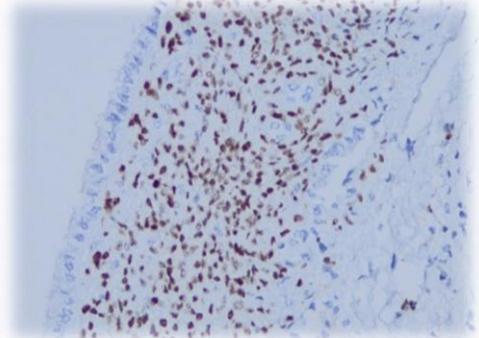
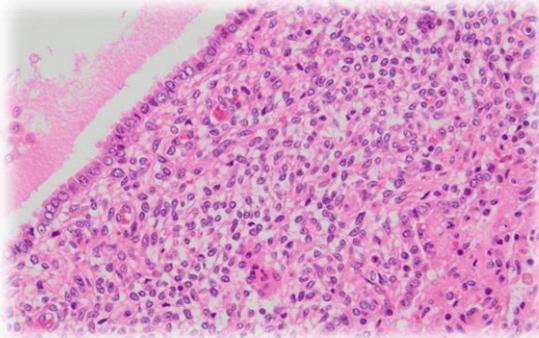


Trabajo de Fin de Grado
Facultad de Veterinaria

Endometriosis pulmonar quística en papión oliva

Pulmonary cystic endometriosis in olive baboon



Realizado por:

Silvia Ruiz Montaner

Directores: Elena Mozos Mora – Rafael Guerra Caro

Departamento de Anatomía Patológica y A. Patológica Comparadas

Córdoba, septiembre de 2019



Universidad de Córdoba



Facultad de Veterinaria

**FACULTAD DE VETERINARIA
TRABAJO DE FIN DE GRADO: DOCUMENTO 4**

INFORME DEL/LOS DIRECTOR/ES DEL TRABAJO FIN DE GRADO

D.^a Elena Mozos Mora catedrática del Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas de la UCO y **D. Rafael Guerra Caro** director de los Servicios Veterinarios del Parque Zoológico de Córdoba

DIRECTOR/ES (NOMBRE, CATEGORÍA PROFESIONAL, DEPARTAMENTO)

INFORMAN

Que el trabajo presentado por **D.^a Silvia Ruiz Montaner**

Con NIF: 49162702H, bajo el Título: **Endometriosis pulmonar quística en papión oliva (*Papio anubis*)**,

Reúne los requisitos para su lectura y defensa, estando adaptado en contenido, profundidad y duración a la asignación de créditos ECTS del Plan de Estudios del Título de Graduado/a en Veterinaria de la Universidad de Córdoba.

Córdoba, a 10 de septiembre de 2019.

Elena Mozos Mora

Rafael Guerra Caro

**Fdo. El/Los directores del Trabajo Fin de Grado
(Nombre y apellidos del/los directores)**

Agradecimientos

A mis tutores, la Dra. Elena Mozos, por su apasionante manera de enseñar y transmitir histopatología, a D. Rafael Guerra, director de los Servicios Veterinarios del Parque Zoológico Municipal de Córdoba, por brindarme la oportunidad de disfrutar de este caso clínico tan enigmático,

Al Dr. Manuel Novales, por prestarme parte de su visión en la interpretación radiográfica,

A mi familia, en especial mis padres, mi tía y abuelos, porque sin su apoyo no hubiera sido factible acceder a la Universidad, por siempre alentarme en esta carrera de fondo y poner esperanza en mí

A todos los veterinarios que en este camino me han guiado, permitiéndome ser partícipe de su trabajo diario, al que ahora debo enfrentarme por mí misma

Índice

1. Introducción	4
2. Objetivos	5
3. Desarrollo del trabajo	6
4. Material y Métodos	19
5. Resultados.	22
6. Discusión	28
7. Conclusiones	34
8. Resumen	35
9. Bibliografía	37

1. Introducción

La endometriosis (EDT) se define como una enfermedad benigna, crónica, dependiente de estrógenos caracterizada por la proliferación y crecimiento ectópico de tejido endometrial funcional. En la mujer afecta principalmente a la serosa peritoneal pélvica, ovarios y el fondo de saco de Douglas. No obstante, se ha diagnosticado en localizaciones distantes a la pelvis como la vejiga de la orina, intestino, pleuras y parénquimas pulmonar y cerebral (Von Rokitansky, 1860; Burney y Giudice, 2012; Hoffman *et al.*, 2014; Lua *et al.*, 2017).

Con una prevalencia de hasta el 15 % en las mujeres de edad reproductiva, es una de las alteraciones ginecológicas más frecuentes y, a pesar de ello, su patogenia no es del todo conocida. Al cursar con repercusiones clínicas graves como dolor pélvico severo e infertilidad, la EDT plantea un importante problema de salud pública, llegando a ser la tercera causa de hospitalizaciones ginecológicas y una de las principales de histerectomía en Estados Unidos (Velebil *et al.*, 1995; Eskenazi *et al.*, 1997; Lua *et al.*, 2017).

En Medicina Veterinaria de animales exóticos, concretamente en los primates no humanos (en adelante *NHP*, del inglés *Non-Human Primates*), se ha descrito EDT espontánea en varias especies, detalladas en la Tabla 1. A su vez, estas especies se están utilizando desde hace décadas como modelos experimentales con el fin de investigar los mecanismos etiopatogénicos de la enfermedad y para evaluar la eficacia de terapias que pudieran aplicarse en la mujer (Story y Kennedy, 2004; Grümmer, 2006).

Dentro de la clínica de pequeños animales la EDT tiene poca importancia, pues sólo se ha descrito en una ocasión en la perra (Paiva *et al.*, 2015). Existe un proceso similar denominado hiperplasia endometrial quística (en adelante HEQ) que cursa con hiperplasia e hipertrofia de células epiteliales y glándulas endometriales que algunos trabajos la describen desacertadamente como *endometriosis* (Chen *et al.*, 2001; Schlafer, 2012). En la gata no se ha descrito EDT, sí adenomiosis y HEQ con menos frecuencia (Feldman, 2000; Narbaitz *et al.*, 2015). Estas enfermedades comparten varias características con la EDT, pero no dejan de ser procesos eutópicos.

En yeguas, hay artículos que usan el término para referirse a la degeneración uterina o fibrosis glandular que afecta localmente al endometrio, relacionada principalmente con la edad y el número de partos, pero no a endometriosis *per se* (Rebordao *et al.*, 2014; Otzen *et al.*, 2016).

2. Objetivos

Los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado han sido:

- ✓ Realizar una revisión bibliográfica de la endometriosis.
- ✓ Describir las características clínicas y anatomopatológicas de un caso de endometriosis intrapulmonar quística en papión oliva (*Papio anubis*).

3. Desarrollo del trabajo

1. Revisión bibliográfica

1.1. Antecedentes históricos

Los primeros indicios de diagnóstico de EDT los hallamos en informes publicados por las autoridades hipocráticas alrededor del siglo IV a.C., cuando ya consideraban la menstruación como causante de dolor pélvico y lesiones como coágulos de sangre oscura, inflamación y úlceras en el útero (Coxe, 1846).

Durante los siglos posteriores estos hallazgos se consideraron pertenecientes al cuadro de la *histeria femenina*, enfermedad mental en aquella época. La exhaustiva investigación de Nehzat *et al.* (2011) sugiere que relacionar la enfermedad mental con el dolor pélvico crónico ejerció una tremenda influencia negativa en las actitudes sobre las mujeres con EDT, retrasando su correcto diagnóstico hasta en el siglo XX.

En la primera descripción documental, en 1690 d.C., el médico Daniel Shroen detalla la formación de úlceras en vejiga urinaria, intestino, los ligamentos de sujeción del útero, el propio útero y el cérvix de mujeres en edad reproductiva.

En 1860, Von Rokitansky identificó mediante microscopía lesiones consistentes con cúmulos de tejido endometrial difuso a los que denominó *adenomiomas*. Sin embargo, el término endometriosis no fue introducido en la terminología médica hasta 1927 por el ginecólogo John A. Sampson, el cual observó lesiones peritoneales que sangraban con la menstruación, los *endometriomas*, y postuló la primera teoría sobre su patogénesis y la más aceptada a día de hoy.

En la década de los 40, con el auge de las técnicas endoscópicas pélvicas en el diagnóstico clínico, se encontró que la serosa peritoneal era la localización más notable de EDT, con lesiones que aparecían y desaparecían en períodos de tiempo separados.

Con el trascurso de los años se han desarrollado alternativas de diagnóstico novedosas (laparoscopia en 1997) y un abanico de posibilidades terapéuticas. No obstante, se le sigue dedicando un gran esfuerzo de investigación con el fin de conocer mejor su etiopatogenia y ofrecer un tratamiento efectivo (Nehzat *et al.*, 2012; Castro, 2017).

1.2. Epidemiología

La incidencia exacta de EDT en la población es desconocida porque numerosas pacientes son asintomáticas y es complejo identificar algunas lesiones mediante diagnóstico por imagen (Hoffman *et al.*, 2014), sin embargo algunos estudios coinciden en que la

incidencia en mujeres en edad reproductiva se sitúa alrededor del 10-15% (Cramer y Missmer, 2002; Dueñas Díez, 2003).

Los estudios que estiman la prevalencia de la enfermedad la sitúan entre un 1% – 7% de la población mundial, lo que representa 1 de cada 5 mujeres en edad reproductiva (Ferrero *et al.*, 2007; Ucvet *et al.*, 2014).

De todos los casos de EDT, la extrapélvica representa el 8,9%, del que un 32.3% afecta al tracto gastrointestinal, el 5.9% al tracto urinario y el 61.8% restante se reparte entre otras localizaciones como la cavidad torácica, hígado, vesícula biliar, páncreas y cerebro. El síndrome de EDT Torácica (en adelante *TES*, del inglés *Thoracic Endometriosis Syndrome*) (Schwartz, 1938) es la presentación extrapélvica más frecuente en la mujer y puede afectar a pleura, parénquima pulmonar, bronquios y diafragma. Estudios retrospectivos de histopatología confirmaron *TES* en el 23% de mujeres premenopáusicas tratadas quirúrgicamente tras un neumotórax espontáneo (Rousset-Jablonski *et al.*, 2011; Lua *et al.*, 2017).

En Medicina Veterinaria se ha descrito EDT espontánea puntualmente en la perra (Paiva *et al.*, 2015) y varias veces en primates (Tabla 1). La mayoría han sido hallazgos de necropsia en hembras multíparas de los géneros *Papio* y *Macaca* pertenecientes a colonias cautivas, con una prevalencia del 27% en babuinos (D'Hooghe *et al.*, 1996). Recientemente se han publicado 2 casos de EDT espontánea en mandril esfinge (*Mandrillus sphinx*) y macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) (Nakamura, *et al.*, 2012; Nishimoto-Kakiuchi *et al.*, 2018).

A pesar de la extensa investigación experimental sobre la EDT en macacos Rhesus, solo se ha informado un caso de EDT intratorácica (McClure *et al.*, 1971). En la misma especie se han descrito solo dos de EDT espontánea en pleura (Assaf y Miller, 2012) e intrapulmonar (Jagirdar *et al.*, 2013).

En la revisión bibliográfica hemos hallado 19 artículos que describen EDT espontánea en 11 especies diferentes de NHP (Tabla 1). Las localizaciones más frecuentes son la serosa peritoneal adyacente al útero y la abdominal. Es muy infrecuente la descripción de casos que afecten a la vejiga urinaria y rara en pleura (Assaf y Miller, 2012) e intrapulmonar (Jagirdar *et al.*, 2013).

Especie (nombre común)	Localización del endometrio ectópico	Referencia
<i>Macaca mulatta</i> (macaco Rhesus)	Serosa peritoneal abdominal, duodeno, íleon, saco de Douglas	Fraser (1929)
<i>Papio doguera</i> (babuino de Kenia)	Serosa uterina	Merril (1968)
<i>Macaca mulatta</i> (macaco Rhesus)	Intratorácica**	McClure <i>et al.</i> (1971)
<i>Cercocebus albigena</i> (mangabey de mejillas grises)	Serosa colónica	Schmidt y Hartfiel (1978)
<i>Papio doguera</i> (babuino de Kenia)	Unión ileocecal, nódulos linfáticos mesentéricos	Folse y Stout (1978)
<i>Macaca fascicularis</i> (macaco cangrejero)	Serosa uterina, recto	Fanton y Hubbard (1983)
<i>Gorilla gorilla</i> (gorila)	Ovario, serosa peritoneal abdominal	Doré y Lagacé (1985)
<i>Ceropithecus neglectus</i> (mono de Brazza)	Serosa uterina, serosa peritoneal abdominal, vejiga urinaria	Binhazim <i>et al.</i> (1989)
<i>Papio anubis</i> (papión oliva) N=9*	Serosa uterina, saco de Douglas, ligamento ovárico	D'Hooghe <i>et al.</i> (1991)
<i>Papio cynocephalus</i> (papión amarillo) N=4*	Serosa uterina, saco de Douglas, ligamento ovárico	D'Hooghe <i>et al.</i> (1991)
<i>Papio cynocephalus</i> (papión amarillo)	Serosa peritoneal pélvica	Cornillie <i>et al.</i> (1992)
<i>Papio hamadryas</i> (papión sagrado)	Serosa peritoneal pélvica y tumor estromal	Shalev <i>et al.</i> (1992)
<i>Macaca fascicularis</i> (macaco cangrejero) N=27*	Serosa uterina	Ami <i>et al.</i> (1993)
<i>Macaca cyclopis</i> (macaco de Taiwán)	Serosa peritoneal pélvica	Chin (1994)
<i>Macaca mulatta</i> (macaco Rhesus) N=16*	Serosa uterina, saco de Douglas	Rippy <i>et al.</i> (1996)
<i>Mandrillus sphinx</i> (mandril esfinge)	Serosa peritoneal pélvica y abdominal, intestino delgado	Nakamura <i>et al.</i> (2012)
<i>Macaca mulatta</i> (macaco Rhesus)	Pleura, nódulos linfáticos traqueo-bronquiales**	Assaf y Miller (2012)
<i>Papio spp.</i> (papiones (N=10) *)	Intrapulmonar**, colon	Jagirdar <i>et al.</i> (2013)
<i>Macaca fascicularis</i> (macaco cangrejero) N=15*	Serosa uterina, saco de Douglas, ovario, trompas de Falopio, vejiga urinaria	Nishimoto-Kakiuchi <i>et al.</i> (2018)

Tabla 1. Especies de NHP en las que se ha descrito endometriosis espontánea. *Nº de animales de la especie en los que se ha descrito EDT. **casos de endometriosis pleuro/pulmonar.

1.3. Modelos animales en la investigación de la endometriosis

El seguimiento de la EDT en la especie humana es complejo y los datos son inexactos, por razones éticas en la mujer no se deben repetir procedimientos laparoscópicos o biopsias en intervalos menores a 12 meses (D'Hooghe *et al.*, 1996). Por ello los modelos animales de EDT confieren gran valor para investigar los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan la enfermedad.

Se han llevado a cabo estudios en roedores, lagomorfos (Schenken y Asch, 1980; Smith *et al.*, 2007), membrana corioalantoidea de embriones de pollo en los que se inocula tejido uterino autólogo o endometrio humano (Nap *et al.*, 2008; Peterse *et al.*, 2018). La limitación en ellos son las disimilitudes anatómicas y fisiológicas del sistema reproductor de estas especies para con la humana: son especies no menstruales y por tanto no desarrollan EDT espontánea (Grümmer, 2006; Story and Kennedy, 2015).

Las hembras de NHP, sobre todo de los géneros *Macacca* y *Papio* presentan características reproductivas similares, como la duración del ciclo menstrual y la remodelación endometrial, lo que les hace poder desarrollar EDT de forma espontánea. Los cambios morfológicos del perineo durante la fase folicular propios de estos géneros ayudan en la monitorización de la fase del ciclo (Stevens, 1997; D'Hooghe y Debrock, 2002). El modelo de babuino es el más favorable pues es el que más se asemeja en tamaño y anatomía a la especie humana y hasta la fecha no se ha alertado de riesgo de extinción, son un género físicamente resistente, lo que permite realizar tomas de muestras y laparoscopias seriadas. Sus principales limitaciones son las cuestiones éticas y los costos excesivos, que limitan su uso (Grümmer, 2006; D'Hooghe *et al.*, 2009).

Entre los métodos de inducción artificial de la endometriosis en NHP destaca la inyección de fluido menstrual autólogo en lugares ectópicos mediante laparoscopia (D'Hooghe, 1997; Fazleabas *et al.*, 2002). El problema de la inducción de la enfermedad en animales sanos es que no se puede asegurar que las lesiones inducidas sean representativas de lo que sucede en la EDT espontánea de la mujer, por ello, lo ideal es investigarla en aquellos que desarrollan la enfermedad de forma espontánea (Tabla 1).

1.4. Etiopatogenia

Sin un acuerdo unánime entre autores, se han postulado al menos 10 teorías que generalmente se agrupan en las que proponen un origen en el endometrio uterino y otras que sugieren que los implantes se originan en otros tejidos (Martínez, 2013). A pesar de las discrepancias, se cree que el origen de la enfermedad está desencadenado por diversos

factores genéticos: hay estudios que vinculan algunos disruptores químicos endocrinos (EDC) con el desarrollo de EDT (Crain *et al.*, 2008); otros relacionan a los estrógenos, tanto endógenos como exógenos, con la estimulación del comienzo del proceso. Estos factores deben considerarse en el contexto de los antecedentes genéticos de la enfermedad (Burney y Giudice, 2012).

Son 5 teorías las que cuentan con más consenso (Nehzat *et al.*, 2011), por lo que nos referiremos solo a ellas en la revisión.

1. Teoría de la menstruación retrógrada

Propuesta por Sampson en 1927, se refiere al paso de tejido endometrial hacia los órganos abdominopelvianos a través de las trompas de Falopio durante la menstruación. Es la más aceptada actualmente y se basa en tres evidencias: 1) se produce menstruación retrógrada a través de las trompas de Falopio; 2) las células endometriales refluidas son viables en la cavidad peritoneal y 3) el reflujo de células endometriales se encuentra en condiciones para adherirse al peritoneo con la subsecuente invasión, implantación y proliferación (Seli *et al.*, 2003).

Se ha conseguido simular experimentalmente en modelos de NHP inoculando productos menstruales autólogos en la cavidad peritoneal de babuinos y macacos Rhesus (D'Hooghe *et al.*, 1994). En todas las mujeres con trompas de Falopio la menstruación retrógrada ocurre en el 76%–90%, a pesar de ello, no todas ellas sufren la enfermedad. De hecho, esta teoría no permite explicar la presentación de EDT en mujeres prepúberes, recién nacidos o varones (Sasson y Taylor, 2008).

2. Teoría de la metaplasia celómica

Propuesta en 1898 por Iwanoff y desarrollada por Meyer en 1903, sugiere que la EDT se origina por una metaplasia de células especializadas presentes en el revestimiento mesotelial del peritoneo y como resultado de esto, cualquier célula del mismo origen histogenético estimulada por diversos factores, probablemente hormonales o inflamatorios – como los EDCs-, podría ser transformada en célula endometrial. Esta teoría sí que permitiría explicar la EDT en vejiga urinaria, pulmón, en mujeres prepúberes o con agenesia uterina, en fetos y extraordinariamente en el varón (Fadi I y Venk, 2014; Sourial *et al.*, 2014; Rei *et al.*, 2018).

3. Teoría de la diseminación linfática y/o hematógena

Sostiene que los implantes ectópicos se desarrollan a causa de la diseminación de fragmentos o células endometriales por vía sanguínea o linfática mediante los vasos que

irrigan el útero, lo cual explicaría la observación de lesiones en zonas distantes como el colon, el apéndice vermiforme, las pleuras, etc. (Kirschner, 1998; Burney y Giudice, 2012).

Sampson demostró en 1927 la presencia de tejido endometrial en venas uterinas de mujeres con adenomiosis. Hobbs y Borthnick (1940) inyectaron tejido endometrial por vía intravenosa en conejos y demostraron el desarrollo de EDT pulmonar en el 79% de los animales (19/24). La diseminación vascular o linfática podría explicar los casos raros de EDT que han sido descritos en hueso, músculo, cerebro, tejido nervioso, parénquima pulmonar, canal vertebral y extremidades (Jubanyik y Comite, 1997).

4. Extensión directa o trasplante mecánico de células (iatrogénica)

Existen casos, aunque con una incidencia sumamente baja, de pacientes intervenidas por cesárea que han presentado posteriormente EDT en la cicatriz a consecuencia de la diseminación iatrogénica, por el cirujano, de células endometriales fuera del endometrio; al igual puede ocurrir en la cicatriz de la episiorrafia o en la vejiga urinaria (Joseph y Sahn, 1996). Merrill describió en 1968 el hallazgo de un nódulo “azulado” de 1-2 mm. de diámetro en el saco de Douglas de una hembra adulta de babuino de Kenia (*Papio doguera*) sometida previamente a cesárea. Microscópicamente en ese área se confirmó EDT y se descartó que fuera de origen espontáneo.

5. Teoría compuesta

Contempla la multifactoriedad de la histogénesis de la EDT combinando las 4 teorías anteriores. Con una visión global, grupos de investigación como el del Dr. Nehzat (2011) sostienen que estas teorías son parcialmente correctas y que existen cuatro patogénesis en juego cuando se produce la enfermedad, considerando este modelo integrado como potencial para mejoras significativas en la prevención y estrategias terapéuticas:

- 1) Endometrio menstrual retrógrado que se implanta en las superficies peritoneales y se transforma en patógeno.
- 2) Un patrón de diferenciación celómica metaplásica de células mesoteliales en tejido endometrial.
- 3) Diseminación linfática y venosa que transporta material endometriósico y lo deposita en áreas que no pueden ser explicadas por otras teorías.
- 4) Trasplante directo o iatrogénico, el cual podría explicar los implantes en cicatrices quirúrgicas.

1.5. Fisiopatología de la endometriosis

Partiendo del supuesto de la menstruación retrógrada y de la diseminación de células endometriales durante la menstruación, la progresión de la EDT se produciría en tres fases (García, 2011):

- 1) El contacto de las células endometriales con la superficie peritoneal.
- 2) La adhesión e invasión de estas células del mesotelio peritoneal.
- 3) Supervivencia y proliferación.

El tejido ectópico prolifera en respuesta a los cambios hormonales menstruales de la misma manera que el endometrio normal. Para mantener este endometrio en lugares ectópicos es preciso de un aporte suficiente de sangre en el lugar del crecimiento, como ocurre con las neoplasias o en procesos hiperplásicos de otra naturaleza. En este sentido, en ratones, babuinos y humanos se han encontrado niveles elevados de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y una proteína rica en cisteína (CYR61), ambos factores angiogénicos en los endometrios ectópicos (Fazleabas *et al.*, 2002; Absenger *et al.*, 2004; Gashaw *et al.*, 2006).

- Bases hormonales y endocrinas:

El tejido endometrial normal de humanos y babuinos está regulado por la aromatasa - enzima fundamental en el proceso de biosíntesis de estrógenos- y la expresión del receptor de estrógenos-2 e inhibida por el receptor β de progesterona (Brandenberger *et al.*, 1999; Fazleabas *et al.*, 2003; Braundmeier y Fazleabas, 2009). La prostaglandina E2 (PGE2) es el inductor más potente de la actividad de la aromatasa en las células del estroma endometrial y actúa a través del receptor de prostaglandinas EP2 (Noble, 1997; Zeitoun, 1999).

En los implantes endometriósicos existe deficiencia de deshidrogenasa de 17β -hidroxiesteroide de tipo 2, que desactiva a los estrógenos (Kitawaki, 1997; Zeitoun, 1998), lo que hace que en la enfermedad haya un estado de resistencia relativa a la progesterona (Attia, 2000).

El estradiol producido en respuesta a la mayor actividad de la aromatasa aumenta la producción de PGE2 vía ciclooxygenasa de tipo 2 (COX-2) en las células endoteliales del útero (Bulun, 2002; Gurates, 2003). De esta manera, se origina una retroalimentación positiva que acentúa los efectos estrogénicos sobre la proliferación de la EDT.

- Factores inmunológicos:

En condiciones normales, el tejido menstrual-endometrial que sale a la cavidad peritoneal por menstruación retrógrada suele ser eliminado por macrófagos y linfocitos NK (NK, del inglés *natural killer*). En pacientes afectadas por la enfermedad, la actividad

citotóxica de los linfocitos T contra el endometrio autólogo es deficiente (Gleicher, 1984) y al parecer la función alterada de los macrófagos es la que permite la proliferación del tejido endometriósico (Braun, 1994; Seli, 2003; Hoffman *et al.*, 2014).

Respecto a la inmunidad humoral, se han identificado autoanticuerpos IgG e IgA contra los tejidos endometriales y ováricos en suero y las secreciones cervicouterinas y vaginales de las mujeres con EDT (Mathur, 1982; Odukoya, 1995). Estos resultados sugieren que en la enfermedad se desarrolla una respuesta de naturaleza autoinmune.

1.6. Presentación clínica

Los síntomas clínicos tienden a ser catameniales, con un patrón de recurrencia de entre las 72 horas anteriores y, con más frecuencia, posteriores a cada menstruación. Generalmente se presentan dolor e infertilidad seguidos de hemorragias uterinas disfuncionales. El dolor puede manifestarse en forma de dismenorrea, dispareunia, dolor pélvico crónico y disquecia. Otras manifestaciones clínicas dependen de la localización del endometrio ectópico en el tejido u órgano diana (Ferrero *et al.*, 2007; Rojas-Vera y Vásquez-Tirado, 2014; Velásquez y Velásquez, 2015).

En el TES las presentaciones pleural y parenquimatosa pueden dar origen a cuatro tipos de cuadros clínicos: neumotórax, hemotórax, hemoptisis y nódulos pulmonares, con una frecuencia de 73%, 14%, 7% y 6% respectivamente (Joseph y Sahn, 1996). El neumotórax catamenial (en adelante CP, del inglés *catamenial pneumothorax*), descrito por Maurer en 1958, se considera como aquel neumotórax recurrente que aparece en las 72 horas posteriores al inicio de la menstruación, y no necesariamente ocurre con cada ciclo menstrual. La mayoría ocurren en hemitórax derecho, son leves y pueden estar ocurriendo durante años hasta que finalmente se llega al diagnóstico (Alifano *et al.*, 2006; 2010; Velásquez y Velásquez, 2015).

La EDT pleural es la más común y puede cursar con disnea, dolor torácico pleural, CP y/o hemotórax catamenial. La EDT parenquimatosa pulmonar es extraordinariamente infrecuente y usualmente provoca hemoptisis catamenial, aunque puede ser descubierta como nódulos pulmonares asintomáticos en las placas de tórax, que pueden cambiar de tamaño y número a lo largo de los años sin necesariamente producir síntomas (Ogawa *et al.*, 2005; Molinar *et al.*, 2011).

En NHP se ha descrito muerte por CP secundario a EDT quística pleural y lesiones quísticas hemorrágicas en el parénquima pulmonar (Jagirdar *et al.*, 2013) y un caso de EDT pleural en macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) con un historial de 7 embarazos y 2 mortinatos, pobre condición corporal y disnea (Assaf y Miller, 2012).

1.7. Métodos de diagnóstico

1. Diagnóstico clínico

El diagnóstico se basa en la realización de una eficiente anamnesis, exploración física y el examen vaginal, en la sospecha clínica y las pruebas de imagen. Dependiendo de la localización del tejido endometrial es necesario utilizar ecografía, radiología o técnicas de imagen avanzadas (tomografía computarizada y resonancia magnética). Siguiendo las directrices generales actualizadas para la EDT, es necesaria la toma de biopsias por laparoscopia para la confirmación histopatológica (Dunselman *et al.*, 2014).

El dolor es un criterio de valoración esencial en la investigación clínica de la EDT en humanos. Debido a que éste no se puede evaluar directamente en modelos animales, Nishimoto-Kakiuchi (2018) establecieron un modelo de parámetros que se pueden correlacionar para diagnosticar la enfermedad en NHP, considerando el aumento de niveles séricos de CA125 (marcador útil para la EDT), dolor a la palpación abdominal y anomalías fecales (diarrea, coprostasis).

Para diagnosticar EDT pulmonar es necesario realizar pruebas de imagen no invasivas como la radiografía torácica, tomografía computarizada y/o mínimamente invasivas como la videotoracoscopia (*gold standard*) o la fibrobroncoscopia (FBC), las cuales permiten tomar muestra de biopsia o lavado/cepillado broncoalveolar en el segundo caso, para confirmación histopatológica (Rojas-Vera y Vásquez-Tirado, 2014). Mediante radiología pueden detectarse lesiones nodulares generalmente únicas de 1 a 3 cm, cavidades de paredes gruesas o cambios quísticos, opacidades en vidrio esmerilado o bullas pulmonares (Travis *et al.*, 2002; Alifano *et al.*, 2006); en la práctica, es complejo distinguir entre un neumotórax espontáneo y uno catamenial. Haga *et al.* (2014) identificaron 4 factores clínicos que confieren gran valor predictivo para el diagnóstico diferencial entre neumotórax asociado al TES de otro tipo de neumotórax. Estos incluirían: neumotórax del lado derecho, historia de EDT pélvica, pacientes no fumadoras y mayores de 31 años, datos fácilmente obtenibles en la anamnesis previa a la realización de otras técnicas más invasivas.

En 8 de 32 mujeres hospitalizadas por más de 18 meses tras una intervención quirúrgica se observó CP como un hallazgo casual (Alifano *et al.*, 2003), lo que deja ver que el TES puede pasar desapercibido sin diagnosticarse durante largos períodos de tiempo (Sadikot *et al.*, 1997); este tiempo se ha estimado oscila entre 3-36 meses (Sobha y Jayashree, 2016).

2. Diagnóstico anatomopatológico

- **Macroscópico**

El endometrio ectópico puede adoptar aspectos muy variados, con lesiones que varían en apariencia según su antigüedad, estado del ciclo menstrual y la extensión de la enfermedad. En el peritoneo pélvico y los ovarios se describen lesiones en placa y/o vesiculares de color rojizo (rosado o translúcido), a blanquecino-amarillento, marrón o negro-azulado. Las primeras (lesiones en placa o vesiculares) son lesiones más activas, mientras que las segundas (blanquecinas-amarillentas y marrón o negruzcas) están inactivas. El color marrón-negruzco lo adquieren por la acumulación de pigmento de hemosiderina producido tras las hemorragias asociadas a los ciclos menstruales y por eso son conocidas vulgarmente como “quistes de chocolate” (Cornillie *et al.*, 1992; Kennedy, 2005).

En las formas más severas de EDT se producen adherencias entre las serosas afectadas, con reacción inflamatoria local; se pueden producir endometriomas – quistes ováricos cubiertos por mucosa endometrial, tejido adiposo y fibromuscular – que pueden aumentar de tamaño (>10 cm) por las hemorragias asociadas a los ciclos. En otras localizaciones también son frecuentes los nódulos de tamaño variable de color rojo-oscuro, fibrosis variable y con tendencia a la ulceración y sangrado (García, 2011).

En las escasas publicaciones de endometriosis pulmonar descrita en babuinos y macacos Rhesus se han encontrado lesiones quísticas rojizas bilaterales, de tamaño variado, localizadas en las superficies pulmonares y excepcionalmente en el parénquima pulmonar. En uno de los casos descritos, la pleura estaba marcadamente engrosada y opaca con múltiples adherencias entre las hojas parietal y visceral y el diafragma. Los lóbulos pulmonares estaban colapsados con decoloraciones multifocales de pálidas a marrón claro y la cavidad torácica contenía aproximadamente 20 ml de fluido serosanguinolento. A la vez, se hallaron lesiones del mismo aspecto de 0,5 - 4 cm de diámetro dispersas por toda la cavidad abdominal, acompañadas de numerosas adherencias entre los órganos y fluido peritoneal teñido de color rojizo (Assaf y Miller, 2002; Jagirdar *et al.*, 2013).

- **Microscópico**

La descripción de las lesiones histopatológicas en la EDT humana es limitada en parte por la dificultad de la toma de las muestras, particularmente cuando las lesiones se encuentran en órganos de difícil acceso (uréteres, intestino, vejiga urinaria, etc.). No obstante, se han establecido sistemas de gradación en función de la infiltración que el

endometrio ectópico realiza sobre los tejidos/órganos en los que prolifera (Kathy y Sharpe-Timms, 2005; Haas *et al.*, 2013).

El endometrio de una mujer sana y fértil está compuesto por un epitelio cilíndrico simple con células caliciformes secretoras de mucus y células ciliadas. Este epitelio se invagina en la lámina propia para formar glándulas tubulares estrechas recubiertas por epitelio cilíndrico simple cuyos ductos desembocan en la luz del útero. La lámina propia descansa sobre un estroma altamente celular de tejido conectivo compuesto por células fusiformes o estrelladas, fibras de colágeno y material intercelular. Durante el ciclo estral la mucosa presenta cambios hiperplásicos inducidos por los estrógenos que han sido descritos ampliamente (Martínez, 2016).

Cuando proliferan las glándulas endometriales y/o el estroma en localizaciones ectópicas, el tejido endometrial sufre cambios hiperplásicos similares bajo la influencia de las hormonas ováricas como hemorragias, signos de inflamación e incluso fibrosis. El diagnóstico histopatológico de la EDT suele ser sencillo si el endometrio ectópico presenta tanto glándulas como estroma endometrial, pero en lesiones muy antiguas, la cantidad de estroma o de glándulas puede ser escasa debido a la fibrosis y entonces es más complejo el diagnóstico. Ante la sospecha de EDT, cuando el patólogo no está seguro si el estroma es de tipo endometrial o no, el uso de técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) para detectar receptores de estrógenos y/o progesterona es muy útil para establecer un diagnóstico definitivo de EDT (Sumathi y McCluggage, 2002).

Assaf y Miller describen en 2012 el primer caso de EDT espontánea pleural en macaca Rhesus. En la superficie pleural hallaron múltiples nódulos no encapsulados, de tamaño variable, compuestos por un denso estroma celular y algunas glándulas caliciformes cuya morfología permitía relacionar su origen con la mucosa del útero. Estos nódulos contenían linfocitos dispersos, neutrófilos, hemorragias y macrófagos cargados de hemosiderina. La pleura aparecía engrosada por diversos grados de fibrosis, edema e infiltrado de histiocitos, macrófagos cargados de hemosiderina, linfocitos y neutrófilos. En los vasos linfáticos regionales se encontraron grupos de células epiteliales cilíndricas y columnares idénticas a las de las glándulas endometriales ectópicas. A diferencia de nuestro caso, en el parénquima pulmonar subpleural no se encontró evidencia de tejido endometrial. En diafragma encontraron nodulaciones similares a las descritas y el linfonodo traqueobronquial también presentaba nidos de glándulas endometriales ectópicas; así como en la cavidad abdominal, afectando la serosa uterina, la vejiga de la orina y la serosa del intestino delgado.

En el primer estudio publicado de EDT intrapulmonar en NHP (Jagirdar *et al.*, 2013), las lesiones presentaban un patrón bifásico de células estromales en forma de huso o redondeadas con un revestimiento epitelial de células columnares o cuboidales/planas,

compatible con EDT. Las lesiones de pulmón eran por una parte intersticiales (formadas por agregados nodulares de células estromales tapizadas por células epiteliales) y por otra lesiones quísticas subpleurales de tamaño variable con los mismos componentes epiteliales y estromales; con frecuencia se observaron hemorragias y macrófagos cargados de hemosiderina así como células mononucleares distribuidas de forma dispersa.

- **Inmunohistoquímica**

Las técnicas inmunohistoquímicas utilizan el principio de la reacción antígeno-anticuerpo para identificar, entre otros muchos antígenos, proteínas específicas expresadas por las células/tejidos y sirven para confirmar el origen histogenético de numerosas lesiones.

En este sentido, para comprobar histopatológicamente el desarrollo del tejido endometrial en el pulmón y su relación con el árbol bronquial se usan varios anticuerpos dirigidos frente a los receptores de estrógenos (ER), progesterona (PR) y CD10 (metaloproteasa de 90-100 kDa que se expresa en el estroma endometrial, las glándulas endometriales y el estroma pulmonar) (Molinar *et al.*, 2011). Además, el factor de transcripción tiroideo 1 (TTF-1) es una proteína de homeodominio de 38 kDa que se expresa en los neumocitos, las células de Clara, las células del epitelio ciliar respiratorio y las células basales bronquiales pero también en las células epiteliales de las lesiones endometriósicas del parénquima pulmonar y la serosa pleural (Nakamura *et al.*, 2002).

Jagirdar *et al.*, 2013, describen en su estudio que el componente epitelial de la EPP de babuino era negativo para ER / PR y parece derivarse localmente de células madre "stem-TTF-1 positivas" bajo la influencia de las células estromales endometriales que eran ER / PR positivas.

1.3.8. Tratamiento

El tratamiento de la endometriosis depende de los síntomas específicos de cada paciente. Para aliviar el dolor se usan los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhibidores de la COX-2, y las píldoras anticonceptivas orales combinadas (COC, del inglés) a dosis bajas, las cuales actúan inhibiendo la liberación de gonadotropinas, con la consecuente reducción del flujo menstrual; las más utilizadas son las que combinan un estrógeno (ej. etinilestradiol) y un gestágeno (ej. progestina) (Tokushige, 2009). Uno de los progestágenos de reciente desarrollo es el Dienogest (DNG), una progestina oral derivada de la 19-nortestosterona, con actividad antiovulatoria y antiproliferativa sobre las células endometriales e inhibitoria sobre la secreción de citocinas. Este fármaco tiene mayor afinidad por los receptores de progesterona que la P4 natural e inhibe la angiogénesis en el

endometrio ectópico, produciendo cambios en los microvasos sanguíneos (García, 2001; Harada *et al.*; Katayama *et al.*, 2010).

Si las pacientes no responden al tratamiento inicial se usa una segunda línea de fármacos que reducen el dolor de grado moderado a intenso, alterando el ciclo menstrual para crear un estado amenorreico y en consecuencia un ambiente desfavorable para el endometrio ectópico, por ejemplo, el Danazol, esteroide sintético derivado de la 17-etiniltosterona que inhibe el aumento de gonadotropina y la síntesis de esteroides ováricos, provocando supresión de la ovulación, menstruación y atrofia del endometrio (García, 2001). También se usan los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Zito *et al.*, 2014; Parasar *et al.*, 2017).

Actualmente se estudian tratamientos basados en la manipulación hormonal, entre los que destacan los inhibidores de la aromatasa, como el letrozol y el anastrozol. Tras inducir la enfermedad en ratones, a los que previamente se les ha interrumpido la expresión de la enzima aromatasa, los resultados muestran el desarrollo de lesiones significativamente menores respecto de los animales con una expresión normal de dicha enzima (Bilotas *et al.*, 2010). El letrozol ha mostrado ser efectivo en el tratamiento de babuinos a los que previamente se había inducido EDT, consiguiéndose la desaparición de aproximadamente la mitad de las lesiones tras seis meses de tratamiento (Langoi *et al.*, 2013; Tocado *et al.*, 2013).

- Tratamiento para la endometriosis pulmonar:

Ya que los mecanismos etiopatogénicos de la EPP no se conocen con claridad, no existen pautas bien definidas para un manejo óptimo. El tratamiento médico se basa en el bloqueo hormonal convencional para evitar la proliferación de tejido endometrial, sin embargo, se observan tasas de fracaso de hasta el 50% en pacientes con neumotórax catamenial (Joseph y Sahn, 1996). Actualmente el tratamiento combinado con técnicas quirúrgicas es considerado como la mejor opción (Alifano *et al.*, 2003).

Tratamiento quirúrgico: el tratamiento quirúrgico de elección es la cirugía toracoscópica videoasistida. La eliminación del tejido ectópico endometrial es un procedimiento más agresivo, así como el cierre de defectos diafragmáticos o la pleurodesis quirúrgica, bullectomía y pleurectomía. Algunos autores sugieren realizar pleurodesis química con un agente abrasivo estéril, como povidona yodada o talco, en presencia de efusión pleural, hemotórax y neumotórax, antes de proceder a cirugías mayores (Marshall *et al.*, 2005).

Las medidas generales que hay que tomar ante un neumotórax son el reposo del paciente y la oxigenoterapia, que ayudan a acelerar la reabsorción del aire intrapleural. En todos los casos de neumotórax secundario se debe realizar un drenaje pleural urgente con

el fin de evacuar el aire de la cavidad pleural y conseguir una re-expansión duradera y estable que evite las recidivas (Vázquez y Rueda, 2010).

La tasa de recurrencia de neumotórax catamenial es mucho más alta después del tratamiento en comparación con el neumotórax primario, independientemente de la modalidad de tratamiento. La recurrencia podría deberse a restos estromales microscópicos multifocales profundos en el tejido pulmonar que son inaccesibles para los cirujanos, así como a las células TTF-1 que recubren los quistes que no responden a la manipulación hormonal (Jagirdar *et al.*, 2013).

4. Materiales y Métodos

1. Descripción de un caso de endometriosis pulmonar quística en papión oliva (*Papio anubis*) en el Parque Zoológico Municipal de Córdoba.

Antecedentes



Figura 1. Instalación de los papiones del PZMC. A la izquierda, la hembra que desarrolló la enfermedad.

Una hembra de primate no humano de la especie papión oliva (*Papio anubis*) de 16 años de edad, nulípara, que compartía instalación con un macho de la misma especie (Fig. 1), presentó un cuadro de distrés respiratorio agudo. Los días anteriores el animal no había mostrado ninguna alteración ni modificación en la ingesta.

A la inspección, el animal se encontraba adinámico y en postura ortopneica. No presentaba antecedentes clínicos significativos, salvo diarreas leves esporádicas debido a la presencia de *Trichuris spp.* en heces, de la cual había sido anteriormente tratada y no se apreciaron lesiones o heridas que pudieran justificar una agresión por parte del macho, tan frecuentes en primates.

Respecto a la historia reproductiva, no se advirtieron cópulas entre ellos y la hembra presentaba ciclos menstruales regulares (no se habían utilizado métodos contraceptivos). Destacar que al inicio de cada celo presentaba manifiesta agitación y numerosas vocalizaciones.

Exploración clínica

Dada la gravedad del cuadro de distrés respiratorio se decidió capturar al animal para su exploración, optando por una inmovilización clínica mediante teleanestesia (telinject®), utilizando para ello una combinación anestésica de ketamina a dosis de 10 mg/kg (Ketolar®) y medetomidina a dosis de 0,05mg/kg (Domtor®).

Al inicio presentó marcada hipotermia (33°), mucosas rosadas y tiempo de relleno capilar normal; a la auscultación presentaba atenuación de los sonidos cardíacos del lado izquierdo unido a silencio pulmonar en el mismo hemitórax. La frecuencia cardíaca mostró grandes oscilaciones, variando entre 34 - 150 latidos por minuto, mientras que la frecuencia respiratoria se mantenía entre 15 - 27 respiraciones por minuto, con una buena saturación porcentual de oxígeno (spO₂ 98-100%). La media de las presiones arteriales resultó ser de 110/50 (76) mmHg. La paciente se mantuvo hipotérmica durante todo el procedimiento (32,6 – 33,3 °C).

Se tomó una muestra de sangre para realizar hemograma completo, resultando todos los parámetros dentro de los valores de referencia.

Estudio radiográfico

Se realizaron proyecciones radiográficas ventrodorsal y laterolateral derecha de tórax.

Las radiografías mostraron un aumento de la radiodensidad en los lóbulos pulmonares, tomando densidad de tejido blando/grasa que se asoció con atelectasia, sobre todo en hemipulmón izquierdo. En la proyección laterolateral derecha (Fig. 2) se puede apreciar una discreta elevación de la silueta cardíaca con respecto al borde esternal, indicativo de presencia de aire dentro del espacio pleural –neumotórax– que nos explicaría el colapso pulmonar. A su vez, el pilar diafragmático izquierdo se sitúa retrasado con respecto al derecho, lo que indica mayor esfuerzo respiratorio con ese campo pulmonar. Así mismo en las dos proyecciones se advierten áreas radiolúcidas de bordes irregulares superpuestas a la silueta cardíaca (Figs. 2 y 3), consistentes con una masa o bulla. Por tanto, como diagnóstico presuntivo consideramos neumotórax y colapso pulmonar en el hemitórax izquierdo.

Manejo del neumotórax

Ante la dificultad respiratoria que presentaba la papiona, se optó por el drenaje del neumotórax de urgencia, con el objetivo de mejorar la ventilación pulmonar.

Procedimiento y material:

- Posicionar a la paciente en decúbito supino.

- Realizar tricotomía, higiene y antisepsia con povidona iodada de la piel del 5º-6º espacio intercostal en la línea axilar media.
- Colocar una llave de 3 vías con alargadera a una jeringa de 20 ml
- Incidir con el catéter entre el 5º y 6º espacio intercostal
- Extraer el aire presente en la cavidad pleural siendo cauteloso en el manejo de la llave de 3 vías al vaciar la jeringa para evitar la entrada de aire a la cavidad torácica.

Evolución

Tras la intervención, la insuficiencia respiratoria mejoró pero no pudo ser compensada clínicamente y el animal murió en un plazo de 24 horas (Fig. 4), por lo que se procedió a realizar la necropsia.

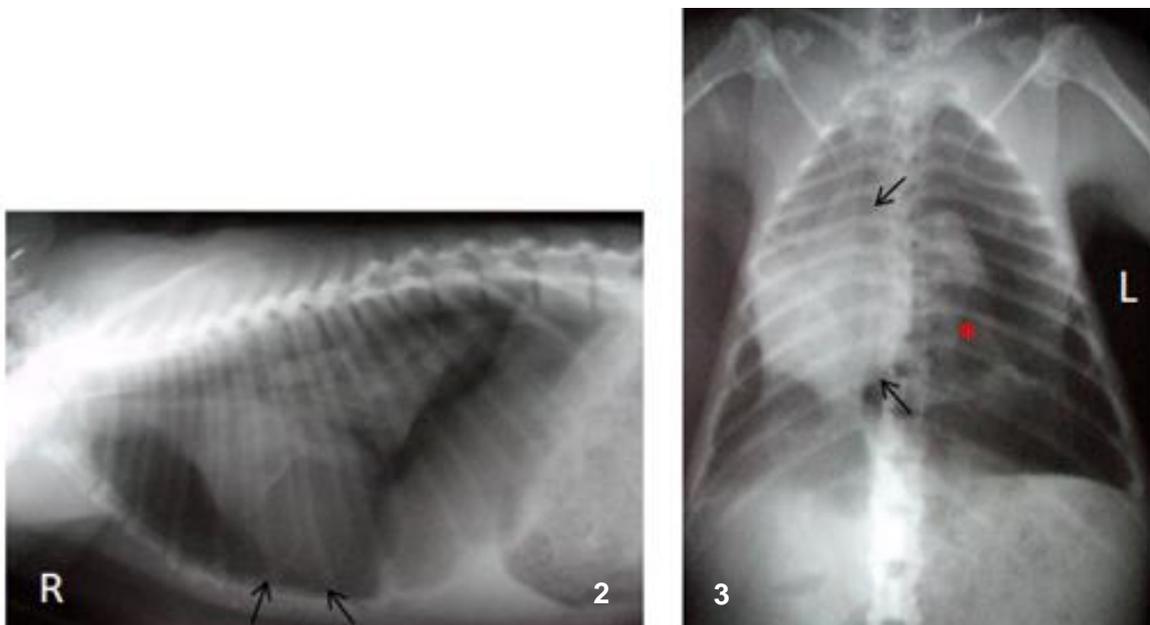


Figura 2. Papión oliva. Proyección lateral derecha de tórax. Leve elevación del borde ventral del corazón respecto al borde esternal (flechas). Los lóbulos pulmonares dorsocaudales aparecen colapsados, mostrando un claro patrón alveolar. Figura 3. Papión oliva. Proyección ventrodorsal de tórax. Aumento de radiodensidad de los lóbulos pulmonares. Una estructura central de bordes irregulares y radiopacidad heterogénea (*) desplaza la silueta cardíaca hacia el lado derecho (flechas).

5. Resultados

1.1. Hallazgos de necropsia

En la exploración externa se observó fluido sanguinolento perioral. Las areolas de ambos pezones estaban eritematosas (Fig. 6), y había marcada tumefacción en la piel de las callosidades isquiáticas (Fig. 5) que podría estar relacionado con la fase de celo. A la apertura de la cavidad torácica se observó el pulmón izquierdo completamente colapsado (consecuencia del neumotórax) mientras que el pulmón derecho había colapsado en menor grado; en ambos pulmones se observaron múltiples quistes, de tamaño variable (0,5-5 cm de diámetro), distribuidos aleatoriamente por todos los lóbulos; los de mayor tamaño eran más visibles bajo la pleura visceral de los lóbulos principales (Fig. 7 y 8). Aunque muchos eran quistes subpleurales, la mayoría se observaron intrapulmonares de menor tamaño; en cualquier caso estaban delimitados por una pared de color gris-blancuecina y grosor variable; el contenido de los quistes era casi siempre aire aunque algunos contenían pequeñas cantidades de líquido seroso (Fig.9). La superficie de las pleuras, tanto visceral como parietal, era lisa y brillante, es decir, no se apreciaron sobrecrecimientos, líquidos u otro tipo de lesiones (Figs. 8 y 9).

El parénquima pulmonar presentaba coloración rojo-parduzca difusa (congestión pasiva moderada y depósito de pigmento); la consistencia era típicamente elástica a la palpación sin evidencia de inflamación aguda o crónica (Fig. 8). El árbol traqueobronquial estaba normal y no se observó ningún material en la luz. El corazón no presentaba lesiones macroscópicas.

En la cavidad abdominal no se observaron lesiones destacables, excepto el engrosamiento leve-moderado, multifocal de la serosa de intestino grueso (Fig. 10) y del útero que aparecía con un aspecto ligeramente gelatinoso-traslúcido.

El diagnóstico macroscópico preliminar incluyó el un diagnóstico diferencial con: hiperplasia broncoalveolar quística crónica, quistes bronquiales congénitos, neoplasia primaria de pulmón o metastásica y EDT intrapulmonar quística.

Se descartó morfológicamente hidatidosis por las características de los quistes y otras patologías infecciosas subagudas o crónicas por la ausencia de otras lesiones compatibles. Se recogieron muestras representativas de todos los órganos para el estudio microscópico que se fijaron en formol al 10% tamponado.

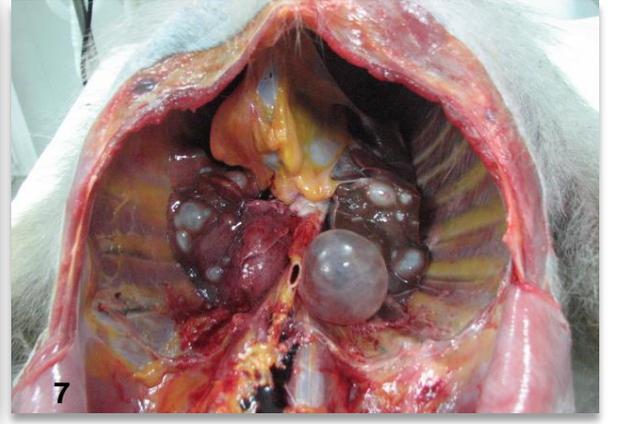


Figura 4. Papiona pocas horas después de fallecer. Figura 5. Papión oliva. Marcada tumefacción en callosidades isquiáticas. Figura 6. Papión oliva. Lesiones puntiformes, de color rojizo y lisas que rodean ambas areolas mamarias. Figura 7. Papión oliva. Necropsia. Vista caudal de la cavidad torácica una vez seccionado el diafragma. Se muestran múltiples quistes de 0,5 - 5cm de diámetro distribuidos por toda la extensión pulmonar. Figura 8. Papión oliva. Vista dorsal de los pulmones y tráquea seccionada. Numerosos quistes de 0.5-5cm de diámetro distribuidos al azar por toda la extensión pulmonar. El pulmón derecho presenta colapso con congestión marcada y moderada en el izquierdo. Figura 9. Papión oliva. Detalle. Interior de un quiste de localización subpleural con contenido aéreo y líquido seroso delimitado por una pared fina y transparente.

Numerosas muestras de los pulmones y de los principales órganos de todos los aparatos y sistemas se procesaron hasta su inclusión en parafina. De los bloques obtenidos se

hicieron cortes con un grosor de 4-5 μm y se tiñeron con técnicas rutinarias de microscopía óptica, en concreto hematoxilina-eosina (H/E) y técnicas especiales (tinción de ácido periódico de Schiff (PAS) y tricrómico de Masson. Las preparaciones histológicas se observaron y fotografiaron con un microscopio Olympus (modelo BX43 con cámara digital Olympus CX50 y programa de imagen *CellSens* como herramienta de captura de imagen). Los resultados histopatológicos indicaron un diagnóstico morfológico de endometriosis intrapulmonar.

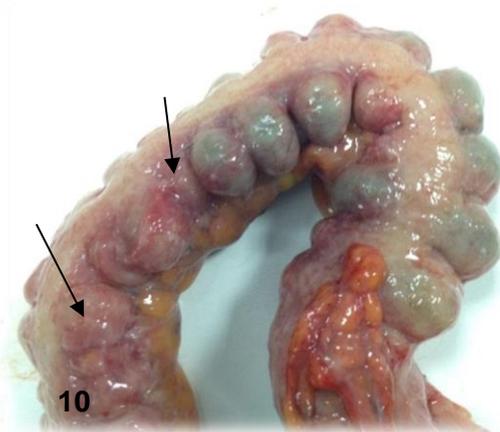


Figura 10. Papión oliva. Segmento de colon. Se observa el engrosamiento de la capa serosa debido a la presencia de múltiples lesiones milimétricas de color grisáceo.

Al confirmarse que era un caso inusual tras el diagnóstico microscópico, se contactó con patólogos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de San Pablo de Barcelona, que estudiaron las muestras y se completó con un estudio inmunohistoquímico con 3 marcadores utilizados en el estudio de la mucosa endometrial en la mujer: los anticuerpos ER (proteína equivalente a estrógenos humanos), TTF1 (factor-1 de transcripción tiroidea expresado por neumocitos y

también por el endometrio) y CD10 (metaloproteasa de 90-100 kDa que se expresa en el estroma pulmonar, endometrial y también en las glándulas endometriales). En el estudio microscópico, los patólogos coincidieron en que la estructura de la pared de todas las lesiones quísticas era característica de endometrio ectópico y por tanto el diagnóstico morfológico correspondía a endometriosis intrapulmonar. En el Departamento de Anatomía Patológica Comparada de la Universidad de Córdoba (UCO), tras el estudio histopatológico se completó el estudio inmunohistoquímico con los anticuerpos Ck7 (marcador de epitelios glandulares), NCL-MSA (marcador de fibra muscular lisa) y desmina (marcador de fibra muscular estriada) (Tabla 2). En todos los casos se utilizaron cortes histológicos seriados de pulmón y útero y el método inmunohistoquímico del complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC). Como controles positivos se utilizaron: pulmón normal, adenocarcinoma de mama y tonsila humanas.

1.2. Estudio histopatológico

Microscópicamente los quistes del parénquima pulmonar, independientemente de su tamaño y localización en el parénquima, eran idénticos y estaban formados por una pared de grosor variable, tapizada por un epitelio simple o pseudoestratificado, plano o cúbico, a veces ciliado, del que a veces se originaban pequeñas glándulas tubulares (Figs. 11 y 12); el epitelio y las glándulas descansaban sobre un estroma muy característico, densamente

celular, formado por células fusiformes (con grandes núcleos basófilos, alargados, dispuestos en paralelo y con escaso citoplasma acidófilo) (Figs. 11 y 12); su morfología se correspondía con el estroma propio de la mucosa endometrial. Dependiendo del tamaño de los quistes, el estroma era más abundante (quistes más pequeños) o más escaso (quiste de mayor tamaño, subpleurales) (Figs. 11-13) y en algunos se observó capsula fibrosa más externa. En muchos quistes de mediano tamaño se observaron imágenes del epitelio proliferando por la cara interna del estroma lo que producía una imagen de “sándwich” que parecía continuarse con el epitelio alveolar o bronquiolar (Fig. 13). En el estroma era frecuente observar pequeños vasos congestivos, microhemorragias y grupos de macrófagos cargados de pigmento pardo-amarillento (hemosiderina), así como algunos linfocitos y ocasionales neutrófilos. El parénquima del pulmón izquierdo presentaba extensas áreas de atelectasia aguda y enfisema multifocal vicariante, edema alveolar abundantes macrófagos intersticiales con hemosiderina en su interior. La pleura visceral de ambos pulmones, tanto en las zonas que recubría los quistes como en las que no, era histológicamente normal (Fig. 11) así como la tráquea y los bronquios.

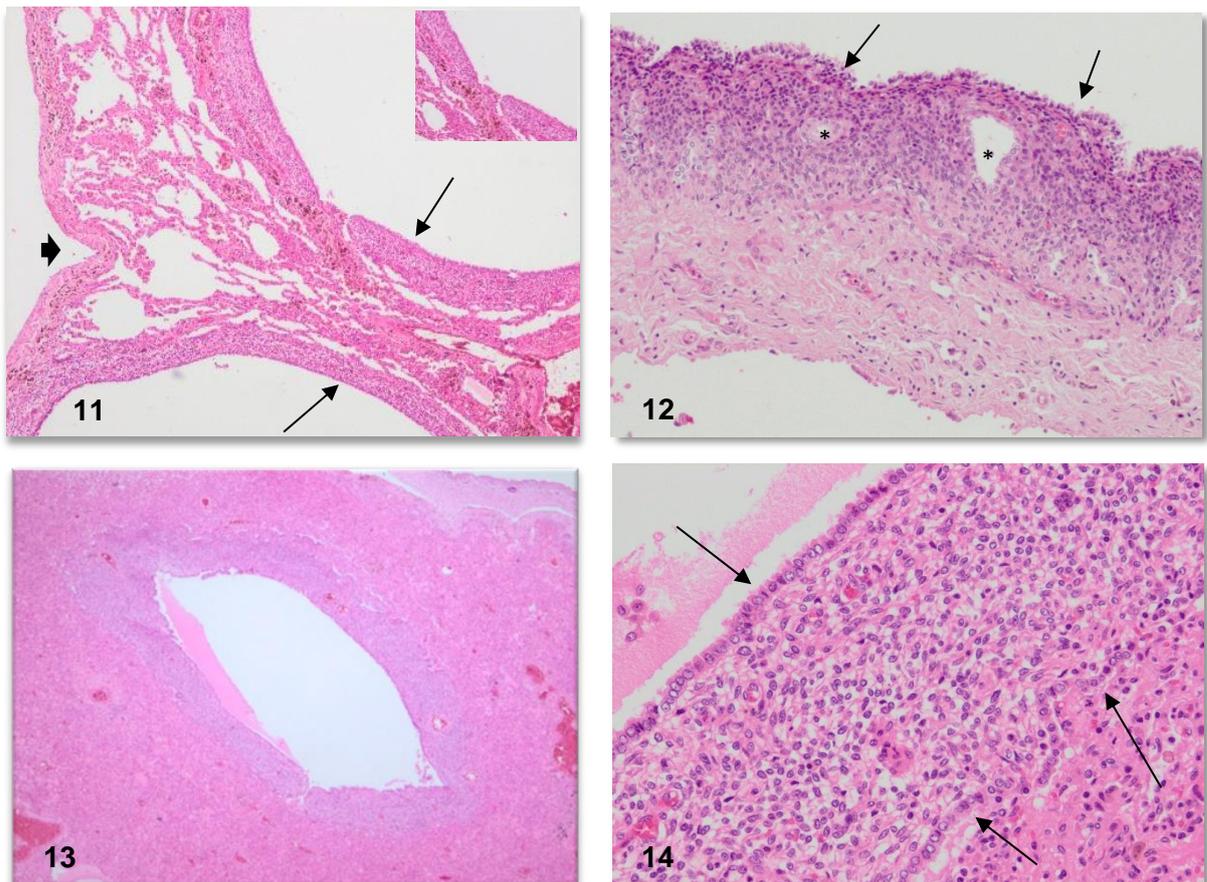


Figura 11. Papión oliva. Pulmón con dos quistes de mediano tamaño tapizados por endometrio ectópico (flechas). Entre ellos se observa pulmón colapsado. Pleura visceral (cabeza de flecha). Imagen insertada: detalle de la pared con abundantes macrófagos con hemosiderina. Figura 12. Detalle de la estructura de la pared de un quiste en la que se observan el epitelio simple que recubre la superficie (flechas) y pequeñas glándulas (asterisco) rodeadas de estroma H/E. Figura 13. Quiste intrapulmonar de pequeño tamaño demarcado por una pared gruesa formada por un epitelio simple cúbico y un estroma denso típicamente endometrial. Figura 14. Detalle del quiste anterior donde se observa el epitelio que recubre la superficie prolifera por la zona interna de la pared, abrazando el mesénquima, dando una imagen de “sándwich” (flechas).

Respecto de los órganos de la cavidad abdominal, en las serosas del intestino grueso, grasa mesentérica y retroperitoneal se observaron lesiones muy pequeñas, de crecimiento de tejido endometrial caracterizado por la proliferación de células estromales, fusiformes o redondeadas cubierto por epitelio de las mismas características de la mucosa endometrial y de los quistes intrapulmonares. El útero presenta la mucosa de morfología normal o con áreas ligeramente hiperplásicas.

El hígado presentaba congestión subaguda y degeneración grasa, leve-moderada, de patrón periportal; los riñones congestión aguda y nefritis intersticial crónica leve-moderada. La piel de la aureola presentaba hemorragia superficial aguda y el tejido mamario cambios hiperplásicos lobulillares leves.

El diagnóstico morfológico final fue EDT intrapulmonar quística, bilateral, severa y EDT en la serosa de útero e intestino grueso leve-moderada. Debido a que la EDT intrapulmonar está muy poco descrita en NHP y con el objetivo de confirmar el origen endometrial de las lesiones, se realizó un estudio inmunohistoquímico.

1.3. Resultado inmunohistoquímico

Con la Ck7 (marcador de epitelios glandulares) se observó una reacción citoplasmática intensa y difusa del epitelio glandular de los quistes y epitelios pulmonares (Fig. 18) y el estroma era negativo; el anticuerpo CD10 reaccionó intensamente en el citoplasma de las células del estroma endometrial, las glándulas endometriales de la pared de los quistes y estroma pulmonar (Figs. 15 y 16); el anticuerpo TTF1 reaccionó con las glándulas endometriales y los neumocitos (Fig. 19); el anticuerpo ER reaccionó intensamente con las células del estroma de las paredes de los quistes (Fig. 17) y del útero confirmando su naturaleza endometrial. En resumen, los resultados de la inmunotinción, esto es, la positividad del epitelio de los quistes para Ck7, CD10 y TTF1 y del estroma para CD10 y ER, detallados en la Tabla 2, era característico del tejido endometrial, tanto ortotópico como ectópico y permitió confirmar que la pared de los quistes está formada por estroma y epitelio endometrial por lo que el diagnóstico morfológico final fue de endometriosis intrapulmonar quística. Los anticuerpos frente a musculo liso y estriado no dieron reacción con los quistes.

Tabla 2. Anticuerpos usados en el estudio inmunohistoquímico.

Anticuerpo (Clon)	Especificidad	Dilución	Pre-tratamiento/Incubación	Resultados
CK 7 (OV-TL 12/30)	Epitelios glandulares	1:50	Tris/18 horas a 4°C	Reacción intensa del epitelio glandular
ER (1D5)	Proteína equivalente a estrógeno humano	Listo para utilizar		Reacción positiva en células del estroma
TTF1 (8G7G3/1)	Factor -1 de transcripción tiroidea en células normales y neoplásicas	Listo para utilizar		Reacción con los neumocitos y las glándulas endometriales
CD 10 (56C6)	Metaloproteasa de 90-100 kDa	Listo para utilizar		Reacción con el estroma endometrial y en las glándulas endometriales de los quistes y estroma pulmonar
NCL-MSA (HHF35)	Musculo liso	1:500	Pronasa/ 18 horas a 4°C	Negativo
Desmina (D33)	Células musculares lisas y estriadas	1:50	Citrato/ 18 horas a 4°C	Negativo

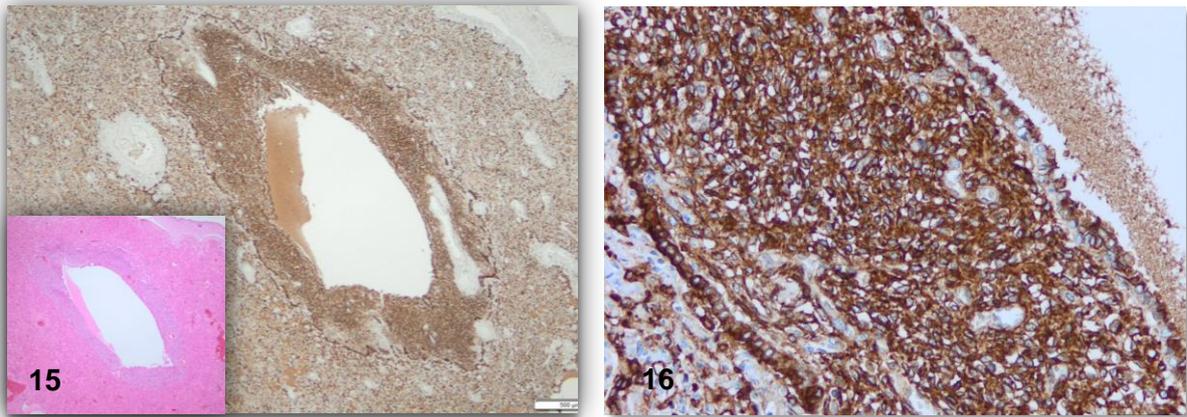


Figura 15. Papión oliva. Reacción al anticuerpo CD10 por las células del estroma endometrial y las glándulas endometriales de la pared de los quistes y estroma pulmonar. Imagen insertada: detalle de corte histológico de un quiste intrapulmonar de pequeño tamaño H/E. Figura 16. Inmunoreacción intensa frente al anticuerpo CD10 en el citoplasma de las células del estroma endometrial.

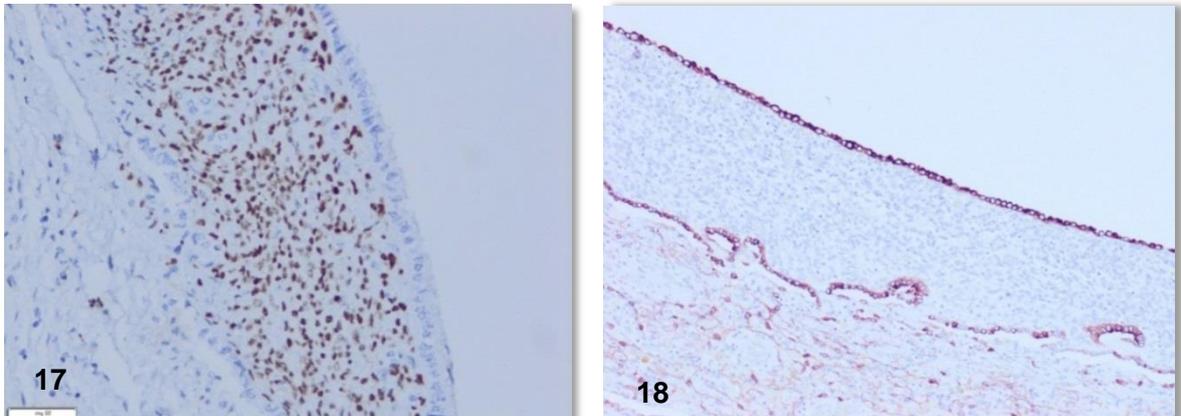


Figura 17. Papión oliva. Inmunoreacción intensa de las células del estroma en la pared de un quiste con el anticuerpo ER. El epitelio del quiste y el parénquima pulmonar son negativos para este anticuerpo. Figura 18. Papión oliva. Reacción del epitelio de un quiste con el anticuerpo Ck7. Se aprecia cómo el epitelio envuelve al estroma (negativo) dando la imagen característica de "sándwich" del endometrio ectópico.

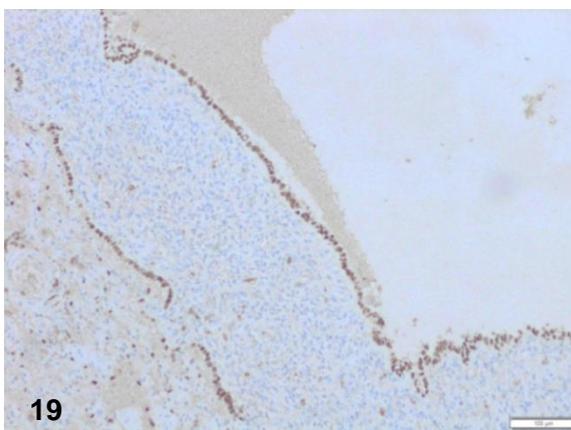


Figura 19. Papión oliva. Intensa inmunoreacción del epitelio de un quiste con el anticuerpo TTF-1, con un patrón muy similar al observado con la Ck7.

6. Discusión

1) Epidemiología y presentación clínica

La endometriosis es una enfermedad benigna, crónica, dependiente de estrógenos caracterizada por la proliferación y crecimiento ectópico de tejido endometrial funcional. Es una de las alteraciones ginecológicas más frecuentes en la mujer y, a pesar de ello, su patogenia no es del todo conocida (Assaf y Miller, 2012; Lua *et al.*, 2017).

Para el estudio de su patogenia y el ensayo de tratamientos efectivos en la mujer se han utilizado diversos modelos animales experimentales. Las más útiles son las hembras de NHP, sobre todo las de los géneros *Macacca* y *Papio* por sus características anatomofisiológicas y reproductivas semejantes a las de la especie humana (D'Hooghe, 1997; Fazleabas *et al.*, 2002). No obstante, una limitación de estos estudios es que no se asegura que las lesiones inducidas sean representativas de lo que sucede en la EDT espontánea de la mujer, por ello, lo ideal es investigarla en aquellos NHP menstruales que desarrollan la enfermedad de forma espontánea (Merrill, 1968; Folse y Stout, 1978, Assaf y Miller 2012).

La incidencia en mujeres en edad reproductiva se sitúa alrededor del 10-15% (Cramer y Missmer, 2002; Dueñas Díez, 2003). En la revisión bibliográfica hemos encontrado que la endometriosis abdominal es frecuente en primates, con una incidencia del 25% en colonias cautivas de macacos y babuinos, potenciada probablemente por la cautividad (D'Hooghe *et al.*, 1996). En animales domésticos es muy infrecuente, de hecho, hay un único caso descrito en la perra (Paiva *et al.*, 2015).

De todos los casos de EDT, el Síndrome de Endometriosis Torácica (TES), descrito por Schwartz en 1938, es la presentación extrapélvica más frecuente en la mujer, con aparición de tejido endometrial en la serosa pleural, parénquima pulmonar, bronquios y diafragma. Estudios retrospectivos de histopatología lo confirman en el 23% de mujeres tratadas quirúrgicamente tras un neumotórax espontáneo (Rousset-Jablonski *et al.*, 2011; Lua *et al.*, 2017).

En primates, la presentación torácica se ha descrito en muy pocas ocasiones, por lo que los hallazgos de este caso se pueden considerar inusuales y es de gran interés el patrón lesional del endometrio ectópico en el parénquima pulmonar. Según la bibliografía es el segundo caso descrito de endometriosis intrapulmonar espontánea en primates hasta la fecha (Jagirdar *et al.*, 2013) y el primero en la especie papión oliva. A pesar de la extensa investigación sobre la EDT en macacos Rhesus, sólo se han publicado 2 casos de endometriosis torácica en la misma, una presentación de EDT pleural espontánea (Assaf y

Miller, 2012) y otro en 1971, al que no hemos podido tener acceso en profundidad (McClure *et al.*, 1971).

El neumotórax catamenial (CP) es el signo más frecuente del TES en la mujer (Joseph y Sahn, 1996; Velásquez y Velásquez, 2015). La mayoría ocurren en pulmón derecho, son leves y pueden estar presentándose durante años, hasta que finalmente se llega al diagnóstico (Alifano *et al.*, 2006; 2010). En 8 de 32 mujeres hospitalizadas por más de 18 meses tras una intervención quirúrgica, el CP fue descubierto como un hallazgo casual (Alifano *et al.*, 2003), lo que deja ver que el TES puede pasar desapercibido sin diagnosticarse durante largos períodos de tiempo (Sadikot *et al.*, 1997). En nuestro caso la papiona sufrió un cuadro agudo de disnea con neumotórax, confirmado por el estudio radiográfico, de pulmón izquierdo (a diferencia de lo descrito habitualmente en la mujer, que suele ser derecho); de acuerdo con los estudios previos en NHP, los episodios de disnea o neumotórax que origen catamenial no se habían observado previamente en este animal, por ello fue complicado llegar al diagnóstico de EDT temprano. Los nódulos o bullas con paredes gruesas y opacidades en vidrio esmerilado que se han descrito radiológicamente en la literatura (Alifano *et al.*, 2006; Molinar *et al.*, 2011) en nuestro caso se apreciaba una estructura de radiopacidad heterogénea que al principio podía ser confundida con una masa, por estar desplazando a la silueta cardíaca, pero en la necropsia se advirtió que se trataba de bullas intrapulmonares. Fue el desarrollo de múltiples quistes relacionados con el árbol bronquial lo que determinó la instauración del neumotórax agudo, severo, que no pudo ser estabilizado clínicamente y le causó la muerte.

La EDT parenquimatosa pulmonar es extraordinariamente infrecuente y puede provocar hemoptisis catamenial en el 7% de los casos de TES asociado a hemotórax en la mujer (Joseph y Sahn, 1996). En el momento de fallecer, la papiona presentaba salida de fluido sanguinolento por la cavidad oral, pero descartamos que fuera de origen pulmonar o infraglótico pues a la apertura de la cavidad torácica y tráquea en la necropsia no se halló sangre, ni tampoco dentro de las bullas pulmonares. Por tanto, nuestras dos hipótesis son que, tras la agonía terminal se produjera rotura vascular (aunque no se advirtiera en la necropsia) o bien que el animal se mordiera inconscientemente en la agonía terminal.

2) Etiopatogenia

Se cree que el origen de la enfermedad está desencadenado por diversos factores genéticos como los disruptores químicos endocrinos (EDC) (Crain *et al.*, 2008), los estrógenos, endógenos o exógenos, con la estimulación del comienzo del proceso. Estos estímulos (inflamatorios u hormonales) podrían ser responsables de inducir células precursoras en la pleura o el peritoneo para diferenciarse en células endometriales y deben

ser considerados en el contexto de los antecedentes genéticos de la enfermedad (Burney y Giudice, 2012).

Respecto a las teorías propuestas, hay controversia entre los autores y aunque la de la menstruación retrógrada sea la más aceptada (Sampson, 1971), en este caso ésta no explicaría la EPP y nos inclinamos más por la teoría de la metaplasia celómica de Iwannof (1898).

La metaplasia celómica explicaría la aparición de la enfermedad en cualquier lugar de la cavidad abdominal y torácica. La EDT pleural podría ser el resultado de una metaplasia local del mesotelio pleural, aunque también de un posible paso de fragmentos endometriales a través del diafragma (Cassina *et al.*, 1997; García, 2011), pero en nuestro caso el diafragma estaba íntegro. El tejido ectópico prolifera en respuesta a los cambios hormonales menstruales de la misma manera que el endometrio normal. Para mantener este endometrio en lugares ectópicos es preciso de un aporte suficiente de sangre en el lugar del crecimiento, como ocurre con el cáncer por ejemplo o en procesos hiperplásicos de otra naturaleza. En este sentido, en ratones, babuinos y humanos se han encontrado niveles elevados de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de proteína rica en cisteína 61 (CYR61), ambos factores angiogénicos (Fazleabas *et al.*, 2002; Absenger *et al.*, 2004; Gashaw *et al.*, 2006) y se está investigando la relación de endometriosis con cáncer de ovario, pero aún no se ha demostrado (Valenzuela, 2007; Vargas, 2013).

Hobbs y Borthnick (1940) investigaron la teoría de la diseminación linfática inyectando tejido endometrial por vía intravenosa en conejos encontrando desarrollo de EDT pulmonar. Desde entonces, es razonable pensar que pueda ocurrir una microembolización de tejido endometrial por vía hematogena o linfática, la cual asentaría en el parénquima pulmonar. Además, el estudio de Jagirdar *et al.*, en 2013 confirmó la presencia de células estromales en ganglio linfático hiliar, lo cual apoya esta teoría, pareciendo que es solo el componente estromal lo que emboliza y esa embolización del componente estromal en el parénquima pulmonar luego induciría el componente epitelial de la población local de células madre. Los quistes se formarían a continuación, debido a la expansión del pulmón durante la inspiración. Por la presentación fundamentalmente intrapulmonar de nuestro caso nos inclinamos más por la inducción de metaplasia tisular.

Coincidimos con Nehzat *et al.*, (2011) en que todas las teorías pueden explicar parcialmente la aparición de endometrio ectópico, pero no están muy bien establecidas; de hecho la mayoría de autores coinciden en que la endometriosis es una entidad multifactorial, y consideran que un modelo integrado es más adecuado para afrontar mejoras significativas en la prevención y en las estrategias terapéuticas (Nehzat *et al.*, 2011).

3) Diagnóstico anatomopatológico

A la inspección física del cadáver algo que llamaba la atención era la tumefacción y turgencia de las callosidades isquiáticas, signo propio de los géneros *Papio* y *Macacca* que indican que se encuentra en la fase folicular y ayuda en la monitorización del ciclo (Stevens, 1997; D'Hooghe y Debrock, 2002).

Los hallazgos de la necropsias confirmaron un neumotórax agudo y severo afectando principalmente al hemipulmón izquierdo y se relacionó con los quistes subpleurales e intrapulmonares llenos de aire o con pequeñas cantidades de líquido seroso; en base a esto, el postmortem fue de un diagnóstico diferencial entre hiperplasia broncoalveolar quística crónica, quistes bronquiales congénitos, neoplasia primaria de pulmón o metastásica y EDT pulmonar quística; la escasa información sobre este tipo de lesiones pulmonares en primates indicaba que se trataba de una patología poco frecuente. En la búsqueda de referencias semejantes encontramos que Jagirdar *et al.*, en 2013 también describieron lesiones quísticas pulmonares en papionas, y una de estas hembras había muerto repentinamente, sospechándose neumotórax secundario a EDT quística pleural. La diferencia con nuestros hallazgos era la localización de las lesiones quísticas; no obstante, en su caso y en el nuestro el neumotórax ocurrió debido a la rotura de estas bullas pulmonares.

En la cavidad abdominal no se observaron importantes lesiones compatibles con EDT en las serosas, de hecho, pasaron casi desapercibidas durante la necropsia los pequeños sobrecrecimientos en las serosas de intestino grueso y de útero; nuestros resultados coincidían con Jagirdar *et al.*, 2013, que describió que la serosa uterina se encontraba también ligeramente engrosada.

Nuestros hallazgos nos enseñan que, ante cualquier signo de distrés respiratorio, hemoptisis intermitente, dolor o masa a la palpación abdominal de hembras de NHP en edades fértiles el veterinario del zoológico debe considerar la endometriosis pulmonar como diferencial para un diagnóstico y manejo precoces.

4) Diagnóstico histopatológico

La descripción histológica e inmunohistoquímica detallada de la endometriosis intratorácica es muy escasa en la literatura pese a los numerosos informes de manifestaciones similares en humanos; en NHP hemos encontrado una única publicación de endometriosis intrapulmonar con 10 casos de EPP en babuinos con un patrón inmunohistoquímico interesante y hasta el momento no reportado (Jagirdar *et al.*, 2013).

El estudio histopatológico de este caso demostró que los quistes intrapulmonares estaban formados por tejido endometrial ectópico revestido siempre de epitelio y formación moderada de glándulas. En la mayoría de quistes se encontraron pequeñas hemorragias y macrófagos cargados de hemosiderina lo que sugiere que pasaban de actividad a inactividad de forma cíclica. El estudio inmunohistoquímico confirmó la naturaleza glandular y fundamentalmente la expresión de receptores de estrógenos en el estroma que formaba la pared de esos quistes. Además, se observó que muchos de los quistes de pequeño y mediano tamaño parecían tener continuidad con el epitelio bronquiolo-alveolar y la separación del estroma de los quistes no era muchas veces clara respecto del estroma pulmonar. De acuerdo con la revisión bibliográfica, estos resultados podrían explicarse mejor a través de la teoría de metaplasia inducida por hormonas y no por la través de la teoría de la diseminación linfática ya que nosotros no observamos tejido endometrial en los vasos (Jagirdar *et al.*, 2013). En la cavidad abdominal, las serosas de intestino grueso y de útero también presentaban varios focos de crecimiento ectópico; aunque eran lesiones muy poco desarrolladas su origen a su vez podría explicarse por la teoría del implante retrógrado o metaplasia celómica (Nakamura *et al.*, 2012).

Por otra parte, nuestros resultados muestran que no había reacción inflamatoria en la pared de los quistes o era mínima, encontrando linfocitos ocasionales. Estos resultados indican que morfológicamente parece existir una tolerancia del pulmón al desarrollo de un tejido de distinta naturaleza como es el endometrio y que no se produciría por tanto una reacción de tipo autoinmune.

El estudio inmunohistoquímico usando el panel de 6 anticuerpos confirmó que se trataba de endometrio ectópico; fundamentalmente es de destacar que el estroma de la pared de los quistes fue intensamente inmunoreactivo frente a los anticuerpos ER y CD10 y el epitelio y glándulas frente a Ck7 y TTF-1 lo que es característico del tejido endometrial tanto ortotópico como ectópico en la endometriosis de la mujer, y coincide con los resultados de 10/10 casos del estudio de Jagirdar en primates no humanos. La reacción negativa del epitelio a los anticuerpos ER / PR explicaría la inefectividad del tratamiento hormonal aplicado en ese estudio.

En resumen, el componente epitelial del PPE de babuino es negativo para ER / PR lo que sugiere que podría derivar localmente de células 'madre' del pulmón, positivas para TTF-1, bajo la influencia de células estromales endometriales positivas para ER / PR que pueden entrar en el pulmón, posiblemente, a través de la ruta linfática (Jagirdar *et al.*, 2013)

5) Tratamiento de la endometriosis

Ya que los mecanismos etiológicos de la EPP no se conocen bien, no existen pautas bien definidas para un manejo óptimo. Las opciones de tratamiento propuestas hasta la

fecha son tanto médicas como quirúrgicas. El tratamiento médico se basa en el bloqueo hormonal convencional para evitar la proliferación de tejido endometrial. Sin embargo, se observan tasas de fracaso de hasta el 50% en pacientes con neumotórax catamenial (Joseph y Sahn, 1996). Un enfoque combinado con técnicas quirúrgicas se considera ahora como la mejor opción para tratar a los pacientes y está ganando popularidad (Alifano *et al.*, 2003). El tratamiento quirúrgico de elección es la cirugía toracoscópica videoasistida (Alwadhí *et al.*, 2016).

En todos los casos de neumotórax secundario se debe realizar un drenaje pleural urgente con el fin de evacuar el aire de la cavidad pleural y conseguir una re-expansión duradera y estable que evite las recidivas (Vázquez y Rueda, 2010). En nuestro caso, a lo que pudimos llegar fue al drenaje del neumotórax pues desafortunadamente la paciente murió al día siguiente, sin tener aún diagnóstico. En el caso de que hubiera sobrevivido se podría haber probado con terapia médica como AINES y COCs en primera instancia, agonistas de la GnRH o incluso cirugía preventiva (Sobha y Jayashree, 2012).

La tasa de recurrencia de neumotórax catamenial es mucho más alta después del tratamiento en comparación con el neumotórax primario, independientemente de la modalidad de tratamiento. La recurrencia podría deberse a restos estromales microscópicos multifocales profundos en el tejido pulmonar que son inaccesibles para los cirujanos, así como a las células TTF-1 que recubren los quistes que no responden a la manipulación hormonal (Jagirdar *et al.*, 2013).

6) Consideraciones finales

Los babuinos son especies abundantes en el continente africano, hasta el momento sin riesgo de extinción y físicamente resistentes, lo que permite la toma de muestra por biopsias seriadas, otorgando resultados de mayor fiabilidad en los estudios comparados con la mujer. Sus principales limitaciones son obviamente las cuestiones éticas y los costos excesivos, que limitan su uso (Grümmer, 2006; D'Hooghe *et al.*, 2009). Estos estudios siempre se realizan preservando los estándares de bienestar animal.

Es importante resaltar el papel que juegan los parques zoológicos como el PZMC mediante la colaboración con otras instituciones como las universidades, el desarrollo de proyectos de investigación y conservación de especies, así como programas avanzados de atención veterinaria con el desarrollo de medidas destinadas a evitar o reducir la exposición de los animales del parque zoológico a los agentes patógenos y parásitos, a fortalecer su resistencia inmunológica y a impedir los traumatismos e intoxicaciones, la asistencia clínica de los animales del parque zoológico que estén enfermos, por medio de tratamientos veterinarios médicos o quirúrgicos adecuados, así como la revisión veterinaria periódica de

los animales sanos y un plan de nutrición adecuada de los animales (Ministerio para la Transición Ecológica. Fundación Biodiversidad, 2010).

En el presente caso las limitaciones fueron principalmente la muerte de la paciente y no poder instaurar un tratamiento y evaluar posteriormente su eficacia para futuros casos. Sin embargo, los hallazgos del estudio postmortem macro y microscópicos serán de gran interés para la comunidad científica.

7. Conclusiones

- 1) La endometriosis abdominal se ha descrito con relativa frecuencia en hembras adultas de macacos, sin embargo, la mayor parte de la información existente sobre la prevalencia de la EDT en primates no humanos proviene de estudios basados en la experimentación y no de presentación clínica espontánea.
- 2) Existe muy poca información sobre la endometriosis intratorácica en primates no humanos y el caso descrito de endometriosis intrapulmonar quística es el primero referenciado en la especie papión oliva.
- 3) Ante la presentación clínica de un neumotórax catamenial en hembras de NHP siempre deberemos incluir a la endometriosis en el diagnóstico diferencial.
- 4) Existen diversas teorías que tratan de explicar la etiopatogenia de esta enfermedad. La presentación fundamentalmente intrapulmonar de nuestro caso, con mínimas lesiones abdominales, podría explicarse mejor a través de la teoría de la inducción de metaplasia tisular; no obstante, las lesiones abdominales se pueden justificar con la teoría de la menstruación retrógrada.
- 5) El diagnóstico definitivo se debe realizar mediante confirmación histopatológica e inmunohistoquímica fundamentalmente con la demostración de receptores hormonales en el estroma del endometrio ectópico.
- 6) Los hallazgos, tanto de presentación clínica, como lesional aportada por este caso de endometriosis espontánea puede ser muy valiosa en la clínica de primates y el estudio comparado de la endometriosis en la mujer.

8. Resumen

El objetivo del presente trabajo ha sido realizar una revisión bibliográfica de la endometriosis (EDT) en primates y exponer un caso de endometriosis intrapulmonar en papión oliva (*Papio anubis*), muy infrecuente en Medicina Veterinaria. La EDT se define como el crecimiento ectópico de endometrio funcional que habitualmente afecta a las serosas retroperitoneal aunque puede ocurrir en órganos muy distantes. Es un problema ginecológico frecuente en la mujer, pero su mecanismo etiopatogénico no es bien conocido. En primates no humanos del viejo mundo la EDT espontánea ha sido descrita en varias ocasiones y especies como el macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) o el género de los papiones (*Papio spp.*) son utilizados como modelo para la investigación de la EDT experimental. La EDT intrapulmonar ha sido descrita numerosas veces en la mujer pero la literatura sólo recoge un caso en primates no humanos. Este trabajo describe las características macroscópicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas de EDT intrapulmonar quística en una hembra de papión oliva perteneciente al Parque Zoológico Municipal de Córdoba que, tras presentar grave disnea inspiratoria y neumotórax, falleció en un plazo de 24 horas sin poder ser estabilizada clínicamente. En la necropsia, la lesión fundamental consistió en la formación de múltiples quistes, de tamaño variable, distribuidos de forma aleatoria por todo el pulmón, subpleurales e intrapulmonares, que contenían aire y a veces líquido seroso. Microscópicamente, los quistes estaban tapizados por un epitelio simple cúbico con pequeñas glándulas tubulares y acompañado por un característico estroma de células fusiformes de morfología endometrial. El estudio inmunohistoquímico se realizó para confirmar su naturaleza glandular y expresión de receptores de estrógenos en la pared de los quistes (anticuerpos como Ck7, CD10, TTF-1, ER que son usados en el diagnóstico de endometriosis en la mujer); la Ck7 y TTF-1 reaccionaron con los neumocitos y glándulas endometriales, CD10 reaccionó con el estroma y glándulas endometriales de los quistes y ER fue positivo (reacción intensa y generalizada) en las células del estroma de los quistes.

Palabras clave: endometriosis pulmonar; neumotórax catamenial; quistes intrapulmonares; enfermedad espontánea; primates no humanos; modelos animales.

Abstract

The aim of this Project has been to perform a bibliographic review of endometriosis (EDT) in primates and to report a clinical case of intrapulmonary endometriosis, rare in Veterinary Medicine. EDT is defined as the ectopic growth of functional endometrium affecting frequently the retroperitoneal serosae. It is an usual gynecological problem in women, but its etiopathogenesis is not well known. In nonhuman primates of the Old World, spontaneous EDT has been described in several occasions and species, such as the Rhesus macaque (*Macaca mulatta*) or the genus *Papio spp.*, which are used as a model for researching experimental EDT. Intrapulmonary EDT has been described in women but the scientific literature only contains one report in nonhuman primates. This work describes the macroscopical, histopathological and immunohistochemical characteristics of cystic intrapulmonary EDT in an olive baboon female (*Papio anubis*) belonging to the Municipal Zoological Park of Córdoba (Spain) that, after presenting inspiratory dyspnea and pneumothorax, could not be clinically stabilized and died in the next 24 hours. At necropsy, multiple cysts of variable size spread throughout the lungs were found, subpleural and intrapulmonary located, containing air and serous fluid. Microscopically, the cysts were covered by a simple cubic epithelium with small tubular glands and accompanied by a typical cellular dense endometrial stroma. The immunohistochemical study was performed in order to confirm its glandular nature and estrogen receptors expression in the cyst wall (antibodies such as Ck7, CD10, TTF-1 and ER that are used in the diagnosis of endometriosis in women); Ck7 and TTF-1 reacted with the pneumocytes and endometrial glands, CD10 reacted with the stroma and endometrial glands of the cysts and ER was positive (intense and generalized reaction) in the stromal cells of the cysts.

Keywords: pulmonary endometriosis; catamenial pneumothorax; intrapulmonary cysts; spontaneous disease; nonhuman primate; animal models.

9. Bibliografía

- Absenger, Y., Hess-Stumpff, H., Kreft, B., Kratzschmar, J., Haendler, B., Schutze, N., *et al.* (2004). Cyr61, a deregulated gene in endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, *10*, 399–407.
- Alifano, M., Roth, T., Camilleri, S., Schussler, O., Magdeleinat, P., & Regnard, J. (2003). Catamenial pneumothorax. A prospective study. *Chest surgery clinics of North America*, *124*, 1004-1008.
- Alifano, M., Venissac, N., & Mouroux, J. (2000). Recurrent pneumothorax associated with thoracic endometriosis. *Surgical Endoscopy*, *14*, 680.
- Alifano M., Trisolini, R., Cancellieri, A., Regnard, JF. (2006). Thoracic endometriosis: current knowledge. *The Annals of Thoracic Surgery*, *81* (2), 761-769.
- Alifano, M. (2010). Catamenial pneumothorax. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, *16* (4), 381-386
- Ami, Y., Suzaki, Y., Goto, N. (1993). Endometriosis in cynomolgus monkeys retired from breeding. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *55* (1), 7-11.
- Assaf, B., & Miller, A. (2012). Pleural endometriosis in an aged Rhesus macaque (*Macaca mulatta*): a histopathologic and immunohistochemical study. *Veterinary Pathology*, *49*, 636-664.
- Bilotas, M., Meresman, G., Stella, I., Sueldo, C., Baranao, R. (2010). Effect of aromatase inhibitors on ectopic endometrial growth and peritoneal environment in a mouse model of endometriosis. *Fertility and Sterility*, *93*(8), 2513-2518.
- Binhazim, A., Tarara, R., Suleman, M. (1989). Spontaneous external endometriosis in a De Brazza's monkey. *Institute of Primate Research*, *101*(4), 471-474.
- Braundmeier, A., Fazleabas, A. (2009). The non-human primate model of endometriosis: Research and implications for fecundity. *Molecular Human Reproduction*, *15*(10), 577-586.
- Chin, S.C. (1994) Endometriosis and pyometra in a Taiwan rhesus (*Macaca cyclopis*). *Journal of Chinese Society of Veterinary Sciences*, *20*, 58–64.
- Coxe, J. (1846). *The writings of Hippocrates and Galen epitomised from the original Latin translations*. Philadelphia: Lindsay and Blakiston.
- Crain, D., Janssen, S., Edwards, T., Heindel, J., Ho, S., Hunt, P., *et al.* (2008). Female reproductive disorders: the roles of endocrinedisrupting compounds and developmental timing. *Fertility and Sterility*, *90*(4), 911-940.
- Cramer, D., y Missmer, S. (2002). The epidemiology of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *955*, 11-22.
- D'Hooghe, T., & Debrock, S. (2002). Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and baboons. *Human Reproduction Update*, *8*(1), 84–8.

- D'Hooghe, T., Bambra, C., Suleman, M., Dunselman, G., Evers, H., & Koninckx, P. (1994). Development of a model of retrograde menstruation in baboons (*Papio anubis*). *Fertility and Sterility*, 62(3), 635-638.
- D'Hooghe, T., Riday, A., Bambra, C., Suleman, C., Raeymaekers, M., & Koninckx, P. (1996). The cycle pregnancy rate is normal in baboons with stage I endometriosis but decreased in primates with stage II and III. *Fertility and Sterility*, 66(5), 809-813.
- D'Hooghe, T. (1997). Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 68(4), 613-625.
- D'Hooghe, T., Bambra, C., Raeymaekers, B., De Jonge, I., Hill, J., & Koninckx, P. (1995). The effects of immunosuppression on development and progression of endometriosis in baboons (*Papio anubis*). *Fertility and Sterility*, 64(1), 172-178.
- D'Hooghe, T., Nugent, N., Cuneo, S., Chai, D., Deer, F., Debrock, S., *et al.* (2016). Recombinant human TNFRSF1A (r-hTBP1) inhibits the development of endometriosis in baboons: a prospective, randomized, placebo- and drug-controlled study. *Biology of Reproduction*, 74(1), 131-136.
- Doré, M. y Lagacé, A. (1985) . Spontaneous external endometriosis in a gorilla (*Gorilla gorilla*). *Canadian Veterinary Journal*, 26: 347-349 .
- Dueñas Díez, J. (2003). *Endometriosis: concepto y clasificación. Epidemiología. Etiopatogenia. Anatomía patológica y clínica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Eskenazi, B. y Warner, ML. (1997). Epidemiology of Endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 24(2), 235-258.
- Fadi, I y Venk, M. (2014). An unusual cause of abdominal pain in a male patient: Endometriosis. *Avicenna Journal of Medicine*, 4(4), 99-101.
- Fanton, J., y Golden, J. (1991). Radiation-induced endometriosis in *Macaca mulatta*. *Radiation Research*, 126(2), 141-146.
- Fanton, J., y Hubbard, G. (1983). Spontaneous endometriosis in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Laboratory Animal Sciences*, 33(6), 597-599.
- Fazleabas, A., Brudney, A., Gurates, B., Chai, D., Bulun, S. (2002). A modified baboon model for endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955, 308-317.
- Feldman, E. (2000). The Cystic Endometrial Hyperplasia / Pyometra Complex and Infertility in Female Dogs. In S. Ettinger, *Textbook of Veterinary Internal Medicine disease of the dog and cat* (5 ed., pp. 1549-1555). Philadelphia , USA: W.B. Saunders.
- Ferrero, A., Pinedo, A., Fernández-Corona, A., Salasb, J., Hernández-Rodríguez, J. (2007). Endometriosis extragenital. *Clínica e Investigación Ginecología y Obstetricia*, 34, 6-10.
- Folse, D., y Stout, L. (1978). Endometriosis in a baboon. *Laboratory Animal Science*, 28, 217-219.
- Fraser, A. (1929). Ectopic endometrium in *Macacus Rhesus*. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36, 590-591.

- García Cerrudo, E. (2011). *Análisis de la expresión génica diferencial en un modelo experimental de endometriosis*. Madrid.
- Garry, R. (2004). Is insulin resistance an essential component of PCOS?: The endometriosis syndromes: A clinical classification in the presence of aetiological confusion and therapeutic anarchy. *Human Reproduction*, 19, 760-768.
- Gashaw, I., Hastings, J., Jackson, K., Winterhager, E., Fazleabas, A. (2006). Induced endometriosis in the baboon (*Papio anubis*) increases the expression of the proangiogenic factor Cyr61 (CCN1) in eutopic and ectopic endometria. *Biology of Reproduction*, 74, 1060–1066.
- Grümmer, R. (2006). Animal models in endometriosis research. *Human Reproduction Update*, 12(5), 641-649.
- Harada, T., Iwabe, T., Terakawa, N. (2001). Role of cytokines in endometriosis. *Fertility and Sterility*, 76(1), 1-10.
- Hobbs, J., y Bortnick, A. (1940). Endometriosis of the lung; an experimental and clinical study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 40, 832–843 .
- Hoffman, B., Schorge, J., Schaffer, J., Halvorson, L., Bradshaw, K., Cunningham, F. (2014). *Williams Ginecología* (Segunda ed.). México D.F.: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A.
- Iwanoff, N. (1898). Uterusfibromyom compliziert durch Sarcom und Carcinom (Adenofibromyoma cysticum arcomatodes carcinomatosum). *Monatsch. Geburtsh. Gyndkol*, 7, 295-300.
- Jagirdar, J., Sirohi, D., Dick, E., Hubbard, G. (2013). Pleuro-pulmonary endometriosis in baboons (*Papio spp.*): insights into pathogenesis. *Journal of Medical Primatology*, 42(1), 3945.
- Joseph, J., y Sahn, S. (1996). Thoracic endometriosis syndrome: new observations from an analysis of 110 cases. *American Journal Medicine*, 100(164-170).
- Jubanyik, K., y Comite, F. (1997). Extrapelvic endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 24, 411-440.
- Katayama, H., Katayama, T., Uematsu K., Hiratsuka, M., Kiyomura, M., Shimizu, Y., Ito, M. (2010). Effect of dienogest administration on angiogenesis and hemodynamics in a rat endometrial autograft model. *Human Reproduction*, 25 (11) 2851-8.
- Kennedy, S. B. (2005). ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Human Reproduction*, 20(10), 2698–2704.
- Kirschner, P. (1998). Parous diaphragm syndromes. *Chest surgery clinics of North America*, 8, 449-472.
- Langoi, D., Pavone, M., Gurates, B., Chai, D., Fazleabas, A., & Bulun, S. (2013). Aromatase inhibitor treatment may limit progression of peritoneal endometriosis in baboons. *Fertility and Sterility*, 99(3), 656-662.
- Lua, L., Tran, K., Desai, J. (2017). Refractory thoracic endometriosis syndrome with bilateral hemothorax. *The Journal of Obstetrics and Gynecology Research*, 43(7), 1227-1231.

- Marshall, M., Ahmed, Z., Kucharczuk, J., Kaiser, L., Shrager, J. (2005). Catamenial pneumothorax: optimal hormonal and surgical management. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 27(4), 662-666.
- Martínez, M. (2013, abril). *Actualización sobre la etiopatogenia de la endometriosis*. Retrieved from Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología: www.acmcb.es>425-4734-DOCUMENT
- Martínez, M. (2016). *Unidad de Diagnóstico para la Mujer*. Retrieved from http://unidim.com.mx/wp-content/uploads/2016/04/SESSION-8-CICLO-ENDOMETRIAL.compressed.pdf?utm_source=rss&utm_medium=rss
- Mattison, J., Ottinger, M., Powell, D., Longo, D., Ingram, D. (2007). Endometriosis: clinical monitoring and treatment procedures in Rhesus Monkeys. *Journal of Medical Primatology*, 36, 391–398.
- Maurer, E., Schaal, J., & Méndez, F. (1958). Chronic recurringspontaneous pneumothorax due to endometriosis of the diaphragm. *Journal of American Medical Association*, 168, 2013-2014.
- Merrill, J. (1968). Spontaneous endometriosis in the Kenya baboon (*Papio doguera*). *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 101(4), 569-570.
- Meyer, R. (1903). Ueber eine adenomatose Wucherung der Serosa in einer Bauchnarbe. *Z Geburtsh Gynakol*, 49, 32–41.
- Ministerio para la Transición Ecológica. Fundación Biodiversidad. (2010). El parque zoológico, un nuevo aliado de la biodiversidad. Guía para la aplicación de la Ley 31/2003 de conservación de la fauna silvestre en los parques zoológicos (2ªedición)., (p. 64).
- Missmer, S., Hankinson, S., Spiegelman, S., Barbieri, R., Marshall, L., Hunter, D. (2004). Incidence of Laparoscopically Confirmed Endometriosis by Demographic, Anthropometric, and Lifestyle Factors. *American Journal of Epidemiology*, 160(8), 784-796.
- Molinar, L., Romero, P., Padilla, M. (2011). Endometriosis parenquimatosa pulmonar multifocal. *Patología Revista Latinoamericana*, 49(4), 262-266.
- Nakamura, S., Ochiai, K., Ochi, A., Ito, M., Kamiya, t., Yamamoto, H. (2012). Spontaneous endometriosis in a Mandrill (*Mandrillus sphinx*). *Journal of Comparative Pathology*, 147, 386-390.
- Nap, A., Groothuis, P., Punyadeera, C., Klein-Hitpass, L., Kamps, R., Delvoux, B., *et al.* (2008). Oral contraceptives prevent the development of endometriosis in the chicken chorioallantoic membrane model. *Contraception*, 78, 257-265.
- Narbaitz, M., Paludi, A., Fernández, H. (2015). Resolución de piómetra felina con tratamiento quirúrgico combinado. *Tesina de la Orientación Pequeños Animales presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Veterinario. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires*, 1.
- Nezhat, C., Nezhat, F., Nezhat, C. (2012). Endometriosis: ancient disease, ancient treatments. *Fertility and Sterility*, 98(6), A1-A2; S1-S62.
- Nishimoto-Kakiuchi, A., Netsu, S., Okabayashi, S., Taniguchi, K., Tanimura, H., Kato, A., *et al.* (2018). Spontaneous endometriosis in cynomolgus monkeys as a clinically relevant experimental model. *Human Reproduction*, 33(7), 1228-1236.

- Otzen, H., Sieme, H., Oldenhof, H., Ertmer, F., Kehr, A., Rode, K., *et al.* (2016). Identification of vessel degeneration and endometriosis in the equine endometrium, using narrow-band imaging hysteroscopy. *Theriogenology. Elsevier*, 86(6), 1445-1452.
- Paiva, B., Silva, J. F., Ocarino, N. M., Oliveira, C. A., Assis, W. A., Serakides, R. (2015). A rare case of endometrioma in a bitch. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57, 31.
- Peterse, D., De Clercq, K., Goossens, C., Binda, M., Dorien, F., Saunders, P., *et al.* (2018). Optimization of Endometrial Decidualization in the Menstruating Mouse Model for Preclinical Endometriosis Research. *Reproductive Sciences*.
- Rebordao, M., Galvao, A., Szostek, A., Amaral, L., Mateus, D., Skarzynski, *et al.* (2014). Physiopathologic Mechanisms Involved in Mare Endometriosis. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 82-87.
- Rei, C., Williams, T., Feloney, M. (2018). Endometriosis in a Man as a Rare Source of Abdominal Pain: A Case Report and Review of the Literature. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology*, 2018.
- Rippy, M., Lee, D., Pearson, S., Bernal, J., & Kuehl, T. (1996). Identification of rhesus macaques with spontaneous endometriosis. *Journal of Medical Primatology*, 25, 346–355.
- Rojas-Vera, J. y Vásquez-Tirado, G. (2014). Parenchymal pulmonary endometriosis. *Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 27(1), 40-43.
- Rousset-Jablonski, C., Alifano, M., Plu-Bureau, G., Camilleri-Broet, S., Rousset, P., Regnard, J., *et al.* (2011). Catamenial pneumothorax and endometriosis-related pneumothorax: clinical features and risk factors. *Human Reproduction*, 26(9), 2322-2329.
- Sadikot, R., Green, T., Meadows, K., Arnold, G. (1997). Recurrence of primary spontaneous pneumothorax. *Thorax Journal*, 345, 805-809.
- Sasson, I. y Taylor, H. (2008). Stem Cells and the Pathogenesis of Endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1127(1), 106-115.
- Scott, R. y Te Linde, R. (1950). Experimental endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 66(5), 1147-1173.
- Shalev, M., Ciurea, D., Deligdisch, L. (1992). Endometriosis and stromal tumor in a baboon (*Papio hamadryas*). *Laboratory Animal Sciences*, 42(2), 204-208.
- Shroen, D. (1690). *Disputatio Inauguralis Medica de Ulceribus Ulceri*. Jena: Krebs.
- Schwartz, O. (1938). Endometriosis of the lung. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 36, 887–889.
- Smith, L., Williams, C., Doyle, J., Closshey, W., Brix, W., Pastore, L. (2007). Effect of endometrioma cyst fluid exposure on peritoneal adhesion formation in a rabbit model. *Fertility and Sterility*, 87(5), 1173-1179.
- Sobha, N. y Jayashree, N. (2016). Thoracic Endometriosis Syndrome: A Veritable Pandora's Box. *Journal of Clinical Diagnosis Research*, 10(4), QR04 - QR08.

- Sourial, S., Tempest, N., Hapangama, D. (2014). Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. *International Journal of Reproductive Medicine*.
- Stevens, V. (1997). Some reproductive studies in the baboon. *Human Reproduction Update*, 3(6), 533–540.
- Story, L. y Kennedy, S. (2004). Animal Studies in Endometriosis: A Review. *ILAR Journal*, 45(2), 132-138.
- Sumathi, V., & McCluggage, W. (2002). CD10 is useful in demonstrating endometrial stroma at ectopic sites and in confirming a diagnosis of endometriosis. *Journal of Clinical Pathology*, 55(5), 391-392.
- Tocado, A., García, C., Gómez, R. (2013). Modelos animales en el estudio etiopatogénico, el diagnóstico y el tratamiento de la endometriosis. *Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana*, 30, 42-52.
- Travis, W., Colby, T., Koss, M., Müller, N. (2002). *Miscellaneous diseases of uncertain etiology*. (W. Travis, T. Colby, M. Koss, & N. Müller, Eds.) Washington, DC: American Registry of Pathology and the Armed Forces Institute of Pathology.
- Ucuet, A., Yamansavci, E., Funda, S., Yakut, C., Yoldas, B., GURSOY, S. (2013). Endometriosis pulmonar torácica: presentación de 2 casos de una enfermedad muy poco frecuente. *Archivos de Bronconeumología*, 50(10), 454-455.
- Valenzuela, P., Ramos, P., Solano, J. (2007). Transición entre endometriosis y carcinoma endometriode de ovario. *Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia*, 34, 24-26.
- Vargas, V. (2013). La endometriosis como factor de riesgo para cáncer de ovario. *Cirugías y cirujanos*. Elsevier, 81, 163-168.
- Vázquez, M. y Rueda, C. (2010). *Medynet*. Retrieved from Manejo del Neumotórax [monografía en internet] Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga: <http://www.medy.net.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergenci>
- Velásquez, M y Velásquez, M. (2015). Neumotórax catamenial. *Revista Colombiana de Cirugía*, 30, 286-291.
- Velebil, P., Wingo, P., Xia, Z. (1995). Rate of hospitalization for gynecologic disorders among reproductive-age women in the United States. *Obstetrics & Gynecology*, 86, 764.
- Von Rokitansky, C. (1860). Ueber Uterusdrüsen-Neubildung in Uterusund Ovarial-Sarcomen. *Zeitschrift Gesellschaft der Aerzte in Wien*, 16, 577-581.
- Zito, G. L. (2014). Medical treatments for endometriosis-associated pelvic pain. *BioMed Research International*, 2014, 191967.