en el estroma fueron significativamente menores en el grupo con tratamiento, mientras que los folículos primarios y las concentraciones de progesterona no demostraron cambios.³⁷ Sin embargo, en un estudio realizado en humanos, donde se utilizó un protocolo de estimulación ovárica con FSHr y antagonista de GnRH, no se encontraron diferencias en el grosor endometrial y el patrón ecográfico en las fases proliferativa y secretora. El análisis demostró que el grosor endometrial no es un elemento predictivo en el éxito de un embarazo.³⁸

Hace poco, los protocolos de estimulación ovárica implementaron el uso de antagonistas de GnRH con la finalidad de reducir la incidencia de complicaciones: formación de quistes o el síndrome de hiperestimulación ovárica. El tratamiento con gonadotropinas recombinantes es ampliamente utilizado en técnicas de alta complejidad de reproducción asistida, como FIV o ICSI, asociado con un antagonista de GnRH. Se ha reportado que la aplicación de cetrorelix/

gonal-FSHr a mujeres en ciclos de estimulación ovárica aumenta en forma significativa la expresión del RP en células perivasculares.

Las concentraciones de los mensajeros del receptor de andrógenos, $RE\alpha$, 3 β HSD1 y 17 β HSD2 fueron significativamente reducidas en el grupo con tratamiento.³⁹

En un protocolo con antagonista de GnRH se demostró que puede indicarse una dosis baja de hCG para sustituir la FSHr durante la fase folicular tardía, lo que reduce significativamente el consumo de FSHr, mientras que la tasa de éxito en ICSI permanece comparable con el régimen de FSHr y antagonista de GnRH. Se compararon los dos protocolos, FSHr con GnRH denominado protocolo clásico y el de dosis baja de hCG. No se observaron diferencias morfológicas entre tratamientos, lo que demostró que su efecto es similar.⁴⁰

En nuestro estudio observamos que en mujeres infértiles tratadas con FSHr disminuyó significativamente la expresión de Ki 67 en comparación con las mujeres que sí ovulan. Bcl-2 también se expresó significativamente menos; sin embargo, la expresión de Bax fue similar en todos los grupos. También se evaluó la expresión de los $RE\alpha$ y PR y observamos que la expresión del $RE\alpha$ fue significativamente menor en pacientes tratadas con FSHr en comparación con las de ovulación normal. La expresión de PR fue similar en los grupos control, tratados con citrato de clomifeno, FSHr e infértiles sin tratamiento.²⁹

En otro estudio se evaluó el efecto de la estimulación ovárica con gonadotropina de menopausia humana (HMG) y FSHr en la expresión de integrinas alfa 3 y beta 1 en el endometrio humano. Se observó que las dosis altas y bajas de tratamiento disminuyen la expresión de las integrinas en la fase de implantación, lo que podría tener un efecto en la receptividad endometrial.⁴¹ El Cuadro 3 resume las alteraciones morfológicas

Cuadro 3. Alteraciones morfológicas y moleculares en el endometrio durante el tratamiento de inducción de ovulación con FSHr

Alteraciones morfológicas	Alteraciones moleculares	Referencias
Epitelio superficial columnar e irregular.	Agregar un antagonista al tratamiento aumenta la expresión del RP en células perivasculares.	37, 39 29, 37, 39
Menor número de mitosis celulares en el epitelio glandular, luminal y estroma.	Disminuye las concentraciones de mensajeros del receptor de andrógenos, RE α , 3 β HSD1 y 17 β HSD2.	29, 38
Sin diferencias en el patrón ecográfico y grosor endometrial entre la fase proliferativa y secretora.	Disminuye la proliferación celular (Ki67) en el epitelio glandular.	29
	Disminuye la expresión de Bcl-2 en el epitelio glandular.	
	Menor expresión de integrinas.	41

y moleculares en el endometrio después de los tratamientos con FSHr.

CONCLUSIONES

Los tratamientos de inducción de ovulación producen alteraciones morfológicas y moleculares en el endometrio que podrían estar relacionadas con las bajas tasas de embarazo obtenidas después de los tratamientos. Por ejemplo, después de los tratamientos con citrato de clomifeno y FSHr se ha demostrado que el endometrio es más delgado y tiene una morfología irregular y asincrónica. A nivel molecular se ha reportado que los tratamientos alteran la expresión de proteínas relacionadas con la función endocrina y con la proliferación y muerte del tejido. Estos cambios contribuyen a explicar la funcionalidad y receptividad del endometrio en situaciones fisiológicas y patológicas, como la infertilidad. Por este motivo, el estudio del endometrio después de la administración de inductores de ovulación ayuda a diseñar nuevas estrategias clínicas que optimicen las tasas de embarazo.

REFERENCIAS

1. Beier HM, Beier-Hellwig K, Sterzik K. The implantation receptive luteal phase of the endometrium. On the current

status of molecular and cell biology research. *Zentralbl Gynakol* 2001;123:319-27.

2. Hughes EG. The effectiveness of ovulation induction and intrauterine insemination in the treatment of persistent infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod* 1997;12:1865-72.
3. Homburg R. Clomiphene citrate—end of an era? A mini-review. *Hum Reprod* 2005;20:2043-51.
4. Denker HW. Implantation: a cell biological paradox. *J Exp Zool* 1993;266:541-58.
5. Tabibzadeh S. Molecular control of the implantation window. *Hum Reprod Update* 1998;4:465-71.
6. Aplin JD. The cell biological basis of human implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14:757-64.
7. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2006;12:731-46.
8. Gargett CE, Chan RW, Schwab KE. Hormone and growth factor signaling in endometrial renewal: role of stem/progenitor cells. *Mol Cell Endocrinol* 2008;288:22-9.
9. Gargett CE, Healy DL. Generating receptive endometrium in Asherman's syndrome. *J Hum Reprod Sci* 2011;4:49-52.
10. Karges B, Karges W, de Roux N. Clinical and molecular genetics of the human GnRH receptor. *Hum Reprod Update* 2003;9:523-30.
11. Cheng CK, Leung PC. Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and their receptors in humans. *Endocr Rev* 2005;26:283-306.
12. Richards JS, Pangas SA. The ovary: basic biology and clinical implications. *J Clin Invest* 2010;120:963-72.
13. Matzuk MM, Lamb DJ. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat Med* 2008;14:1197-213.
14. Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: basic biology. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1135:10-8.



15. Fritz MA, Holmes RT, Keenan EJ. Effect of clomiphene citrate treatment on endometrial estrogen and progesterone receptor induction in women. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:177-85.
16. Sereepapong W, Suwajanakorn S, Triratanachat S, Sampatanukul P, Pruksananonda K, Boonkasemsanti W, et al. Effects of clomiphene citrate on the endometrium of regularly cycling women. *Fertil Steril* 2000;73:287-91.
17. Triwitayakorn A, Suwajanakorn S, Triratanachat S, Sampatanukul P, Pruksananonda K, Sereepapong W. Effects of initiation day of clomiphene citrate on the endometrium of women with regular menstrual cycles. *Fertil Steril* 2002;78:102-7.
18. Amita M, Takahashi T, Tsutsumi S, Ohta T, Takata K, Henmi N *et al.* Molecular mechanism of the inhibition of estradiol-induced endometrial epithelial cell proliferation by clomiphene citrate. *Endocrinology* 2010;151:394-405.
19. Li TC, Warren MA, Murphy C, Sargeant S, Cooke ID. A prospective, randomised, cross-over study comparing the effects of clomiphene citrate and cyclofenil on endometrial morphology in the luteal phase of normal, fertile women. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:1008-13.
20. Massai MR, Bergeron C, Martel D, de Ziegler D, Meduri G, Psychoyos A *et al.* Physiological oestradiol and progesterone replacement cycles in women with ovarian failure: a model to study endometrial maturation and sex steroid receptor regulation by exogenous hormones. *Hum Reprod* 1993;8:1828-34.
21. Birkenfeld A, Beier HM, Schenker JG. The effect of clomiphene citrate on early embryonic development, endometrium and implantation. *Hum Reprod* 1986;1:387-95.
22. Cheung W NE, Ho PC. A randomized double-blind comparison of perifollicular vascularity and endometrial receptivity in ovulatory women taking clomiphene citrate at two different times. *Hum Reprod* 2002;17:2881-4.
23. Ozdemir I, Ustundag N, Guven A, Duran B, Demirci F. Effect of clomiphene citrate on ovarian, endometrial, and cervical histologies in a rat model. *Gynecol Obstet Invest* 2005;60:181-5.
24. Dahmoun M, Boman K, Cajander S, Westin P, Backstrom T. Apoptosis, proliferation, and sex hormone receptors in superficial parts of human endometrium at the end of the secretory phase. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1737-43.
25. Shiozawa T LS, Nakayama K, Nikaido T, Fujii S. Relationship between the expression of cyclins/cyclin-dependent kinases and sex-steroid receptors/Ki67 in normal human endometrial glands and stroma during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 1996;2:745-52.
26. Vaskivuo TE, Stenback F, Karhumaa P, Risteli J, Dunkel L, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. *Mol Cell Endocrinol* 2000;165:75-83.
27. Mertens HJ, Heineman MJ, Evers JL. The expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Ki67 in endometrium of ovulatory menstrual cycles. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53:224-30.
28. Bessmertnaia VS, Samoilov MV, Serebrennikova KG, Babichenko, II. [Endometrial morphological and immunohistochemical features in females with primary and secondary infertility]. *Arkh Patol* 2008;70:31-4.
29. Valdez-Morales FJ, Gamboa-Dominguez A, Vital-Reyes VS, Hinojosa-Cruz JC, Mendoza-Rodriguez CA, Garcia-Carranza A *et al.* Differential expression of functionality markers in mid-secretory endometrium of infertile women under treatment with ovulation-inducing agents. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013.
30. Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4144-7.
31. Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod* 1998;13:3496-502.
32. Edwards DP. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone. *Annu Rev Physiol* 2005;67:335-76.
33. Dawood MY, Lau M, Khan-Dawood FS. Localization and expression of oxytocin receptor and its messenger ribonucleic acid in peri-implantation phase human endometrium during control and clomiphene-treated cycles. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:50-6.
34. Howles CM, Alam V, Tredway D, Homburg R, Warne DW. Factors related to successful ovulation induction in patients with WHO group II anovulatory infertility. *Reprod Biomed Online* 2010;20:182-90.
35. Olijve W, de Boer W, Mulders JW, van Wezenbeek PM. Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Mol Hum Reprod* 1996;2:371-82.
36. Ku SY, Choi YM, Suh CS, Kim SH, Kim JG, Moon SY *et al.* Effect of gonadotropins on human endometrial stromal cell proliferation in vitro. *Arch Gynecol Obstet* 2002;266:223-8.
37. Canda MT, Kucuk M, Bagriyanik HA, Ozyurt D, Canda T. The only effects of recombinant follicle-stimulating hormone for ovulation induction in the pre-implantation period of rats. *Arch Gynecol Obstet* 2007;275:99-105.
38. Barker MA, Boehnlein LM, Kovacs P, Lindheim SR. Follicular and luteal phase endometrial thickness and echogenic pattern and pregnancy outcome in oocyte donation cycles. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:243-9.
39. Vani S, McDonald SE, Williams AR, Mason JI, Thong KJ, Critchley HO. Mid-luteal endometrial intracrinology following controlled ovarian hyperstimulation involving use of a gonadotrophin releasing hormone antagonist. *Hum Reprod* 2007;22:2981-91.
40. Blockeel C, Baumgarten M, De Vos M, Verheyen G, Devroey P. Administration of GnRH antagonists in case of elevated progesterone at initiation of the cycle: a prospective cohort study. *Curr Pharm Biotechnol* 2011;12:423-8.
41. Sendag F, Akdogan A, Ozbilgin K, Giray G, Oztekin K. Effect of ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin and recombinant follicle stimulating hormone on the expression of integrins alpha3, beta1 in the rat endometrium during the implantation period. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;150:57-60.