



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA**

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES
DE GOIÂNIA COM ENDOMETRIOSE:
UM ESTUDO ANALÍTICO**

KLEBER SANTIAGO FREITAS E SILVA

Goiânia – GO

2013



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM GENÉTICA

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM PACIENTES
DE GOIÂNIA COM ENDOMETRIOSE:
UM ESTUDO ANALÍTICO**

KLEBER SANTIAGO FREITAS E SILVA

Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética MGENE da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética.

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. KÁTIA KARINA VEROLLI DE O. MOURA

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. FLÁVIA MELO RODRIGUES

Goiânia – GO

2013

Dedicatória

Como professor, dedico este trabalho a todos aqueles que de alguma forma, na sua individualidade, escolheram esse duro mas belo caminho; e até mesmo àqueles que foram lançados nesse destino pelas circunstâncias do percalço. Amigos, não desistamos dos nossos ideais e vamos construir um país mais digno para as próximas gerações.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente agradeço a todos aqueles que permitiram que eu pudesse caminhar até esse momento da minha vida. Minha amada mãe Flávia Regina e minha não menos amada madrinha Andréa Cristina. Às minhas adoradas, Vicentina e Maria Geralda, por sempre terem acreditado no meu potencial, sempre apoiando qualquer decisão que eu resolvesse tomar. Sem dúvida alguma, vocês quatro são responsáveis diretamente pelo meu sucesso, devo tudo a vocês e espero que um dia eu possa retribuir a tudo que proporcionaram à minha pessoa até este momento da minha vida. Eu sou o que sou graças a vocês, e esse trabalho (sofrido, mas feito com dignidade e alegria) é fruto do estímulo que sempre recebi de vocês. Agradeço plenamente a todas as palavras de carinho, de estímulo, às palavras que me chamavam à razão, aos ensinamentos e experiências compartilhadas. Amo vocês.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus em primeiro lugar, por toda a ajuda e inspiração que com certeza recebo.

Agradeço à minha orientadora que me estimulou a continuar no caminho da pesquisa e no belo percurso da Genética. Kátia Karina, eu agradeço por todas as palavras sábias, pela orientação maravilhosa, pela paciência com os meus atrasos, pela disciplina e conhecimento que você ajudou a implantar na minha vida de pós-graduação. Que possamos continuar juntos na trilha do conhecimento, e quem sabe uma orientação de doutorado?

Agradeço à Flávia Melo, pelo auxílio e pela paciência.

Agradeço a meus amigos mais próximos, todos de alguma forma contribuíram para a minha ascensão profissional e também moral. Agradeço pelos estímulos, pelos “balde de água fria” (até esses momentos serviram como inspiração para que eu pudesse continuar na longa caminhada) e pelos risos e momentos felizes, pois sem eles não somos nada. Agradeço à Bruna Leandro, Andréia Barbosa, Flávia Garcia, Kariny Luz, Maria de Jesus, Maricely Durango, Regiane de Deus, Larissa Rosa, Beatriz Nunes, Mariana Godinho, Thiago Felipe, Ivan, Lisa Velarde, Olia Jelkina, Tamuna Makhatadze, Renata Alves, Cristiana Costa, Janaina Steger, Keila Cristina, Érika Cristina, Danielle Ribeiro, Katiúscia Guimarães, Geovane, Bianca, Ana Lídia, Ariane B. Frare, Constanza, Natalie, Ana Manoela; e com certeza deve ter muito mais pessoas que me ajudaram nessa longa caminhada.

Agradeço aos mestres que contribuíram imensamente para a minha formação: Eliane Stacciarini, Kátia, José Carlos, Alexandre Siqueira, Daniela Silva, Marta, José Divino, e muitos outros.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Apêndices	x
Siglas, Símbolos e Abreviaturas	xi
Resumo	xiii
Abstract	xiv
1. Referencial Teórico	15
1.1 Sistema Genital Feminino	15
1.1.1 Definição e embriologia do sistema genital feminino	15
1.1.2 Anatomia dos órgãos genitais femininos	15
1.1.2.1 O peritônio na cavidade pélvica	15
1.1.2.2 A anatomia uterina	16
1.1.2.3 A anatomia do ovário	19
1.1.2.4 A anatomia das tubas uterinas	19
1.1.3 Fisiologia do sistema genital feminino	20
1.1.3.1 Ovulação	20
1.1.3.2 Ciclo menstrual	21
1.1.3.3 Controle hormonal das funções reprodutivas	24
1.2 Definição da Endometriose	25
1.3 Histórico	26
1.4 Incidência	26
1.5 Etiologia	27
1.6 Sintomas	29
1.7 Diagnóstico	30
1.8 Qualidade de vida	31
1.9 Classificação da Endometriose	31

1.10 Sistema Imunológico e a sua função na endometriose	32
1.10.1 Leucócitos	32
1.10.2 Linfócitos	33
1.10.2.1 Linfócitos T	33
1.10.2.2 Linfócitos B	34
1.10.3 NKC	35
1.10.4 Macrófagos e monócitos	36
1.10.5 Citocinas	37
1.10.6 Resistência imunológica das células endometriais	40
1.10.7 Efeito da imunossupressão na endometriose	40
1.10.7.1 TNF	40
1.10.7.2 <i>CCL21</i>	41
1.10.7.3 Sistema HLA	41
1.10.7.4 <i>FasR</i> e <i>FASL</i>	42
1.10.7.5 <i>COX</i>	42
1.10.8 Endometriose e outras doenças imunes	43
1.10.9 Uso de imunomoduladores	44
1.11 Ação das moléculas de adesão no estabelecimento da doença	44
1.11.1 Adesão	44
1.11.2 Invasão tecidual	44
1.11.3 T-plastina	45
1.11.4 Anexina V	45
1.12 Morte celular programada	45
1.13 Xenobióticos	46
1.14 Tratamento	47
1.14.1 Tratamento cirúrgico	47
1.14.2 Terapia com medicamentos	48

1.14.3 Contraceptivos orais	50
1.14.4 Sistema intrauterino liberador Levonorgestrel	50
1.14.5 Tratamento anti-TNF	50
1.14.6 Idometacina	51
1.14.7 Inibidores de Aromatase	51
1.15 Genética da Endometriose	51
1.15.1 Galactose-1-fosfato uridil transferase	52
1.15.2 Metabolismo da detoxificação	53
1.15.2.1 Receptor aryl-hidrocarboneto	53
1.15.2.2 GSTs (Glutathiona-S-transferase)	54
1.15.3 Análise de <i>microarray</i>	54
1.15.4 Genes supressores de tumor	56
1.15.5 <i>PROGINS</i> e <i>REβ</i>	56
2. Objetivos	58
2.1 Objetivos Gerais	58
2.2 Objetivos Específicos	58
3. Materiais e Métodos	59
3.1 Análise de Dados	59
4. Resultados	61
5. Discussão	69
6. Conclusão	76
7. Perspectivas	79
9. Referências	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sistema genital feminino mostrando o útero, as tubas uterinas, os ovários e seus ligamentos de sustentação.

Figura 2: Secção da parede uterina evidenciando a irrigação do endométrio.

Figura 3: Esquema do folículo ovariano.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos polimorfismos dos genes estudados entre os grupos controle e experimental.

Tabela 2 - Genótipos com efeito protetor contra o aparecimento da endometriose entre os grupos controle e experimental.

Tabela 3 - Genótipos polimórficos tomados três a três e comparados entre os grupos controle e experimental.

Tabela 4 - Genótipos polimórficos tomados três a três e comparados entre os grupos controle e experimental.

APÊNDICE

APÊNDICE I: Todos os polimorfismos dos genes analisados dois a dois através do Teste Exato de Fisher.

APÊNDICE II: Todos os polimorfismos dos genes analisados três a três através do Teste G.

SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Segue abaixo a lista na ordem em que as siglas apareceram.

- 1 – **GnRH** – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas.
- 2 – **FSH** – Hormônio Folículo-estimulante.
- 3 – **LH** – Hormônio Luteinizante.
- 4 – **Células NK** – células Natural Killer.
- 5 – **DNA** – Ácido Dextrorribonucléico.
- 6 – **ICAM1** – do inglês *Intercellular Adhesion Molecule 1* ou Molécula de Adesão Intercelular 1.
- 7 – **Re β** – Receptor β de Estrogênio.
- 8 – **CYP19** – Citocromo P450, Família 19.
- 9 – **SELDI-TOF-MS** – do inglês Surface-enhanced Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry.
- 10 – **IL-8** – Interleucina 8.
- 11 – **MCP** – Proteínas Quimiotáticas de Monócitos.
- 12 – **RANTES** – do inglês *Regulated on Activation Normal T-expressed and secreted*.
- 13 – **TNF- α** – Fator de Necrose Tumoral – α .
- 14 – **mRNA** – RNA mensageiro.
- 15 – **CD4** – *Cluster of Differentiation 4*.
- 16 – **CD8** – *Cluster of Differentiation 8*.
- 17 – **TH1** – *T Helper Cell Type 1*.
- 18 – **TH2** – *T Helper Cell Type 2*.
- 19 – **CD5** – *Cluster of Differentiation 5*
- 20 – **IgG** – Imunoglobulina G.
- 21 – **KIR** do inglês *killer immunoglobulin-like receptor*.
- 22 – **IL-6** – Interleucina 6.
- 23 – **IL-10** – Interleucina 10.
- 24 – **PGE2** – Dinoprostone or Prostaglandina E2.
- 25 – **PGE2 α** – Prostaglandina E2 α .
- 26 – **IL-1 β** – Interleucina – 1 β .
- 27 – **MMP** – Enzima Metaloproteinase.

- 28 – **VEGF** – Fator de Crescimento Endotelial Vascular.
- 29 – **MIF** – Fator de Inibição de Migração de Macrófagos.
- 30 – **IL-1** – Interleucina 1.
- 31 – **CCL21** – do inglês *Chemokine (C-C motif) ligand 21*.
- 32 – **CCR7** – do inglês *C-C chemokine receptor type 7*.
- 33 – **IFN- γ** – Interferon gama.
- 34 – **Sistema HLA** – Sistema Antígeno Leucocitário Humano.
- 35 – **FasR** – do inglês *Apoptosis Antigen 1* ou *Cluster of Differentiation 95*.
- 36 – **FASL** – Faz Ligand.
- 37 – **HLA-B7** – HLA-B Serotype.
- 38 – **COX** – Enzima cicloxigenase.
- 39 – **P-450** – Pigmento 450.
- 40 – **GALT** – *Galactose-1-fosfato uridil transferase*.
- 41 – **UDP** – Uracil-di-fosfato.
- 42 – **AhR** – Receptor aryl-hidrocarboneto.
- 43 – **CYP1A1** Citocromo P450, família 1, membro A1 (*Cytochrome P450, family 1, member A1*).
- 44 – **CYP1B1** Citocromo P450, família 1, membro B1 (*Cytochrome P450, family 1, member B1*).
- 45 – **ARNT** – do inglês *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*.
- 46 – **AhRR** – do inglês *Aryl hydrocarbon receptor repressor*.
- 47 – **GST** – Glutathiona-S-transferase.
- 48 – **GSTM1** – Glutathiona-S-transferase M1.
- 49 – **GSTT1** – Glutathione S-Transferase Theta 1.
- 50 – **RNA** – Ácido Ribonucléico.
- 51 – **cdDNA** – DNA complementar.
- 52 – **IL-G** – Interleucina G.
- 53 – **IL-15** – Interleucina 15.
- 54 – **BRCA1** – do inglês *Breast Cancer 1*.
- 55 – **TP53** do inglês *Tumor Protein 53*.
- 56 – **FISH** – Hibridização Fluorescente *in situ*.
- 57 – **PTEN** – Homólogo da tensina e da fosfatase.
- 58 – **PROGINS** – Polimorfismo do Gene do Receptor de Progesterona.

RESUMO

Controles intra e extracelulares impedem a implantação e a proliferação de células endometriais ectópicas nas mulheres saudáveis. Anormalidades em quaisquer desses controles levam à sobrevivência dessas células, implantação e a consequente progressão da Endometriose. Células endometriais com polimorfismos genéticos respondem a sinais locais e se proliferam não sofrendo apoptose. Os produtos dessas células anormais estimulam a invasão de tecidos e induzem respostas inflamatórias. A doença é complexa e relacionada a fatores como o genético, o imunológico e o ambiental. Este trabalho analisou seis polimorfismos de seis diferentes genes (*p53*; Receptor β de estrógeno; Receptor de progesterona; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*). As frequências dos genótipos polimórficos foram obtidas das mesmas 50 pacientes para todos os genes e analisadas pelo Teste Exato de Fisher ou Teste G. Os genes foram analisados dois a dois e posteriormente três a três. Resultados significativos foram encontrados para seis pares de genes (*p53-RE β* com frequência de polimorfismo 5,9 vezes maior no grupo endometriose; *p53-GSTM1* com frequência 2,39 vezes maior; *p53-CYP1A1* com 65,5% das pacientes com endometriose apresentando os polimorfismos; *RE β -PROGINS* com frequência 3,0 vezes maior; *GSTM1-PROGINS* e *GSTT1-CYP1A1*, ambos com 31,25% das pacientes do grupo endometriose apresentando os polimorfismos). Em 15 situações quando os genes foram analisados três a três o p foi menor que 0,05. Os polimorfismos de maior frequência foram dos genes *p53*, *RE β* e *GSTM1* com 20% das pacientes com endometriose apresentando esses polimorfismos; *PROGINS*, *RE β* e *GSTM1* com 18% e *p53*, *RE β* e *PROGINS* com 12%. Esses resultados corroboram a ideia de que a presença de polimorfismos em mais de um gene relacionado à endometriose pode levar ao aparecimento e desenvolvimento da doença. Estudos devem ser direcionados a esses genes na tentativa de compreender melhor a relação entre eles e o possível desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico baseada nos marcadores moleculares desses mesmos genes.

Palavras-Chave: Polimorfismo; *p53*; Receptor β de estrógeno; Receptor de progesterona; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*; Endometriose.

ABSTRACT

In healthy women, a great number of intra and extracellular controls prevent the attachment and proliferation of ectopic endometrial cells. In endometriosis, abnormalities in those controls can lead to the survival of endometrial cells and consequently their attachment to the peritoneal cavity and disease progression. Endometrial cells with genetic polymorphisms respond to local signals, and they proliferate instead of undergoing apoptosis. The products of these abnormal cells stimulate the invasion of tissues and induce an inflammatory response. The disease has a complex trait and it is related to several factors such as genetic, immunological and environmental. This study examined six polymorphisms presented by six different genes (*p53*; Estrogen Receptor β ; Progesterone receptor; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*). We obtained the polymorphic genotype frequencies from the same 50 patients for all genes and we analyzed them using the Fisher's Exact Test or G Test. First we analyzed the genes in a group of two and subsequently in a group of three. We found significant association between polymorphisms in six pairs of genes (*p53-Er β* with frequency 5.9 times higher in the experimental group; *p53-GSTM1*, 2.39 times higher; *p53-CYP1A1* with 65.5% of the patients with the polymorphism; *ER β -PROGINS* 3.0 times higher in the experimental group; *GSTM1-PROGINS* and *GSTT1-CYP1A1* both with 31.25% of the patients with the polymorphism). Positive results were found in 15 situations when genes were analyzed in a group of three; the most significant result corresponding to the polymorphisms of the genes *p53*, *Er β* e *GSTM1* with 20% of the patients carrying these polymorphisms; *PROGINS*, *Er β* e *GSTM1* with 18% and *p53*, *Er β* e *PROGINS* with 12%. The results support the idea that the presence of polymorphisms in more than one endometriosis-related gene can lead to the onset of the disease and its progression. Studies should aim at these genes in order to understand the relationship among them more clearly and the possibility of developing new diagnostic techniques based on molecular markers of these genes.

Keywords: Polymorphism; *p53*; Estrogen Receptor β ; Progesterone receptor; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*; Endometriosis.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Sistema Genital Feminino

1.1.1 Definição e embriologia do sistema genital feminino

O sistema genital feminino caracteriza-se como um agrupamento de órgãos com função de reprodução ⁽¹⁾, produção de células sexuais femininas, recepção dos espermatozoides, nutrição e desenvolvimento do novo indivíduo, além da produção de hormônios sexuais. ⁽²⁾.

Os órgãos reprodutivos femininos originam-se a partir do ducto paramesonérfico. A ausência de testosterona e de fatores anti-müllerianos leva ao desenvolvimento do útero, tubas uterinas e vagina no embrião, através da transformação do ducto paramesonérfico. O tubérculo genital se torna a glândula do clitóris, as dobras urogenitais formam os pequenos lábios enquanto as dobras labioescrotais formam os grandes lábios ⁽³⁾.

1.1.2 Anatomia dos órgãos genitais femininos

Os principais órgãos que formam o sistema genital feminino compreendem: as gônadas produtoras de gametas e recebem a denominação de ovário; os sistemas de condução dos gametas, representados pelas tubas uterinas; o útero, responsável por abrigar o novo indivíduo; o órgão copulador (vagina); órgãos eréteis (clitóris), glândulas anexas e o pudendo feminino ^(1, 2).

1.1.2.1 O peritônio na cavidade pélvica

Os principais órgãos do sistema reprodutor feminino – os ovários, as tubas e o útero – estão localizados na cavidade peritoneal, entre a bexiga e o reto. O peritônio reveste o útero e sua extensão forma o ligamento largo do útero, dividindo assim, a cavidade pélvica em escavação pélvico-uterina (anterior) e escavação reto-uterina (posterior). As tubas uterinas também estão envolvidas pelo ligamento largo do útero. Os ovários estão localizados na parte

posterior desse ligamento, são fixados por uma prega chamada de mesovário ⁽²⁾, a qual é formada por uma dobra da membrana peritoneal ⁽³⁾. Esses órgãos são mantidos fixos pelos ligamentos largo e redondo do útero nessa conformação, de acordo com o mostrado pela figura 1.

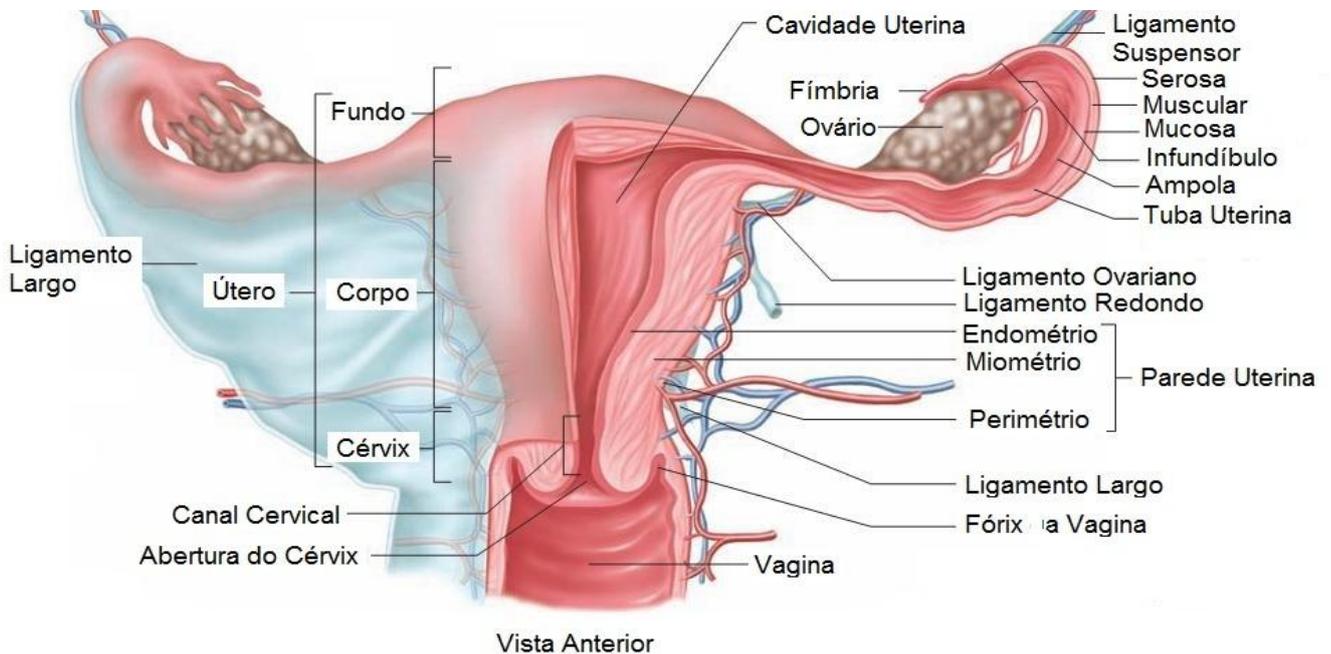


Figura 1 – Sistema genital feminino mostrando o útero, as tubas uterinas, os ovários e seus ligamentos de sustentação. A figura mostra a relação anômica entre os principais órgãos que formam o sistema genital feminino e sua fixação na cavidade peritoneal⁽²⁾.

1.1.2.2 A anatomia uterina

O útero é um órgão musculoso e apresenta-se de forma semelhante a uma pera na posição invertida ⁽¹⁾. Em média, o útero apresenta cerca de 7,5 cm de comprimento, 5,0 cm de largura ⁽²⁾ e 2,5 cm de espessura, dependendo do estado fisiológico da mulher ⁽³⁾. O corpo do útero se comunica com as tubas uterinas e está localizado na parte anteroposterior; o fundo do útero corresponde à sua parte mais superior; o istmo uterino é formado pelo estreitamento do corpo, está localizado na parte inferior e se comunica imediatamente ao corpo do útero; o colo do útero é a região cilíndrica onde o istmo se comunica com a vagina através do óstio do útero (figura 1). A estrutura uterina pode variar em tamanho, forma e até posição, dependendo de

aspectos como o estado fisiológico, a idade, o volume da bexiga e a atividade retal, além de estados gestacionais ^(1, 2).

O útero apresenta uma camada interna denominada endométrio e caracterizada como uma membrana mucosa de epitélio colunar que responde a estímulos hormonais. O endométrio é revestido por glândulas tubulares e seu estroma está repleto de células de defesa (leucócitos e macrófagos). A camada média – o miométrio – é composta por fibras de musculatura lisa e constitui mais de cinquenta por cento da parede do útero, conferindo a maior camada de músculo liso do corpo humano. A contração do miométrio é importante na hora do parto, auxiliando na liberação da criança ^(1, 3). Essa camada intermediária do útero é menos muscular próximo ao colo uterino, e esse último é praticamente todo formado por fibras de colágeno, o que auxilia na dilatação para a passagem do bebê. A camada mais externa é chamada de perimétrio e é formada por uma serosa proveniente do peritônio visceral ^(3, 4). O endométrio é dividido em zona funcional, correspondente à camada mais próxima da cavidade uterina, e em zona basal, correspondente à região adjacente ao miométrio ⁽⁵⁾.

A luz uterina tem formato triangular, com dois vértices na posição superior que se abrem nas tubas uterinas. Na região inferior há uma comunicação com o canal vaginal através do colo uterino, onde existem glândulas mucosas que auxiliam na proteção do útero contra micro-organismos que porventura estejam no canal vaginal ⁽³⁾.

Os principais ligamentos de sustentação uterina correspondem ao ligamento largo do útero, o ligamento redondo e os ligamentos útero-sacrais. Essas estruturas atuam no sentido de estabilizar a posição uterina e limitar a sua capacidade de movimentação. O ligamento largo fixa as margens laterais do útero à parede pélvica; o ligamento redondo parte da região lateral do útero, logo abaixo da comunicação com o istmo e segue pelos canais inguinais até os grandes lábios. Esse ligamento restringe os movimentos na região posterior, mantendo assim, o útero na posição antrovertida; os ligamentos útero-sacrais ligam as paredes laterais uterinas à face anterior do sacro ⁽²⁾, impedindo movimentos na região ântero-inferior; o colo do útero e a parte superior do canal vaginal são sustentados pelo ligamento cervical lateral, que se fixa nas paredes pélvicas, impedindo movimentos em direção às regiões mais inferiores

(3, 5). Em condições normais, a massa do útero pode variar entre 50 e 100 g. A posição normal do útero é de anteflexão, projetando-se anteriormente sobre sua base e cobrindo a superfície pósterio-superior da bexiga urinária. A massa e o formato do útero – juntamente com os ligamentos que o sustentam – são responsáveis pela manutenção do órgão nessa mesma posição pélvica, limitando sua capacidade de movimento (5).

O útero é irrigado por ramos da artéria uterina, a qual parte das artérias ilíacas internas e também por ramos das artérias ovarianas, provenientes da aorta abdominal. A artéria uterina atinge o útero percorrendo medialmente a base do ligamento largo, sobe pela margem lateral do útero, seguindo o ligamento largo e se anastomosa com a artéria ovariana. As artérias no útero estão interconectadas de tal forma que garantem um fluxo sanguíneo independente de sua posição e forma, durante a gravidez (figura 2).

No interior do útero, os ramos da artéria uterina formam as artérias arqueadas que circulam o miométrio. As artérias radiais e as artérias retas irrigam o estrato basal, levam o suprimento necessário à regeneração da camada funcional do endométrio após a menstruação. As artérias espiraladas irrigam a zona funcional, elas sofrem profundas alterações durante o ciclo menstrual (5, 6, 7) (figura 2). O sistema de veias no útero segue o sistema de artérias e estabelece o retorno sanguíneo através da veia ilíaca interna (6).

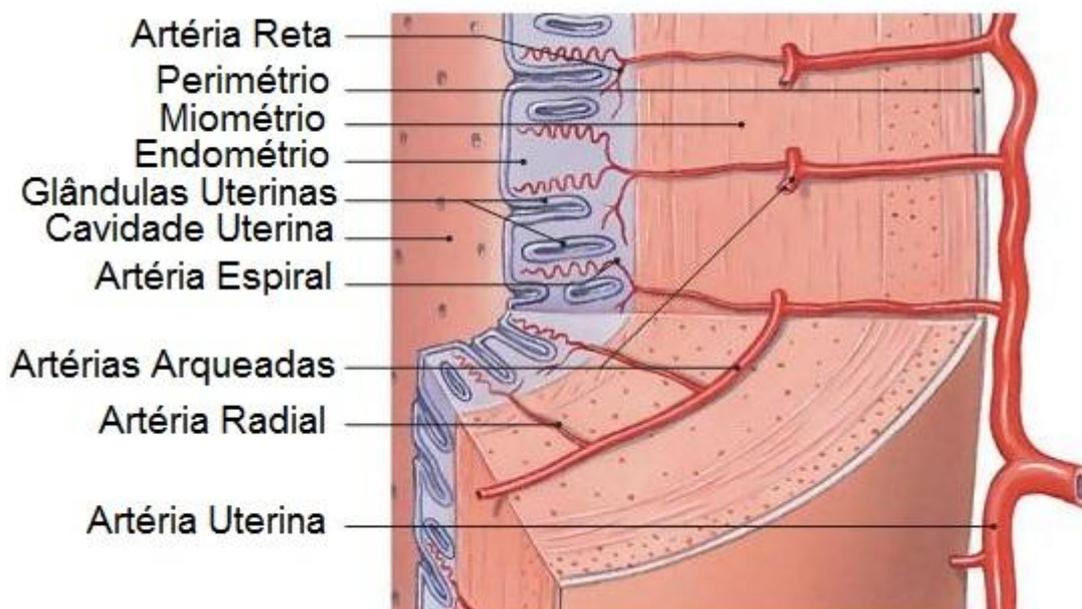


Figura 2 – Secção da parede uterina evidenciando a irrigação do endométrio (5).

1.1.2.3 A anatomia do ovário

Os ovários têm aproximadamente de 2,0 a 3,5 cm de comprimento; 1,0 a 1,5 cm de largura ⁽²⁾ e 1,0 cm de espessura ⁽³⁾. A massa do ovário é em geral entre 6 e 8 g ⁽⁵⁾. São as gônadas responsáveis pela produção dos gametas, chamados de ovócitos secundários. Estas estruturas também são responsáveis pela produção de hormônios que controlam o desenvolvimento de características sexuais secundárias, além de auxiliarem o processo de nidação que ocorre no útero ⁽²⁾.

Estão localizados na fossa ovariana – região em forma de depressão na parede posterior da pelve ⁽³⁾ – próximo ao local de fixação do ligamento largo do útero à parede pélvica ⁽⁴⁾. Os ovários estão fixos pela ação de dois ligamentos principais. O ligamento suspensor do ovário se expande de cada ovário até as paredes da cavidade abdominal, se estende da fáscia do músculo psoas maior à extremidade tubal do ovário. Já, o ligamento próprio do ovário fixa o órgão medialmente na margem superior do útero, logo abaixo da implantação da base da tuba uterina (Fig. 1) ^(2, 3). Fibras de músculo liso no interior do ligamento suspensor e do mesovário contraem-se no momento da ovulação para que o ovário se aproxime da abertura das tubas uterinas ⁽⁸⁾.

O ovário é envolvido por uma cápsula ou túnica albugínea, esta é circundada por um epitélio cuboide simples contínua com o mesovário ⁽⁷⁾. Seu interior é formado pelo córtex – onde as células germinativas desenvolvem-se – e pela medula – ocupada principalmente por artérias e veias ⁽³⁾. A irrigação ovariana é feita pelas artérias ovarianas que partem da aorta abdominal ao nível da primeira vértebra lombar. As veias ovarianas drenam o sangue lançando-o na veia cava inferior, no lado direito do corpo e na veia renal esquerda ⁽⁶⁾. Os vasos sanguíneos penetram (ou saem) do ovário através de uma região específica chamada de hilo ⁽⁷⁾.

1.1.2.4 A anatomia das tubas uterinas

As tubas uterinas associam-se aos ovários e estendem-se ao longo da margem superior do ligamento largo, região conhecida como mesossalpinge ⁽³⁾

(Fig. 1). A abertura das tubas, na extremidade próxima ao ovário, recebe o ovócito secundário através do infundíbulo que é cercado por fímbrias. Não há contato físico entre fímbrias e ovário ⁽⁵⁾. A superfície interna do oviduto é recoberta por uma membrana mucosa, uma camada muscular e uma serosa ⁽⁸⁾. A mucosa é ciliada, e juntamente com a contração muscular, auxilia na corrente fluídica responsável pelo transporte do ovócito ou mesmo do embrião ao longo da tuba e em direção ao ovário. Do infundíbulo segue a ampola, que compreende a maior parte da tuba com cerca de 7,5 a 8,0 cm ⁽²⁾. Próximo ao útero, a ampola forma uma região mais estreita (denominada istmo) que se comunica com a parede uterina. A espessura das camadas de músculo liso que formam essas estruturas aumenta com a proximidade do útero ⁽⁵⁾. O segmento da tuba que penetra a parede uterina é a parte intramural ⁽⁶⁾.

Outra função das tubas uterinas é a de servir como um meio rico em nutrientes (glicoproteínas e lipídios) tanto para o espermatozoide quanto para o pré-embrião. O epitélio que reveste a superfície interna das tubas também contém as células *peg* (desprovidas de cílios) e células secretoras de muco. As células *peg* se projetam para o lúmen das tubas e secretam fluidos que completam a capacitação de espermatozoides, além de fornecerem nutrientes para os gametas e para o zigoto em desenvolvimento ⁽⁵⁾.

A irrigação sanguínea é feita através das artérias uterinas (proveniente da artéria ilíaca interna) e ovarianas (proveniente da aorta abdominal). As veias que drenam o órgão são as correspondentes a essas mesmas artérias ⁽⁶⁾.

1.1.3 Fisiologia do sistema genital feminino

1.1.3.1 Ovulação

Os folículos ovarianos são ovócitos em vários estágios de desenvolvimento ⁽⁹⁾. No desenvolvimento do feto feminino, ovogônias sofrem mitose para produzir mais ovogônias, e estas por meiose formarão ovócitos primários. Essas células são envolvidas por células epiteliais foliculares, formando os folículos primordiais. A maturação em folículo secundário ocorre com a formação do antro, uma região central preenchida por fluidos, e o

consequente aumento do seu tamanho. O folículo maduro também pode ser chamado de folículo de Graaf ou folículo primordial (Fig. 3). Ele atua como uma glândula endócrina ao secretar estrógeno, uma vez que o ovócito secundário está pronto para ser lançado na tuba uterina.

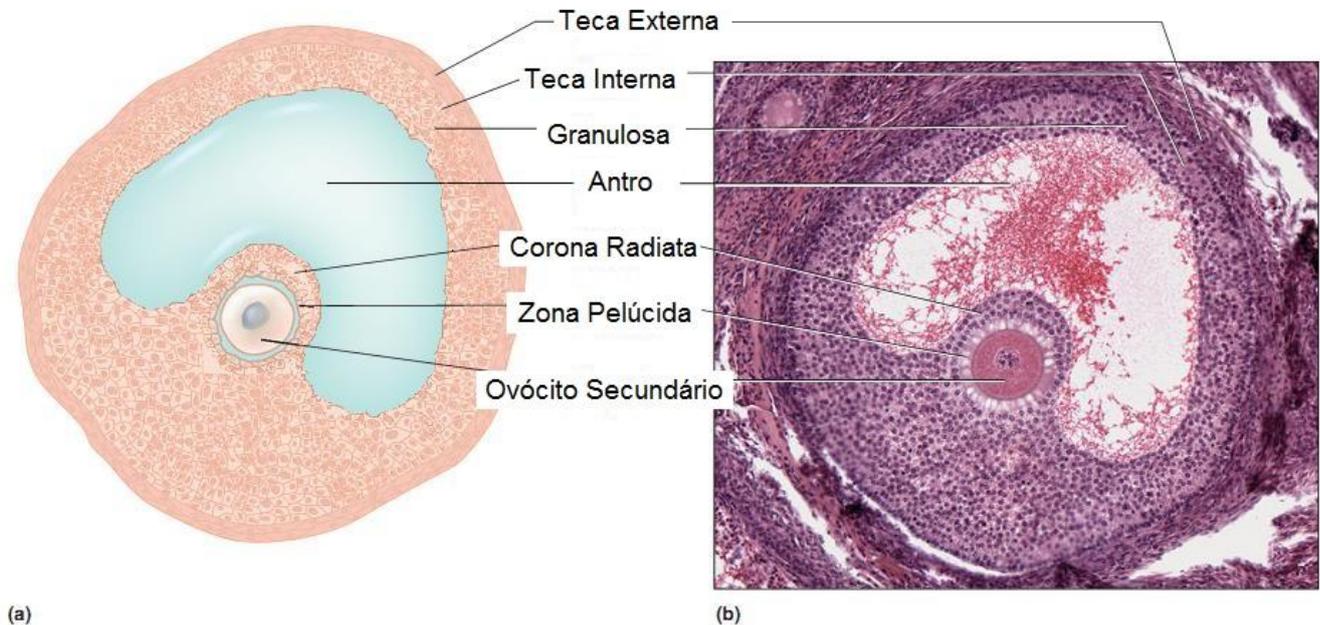


Figura 3 – Esquema do folículo ovariano. (a) Estrutura do folículo ovariano maduro evidenciando suas principais estruturas. (b) Microscopia de luz do folículo ovariano maduro 250X ⁽¹⁰⁾.

O gameta feminino é protegido pela zona pelúcida e pela corona radiata – formada pela camada de células foliculares que ficaram aderidas ao ovócito ^(9, 10). Após a ovulação o folículo se torna o corpo lúteo ou amarelo, responsável pela produção e secreção de estrógeno, progesterona, relaxina (amolecimento nas articulações pélvicas) e inibina (retro-inibição do FSH). Ele posteriormente formará o corpo *albicans* (branco) ⁽¹¹⁾.

1.1.3.2 Ciclo menstrual

Na adolescência, o hipotálamo começa a secretar quantidades maiores de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), que estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Assim, na puberdade o ovário é estimulado quando a hipófise secreta (FSH), a primeira reação dessa gônada é o aumento de seu volume e

tamanho ⁽¹⁰⁾. O ciclo menstrual pode ser dividido em pelo menos três fases principais: a menstrual, a fase pré-ovulatória ou proliferativa e a fase pós-ovulatória ou secretória. E de forma geral, a menstruação é caracterizada pela eliminação da parte superficial do endométrio caso não haja fertilização, e ocorre devido às mudanças nos níveis hormonais ⁽⁹⁾.

Na primeira metade do ciclo ocorre a fase menstrual e a fase pré-ovulatória, as duas juntas são denominadas de fase folicular, na qual o folículo ovariano sofre amadurecimento ⁽¹¹⁾. Nesse período há eliminação da camada superficial do endométrio, juntamente com vasos sanguíneos, fluido tecidual, muco e células epiteliais. O sangramento pode durar até cinco dias, e os produtos da menstruação são eliminados através do canal vaginal ⁽⁹⁾. Durante essa fase, no ovário os folículos primordiais iniciam seu desenvolvimento, e atuam na produção de estrógenos, o ovócito aumenta de tamanho, as células foliculares sofrem mitose originando um epitélio estratificado chamado de granulosa.

Uma camada de glicoproteínas, a zona pelúcida começa a ser formada ao redor do ovócito, separando-o da granulosa. As células externas ao folículo primordial se organizam em camadas, uma mais externa e fibrosa chamada de teca externa. A camada mais interna é vascular, formada por células secretoras e denominada teca interna. A proliferação das células foliculares formam cavidades ou espaços entre as camadas celulares. Os espaços se agrupam em uma única cavidade – o antro – que pressiona o ovócito em um dos lados do folículo primordial ⁽¹⁰⁾. No final dessa etapa, cerca de 20 desses folículos primordiais desenvolvem-se em folículos secundários que apresentam maior volume devido à secreção de fluidos. Apesar de vários folículos terem iniciado seu desenvolvimento apenas um atinge os estágios finais, sendo que os outros sofrem morte celular ou atresia ⁽⁹⁾. Enquanto o folículo dominante amadurece, o estrogênio liberado inibe por *feedback* negativo a secreção de LH pela hipófise. Estrógenos também fazem com que a hipófise se torne mais sensível à ação do GnRH que é liberado em pulsos constantes ⁽¹⁰⁾.

Na fase proliferativa um dos folículos secundários sofre maturação e torna-se um folículo de Graaf, o qual contém o ovócito secundário pronto para ser liberado na tuba uterina durante a ovulação, caracterizada justamente pela ruptura do folículo de Graaf. É nesse período que ocorre um aumento

progressivo dos níveis de estrógeno produzido pelos folículos, promovendo, assim, o aumento da espessura do endométrio que se prepara para possivelmente receber um embrião. Na metade do ciclo a hipófise responde ao GnRH e libera o LH, que até então estava sendo armazenado na glândula. Esse aumento brusco na concentração sanguínea de LH dura cerca de 36 horas, e promove a ruptura da parede folicular. A segunda metade do ciclo é caracterizada pela ovulação e fase pós-ovulatória, denominada fase lútea ^(10, 11). Após a ovulação o remanescente do folículo rompido, é preenchido com sangue formando um coágulo (e passa a ser chamado de corpo hemorrágico). O coágulo é absorvido aos poucos pelas células foliculares que permaneceram intactas, e são essas células, juntamente com as células da teca que desenvolvem o corpo lúteo, através da ação do LH ^(9, 10).

Se não houver implantação, os níveis de estrógeno e progesterona provenientes do corpo lúteo inibe o hormônio liberador de gonadotrofinas no hipotálamo, inibindo conseqüentemente a liberação de LH, e também de FSH pela hipófise. Dessa forma, nenhum outro folículo será estimulado enquanto o corpo lúteo estiver ativo. O resultado dessa inibição por *feedback* negativo é a degeneração do corpo lúteo (aproximadamente no 24º dia do ciclo) e formação do corpo *albicans*, responsável pelo início de outro ciclo menstrual, se não houver fertilização. Com a degeneração do corpo lúteo, a concentração de estrógeno e progesterona decai, o que provoca vasoconstrição do endométrio, diminuição dos níveis de O₂ e nutrientes disponíveis. Capilares danificados promovem um fluxo sanguíneo que caracteriza a menstruação, com eliminação da camada mais superficial do endométrio e vasos sanguíneos. Esse processo se inicia aproximadamente no 28º dia e dura cerca de cinco dias, ou enquanto os níveis de estrógenos estiverem baixos.

Caso haja implantação o corpo lúteo continua a secretar estrógeno e progesterona por aproximadamente quatro meses, sendo mantido pela gonadotrofina coriônica, hormônio produzido pela placenta que está em formação. Assim que a placenta estiver completamente formada, ela passará a secretar estrógeno e progesterona, o primeiro hormônio para auxiliar na manutenção da gravidez e o segundo além de manter a gravidez promoverá o desenvolvimento das glândulas mamárias para produção de leite ^(9, 10).

Durante a primeira metade do ciclo menstrual, as células foliculares liberam progesterona em níveis discretos. Na segunda metade do ciclo, as células do corpo lúteo secretam grande quantidade de progesterona, aumentando a sua concentração no sangue. A progesterona estimula o aumento do número de vasos sanguíneos e de glândulas no endométrio, estimula as glândulas uterinas a secretarem mais glicogênio e lipídios, favorecendo o ambiente uterino para uma possível implantação do embrião ⁽¹⁰⁾.

1.1.3.3 Controle hormonal das funções reprodutivas

O desenvolvimento das funções sexuais femininas é mantido pelo hipotálamo, pela hipófise anterior e pelos ovários. Os hormônios liberados por essas estruturas controlam o amadurecimento das células sexuais femininas, o desenvolvimento das características sexuais e as mudanças ocorridas durante as diferentes fases do ciclo reprodutivo ⁽¹⁰⁾.

A partir, aproximadamente, dos 10 anos de idade, o hipotálamo passa a secretar quantidades crescentes de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Isso promove a liberação de FSH e LH pela hipófise anterior; essas substâncias atuam na maturação das células sexuais e reprodutivas, além de controlarem a produção e secreção dos hormônios sexuais (estrógeno e progesterona). O FSH estimula a maturação dos folículos ovarianos, dessa forma, as células da granulosa produzem quantidades crescentes de estrógenos e certa quantidade de progesterona. O LH estimula as células da teca interna a secretar substâncias precursoras de estrógenos, como a testosterona ⁽¹⁰⁾.

Em mulheres que não estão grávidas, os ovários são responsáveis pela produção do estrogênio. Na puberdade, através do estímulo imputado pela hipófise, os ovários passam a secretar quantidades crescentes de estrógenos. Eles são responsáveis pelo aumento de tamanho do útero, das tubas, dos ovários e desenvolvimento da genitália, estimulam o aumento da espessura do endométrio e também das características sexuais secundárias na mulher (o desenvolvimento dos seios e das glândulas mamárias, aumento da

vascularização da pele e aumento da deposição de tecido adiposo em regiões específicas como seios, quadril e coxas) ⁽¹⁰⁾.

Os ovários também são fontes de progesteronas nas mulheres não grávidas. Esse hormônio promove mudanças no útero durante o ciclo reprodutivo, estimula as glândulas mamárias e auxilia no controle da secreção de gonadotrofinas liberadas pela hipófise ⁽¹⁰⁾.

Hormônios sexuais masculinos também afetam o desenvolvimento feminino. Androgênios produzidos pelas glândulas adrenais estimulam o crescimento de pelos pubianos. A formação típica do esqueleto feminino, com características como ombros estreitos e quadril avantajado, é atribuída pela baixa concentração de androgênios ⁽¹⁰⁾.

1.2 Definição da Endometriose

A endometriose apresenta características complexas com fatores genéticos e ambientais contribuindo para a determinação do fenótipo da doença ^(11, 12). Um de seus principais aspectos é a presença ectópica de tecido endometrial fora do útero. A disfunção é benigna, a doença é crônica, depende da liberação de estrógenos e está intimamente relacionada à infertilidade e dor pélvica ^(13, 14). Até o presente momento não existe uma hipótese específica para justificar o crescimento ectópico do tecido endometrial. Inúmeras investigações a cerca dessa desordem ginecológica têm relacionado a sua ocorrência com distúrbios genéticos e imunológicos ⁽¹⁵⁾.

A doença prevalece em mulheres que menstruam – ou seja, em mulheres que ainda estão na idade reprodutiva; está associada a aborto recorrente e infertilidade – aspectos que podem ser explicados pela presença anormal de autoanticorpos ⁽¹⁶⁾. Apesar de ser considerada metastásica benigna, exhibe algumas características de doença maligna como, por exemplo, crescimento agressivo e invasão localizada ⁽¹³⁾.

Uma característica importante da endometriose é o aumento considerável de uma série de substâncias – o próprio fluido peritoneal, células imunitárias como macrófagos e linfócitos, células NK (*natural killer*), células mesoteliais, autoanticorpos, citocinas, fatores de crescimento, moléculas de

adesão, enzimas, hormônios, prostaglandinas, oxigênio reativo, dentre várias outras. Essa enorme quantidade de células e substâncias envolvidas no aparecimento e desenvolvimento da doença coloca em evidência a complexidade da mesma ⁽¹⁷⁾.

1.3 Histórico

As primeiras descrições da endometriose datam de mais de 1500 a.C. através de relatos encontrados em documentos egípcios. Os sintomas descritos são os mesmos que conhecemos atualmente para a doença (dor crônica e alterações menstruais) ⁽¹⁸⁾.

Por volta de 1600 d.C. na Europa, um médico alemão publica um livro com informações sobre um mal que acometia mulheres em idade reprodutiva, causando inflamações com lesões e aderências em órgãos da cavidade pélvica ⁽¹⁹⁾.

Desde a década de 80 sabia-se que os produtos de células endometriais e células do sistema imunológico no fluido peritoneal podiam apresentar efeito tóxico para a função reprodutiva. As principais etapas da reprodução afetadas pela Endometriose correspondem à fase de recepção do ovócito secundário pelas fímbrias das tubas uterinas; mobilidade e sobrevivência de espermatozoides; interação entre gametas feminino e masculino; além de implantação e desenvolvimento do embrião. Alguns desses efeitos tóxicos puderam ser revertidos, ainda naquela década, por tratamento hormonal ⁽¹⁶⁾.

Sampson (1927) divulgou a endometriose como é conhecida nos dias atuais, ao sugerir que a menstruação retrógrada seria a provável etiologia da doença ⁽²⁰⁾.

1.4 Incidência

A endometriose é uma condição ginecológica que acomete cerca de 10 a 15% das mulheres em idade reprodutiva ⁽²¹⁾ e cerca de 40% das mulheres que passam por problemas de infertilidade ⁽²²⁾. A endometriose também afeta de 30-50% das mulheres com sintomas de pré-menopausa ⁽²³⁾. Em número,

esses dados correspondem cerca de 180 milhões de mulheres no mundo todo ⁽²⁴⁾. Em parentes de primeiro grau, o risco de se desenvolver a doença está entre 5 e 8% ⁽²¹⁾; é uma doença progressiva em 40-50% das mulheres afetadas ⁽²⁵⁾. A sua recorrência é observada com frequência após cirurgias ou após o término da terapia com medicamentos, principalmente em mulheres com endometriose moderada a severa ⁽²⁶⁾.

A suscetibilidade da doença pode variar dentro dos diversos tipos de grupos étnicos existentes. Os japoneses e outros asiáticos, por exemplo, apresentam maiores taxas de endometriose do que caucasianos ⁽²⁷⁾. A endometriose é raramente encontrada nos judeus ortodoxos ⁽²⁸⁾.

Para se ter uma ideia, o custo da doença para o governo dos Estados Unidos é de aproximadamente US\$ 2.800,00 dólares por mulher ⁽²⁹⁾. Infelizmente ainda não existem dados disponíveis para estimar o custo de cada paciente com endometriose no Brasil.

1.5 Etiologia

A abundância de hipóteses para explicar a etiologia da endometriose mostra a natureza diversificada da doença ⁽³⁰⁾.

A primeira teoria para explicar o aparecimento da doença – teoria da menstruação retrógrada – defende a disseminação e a implantação ectópica de células endometriais e fragmentos teciduais na cavidade pélvica ⁽¹⁵⁾. De acordo com Sampson (1927) ⁽²⁰⁾ a teoria é apoiada em fatores como a presença tecido endometrial viável no fluido peritoneal ⁽³¹⁾ e a disposição anatômica dos implantes endometriais ⁽³²⁾. A falha nessa teoria corresponde ao fato de que virtualmente todas as mulheres que menstruam apresentam certo grau de menstruação retrógrada ⁽³³⁾. Tem sido sugerido que todas as mulheres apresentem certo grau de endometriose ⁽³⁴⁾. Esse fato é discutido, pois nas mulheres normais, os implantes ectópicos não se desenvolvem, e são eliminados pelas células de defesa do corpo ou por apoptose (processos comuns no final da menstruação, mas alterados em pacientes com endometriose) ⁽¹⁵⁾. A discussão então passa a ser o que leva ao

desenvolvimento e progressão da doença, e a melhor resposta a esse questionamento, até o momento, é a alteração do sistema imunológico.

Os estudos indicam que na endometriose há uma diferença entre as células endometriais eutópicas e ectópicas, e que ambas apresentam diferenças quando comparadas com as células endometriais de mulheres normais. Tanto células endometriais eutópicas quanto ectópicas nas pacientes com endometriose proliferam respondendo a estímulos que deveriam excitar a apoptose. Além disso, sugere-se que as células ectópicas tenham uma vantagem em relação à sobrevivência por serem capazes de produzir estrógenos e fatores de crescimento que exercem efeito tanto parácrino quanto autócrino ⁽³⁵⁾.

Existem também hipóteses de cunho genético para tentar explicar a etiologia da endometriose. Certas pesquisas apontam alterações cromossômicas, perda de heterozigossidade ou desequilíbrios alélicos nas células endometriais ectópicas ⁽³⁶⁾. Estudos e análises em microarrays com DNA de células ectópicas endometriais evidenciaram alterações nas expressões dos genes de enzimas do metabolismo de detoxificação, e também em genes de enzimas envolvidas na progressão do ciclo celular. Esses dados sugerem que mulheres com instabilidade genética nas células endometriais estão mais suscetíveis a toxinas ambientais que poderiam interferir na sobrevivência das células ectópicas ⁽³⁷⁾.

As hipóteses com base imunológica apontam aspectos relevantes ao processo inflamatório como: o aumento na produção de citocinas, nos fatores de crescimento e de angiogênese. Isso provoca o recrutamento de fibroblastos, com maior produção de tecido conjuntivo como resposta homeostática ⁽¹⁵⁾.

Não se pode identificar um único fator que possa explicar a origem da endometriose. Vários fatores se reúnem para que a doença seja caracterizada como uma anomalia complexa e de inúmeras causas. Em primeiro lugar pode ser identificado um componente hereditário. Um dado que pode exemplificar esse fato é a prevalência da doença – seis a nove vezes maior nas mulheres que são parentes de primeiro grau, quando comparadas com a população em geral ⁽³⁸⁾. A prevalência da doença em irmãs de mulheres com endometriose severa é de 15% ⁽¹²⁾. Outros fatores que contribuem para a determinação da doença é a presença de polimorfismos genéticos, exposição a contaminantes

ambientais, anomalias no sistema imunológico e anomalias nas células endometriais.

Algumas pesquisas defendem a teoria da endometriose ser uma neoplasia, iniciada através de uma sequência de mutações genéticas ⁽²¹⁾. A evidência para esses fatos são as disfunções apresentadas por alguns oncogenes, observadas em pacientes com endometriose ⁽³⁹⁾. A patogênese de neoplasias está relacionada com a proliferação de uma célula progenitora que sofreu uma sequência de eventos mutacionais.

Diferentemente de neoplasias nem todos os genes da endometriose precisam ser supressores de tumor para que a doença se estabeleça. Acredita-se que o primeiro passo é a alteração de um gene que confere maior predisposição à adesão e implantação de células endometriais presente na menstruação retrógrada. Esse gene deve estar relacionado ao citoesqueleto das células endometriais ou à adesão celular, como por exemplo, o gene que regula as metaloproteinases e o gene ICAM1 (do inglês *Intercellular Adhesion Molecule 1*), respectivamente.

A segunda etapa está relacionada com genes que controlam a proliferação das células endometriais como o receptor β de estrogênio (*RE β*) e o gene *CYP19* (cytochrome P450, family 19). Além disso, o processo também pode ser influenciado por distúrbios em algum oncogene, como o *p53*, levando a uma proliferação celular incontrolável, efetivando assim, a progressão da doença ⁽²¹⁾.

1.6 Sintomas

Dentre os principais sintomas estão a dismenorreia; dor pélvica que pode ser cíclica ou crônica, variando de paciente para paciente. A dor depende da severidade das lesões. A origem da dor é incerta, mas parece estar ligada à liberação de citocinas e prostaglandinas pelas células endometriais ectópicas (o que leva ao processo de inflamação do local onde está o implante endometrial) ⁽⁴⁰⁾; infertilidade causada principalmente por aderências que prejudicam a condução do ovócito secundário ao longo das tubas e útero ⁽¹¹⁾; muitas pacientes também apresentam dispareunia, principalmente naquelas

com lesões septo vaginal ou no ligamento útero-sacral; disuria; dor durante evacuação; obstrução intestinal ⁽⁴¹⁾.

1.7 Diagnóstico

Novas terapias baseadas em marcadores genéticos associados à endometriose são importantes para desenvolver um diagnóstico mais rápido e preciso, e também identificar pacientes que apresentem alto risco de desenvolver a doença ⁽¹²⁾.

Estudos revelam que há um atraso no diagnóstico correto da doença – cerca de 8 anos no Reino Unido e cerca de 12 anos nos Estados Unidos – a partir do aparecimento dos primeiros sintomas ⁽⁴²⁾. Existe muita divergência na literatura científica; outro estudo, por exemplo, afirma que tanto nos Estados Unidos quanto no Reino Unido, o atraso do diagnóstico seja de aproximadamente 7 anos ⁽⁴³⁾. Uma das causas na demora do diagnóstico é a dificuldade em detectar a patologia no exame pélvico ⁽⁴⁴⁾. Outro ponto importante é a demora do médico em perceber a necessidade de uma cirurgia, e ainda há a questão da demora na realização da cirurgia, principalmente nos hospitais públicos ⁽⁴⁵⁾.

O principal método de diagnóstico é feito por laparoscopia combinada com a confirmação histológica ⁽¹⁴⁾. Diagnósticos não invasivos e promissores podem ser desenvolvidos em um futuro próximo, uma vez que mulheres com endometriose apresentam diferentes expressões de proteínas endometriais quando comparadas com um grupo controle. A análise bidimensional do fluido endometrial ou até peritoneal em gel de eletroforese pode evidenciar essas diferenças nas expressões de proteínas em mulheres normais e em mulheres com endometriose ⁽⁴⁶⁾.

Muitos estudos buscam métodos diferenciados para se chegar a um diagnóstico preciso da doença. A análise genética quantitativa é um exemplo; baseada no princípio de que qualquer região no genoma pode codificar um gene de importância. A análise *sib-pair* (*siblings-pair*), ou análise dos pares de irmãos, é uma das mais utilizadas dentro dos métodos quantitativos. O princípio se baseia no fato de parentes afetados herdarem cópias idênticas de

um alelo que pode estar relacionado à doença. A técnica procura detectar locos polimórficos ligados a genes que possam ser causadores da endometriose. Esses polimorfismos estudados geralmente são marcadores moleculares, como as repetições em *tandem* ⁽⁴⁷⁾. Desde a primeira análise genética quantitativa realizada na endometriose através do método *sib-pair* ⁽⁴⁸⁾, várias regiões foram identificadas mas nenhuma ligação gênica específica foi publicada. Grandes pesquisas foram realizadas, por exemplo, um estudo combinado (Treolar e Kennedy) com 557 famílias e 863 *sib-pairs* relatou que haveria uma ligação gênica significativa de um loco com outros quatro locos ⁽⁴⁹⁾, detalhes não foram revelados por questões da patente comercial. Outro grupo que encontrou resultado significativo foi o da Islândia ⁽⁵⁰⁾, relataram um possível loco em ligação gênica na região 9q19, mas não houve confirmação posterior.

Outro método que pode ser promissor é o *Profiling* de proteína através do uso de um espectômetro de massa especial (SELDI-TOF-MS). A análise de proteínas endometriais através dessa técnica mostrou que diversas proteínas e peptídeos são expressos de forma diferente em grupos de paciente e controle. Isso sugere que uma análise proteômica do endométrio pode ser promissora no diagnóstico da endometriose, o que significa métodos menos invasivos para a paciente ⁽⁵¹⁾.

1.8 Qualidade de vida

As pacientes com endometriose são quase sempre submetidas a um atraso no diagnóstico, considerável redução na qualidade de vida e perda da produtividade no trabalho. A severidade da doença e a dor pélvica crônica são as responsáveis por essas consequências ⁽¹⁴⁾.

1.9 Classificação da Endometriose

Segundo a Sociedade Americana de Fertilidade a endometriose é classificada em quatro subgrupos principais.

Mínima-Leve: estágios I e II

Moderada-Severa: estágios III e IV

Essa classificação reflete diferenças morfológicas e da expressão de genes ⁽⁵²⁾.

1.10 Sistema Imunológico e a sua função na endometriose

O conhecimento a cerca da resposta imune relacionada aos processos inflamatórios observados na endometriose é fundamental para elucidar a etiologia e a patogenia da doença. No entanto, ainda não se sabe ao certo se esses processos inflamatórios são primários – responsáveis pelo início da doença e sua consequente progressão – ou se são efeitos secundários como resposta ao crescimento endometrial na tentativa de restaurar a homeostase ⁽¹⁵⁾.

A deficiência imunitária no que diz respeito à limpeza do fluxo menstrual retrógrado no ambiente peritoneal permite a implantação de células endometriais ectópicas e consequente desenvolvimento da endometriose ⁽⁵³⁾.

1.10.1 Leucócitos

O número de leucócitos no fluido peritoneal de mulheres com endometriose é mais elevado quando comparado com grupo controle. Esse aumento é explicado pela síntese de várias quimiocinas, responsáveis pelo recrutamento e ativação de leucócitos. Esse recrutamento e também a ativação de leucócitos dentro da cavidade peritoneal pode ser amplificada por uma variedade de citocinas ⁽¹⁵⁾.

As quimiocinas podem ser sintetizadas no local de inflamações por leucócitos e por células endoteliais, assim como por células endometriais ectópicas ⁽⁵⁴⁾. Encontrar múltiplas fontes de quimiocinas no útero, pelve e cavidade peritoneal em mulheres normais, não é surpreendente devido à sua função ao longo do ciclo reprodutivo feminino ⁽⁵⁵⁾. Nas mulheres com endometriose, os níveis de quimiocinas estão mais elevados quando comparados com mulheres normais. Dois tipos de quimiocinas principais são encontradas em taxas elevadas nas pacientes com endometriose, a quimiocina- α representada por IL-8 e a quimiocina- β representada pelas

proteínas quimiotáticas de monócitos (MCP) ⁽⁵⁶⁾. Vale ressaltar que alguns estudos relatam que os níveis de IL-8 presente no fluido peritoneal está positivamente correlacionado com a severidade da doença, e os níveis de MCP estão mais elevados tanto fluido peritoneal quanto no sangue periférico ⁽⁵⁷⁾.

Os níveis de linfócitos, assim como de leucócitos, podem estar relacionados com a produção de quimiocinas em locais de inflamação. Um tipo especial de quimiocina, denominada RANTES (do inglês *regulated on activation normal T-expressed and secreted*) pertence ao grupo das quimiocinas- β , e também está elevada no fluido peritoneal de mulheres com endometriose, além de estar positivamente correlacionada com a severidade da doença ⁽⁵⁸⁾. A expressão do gene RANTES no estroma de implantes endometrióticos próximo a macrófagos tem sido relatado e é sugerido que TNF- α provenientes desses macrófagos sejam os responsáveis pela regulação da síntese de mRNA RANTES ⁽⁵⁹⁾.

1.10.2 Linfócitos

O conteúdo de linfócitos no endométrio normal varia de acordo com o ciclo menstrual, mas parece não estar alterado na endometriose ⁽⁶⁰⁾.

Tem sido observada em pacientes com endometriose uma redução na proliferação de linfócitos no sangue periférico em resposta à presença de antígenos e células endometriais. Tem sido sugerido que ocorra diminuição da destruição de células endometriais por que os efeitos citotóxicos de linfócitos do sangue periférico estão diminuídos nas mulheres com endometriose ⁽⁶¹⁾.

1.10.2.1 Linfócitos T

Os linfócitos T são originados de células pluripotentes no fígado e medula óssea amarela no feto. Essas células migram para o timo onde completam o seu desenvolvimento em dois grupos principais que são caracterizados pela expressão das glicoproteínas CD4 e CD8, as quais atuam como receptores do complexo de histocompatibilidade. Os linfócitos T do tipo CD4 são divididos em TH1 e TH2. Enquanto TH1 promove a diferenciação de

CD8 nas células NK (*natural killer cells*) e ativam monócitos e macrófagos, TH2 promove a diferenciação de linfócitos B que atuam na secreção de anticorpos ⁽¹⁵⁾.

Não foram encontradas diferenças significativas nas taxas de linfócitos CD4 e CD8 no sangue periférico de pacientes, no entanto, no fluido peritoneal, um aumento nas taxas e concentrações de CD4 e CD8 foram relatadas. No endométrio eutópico o número total de linfócitos e as taxas de CD4 e CD8 são compatíveis nas pacientes e no grupo controle. No endométrio ectópico o número de linfócitos T encontrados é superior quando comparado ao endométrio eutópico ⁽⁶²⁾.

1.10.2.2 Linfócitos B

Os linfócitos B são precursores de anticorpos, e os do tipo CD5 são responsáveis pela produção de autoanticorpos. Os níveis de CD5 são mais elevados em pessoas que apresentam doenças autoimunes ⁽¹⁵⁾. As primeiras evidências de maior reação de linfócitos B nas pacientes datam de 1980 ⁽⁶²⁾. No mesmo período foi relatado a presença de IgG no endométrio uterino de mulheres com endometriose, o que sugere uma reação antígeno-anticorpo ⁽⁶³⁾. Outros estudos sugerem que esses dados evidenciam o método pelo qual ocorre a limpeza de resíduos menstruais, pois também são encontrados em mulheres férteis ⁽⁶⁴⁾.

Alguns estudos relataram a presença de anticorpos contra proteínas do endométrio como a transferrina (glicoproteína plasmática que transporta o íon ferro), glicoproteína alfa 2 (inibidora de enzimas proteolíticas e função carreadora de hormônios) e anidrases carbônicas (transporte de Gás Carbônico), nas mulheres com endometrioses ⁽⁶⁴⁾. Os estudos recentes aliados ao conhecimento já construído na literatura científica indicam que anomalias imunológicas estão relacionadas a um possível defeito genético ⁽⁶⁵⁾. Certos estudos demonstraram que mulheres com doenças autoimunes e diversas formas de falhas reprodutivas como aborto recorrente apresentam altos níveis de autoanticorpos contra elementos subcelulares, dentre eles anticorpos antinucleares, anti-DNA e antifosfolipídios ⁽⁶⁶⁾. Há indicação de que

autoanticorpos contra fosfolípidos, histonas e nucleotídeos são os principais tipos que estão associados às baixas taxas de gravidez após a aplicação de técnicas fertilização in vitro. Acredita-se que esses autoanticorpos atuem principalmente no processo de nidação do embrião ⁽⁶⁷⁾.

1.10.3 Células do tipo Natural Killer

As células NK (*natural killer cells*) também estão alteradas nas mulheres com endometriose. As células NK são grandes linfócitos granulares que fagocitam células que contenham certas moléculas-alvo, células opsonizadas revestidas por anticorpos ou células anormais. O principal mecanismo usado para a inativação celular é a citotoxicidade através da ação de anticorpos. As células NK apresentam receptores para imunoglobulina G (IgG), e assim, inativam células que apresentam IgG em sua superfície. Outro mecanismo de reconhecimento de potenciais alvos das células NK é através de receptores de ativação (KAR) e receptores de inibição (KIR) NK. Se os receptores de ativação estiverem livres as células NK estão ativas em relação à sua citotoxicidade, e quando os receptores de inativação estão ocupados, não há ação dessas células ⁽¹⁵⁾.

As células NK de mulheres com endometriose apresentam diminuição em sua citotoxicidade quando comparadas com grupos controle. Foi mostrado que no peritônio a citotoxicidade das células NK está inversamente correlacionada com a severidade da doença. Esses fatos sugerem que nessas mulheres haja uma certa facilitação na implantação de tecido endometrial lançado no peritônio pela menstruação retrógrada. O número reduzido de células NK nas pacientes pode ser restaurada através do tratamento com agonistas de GnRH, explicado pela consequente diminuição dos níveis de estradiol ⁽⁶⁸⁾.

Muitos estudos relatam a diminuição da atividade das células NK sobre as células endometriais de mulheres com endometriose, isso sugere maior resistência das células endometriais quanto à citólise estimulada pelas células NK ⁽⁶⁹⁾.

Pesquisas sobre receptores KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*) evidenciam uma hiper-expressão nas pacientes com endometriose, com efeitos mais intensos nos casos mais severos da doença ⁽⁷⁰⁾. Todos esses dados indicam que a alteração imunológica na endometriose está relacionada com alterações das células endometriais. Como as células NK são importantes na eliminação de resíduos menstruais, deficiências nessas células podem contribuir significativamente para o desenvolvimento da endometriose ⁽¹⁵⁾.

1.10.4 Macrófagos e monócitos

O número de macrófagos e monócitos a nível periférico também está alterado nas mulheres com a doença. No caso dos monócitos é o estado de ativação dessas células que está diferente nas pacientes, e não o número de células. No caso dos macrófagos a alteração ocorre tanto no número quanto no seu estado de ativação ⁽⁷¹⁾. O estado de ativação dessas células é crucial por estar relacionado à liberação de seus produtos, tais como fatores de crescimento e citocinas. Esses produtos são responsáveis por estímulos à proliferação de células endometriais, a implantação dessas células, a remodelação tecidual através da ação de metaloproteinases, e do aumento da angiogênese no tecido endometrial ectópico. A diapedese de macrófagos parece estar diminuída no endométrio de mulheres com endometriose e isso está positivamente relacionado com a redução dos níveis de apoptose celular ⁽⁷²⁾.

Estudos com agentes químico-luminescentes mostram que em mulheres com endometriose, os monócitos no sangue periférico estão em maior estado ativacional ⁽⁶⁸⁾. Essas células produzem níveis mais elevados de TNF- α e interleucina IL-6 e IL-8, mas não produzem altos níveis de IL-10 quando comparados com grupo controle ⁽⁷³⁾. Normalmente, macrófagos atingem a cavidade peritoneal por diapedese e removem hemácias, fragmentos teciduais danificados, células ou resto de células que sofreram apoptose e também células endometriais que atingiram o peritônio via tuba uterina. ⁽¹⁵⁾. Nas mulheres com endometriose o número de macrófagos presentes na cavidade peritoneal está significativamente mais elevado, estas células produzem níveis

mais altos de TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10, prostaglandinas (estimulam a contração de músculo liso), PGE2 e PGE2 α do que em mulheres normais. Os macrófagos nas pacientes com endometriose também são fonte de citocinas, fatores de crescimento, moléculas de adesão, enzimas hidrolíticas, radicais de oxigênio reativos. Os monócitos, macrófagos e suas secreções nas mulheres com endometriose estimulam a proliferação *in vitro* das células endometriais eutópicas e ectópicas, além de diminuir os níveis de apoptose dessas células. O efeito contrário é observado quando as células endometriais são co-cultivadas com monócitos e macrófagos provenientes de grupo controle. A fagocitose realizada por macrófagos é essencial para a eliminação dos detritos menstruais na cavidade peritoneal. Essa atividade é garantida por receptores do tipo *scavengers* e regulada por citocinas e fatores de crescimento. Esses receptores também apresentam um importante papel na adesão celular. Quando há macrófagos que não apresentam receptores *scavengers*, eles podem contribuir para a patogenia da endometriose. A citotoxicidade dos macrófagos de pacientes com endometriose estava comprometida, e esse fator deve ser prostaglandina-dependente, uma vez que a citotoxicidade foi restaurada *in vitro* quando substâncias que inibem a síntese de prostaglandinas foram adicionadas (por exemplo, indometacina) ^(15, 71).

1.10.5 Citocinas

As citocinas são moléculas secretadas principalmente através da ativação de leucócitos na cavidade peritoneal, no sangue, sintetizados por células endometriais, células residentes e também pelo mesotélio ⁽⁷⁴⁾. A biossíntese de uma citocina envolve uma cascata de reações bioquímicas. Existem dois tipos principais de citocinas, aquelas baseadas na imunidade celular e relacionadas aos linfócitos T (citocinas tipo 1 ou TH1) e aquelas baseadas na imunidade humoral, relacionadas ao linfócitos B (citocinas tipo 2 ou TH2). A maioria das citocinas pode apresentar mais de um tipo de alvo e também mais do que um único efeito biológico. As diversas funções e efeitos que uma única citocina apresentam contra certo tecido alvo pode ser

amplificada por condições fisiológicas, e com certeza possuem um papel importante na etiologia e patogênese da endometriose ⁽¹⁵⁾.

Não se sabe afirmar se as altas taxas de citocinas e a consequente inflamação em pacientes com endometriose é causa ou resultado da doença. A maioria dos estudos sobre a relação entre citocinas e endometriose descreve a síntese elevada dessas substâncias – tanto tipo 1 quanto tipo 2 – por células imunitárias e células endometriais quando comparado com níveis em mulheres normais ⁽⁷⁵⁾.

Evidências mostram que células endometriais de pacientes com endometriose produzem citocinas para facilitar alguns processos críticos para o estabelecimento da doença. Esses processos são caracterizados por adesão, invasão, angiogênese e crescimento. As citocinas que são mais estudadas na endometriose são IL-1 β , TNF- α e IL-6, os quais são potentes mediadores de processos inflamatórios. As citocinas apresentam efeitos relevantes que levam ao estabelecimento e desenvolvimento do estado patológico, uma vez que apresentam a capacidade de estimular adesão de células endometriais no peritônio *in vitro* ⁽⁷⁶⁾. Citocinas e fatores de crescimento derivados de células imunitárias peritoneal provavelmente regulam o crescimento dos implantes endometriais. Uma enorme variedade de citocinas apresenta a capacidade de recrutar e ativar leucócitos no interior da cavidade peritoneal de pacientes com endometriose, através da ação de quimiocinas ⁽⁷⁵⁾.

Processos de angiogênese nas lesões endometrióticas podem estar relacionados com a expressão da enzima metaloproteinase (MMP), cuja regulação é feita por citocinas. Macrófagos de pacientes com endometriose têm a capacidade de produzir MMP e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) ⁽⁷⁷⁾. Lebovic e colaboradores relataram que IL-1 β aumentou a expressão de VEGF e IL-6 nas lesões de pacientes com a doença, mas não perceberam alteração no endométrio das pacientes no grupo controle. A IL-1 β aumentou a expressão de IL-8, esta é uma citocina com atividade angiogênica na presença de células endometriais tratadas com estradiol ⁽⁷⁸⁾.

Um novo tipo citocina descrita na literatura que contribui para angiogênese é a IL-15, que apresenta também efeito imunomodulador. Essa citocina apresenta-se elevada no fluido peritoneal de pacientes com endometriose ⁽⁷⁹⁾. Paradoxalmente, a quantidade de IL-15 está inversamente

correlacionada com a extensão da doença e profundidade da invasão das lesões. Essa informação sugere que o papel da IL-5 deve ter relevância no estabelecimento dos estágios iniciais da endometriose. No caso das MMP produzido pelos implantes endometrióticos foi encontrado uma relação positiva no que diz respeito à atividade angiogênica e profundidade da invasão ⁽⁸⁰⁾.

O fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) é outra citocina que está em concentrações elevadas no fluido peritoneal de mulheres com endometriose e em mulheres com infertilidade idiopática ⁽⁷⁹⁾.

A IL-6 é uma citocina relacionada à regulação do crescimento celular e à regulação de células imunocompetentes nas respostas inflamatórias, além de contribuir para a formação de autoanticorpos. Essa substância também participa da regulação de esteroides produzidos pelo ovário, regulação da maturação folicular e da implantação do embrião. A função imunológica da IL-6 é a de estimular a diferenciação de linfócitos B em células produtoras de anticorpos. Nas doenças autoimunes a IL-6 está relacionada à estimulação de linfócitos B policlonais. Na endometriose essa interleucina é um importante fator na cascata de citocinas que se relaciona com a doença, estando positivamente correlacionada à severidade da doença ⁽⁷⁵⁾. A IL-6 pode ser suprimida através do tratamento com agonista de GnRH. Laparoscopia, progesterona e danazol também apresentam efeitos inibitórios sobre IL-6, e nesse último caso a inibição pode estar relacionada à ação de supressão de autoanticorpo apresentada pelo danazol ⁽¹⁵⁾.

Em mulheres normais a IL-6 inibe a proliferação de células endometriais atuando como fator inibidor de crescimento endometrial, no entanto, as células endometriais ectópicas apresentam resistência contra essa ação da IL-6. Essa citocina tem efeito embriotóxico e impede a implantação do blastocisto, e esse fato explica alguns casos de pacientes com endometriose associada à infertilidade ⁽⁷⁵⁾.

As concentrações de IL-8 também estão elevadas na endometriose quando comparadas com grupo controle, principalmente na fase severa. Tem sido relatada a produção de IL-8 em quantidades mais elevadas por macrófagos e monócitos de pacientes com endometriose ⁽⁷¹⁾. A IL-8 é normalmente expressa no endométrio uterino e células mesoteliais, sua regulação é feita pela IL-1 e TNF- α ⁽⁷⁹⁾. Essa citocina é um agente angiogênico

que induz o aumento de suprimento sanguíneo nas lesões. A IL-8 também facilita a fixação de células endometriais ectópicas nas regiões peritoneais por que estimula a adesão de células endometriais à fibronectina (proteína de adesão que auxilia as células a aderirem à matriz e tecidos) e estimula a atividade de metalproteinases ⁽⁷⁴⁾.

1.10.6 Resistência imunológica das células endometriais

Espera-se que taxas elevadas de quimiocinas e citocinas na cavidade peritoneal possam eliminar as células endometriais ectópicas. Se porventura ocorre a implantação e o conseqüente desenvolvimento da doença, isso prova que essas células apresentam uma forte tolerância à ação imunológica, e/ou um defeito nas células com ação imunitária. A primeira explicação é sustentada pelo fato de que estudos histológicos mostram que células endometriais ectópicas são capazes de sobreviver mesmo na presença de linfócitos e macrófagos com capacidade fagocitária e também na presença de leucócitos viáveis. Quando se compara células endometriais eutópicas e ectópicas, há maior quantidade de linfócitos T e macrófagos e menor quantidade células NK nas ectópicas ⁽⁸¹⁾.

1.10.7 Efeito da imunossupressão na endometriose

Parece que nos indivíduos com endometriose o sistema imunológico protege o organismo contra antígenos externos de forma normal, em contrapartida, foram relatados com maiores frequências alergias, desordens de origem autoimune e diversos tipos de neoplasia ⁽³⁶⁾.

1.10.7.1 TNF

O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é um tipo de citocina, produto de macrófagos ativos, responsável pela ativação da inflamação leucocitária e produz uma série de outras citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas 1

e 6 (IL-1 e IL-6) ⁽⁸²⁾. Inúmeros estudos mostram que os níveis de TNF- α são mais elevados no fluido peritoneal de pacientes com endometriose ⁽⁵⁴⁾.

TNF- α e IL- β aumentam a adesão de células endometriais à laminina e fibronectina nas pacientes com endometriose. TNF- α também aumenta a aderência ao colágeno. Quando comparado com grupo controle, essas mesmas citocinas aumentam a aderência de células endometriais apenas à fibronectina ⁽⁸²⁾.

Alguns estudos encontraram correlação positiva entre aumento da angiogênese e dos níveis de TNF- α ⁽⁸³⁾.

1.10.7.2 CCL21

O CCL21 (*C-C chemokine receptor type 7* ou receptor 7 da quimiocina C-C) é uma substância química responsável pelo recrutamento de linfócitos que expressam CCR7 e células dendríticas para tecidos linfáticos secundários ⁽⁸⁴⁾. CCL21 também estimula a expansão de células T-ingênuas (células que respondem a novos patógenos) e aumenta a secreção de citocinas Th1, TNF- α e IFN-gama ⁽⁸⁵⁾. A resposta Th1 sugere aumento do processo inflamatório visto em pacientes com endometriose. A expressão endometrial do CCL21 é diferente nas diferentes etapas do ciclo menstrual; e os níveis dessa substância estão elevados quando se compara grupo controle e grupo experimental ⁽⁸⁶⁾.

1.10.7.3 Sistema HLA

Moléculas HLA (Sistema Antígeno Leucocitário Humano) se ligam a antígenos e os apresentam aos linfócitos T e na sequência ocorre a sua diferenciação em linfócito T *helper* (secretor de citocina) ou citotóxico (fagocitário). Células NK também reconhecem moléculas HLA, o que inibe a ação dessas células NK. Quando se compara grupo experimental e grupo controle, pacientes com endometriose apresentam uma redução na ativação das células T ⁽⁸⁷⁾, além de anormalidade na função das células NK, o que aumenta com a severidade da doença. Esses dados servem como evidência

de que certos tipos de HLA devem estar envolvidos nas alterações imunológicas apresentadas por pacientes com endometriose ⁽³⁰⁾.

1.11.7.4 FasR e FASL

As células endometriais ectópicas regulam a expressão das moléculas HLA classe I, e como resultado ocorre o aumento da expressão do alelo HLA-B7 (sorotipo HLA-B), o qual inibe a atividade lítica de células NK. As células endometriais ectópicas também aumentam a expressão de moléculas do ligante FAS (Fasl - *Faz Ligand*). Células que expressam o receptor FAS (FasR - apoptosis antigen 1) sofrem apoptose na presença de células que expressam ligante Fasl. Tanto as células NK quanto os linfócitos T expressam Fasl, no entanto, eles também expressam a proteína FAS. Dessa forma, o ataque por linfócitos T ou células NK pode ser prejudicado e levar a uma inibição da morte celular mediada por células que expressam quantidades elevadas de Fasl ⁽⁷⁴⁾. Além disso, a expressão do Fasl pode ser estimulada por fatores produzidos por macrófagos, encontrados em concentrações altas no fluido peritoneal de pacientes com endometriose ⁽¹⁵⁾.

O tratamento de células endometriais com IL-8 aumentou a expressão de Fasl tornando as células menos sensíveis. Foi demonstrado que certas células endometriais aumentam a expressão de Fasl e se fixam às proteínas da matriz extracelular, fibronectina, laminina (rede proteica que organiza matriz extracelular) e colágeno tipo IV (presente na lâmina basal) ⁽⁷⁴⁾. Também foi relatado que os níveis de Fasl foram mais elevados em células do endométrio eutópico de mulheres com endometriose em comparação com mulheres normais. A evidência de aumento dos níveis de Fasl no sangue periférico e no fluido peritoneal foi confirmada, além disso, este efeito foi mais intenso em mulheres com endometriose de moderada a grave ^(15, 74).

1.10.7.5 COX

A enzima cicloxigenase (COX) é uma enzima relacionada aos processos de regulação de prostaglandinas, e suas concentrações estão elevadas nas

mulheres com endometriose ⁽⁸⁸⁾. Já foi confirmado em pesquisas científicas que dois principais tipos de COX são sintetizadas por macrófagos de pacientes com endometriose, principalmente naquelas com as formas mais severas da doença ⁽⁸⁸⁾. Quantidades elevadas de COX-2 são apresentadas por tanto células endometriais eutópicas quanto ectópicas na endometriose. Certos tipos de prostaglandinas ativam a aromatase P450, que é a enzima responsável pela biossíntese de estrógenos e é expressa pelas células endometriais ⁽¹⁵⁾. Inibidores da COX-2 e inibidores da aromatase reduzem a produção local de estrógenos, o que pode auxiliar na regressão da doença ⁽⁸⁸⁾.

1.10.8 Endometriose e outras doenças imunes

Existem alterações nas ações de linfócitos-B e aumento da incidência de autoanticorpos em mulheres com endometriose: dano tecidual, ativação de linfócitos B policlonais, anormalidades imunológicas das células T e B, preponderância no sexo feminino, envolvimento de vários órgãos, histórico genético-familiar, relação com fatores ambientais, base genética, níveis elevados de citocinas, alteração dos níveis de apoptose ⁽¹⁶⁾.

Para uma doença ser considerada autoimune ela deve se manifestar em animais após a transferência de imunoglobulinas específicas do sangue ou de tecidos afetados de pacientes com a respectiva doença ⁽¹⁶⁾.

Mulheres com endometriose também apresentam maior frequência de autoanticorpos contra tecidos e órgãos, por exemplo, anticorpos antiendometrial, antiendotelial e antiovariano. A produção de diferentes tipos de autoanticorpos indica ativação policlonal de células B e é uma sugestão de que a doença seja autoimune ⁽⁶⁴⁾. Considerando que a endometriose é uma doença autoimune ainda é necessário confirmar se os autoanticorpos produzidos em maior quantidade se relacionam à perda de autotolerância ou ao aumento da sensibilidade a novos determinantes antigênicos antes não expressos. Se a primeira explicação é verdadeira, a perda da autotolerância resulta na sobrevivência de linfócitos T CD4 específicos contra autoantígenos, devido à perda de supressores de linfócitos T ou exposição a hiperestimuladores de linfócitos B. E, se a segunda explicação for verdadeira, o epítopo pode

representar moléculas alteradas ou antígenos semelhantes àqueles endometriais. De qualquer forma, em ambos os casos a exposição a xenobióticos pode facilitar esses processos ⁽¹⁵⁾.

1.10.9 Uso de imunomoduladores

São usados para tratamento de doenças autoimunes; é considerada uma terapia alternativa em potencial para se tratar endometriose. Uma das vantagens do uso de imunomoduladores é que esses medicamentos não são à base de hormônios, tendo maior probabilidade de não causar desequilíbrios hormonais nas pacientes. A atuação dessas drogas é aumentar a resposta imunológica estimulando ação de células NK, citocinas e interleucinas. Exemplo de imunomodulador: Pentoxifilina ⁽¹⁶⁾.

1.11 Ação das moléculas de adesão no estabelecimento da doença

1.11.1 Adesão

As moléculas de adesão apresentam papel muito importante nos estágios iniciais do desenvolvimento da doença. Assim que células endometriais se aderem ao peritônio ou outras superfícies pélvicas, o próximo passo é a invasão do tecido em suas camadas mais profundas. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que a endometriose é uma doença invasiva ⁽⁸²⁾.

1.11.2 Invasão tecidual

Metaloproteinases (MMP) são produzidas por tecido endometrial ⁽⁸⁹⁾. Mulheres com endometriose expressam altos níveis de metaloproteinases quando comparadas com grupos controle. MMP é regulada por TNF- α e IL-1 β ⁽⁸²⁾.

Estudos mostram que a expressão de MMP está diretamente relacionada com a habilidade do tecido se desenvolver em lesões ectópicas.

Se a expressão dessas proteinases for bloqueada por tratamento com progesterona ou com outros inibidores de MMP específicos, o desenvolvimento da endometriose é suprimido. A adesão e a invasão de células endometriais em outros tecidos podem ser estimulada por TNF- α , pois esses fatores de necrose tumoral estimulam a expressão de MMP ⁽⁹⁰⁾.

1.11.3 T-plastina

A T-plastina é uma proteína citoplasmática que regula a formação de actina e conseqüentemente se relaciona com a mobilidade celular e também com a manutenção do formato celular ⁽⁹¹⁾. Na fase secretória do ciclo menstrual essa proteína está em concentração maior nas mulheres com endometriose quando comparadas com grupo controle. Estudos mostram que fibroblastos que apresentam quantidades excessivas de T-plastina demonstraram ter mobilidade também excessiva além de uma arquitetura celular alterada ⁽¹³⁾. Dessa forma, acredita-se que a T-plastina tenha uma papel importante no desenvolvimento dessas alterações estruturais, as quais podem influenciar na implantação de células endometriais fora do útero ⁽⁹¹⁾.

1.11.4 Anexina V

A anexina V é outra proteína expressa durante a fase secretória do ciclo menstrual. Essa proteína é cálcio-dependente e ligante de fosfolipídios. Mulheres com endometriose de leve à moderada apresentam níveis elevados de anexina V quando comparadas com grupo controle. Sua relação com a endometriose ainda é incerta, mas é uma proteína ativa em pacientes com câncer, onde é expressa exclusivamente na periferia de tumores invasivos sugerindo importante papel na proliferação e mobilidade celular além de poder invasivo e metastásico ⁽⁹²⁾. Acredita-se que a anexina exerça um importante papel na fixação de células endometriais na parede peritoneal ⁽¹³⁾.

1.12 Morte celular programada

Anormalidades nos processos apoptóticos são processos importantes nas doenças autoimunes. As alterações na apoptose permitem que o tecido endometrial tenha mais chance de escapar da morte celular. As células presentes na menstruação retrógrada são lançadas nas tubas e então na cavidade peritoneal apresentam uma população de células viáveis no sentido de sofrerem o processo de implantação e iniciarem lesões ectópicas ⁽¹⁶⁾.

O processo de apoptose está diminuído no endométrio eutópico e ectópico nas mulheres com endometriose ⁽¹⁵⁾.

1.13 Xenobióticos

Os xenobióticos são substâncias estranhas a determinado organismo. Em experimentos com macacos *Rhesus*, pesquisadores mostraram que quando esses animais foram tratados com bifenil-policlorados desenvolveram formas mais agressivas de endometriose, o que resultou em lesões na bexiga, obstrução intestinal e morte. Efeitos semelhantes apareceram em *Rhesus* que receberam dosagens de dioxina durante um estudo toxicológico controlado ⁽⁹³⁾. Tanto o primeiro composto químico citado quanto o segundo fazem parte da família dos organoclorados. Estas substâncias são poluentes encontrados no meio ambiente e considerados imunotóxicos. As evidências mostram que o prejuízo causado ao sistema imunológico pela radiação, bifenil-policlorados e dioxina, pode facilitar a implantação de células endometriais, e posterior evolução da doença. Certos estudos afirmam ter encontrado maiores taxas de bifenil-policlorados no sangue periférico de pacientes com endometriose ^(15, 94). Além disso, uma evidência muito importante é a de que o país com mais alta taxa de endometriose no mundo é a Bélgica, este país também é o que tem níveis de poluição por dioxina mais alto no mundo ⁽⁹⁴⁾.

Pesquisas apontam que a dioxina estimula a produção de TNF- α , e também relatam que anticorpos anti-TNF- α têm a capacidade de anular os efeitos tóxicos da dioxina ⁽⁹⁵⁾. Sabe-se que a produção elevada de TNF- α e respostas anormais do endométrio a essa mesma citocina são uma evidência da endometriose ⁽⁷³⁾. Tendo esses fatos em mente, é possível que o xenobiótico dioxina altere os níveis de TNF- α e também a produção de outras

citocinas inflamatórias. A dioxina também está relacionada ao desenvolvimento da endometriose ao estimular a expressão de metaloproteinases ou mesmo aumentar a expressão do citocromo P-450 ⁽⁹⁵⁾.

Polimorfismos genéticos nos genes que codificam enzimas metabólicas de detoxificação estão associados ao risco de endometriose. Assim, mulheres que apresentam redução na atividade nessas enzimas provavelmente têm maior sensibilidade à dioxina ou outros poluentes ⁽⁹⁶⁾.

1.14 Tratamento

Considerando que as células endometriais na endometriose apresentam resistência à apoptose e à destruição celular promovida pelo sistema imunológico – além de serem capazes de explorar o ambiente peritoneal para a implantação e desenvolvimento – é razoável direcionar terapias que afetem esses aspectos da doença.

Antigamente, o tratamento primário da endometriose era cirúrgico, com a intenção de remover as lesões. Atualmente, o tratamento primário é feito com base em compostos que induzem um ambiente hipoestrogênico (semelhante ao estado fisiológico de grávidas e lactantes), o que causa regressão da doença, e conseqüentemente dos sintomas ⁽¹⁶⁾. O tratamento da endometriose consiste basicamente em aliviar os sintomas, principalmente a dor. O tratamento medicamentoso pode trazer muitos prejuízos devido aos efeitos colaterais ⁽⁹⁷⁾, e por si só, não é completamente satisfatório. Pesquisas mostraram que após o tratamento com agonistas do GnRH pacientes ainda mostravam implantes residuais persistentes ⁽⁹⁸⁾. Uma combinação de tratamento medicamentoso e cirurgia parece ser o melhor tratamento até o momento em relação ao desaparecimento da dor pélvica ⁽⁹⁹⁾, por exemplo, laparoscopia na endometriose leve a moderada, melhora efetivamente as taxas de gravidez ⁽¹⁰⁰⁾.

1.14.1 Tratamento cirúrgico

O tratamento cirúrgico é recomendado nos casos mais severos da doença, quando a paciente apresentam grandes endometriomas, distorções anatômicas das estruturas pélvicas ou até adesões pélvicas. A desvantagem dos processos cirúrgicos em relação à endometriose diz respeito a essa doença ser microscópica, assim nem todas as lesões e implantes devem estar visíveis a olho nu. Dessa forma o tratamento cirúrgico deve ser acompanhado por tratamento medicamentoso ⁽¹⁶⁾.

A laparoscopia é o método padrão da terapia cirúrgica, e o cirurgião deve explorar manualmente os espaços retroperitoneais, os intestinos, e a tentativa de remover delicadamente as lesões profundas. Se a paciente já teve filhos, não deseja mais engravidar e estiver com dor pélvica crônica, a cirurgia radical é a mais indicada. Essa abordagem cirúrgica inclui histerectomia abdominal (remoção do útero) e ooforectomia bilateral (remoção dos ovários) ⁽⁹⁷⁾.

O objetivo do tratamento cirúrgico é a remoção das lesões visíveis, no entanto, deve-se lembrar de que o tratamento deve ser individualizado. A endometriose severa deve ser tratada de forma diferente da leve e moderada. As pacientes que buscam aliviar os sintomas da dor pélvica crônica também devem ser tratadas de forma diferentes daquelas que buscam restaurar a fertilidade ⁽⁴¹⁾.

1.14.2 Terapia com medicamentos

Atualmente, usa-se terapias que combinam estrógenos e progesterona, ou terapias de progestógenos, de danazol ou de GnRH. Todos esses agentes atuam não somente no eixo hipotalâmico-hipofisário, mas também em níveis múltiplos. Terapias à base de esteroides e aquelas à base de GnRH estimulam a liberação de gonadotrofinas além de suprimir a estereidogênese ovariana. A inibição dos esteroides ovarianos e a indução do estado hipoestrogênico é o mecanismo primário de supressão do crescimento dos implantes endometriais. Terapias à base de progesterona são capazes de bloquear as ações das citocinas devido ao seu poder imunossupressor ⁽¹⁰¹⁾.

O ciclo menstrual normal depende da liberação de GnRH em pulsos regulares pela hipófise. Os agonistas de GnRH estimulam receptores hipofisários fazendo com que haja diminuição da secreção de FSH e LH. Como esse estado permanece constante, e permanece hipoestrogênico, os implantes endometriais começam a sofrer regressão (pseudo-menopausa). O uso dessas drogas é limitado a seis meses devido aos seus efeitos colaterais ⁽¹⁰²⁾. O uso de antagonistas de GnRH também pode ser uma forma de tratamento. Essas substâncias interrompem os receptores de GnRH. Quando há ligação do GnRH ao seu receptor, esse sofre dimerização e inicia uma cascata de eventos que levam à síntese e secreção de LH e FSH. Os antagonistas de GnRH impedem que isso aconteça, e foi observada a diminuição da dor em pacientes tratados com esse tipo de terapia ⁽⁹⁷⁾.

Tratamento com Danazol e análogos de GnRH suprimem os níveis de autoanticorpos associados com a endometriose ⁽¹⁰³⁾. O padrão alterado de apoptose também pode ser revertido através da terapia com análogos de GnRH ⁽¹⁶⁾. O danazol tem a capacidade de produzir um ambiente rico em androgênios mantendo baixa concentração de estrogênio, simulando a menopausa. A consequência é a atrofia dos implantes endometriais ectópicos e assim diminui os sintomas relacionados à dor pélvica ⁽⁹⁸⁾.

Análogos de GnRH e danazol atuam ao nível das células imunitárias inibindo os níveis de citocinas. Receptores de GnRH no tecido endometrial sugere que GnRH-a exerça ação antiproliferativa desse tecido, independente se o mesmo for ectópico ou não. Por exemplo, o acetato de leuprolide (análogo ao GnRH) pode inibir a proliferação de células endometriais ao nível do eixo hipófise-ovário através da inibição da produção de estradiol e também inibe a liberação de citocinas pelas células imunitárias no tecido endometrial ⁽¹⁶⁾. O tratamento com agonista de GnRH é limitado a no máximo seis meses devido aos efeitos colaterais sobre o metabolismo ósseo. Outros efeitos colaterais dessa terapia são instabilidade vasomotora, dor de cabeça, calor excessivo e sintomas psiquiátricos como alteração do humor e depressão ⁽⁹⁷⁾.

Experimentos mostram que agonistas de GnRH induzem à apoptose em cultura de células endometriais, e também no endométrio de pacientes submetidos ao tratamento com agonistas de GnRH ⁽¹⁵⁾. Outros dados mostram que a droga danazol diminui a proliferação de células endometriais ⁽¹⁰⁴⁾. Esses

resultados são promissores e mostram que os tratamentos podem ser combinados com a terapia padrão.

1.14.3 Contraceptivos orais

A observação de que havia redução dos sintomas da dor crônica da endometriose nas mulheres que conseguiam engravidar, levantou-se a hipótese de que o tratamento da doença simulando uma gravidez poderia ser eficiente. O regime de pseudogravidez é mantido pela diminuição dos efeitos dos hormônios ovarianos no endométrio. As primeiras combinações eram de estrógenos e progesterona, atualmente, usa-se progestógenos ⁽¹⁰⁵⁾.

Contraceptivos orais diminuem o fluxo menstrual e a formação da decídua uterina nas células endometriais ectópicas, e isso resulta em menor taxa de proliferação dessas células e ao mesmo tempo o aumento da ocorrência de apoptose ⁽⁹⁷⁾.

1.14.4 Sistema intrauterino liberador Levonorgestrel

Levonorgestrel é um tipo de testosterona (19-nor-testosterona) que induz decidualização e aciclicidade do endométrio. Essa droga faz com que o endométrio sofra atrofia e seja inativado, resultando em amenorreia e conseqüentemente reduz a dor pélvica associada à endometriose. A terapia reduz o desenvolvimento da doença, diminuindo também as possibilidades de haver recorrência. Uma única intervenção permite tratamento durante cinco anos, assim deve ser indicado àquelas pacientes que não desejam conceber. O único efeito colateral observado com o uso desse procedimento é sangramento ⁽¹⁰⁶⁾.

1.14.5 Tratamento anti-TNF

Mesmo que a maioria das terapias usadas para endometriose sejam baseadas nos análogos de GnRH, o uso de imunomoduladores para o tratamento tanto da endometriose quanto da infertilidade tem sido sugerido.

A Pentoxifilina é uma metilxantina (alcaloide) que age como inibidor de fosfodiesterase, usado anteriormente para tratamento de doenças vasculares e outras anomalias relacionadas à microcirculação. O uso dessa droga associada à endometriose em um determinado estudo mostrou que a taxa de gravidez em pacientes tratadas com o medicamento aumentou o dobro (ao redor de 31%) ⁽¹⁰⁷⁾. A droga mostrou ser eficiente na regressão do tecido endometrial sem resultar em efeito hipoestrogênico, tanto os níveis de estradiol quanto os de progesterona não foram alterados pelo seu uso. Os principais efeitos colaterais relatados foram sangramento e aumento do tempo de coagulação sanguínea ⁽¹⁶⁾.

1.14.6 Idometacina

O tratamento com Idometacina, um inibidor de cicloxigenases, mostrou-se eficiente contra a endometriose ao aumentar os efeitos citolíticos de macrófagos nas células endometriais ectópicas ⁽¹⁵⁾.

1.14.7 Inibidores de Aromatase

Os inibidores de aromatase endometrial podem auxiliar na regressão da doença, uma vez que esses inibidores reduzem a produção local de estrógenos. A conversão de esteroides C19 (19 átomos de Carbono) em estrógenos é catalisada pela enzima aromatase P450, a qual é um produto do gene CYP19. A enzima não foi detectada no tecido endometrial normal, mas foi encontrada nas pacientes com endometriose (tanto no endométrio eutópico quanto no ectópico), e acredita-se que essa enzima esteja relacionada com a capacidade dessas células de realizar a implantação nas superfícies endometriais ⁽⁹⁷⁾.

1.15 Genética da Endometriose

A tendência atual é a busca de estratégias que possam identificar genes potenciais causadores da doença. Os dados de incidência sobre a

endometriose são consistentes com herança poligênica ou multifatorial; acredita-se que vários genes estão envolvidos ou múltiplos alelos existam em um mesmo locus. Outra evidência que apoia a herança poligênica é o aumento da severidade da doença nos casos de endometriose observados em mulheres da mesma família ⁽³⁸⁾.

A análise de polimorfismos tem contribuído para o melhor entendimento da doença quanto ao seu cunho genético. Esses polimorfismos estão relacionados com enzimas que metabolizam drogas, fatores de crescimento e genes de receptores de hormônios ⁽¹¹⁾. Não existe um gene específico para se investigar a endometriose, no entanto, existem algumas associações descritas na literatura.

1.15.1 Galactose-1-fosfato uridil transferase

Esse é um gene de interesse para análises genéticas quantitativas. Um polimorfismo foi encontrado na galactose-1-fosfato uridil transferase (GALT) na população americana. Assim como o nome indica, essa enzima está associada ao metabolismo da galactose. Ela funciona como catalisador na formação de UDP-galactose e glicose-1-fosfato a partir de galactose-1-fosfato e UDP-glicose. Alguns polimorfismos que levam à inatividade da enzima promovem o desenvolvimento da galactosemia, outras variantes estão associadas ao câncer de ovário, menopausa precoce, anormalidades Müllarianas. O mesmo grupo que investigou sobre polimorfismos relacionados ao hormônio anti-Mülleriano, pesquisou sobre essa variante do polimorfismo devido à conhecida relação desse hormônio com a endometriose ⁽¹⁰⁸⁾.

A redução da atividade da enzima GALT associada ao polimorfismo pode ser um dos fatores etiológicos que leva ao desenvolvimento da endometriose. O locus do gene GALT (9p21 ou 9p13) está localizado em uma região onde a perda de heterozigotidade foi encontrada nas células endometriais de mulheres com a doença ⁽¹²⁾. O polimorfismo nesse gene é caracterizado pela troca de adenina por guanina no códon 314 do éxon 10, e dessa forma o aminoácido aspartato (D) é substituído pelo aminoácido asparagina (A), por isso a denominação do polimorfismo é dada por N314D ⁽²¹⁾.

1.15.2 Metabolismo da detoxificação

As reações de detoxificação da fase I introduzem grupos funcionais que geralmente forma metabólitos mais polares que as substâncias originais. As reações da fase II são chamadas de reações de conjugação e caracterizam mais especificadamente a desintoxicação, e envolvem interações dos grupos polares funcionais dos metabólitos da fase I, tornando o composto inativo não mais carcinogênico ou pró-carcinogênico ⁽²¹⁾.

1.15.2.1 Receptor aryl-hidrocarboneto

O *AhR* (Receptor aryl-hidrocarboneto) corresponde a um fator de transcrição que regula a diferenciação celular e a indução das fases I e II de enzimas metabolizadoras de drogas. Ele regula as enzimas *CYP1A1* (Citocromo P450, família 1, membro A1) e *CYP1B1* (Citocromo P450, família 1, membro B1) que são representantes da fase I. Essas enzimas são isoformas que catalisam a conversão de 17-beta-estradiol a 2-hidróxi-estradiol ou 4-hidróxi-estradiol. Alterações na sinalização do *AhR* podem estar relacionadas ao risco de endometriose devido às consequentes alterações na expressão das enzimas *CYP1A1* e *CYP1B1* ou aumento da proliferação de células endometriais ⁽¹¹⁾.

Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são as espécies químicas mais comuns que reagem com o *AhR*. O 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-p-dioxina é um poluente comum que tem sido apontado como um fator ambiental de risco para o desenvolvimento da doença. O *AhR* apresenta alta afinidade pela dioxina ⁽²¹⁾.

O *AhR* tem sua função regulada pelo ARNT (do inglês *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*), uma proteína translocadora e pelo *AhRR* (do inglês *Aryl hydrocarbon receptor repressor*), que é o repressor do *AhR*. *AhR* e ARNT formam um dímero que se liga a xenobióticos. *AhRR* compete com *AhR*, e assim, diminui os produtos dos genes que são regulados pelo *AhR*. *AhR* e ARNT são expressos no trato reprodutivo feminino e têm sido relatado que mudanças na sua expressão trazem condições patológicas ⁽¹¹⁾. Polimorfismos

têm sido identificados nas regiões codantes do genes AhR, ARNT e AhRR. Polimorfismo no códon 185 do gene AhRR está associado à suscetibilidade e à severidade da endometriose. A distribuição genotípica desse polimorfismo é significativamente diferente quando se compara pacientes com endometriose e no mulheres normais ⁽¹⁰⁹⁾. Cerca de 10% da população humana apresenta alto potencial de inibição pela exposição a determinados xenobióticos, como resultado de polimorfismos (*CYP1A1m1*). Esses indivíduos apresentam maior risco de desenvolver câncer ou por analogia, endometriose ⁽²¹⁾.

1.15.2.2 GSTs (Glutathione-S-transferases)

Outro polimorfismo relacionado à endometriose é ocasionado por uma mutação nula que ocorre na Glutathione-S-transferase M1 (*GSTM1*). Essa enzima está envolvida na detoxificação do poluente dioxina, que é eliminado no ambiente após a combustão de produtos organoclorados. As enzimas pertencentes à família das GSTs estão envolvidas na degradação do xenobiótico 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina. A dioxina é uma substância carcinógena e teratogena, e a mutação *GSTM1* está associada ao desenvolvimento de câncer devido à exposição ambiental e à ausência da enzima de detoxificação ⁽¹²⁾. A dioxina tem vários efeitos no sistema reprodutivo humano, inclusive aumentando o risco de desenvolver endometriose.

GSTM1 e *GSTT1* (Glutathione-S-Transferase Teta 1) são de extrema importância na detoxificação de produtos do estresse oxidativo e o reparo do epitélio ovariano. Tanto *GSTM1* e *GSTT1* apresentam loci polimórficos com alelos nulos, o que pode ser evidência da relação desses genes com a endometriose. Estudos já mostraram que 86% dos casos de endometrioses (50 pacientes) apresentavam genótipo homozigoto para alelos nulos, contra 45% no grupo controle (72 pacientes) ⁽¹¹⁰⁾.

1.15.3 Análise de *microarray*

A tecnologia de *microarray* tem sido utilizada para comparar o endométrio eutópico e ectópico de pacientes. RNA é extraído dos implantes

endometriais e transcritos reversamente em cDNA, então sofrem desnaturação e são adicionados ao *microarray* de DNA. Um grupo utilizando essa técnica encontrou oito genes hiper-expressos nos implantes endometriais quando comparados com o endométrio eutópico. Muitos desses genes, como a vimentina (filamento intermediário relacionado à fixação das organelas no citoplasma) e a β -actina, apresentam funções importantes no citoesqueleto ⁽²¹⁾. Outros genes estavam relacionados às funções imunitárias. Certas pesquisas ⁽¹¹¹⁾ têm como foco a comparação de perfis de expressão genética no endométrio de paciente e grupo controle. Os resultados mostram que a proteína glicodelina (atividade imunossupressora e reprodutiva) não é expressa na endometriose, já o gene de resposta precoce ao crescimento está hiper-expresso. A glicodelina está relacionada à regulação de genes como IL- β , IL-G, TNF e VEGF. Esse mesmo grupo em estudos posteriores ⁽¹¹¹⁾ analisaram por volta de 12 mil genes e demonstraram alterações na expressão de genes de moléculas de adesão e proteínas do epitélio endometrial de já conhecida relação com a endometriose e outras proteínas que ainda não tinham sido relacionadas com a patogenia da doença. Os resultados da pesquisa foram classificados em três diferentes grupos. No primeiro grupo estavam os genes hipo-expressos nas pacientes com endometriose durante a janela de implantação do embrião quando comparado com mulheres normais. Nesse grupo estavam IL-15, N-acetilglucosamina-6-O-sulfotransferase, proteína rica em prolina, Dickkopf-1 (relacionada ao desenvolvimento embrionário), proteína GOS2 (relacionada à apoptose). No segundo grupo estão os genes hiper-expressos nas pacientes com endometriose durante a janela de implantação do embrião quando comparado com mulheres normais. Como exemplo de genes desse grupo temos a semaforina E. E no terceiro grupo estão proteínas que durante a janela de implantação estão em baixa concentração nas mulheres normais e estão em concentrações ainda menores nas mulheres com endometriose. O exemplo é a pentraxina 2. A técnica de *microarray* foi usada para verificar alterações fisiológicas após a exposição à interleucinas. A proteína Tob-1, inibidora do ciclo celular, mostrou diferentes respostas à IL- β nas células endometriais quando comparado com o endométrio eutópico, corroborando a ideia de que tecido endometrial tenha maior facilidade de implantação ectópica em anomalias imunitárias ⁽¹¹¹⁾.

1.15.4 Genes supressores de tumor

Como se pressupõe que a endometriose esteja relacionada a alterações em algum dos genes supressores de tumor, é possível que exista perda de heterozigidade de locus, o que foi evidenciado em algumas pacientes com endometriose. O cromossomo 17 é alvo de estudos por causa dos genes BRCA1 (do inglês *breast cancer 1*) e TP53 (do inglês *tumor protein 53* ou simplesmente *p53*). A técnica de FISH (hibridização fluorescente *in situ*) é utilizada para identificar aneuploidias, estado genético que pode ser encontrado nas pacientes com endometriose (monossomia do 17) ⁽²¹⁾.

O gene *PTEN* (homólogo da tensina e da fosfatase) localizado no cromossomo 10q23, está relacionado a diversos tipos de neoplasias, inclusive tumores endometriais e ovarianos que têm relação com a endometriose em alguns casos. Perda de heterozigose foi relatada para o gene *PTEN* em alguns ensaios de carcinomas e a correlação foi maior naqueles casos onde a paciente apresentava tanto carcinoma quanto endometriose. Mutações nos dois genes, *p53* e *PTEN*, podem estar envolvidos na transformação de células endometriais em células progenitoras malignas ⁽²¹⁾.

O *p53* é um gene supressor de tumor que participa da regulação do ciclo celular; está envolvido na inibição da proliferação celular e como na progressão de vários tipos de tumores. A mutação do *p53* em mulheres com endometriose é relatada em pesquisas do mundo inteiro, e muitos autores encontraram relação positiva entre alterações no *p53* e desenvolvimento e progressão da endometriose ⁽²¹⁾.

1.15.5 Receptor de progesterona e receptor de estrógenos

O polimorfismo *PROGINS* está relacionado com a diminuição da resposta à progesterona. O genótipo heterozigoto A1/A2 ou o A2/A2 está ligado a inúmeras desordens ginecológicas, incluindo a endometriose ⁽¹¹²⁾. A relação entre polimorfismo no gene *PROGINS* e na endometriose é verificada por alguns trabalhos científicos que comprovam essa relação através de análises

estatísticas com resultados significativos. Um estudo chegou à conclusão de que 17,4% das pacientes com endometriose apresentavam esse tipo de polimorfismo contra apenas 7,9% do grupo controle ⁽²¹⁾.

O Receptor β de estrogênio também está relacionado à endometriose; acredita-se que o genótipo polimórfico AG esteja relacionado com o risco de desenvolvimento da doença ⁽¹¹³⁾. O estrogênio exerce uma importante função fisiológica no organismo humano; está relacionado principalmente às funções reprodutivas ao regular a produção de gonadotrofinas, a liberação de hormônios pela glândula pituitária, além de estar também relacionado ao humor e ao comportamento social do indivíduo ⁽⁵⁾. Estudos sobre a relação entre $Re\beta$ e a endometriose relataram que 72% das pacientes com endometriose apresentavam o polimorfismo contra 49% do grupo controle ⁽²¹⁾.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a relação dos polimorfismos combinados dos genes *p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*; em pacientes da cidade de Goiânia com endometriose.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar as frequências dos polimorfismos dos genes *p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1* e *CYP1A1* tomados dois a dois e verificar se aumentam os riscos de desenvolver a endometriose.
2. Analisar as frequências dos polimorfismos dos genes *p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1* e *CYP1A1* tomados três a três e verificar se aumentam os riscos de desenvolver a endometriose.
3. Analisar as frequências dos polimorfismos dos genes (*p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*) e verificar se algum genótipo exerce efeito protetor contra o risco de desenvolver endometriose.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho refere-se a um levantamento de dados de pacientes com endometriose do Laboratório Replicon na PUC-GO apresentados anteriormente na forma de artigo e/ou dissertação, na tentativa de comparar as frequências dos polimorfismos de genes e a ocorrência da doença.

Foram coletadas amostras de sangue periférico de 100 pacientes para análise molecular de DNA para os genes p53, PROGINS, GSTM1, GSTT1, RE β e CYP1A1. As amostras foram divididas em dois grupos de acordo com a presença ou não da doença: grupo experimental formado por 54 mulheres diagnosticadas com endometriose por exame laparoscópico realizado pela Clínica Fértil Diagnósticos em Goiânia; e grupo controle formado por 46 mulheres sem a doença. O sangue venoso (10 ml) das pacientes foi coletado no Laboratório Replicon da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás).

Gene	Autor	Técnica	Referência
GSTM1	Frare	PCR	114
GSTT1	Frare	PCR	114
CYP1A1	Souza	PCR-RFLP	115
P53	Ribeiro Júnior	PCR	116
PROGINS	Costa	PCR	117
RE β	Silva	PCR	118

3.1 Análise de Dados

Os dados foram agrupados, computados e divididos em grupo controle e grupo experimental (endometriose). As frequências foram analisadas pelo Teste Exato de Fisher e pelo Teste G com um intervalo de confiança de 95% e valores de $p < 0,05$. O Teste Exato de Fisher foi usado para comparar as frequências dos genótipos de risco (polimórficos) tomando-se os genes dois a dois. Este teste foi usado por que em algumas situações o tamanho da amostra

estudada era menor que 5. O teste G foi usado para comparar as frequências genotípicas dos genótipos de risco tomando-se os genes três a três. Este teste foi usado por causa do número elevados de graus de liberdade, que correspondeu a 7. Estes testes estatísticos foram feitos com o auxílio do *software* Bioestat versão 5.0 (Ayres e Ayres, 2007).

4. RESULTADOS

A prevalência dos polimorfismos p53, PROGINs, RE β , CYP1A1, GSTM1 e GSTT1, tomados dois a dois nas mulheres com endometriose e nas mulheres saudáveis, está demonstrada na tabela 1. Essa tabela mostra as frequências dos polimorfismos que resultaram em valores de P menores que 0,05. Ao comparar os genes p53 e RE β (P=0,0110) observa-se que 53,12% das pacientes com endometriose apresentavam o polimorfismo, enquanto apenas 9,00% das pacientes do grupo controle apresentaram os mesmos. Esse resultado sugere uma relação entre a presença desses genótipos polimórficos (Arg/Prol + Prol/Prol + AG) e a presença da doença.

Tabela 1 – Distribuição dos polimorfismos dos genes estudados entre os grupos controle e experimental.

Genes	Genótipo Polimórfico	P*	E**	C***
p53 e RE β	Arg/Prol + Prol/Prol + AG	0,0110	53,12%	9,00%
p53 e GSTM1	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo	0,0280	56,25%	23,53%
p53 e CYP1A1	Arg/Prol + Prol/Prol + W1m1 + m1m1	0,0079	31,25%	0,00%
RE β e PROGINs	AG + A1A2 + A2A2	0,0227	65,00%	0,00%
PROGINs e GSTM1	A1A2 + A2A2 + GSTM1-nulo	0,0283	75,00%	25,00%
GSTT1 e CYP1A1	GSTT1 nulo + + W1m1 + m1m1	0,0217	31,25%	0,00%

* Teste Exato de Fisher; **Grupo com endometriose; ***Grupo Controle.

Quando as frequências dos genes p53 e GSTM1 são comparadas, 56,25% das pacientes do grupo experimental apresentaram os genótipos polimórficos (Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo). No grupo controle apenas 23,53% das pacientes apresentaram esse mesmos genótipos. Esse resultado demonstra uma relação positiva quanto à presença dos genótipos polimórficos e a doença (P=0,0280).

A comparação entre os polimorfismos dos genes p53 e CYP1A1 (Arg/Prol + Prol/Prol + W1m1 + m1m1) mostrou que nenhuma paciente do grupo controle apresentou os dois polimorfismos simultaneamente. Em relação ao grupo experimental 31,25% das pacientes apresentaram os genótipos considerados de risco. Esse resultado é estatisticamente significativo uma vez que o valor de P (0,0079) é menor do que 0,05 e mostra uma relação entre a presença do genótipo com o aparecimento da endometriose.

Nenhuma paciente do grupo controle apresentou os genótipos polimórficos para os genes RE β e PROGINS (AG + A1A2 + A2A2); a quantidade de pacientes com endometrioses que apresentou os polimorfismos foi significativa, correspondendo a 65,00% das mulheres do grupo experimental e com valor de P=0,0227.

O resultado mais expressivo foi em relação aos polimorfismos correspondentes aos genes PROGINS e GSTM1 (A1A2 + A2A2 + GSTM1-nulo). Apenas 25,00% das pacientes do grupo controle apresentaram os genótipos polimórficos, enquanto 75,00% das mulheres com endometriose carregavam os polimorfismos desses genes. O resultado é expressivo, com valor de P igual a 0,0283.

Os genes GSTT1 e CYP1A1 (GSTT1 nulo + W1m1 + m1m1) comparados resultaram em P=0,0217, um valor significativo e indicativo de relação entre presença de polimorfismo com o desenvolvimento da doença. Nesse caso, 31,25% das pacientes do grupo experimental apresentaram os genótipos considerados de risco enquanto nenhuma paciente do grupo controle carregava ambos os polimorfismos simultaneamente.

A tabela 2 contém os resultados dos genótipos que atuam exercendo um efeito protetor contra o aparecimento e o desenvolvimento da doença. Ao se comparar os genes p53 e RE β , observou-se que 87,50% das pacientes do grupo controle apresentavam os genótipos Arg/Arg + AA + GG e apenas 27,80% das pacientes no grupo controle apresentavam esses mesmos genótipos. Devido à diferença significativa (P=0,0074), um maior índice desses genótipos nas pacientes saudáveis é um indicativo de proteção contra o aparecimento da endometriose.

Os genótipos Arg/Arg + A1A1 referente aos genes p53 e PROGINS também exercem um efeito protetor contra a doença (P=0,0431). Das

pacientes do grupo controle 59,38% apresentaram o genótipo com efeito protetor enquanto 35,30% das pacientes do grupo endometriose apresentaram o mesmo genótipo.

Em relação aos genótipos homozigotos Arg/Arg + W1W1 correspondentes aos genes p53 e CYP1A1, todas as pacientes do grupo controle tinham esse genótipo característico contra 77,78% das pacientes do grupo experimental (P=0,0302).

Tabela 2 – Genótipos com efeito protetor contra o aparecimento da endometriose entre os grupos controle e experimental.

Genes	Genótipo Polimórfico	P*	E**	C***
p53 e REβ	Arg/Arg + AA + GG	0,0074	87,50%	27,80%
p53 e PROGINS	Arg/Arg + A1A1	0,0431	59,38%	35,30%
p53 e CYP1A1	Arg/Arg + W1W1	0,0302	100,00%	77,78%
REβ e PROGINS	AA + GG + A1A1	0,0009	88,89%	41,18%
REβ e GSTM1	AA + GG + GSTM1	0,0009	92,86%	38,46%
REβ e GSTT1	AA + GG + GSTT1	0,0003	100,00%	40,00%
REβ e CYP1A1	AA + GG + W1W1	0,0302	100,00%	73,68%
GSTM1 e CYP1A1	GSTM1 + W1W1	0,0008	100,00%	69,23%
GSTT1 e CYP1A1	GSTT1 + W1W1	0,0095	100,00%	76,47%

* Teste Exato de Fisher; **Grupo com endometriose; ***Grupo Controle.

Os genótipos AA + GG + A1A1 correspondes aos genes REβ e PROGINS quando comparados nos grupos controle e endometriose mostraram resultado positivo quanto ao efeito protetor contra o aparecimento da doença (P=0,0009). 88,89% das pacientes do grupo controle apresentavam esses genótipos protetores contra 41,18% das pacientes do grupo experimental.

Os genes REβ e GSTM1 (AA + GG + GSTM1) também exercem efeito protetor contra o desenvolvimento da endometriose. No grupo controle, 92,86%

das pacientes apresentavam o genótipo enquanto 38,46% das pacientes do grupo endometriose exibiam esses mesmos genótipos. Esse resultado é expressivo devido à alta diferença das frequências desses genótipos em relação aos dois grupos estudados ($P=0,0009$).

Os genes RE β e GSTT1(AA + GG + GSTT1) exercem efeito protetor contra a endometriose. No grupo controle todas as pacientes apresentaram os dois genes enquanto no grupo experimental apenas 40,00%, o que demonstra um resultado significativo ($P=0,0003$).

Todas as pacientes do grupo controle apresentaram os genótipos AA + GG + W1W1 (RE β e CYP1A1, respectivamente); 73,68% das pacientes no grupo endometriose também exibiram as referidas características genotípicas. O resultado é significativo e caracterizou um valor de $P=0,0302$.

Em relação aos genótipos GSTM1 + W1W1 referentes aos genes GSTM1 e CYP1A1, todas as pacientes do grupo controle apresentaram esses genótipos protetores contra a doença, contra 69,23% das pacientes do grupo endometriose. Dessa forma, esses genes conferem uma proteção contra o aparecimento do distúrbio ginecológico ($P=0,0008$).

Os genes GSTT1 e CYP1A1 juntos também exercem efeito protetor contra a endometriose ($P=0,0095$). Todas as pacientes do grupo controle apresentavam o genótipo homocigoto para ambos os genes (GSTT1 + W1W1), contra 76,47% das pacientes no grupo experimental.

As frequências dos genes polimórficos analisados de três em três nas pacientes do grupo controle e do grupo experimental estão resumidas nas tabelas 3 e 4. A comparação entre os polimorfismos dos genes p53, RE β e PROGINS (Arg/Prol + Prol/Prol + AG + A1A2 + A2A2) mostrou um resultado significativo com $G=0,0118$. Nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três polimorfismos simultaneamente, enquanto 12,00% das pacientes do grupo endometriose apresentaram os três polimorfismos ao mesmo tempo. O resultado indica que de alguma forma esses genótipos se somam na determinação da doença.

Um resultado significativo ($G=0,0035$) também foi alcançado em relação aos genes p53, CYP1A1 e PROGINS (Arg/Prol + Prol/Prol + W1m1 + m1m1 + A1A2 + A2A2), demonstrando a relação entre a doença e a presença simultânea desses genótipos nas pacientes com endometriose. Nenhuma paciente do

grupo controle apresentou os três genótipos ao mesmo tempo e 04,00% das mulheres com endometriose exibiam os genótipos polimórficos.

Em relação aos genes PROGINS, REβ e GSTM1 (A1A2 + A2A2 + AG + GSTM1-nulo) também existe uma relação significativa entre a presença dos polimorfismos e o aparecimento da endometriose (G=0,0067). Nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três genótipos ao mesmo tempo e 18,00% das mulheres com endometriose exibiam os genótipos polimórficos.

Tabela 3 – Genótipos polimórficos tomados três a três e comparados entre os grupos controle e experimental.

Genes	Genótipo Polimórfico	G*	E**	C***
p53, REβ e PROGINS	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + A1A2 + A2A2	0,0118	12,00%	0,00%
p53, CYP1A1 e PROGINS	Arg/Prol/Prol/Prol + W1m1/m1m1 + A1A2/A2A2	0,0035	04,00%	0,00%
PROGINS, REβ e GSTM1	A1A2 + A2A2 + AG + GSTM1-nulo	0,0067	18,00%	0,00%
PROGINS, REβ e GSTT1	A1A2 + A2A2 + AG + GSTT1-nulo	0,0062	10,00%	0,00%
PROGINS, REβ e CYP1A1	A1A2 + A2A2 + AG + W1m1/m1m1	0,0166	04,00%	0,00%
p53, REβ e GSTM1	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTM1-nulo	0,0039	20,00%	0,00%
p53, REβ e GSTT1	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTT1-nulo	0,0070	14,00%	05,26%

* Teste G; **Grupo com endometriose; ***Grupo Controle.

Os genes PROGINS, REβ e GSTT1 quando comparados em relação à presença dos polimorfismos (A1A2 + A2A2 + AG + GSTT1-nulo) mostrou resultado significativo (G=0,0062), onde nenhuma paciente do grupo controle apresentava esses genótipos contra 10,00% das pacientes no grupo experimental.

Os polimorfismos A1A2 + A2A2 + AG + W1m1/m1m1, correspondentes aos genes PROGINS, REβ e CYP1A1, também apresentaram resultado significativo (G=0,0166) quando foram analisados. Nesse caso, 04,00% das pacientes do grupo endometriose apresentavam os genótipos polimórficos e nenhuma paciente do grupo controle exibiu esses genótipos simultaneamente.

Os polimorfismos dos genes p53, RE β e GSTM1 (Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTM1-nulo) foram os que mostraram um resultado mais expressivo ($G=0,0039$) na nossa análise, uma vez que 20,00% de todas as pacientes do grupo experimental apresentaram os três polimorfismos ao mesmo tempo enquanto nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos.

Os polimorfismos dos genes p53, RE β e GSTT1 (Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTT1-nulo) também exibiram resultados significativos ($G=0,0070$), sendo que 14,00% das pacientes do grupo experimental apresentavam os três polimorfismos ao mesmo tempo.

A comparação entre os polimorfismos dos genes p53, GSTM1 e GSTT1 (Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo) mostrou um resultado significativo com $G=0,0192$. Enquanto 02,50% das pacientes do grupo controle apresentaram os três polimorfismos simultaneamente, 10,00% das pacientes do grupo endometriose apresentaram esses três genótipos ao mesmo tempo. O resultado indica que de alguma forma esses genótipos se somam na determinação da doença.

Um resultado significativo ($G=0,0008$) também foi alcançado em relação aos genes p53, GSTM1 e CYP1A1 (Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + W1m1 + m1m1), demonstrando a relação entre a doença e a presença simultânea desses genótipos nas pacientes com endometriose. Nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três genótipos ao mesmo tempo e 08,00% das mulheres com endometriose exibiram os genótipos polimórficos.

Em relação aos genes p53, GSTT1 e CYP1A1 (Arg/Prol + Prol/Prol + GSTT1-nulo + W1m1 + m1m1) também existe uma relação significativa entre a presença dos polimorfismos e o aparecimento da endometriose ($G=0,0059$). Nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três genótipos ao mesmo tempo e 10,00% das mulheres com endometriose exibiam os genótipos polimórficos.

Os genes PROGINS, GSTT1 e CYP1A1 quando comparados em relação à presença dos polimorfismos (A1A2 + A2A2 + GSTT1-nulo + W1m1 + m1m1) mostrou resultado significativo ($G=0,0029$), onde nenhuma paciente do grupo controle apresentava esses genótipos contra 02,00% das pacientes no grupo experimental.

Os polimorfismos AG + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo, correspondentes aos genes RE β , GSTM1 e GSTT1, também apresentaram resultado significativo (G=0,0042) quando foram analisados. Nesse caso, 10,00% das pacientes do grupo endometriose apresentavam os genótipos polimórficos e 05,26% das pacientes do grupo controle exibiram esses genótipos simultaneamente.

Tabela 4 – Genótipos polimórficos tomados três a três e comparados entre os grupos controle e experimental.

Genes	Genótipo Polimórfico	G*	E**	C***
p53, GSTM1 e GSTT1	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0192	10,00%	02,50%
p53, GSTM1 e CYP1A1	Arg/Prol/Prol/Prol + GSTM1-nulo + W1m1/m1m1	0,0008	08,00%	0,00%
p53, GSTT1 e CYP1A1	Arg/Prol/Prol/Prol + GSTT1-nulo + W1m1/m1m1	0,0059	10,00%	0,00%
PROGINS, GSTT1 e CYP1A1	A1A2 + A2A2 + GSTT1-nulo + W1m1/m1m1	0,0029	02,00%	0,00%
RE β , GSTM1 e GSTT1	AG + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0042	10,00%	05,26%
RE β , GSTT1 e CYP1A1	AG + GSTT1-nulo + W1m1/m1m1	0,0007	04,00%	0,00%
CYP1A1, GSTM1 e GSTT1	W1m1/m1m1+ GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0011	02,00%	05,26%
RE β , GSTM1 e CYP1A1	AG + GSTM1-nulo + W1m1/m1m1	0,0014	04,00%	0,00%

* Teste G; **Grupo com endometriose; ***Grupo Controle.

Os polimorfismos dos genes RE β , GSTT1 e CYP1A1 (Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + W1m1 + m1m1) mostraram um resultado significativo (G=0,0007) na nossa análise; 04,00% de todas as pacientes do grupo experimental apresentaram os três polimorfismos ao mesmo tempo enquanto nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos.

Os polimorfismos dos genes CYP1A1, GSTM1 e GSTT1 (W1m1 + m1m1 + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo) também exibiram resultados significativos (G=0,0011), sendo que 02,00% das pacientes do grupo experimental apresentavam os três polimorfismos ao mesmo tempo.

A comparação entre os polimorfismos dos genes RE β , GSTM1 e CYP1A1 (AG + GSTM1-nulo + W1m1 + m1m1) mostrou um resultado significativo com $G=0,0014$. Enquanto nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três polimorfismos simultaneamente, 04,00% das pacientes do grupo endometriose apresentaram esses três genótipos ao mesmo tempo. O resultado indica que de alguma forma esses genótipos se somam na determinação da doença.

5. DISCUSSÃO

A maioria das pesquisas científicas sobre os polimorfismos que podem estar relacionados com a endometriose são baseadas em análises de genes individuais, comparando a frequência dos mesmos entre grupo experimental e grupo controle. Silva (2010) encontrou resultados compatíveis com as análises realizadas no presente trabalho ao comparar a associação dos polimorfismos *p53* e *REβ* entre pacientes com endometriose e grupo controle ⁽¹¹⁸⁾. O grupo encontrou uma associação positiva com valor de *p* menores do que 0,0001; Em nosso trabalho também encontramos uma associação estatisticamente significativa entre os dois polimorfismos, com *p* = 0,0110 (tabela 1). Um grupo do Japão ⁽¹¹⁹⁾ mostrou resultados positivos estudando os mesmos genes em câncer endometrial quando os genes foram analisados separadamente – 26% (17/64) dos pacientes com câncer endometrial tinham *REβ* alterado; e anormalidades do *p53* foram encontradas principalmente em cânceres de grau III com frequência de 88,9% (8/9) ⁽¹¹⁹⁾. Esses resultados são importantes para a compreensão da endometriose uma vez que ela é considerada uma doença com características neoplásicas.

Costa (2010) estudou a relação entre os polimorfismos dos genes *PROGINS* e *p53*, mas não encontrou nenhuma relação positiva entre os grupos endometriose e controle (*p* = 0,4379). Esse estudo ⁽¹¹⁷⁾ foi compatível com os resultados das nossas análises, uma vez que para os genótipos polimórficos não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa onde o valor de *p* foi de 0,4389. Outros estudos na literatura dizem respeito apenas ao *PROGINS*, como relata Wieser e colaboradores ⁽¹²⁰⁾ que encontraram a presença desse polimorfismo em 17,4% das pacientes com endometriose contra 7,9% do grupo controle.

Frare, (2011) analisou a relação entre os polimorfismos *p53* e *GSTM1*. Nesse estudo foi observada uma relação estatisticamente positiva da presença desses polimorfismos no grupo com endometriose, com *p* = 0,0040 ⁽¹¹⁴⁾. Esse resultado está de acordo com o encontrado neste trabalho *p* = 0,0280 (tabela 1). Estudos sobre esses dois genes separados e a endometriose talvez sejam os mais abundantes na literatura, mas ainda escassa. Baranova et. al. (1997)

mostrou um resultado de 86% (43/50) para *GSTM1*-nulo contra 45,8% do grupo controle ⁽¹²¹⁾. Em estudos onde o efeito do polimorfismo é analisado individualmente também existem diferenças significativas; Hadfield et. al. (2001) ⁽¹²²⁾ e Baxter et. al. (2001) ⁽¹²³⁾ não confirmaram o resultado expressivo de Baranova ⁽¹²¹⁾, encontrando 45% e 48% de frequência para o genótipo *GSTM1* nulo, respectivamente.

Um estudo interessante ⁽¹¹³⁾ relaciona os polimorfismos *REβ* e *PROGINS*. A pesquisa foi composta por 100 mulheres com diagnóstico de endometriose confirmado por cirurgia e o grupo controle foi composto por 110 mulheres normais. O grupo usou o X^2 para comparar as distribuições genóticas dos grupos e encontrou valores de $p < 0,05$, sugerindo que os polimorfismos estão associados a um maior risco de desenvolvimento da endometriose na população da Coreia. Esse resultado ⁽¹¹³⁾ está de acordo com nosso estudo, onde encontramos uma associação positiva entre os polimorfismos *REβ* e *PROGINS* comparando os grupos controle e endometriose, com $p = 0,0227$ (tabela 1).

Em relação à análise dos polimorfismos *p53* e *CYP1A1*, Souza (2012) não encontrou uma associação positiva quando comparou os grupos endometriose e controle ($p = 0,172$) ⁽¹¹⁵⁾. Esse resultado não é compatível com o desse estudo, onde encontramos um valor estatisticamente significativo, com $p = 0,0079$ (tabela 1). No entanto, o estudo encontrou uma correlação positiva quando comparou o gene *CYP1A1* com o genótipo A g/Arg do *p53*, com $p = 0,0005$; nesse caso o resultado está de acordo com o mostrado nessa pesquisa, onde também encontramos uma associação do *CYP1A1* com o genótipo Arg/Arg, $p = 0,0302$ (tabela 2) - o que mostra um possível efeito protetor dos genótipos Arg/Arg contra o desenvolvimento da doença.

Outros estudos ⁽¹²⁴⁾ relacionados a esses dois genes sugerem associação dos mesmos no desenvolvimento do câncer de pulmão. Os autores encontraram uma correlação positiva entre *p53* e *CYP1A1* com o risco de câncer de pulmão em fumantes, e perceberam também que alterações no *p53* por si só seriam capaz de aumentar o risco do aparecimento desse tipo de câncer ⁽¹²⁴⁾.

Nossos resultados em relação aos polimorfismos *REβ* e *CYP1A1* foram estatisticamente relevantes quando comparado o genótipo (AA + GG) com os

genótipos do *CYP1A1* (W1/W1), mostrando um valor de $p = 0,0302$ (tabela 2) e evidenciando um efeito protetor do genótipo homocigoto contra o desenvolvimento da endometriose. Uma pesquisa encontrada na literatura a respeito desses dois genes provém de um grupo dos Estados Unidos ⁽¹²⁵⁾ que realizou estudos com células endometriais. Eles perceberam que uma alteração no gene receptor de estrógeno (ou em sua expressão) leva a uma diminuição considerável da atividade das enzimas de metabolização, no caso a *CYP1A1*. Esses achados corroboram a ideia de que os dois genes possam estar associados ao desenvolvimento da endometriose.

Nesse trabalho encontramos uma correlação positiva quando comparamos o genótipo presente do *GSTM1* com os genótipos do *CYP1A1* (W1/W1 e W1/m1 + m1/m1), com $p = 0,0008$ (tabela 2). Dois estudos importantes ^(122, 126) mostraram uma associação entre os polimorfismos *GSTM1* alelo nulo e *CYP1A1m1*; Essas publicações chegaram à conclusão – assim como o presente trabalho – de que os genótipos selvagens dos genes em questão possam atuar como um efeito protetor em relação ao aparecimento e desenvolvimento da endometriose.

Outra pesquisa na Grécia ⁽¹²⁷⁾ com os mesmos genes chegaram a um resultado diferente do nosso. Nesse trabalho, um grupo de 275 mulheres com endometriose foi comparado com um grupo de 346 mulheres férteis e sem diagnóstico de endometriose. De acordo com os resultados desse estudo, os genótipos W1/m1 ou m1m1 combinados com o *GSTM1*-nulo aumentam o risco do desenvolvimento da doença (Odds Ratio = 1,95 com intervalo de confiança de 95%) ⁽¹²⁷⁾. Nosso resultado indica que esses dois polimorfismos não estão associados com a endometriose.

Quando os polimorfismos *GSTT1* e *CYP1A1* foram comparados, encontramos uma correlação positiva, $p = 0,0217$ (tabela 1). Esse resultado não é compatível com um estudo na Índia ⁽¹²⁸⁾, o qual não encontrou nenhuma relação entre os polimorfismos dos genes *GSTT1* e *CYP1A1*, mas encontrou relação quando comparou *CYP1A1* com *GSTM1*. Os próprios autores sugerem que a discrepância entre as diferentes publicações ao redor do mundo seja por questões étnicas e também por falhas nos processos de amostragem.

Quando se compara três ou mais possíveis polimorfismos que possam estar relacionados a um maior risco de desenvolver endometriose, espera-se

que as chances de se encontrar uma correlação positiva sejam maiores. Foi o que aconteceu nesse trabalho, a maioria das análises usando três genes ao mesmo tempo resultou em uma correlação positiva, sugerindo que cada polimorfismo possa adicionar certo fator de risco no aparecimento da doença.

O grupo ⁽¹²⁷⁾ analisou os genes *CYP1A1*, *GSTM1* e *GSTT1* e concluíram que o alelo mutante *CYP1A1m1* em uma frequência significativamente maior no grupo experimental do que no grupo controle (20,20% contra 14,30% respectivamente) e juntamente com o genótipo *GSTM1*-nulo e *GSTT1*-nulo parece ter um efeito moderado em relação ao risco de desenvolvimento da endometriose. Esse resultado corrobora os nossos achados (tabela 4), mas contraria um estudo anterior do mesmo grupo onde concluíram que o genótipo *GSTT1*-nulo sozinho ou mesmo combinado com *GSTM1* ou *CYP1A1m1* não adicionaria nenhum risco ao aparecimento da doença ⁽¹²²⁾. O estudo mais recente desse grupo ⁽¹²⁷⁾ está de acordo com o nosso resultado, representado por uma relação positiva para os polimorfismos (W1m1 + m1m1) + (M-nulo) + (T-nulo), que mostraram uma frequência de 2% (G = 0,0011) em comparação com 0% do grupo controle (tabela 4).

As discrepâncias em relação a estudos que encontram relação positiva e aqueles onde não encontram nenhuma relação podem ser explicadas de duas formas: primeiro pelo tamanho das amostras dos grupos experimental e controle, que podem interferir profundamente no resultado; e segundo pelas diferenças étnicas entre os grupos estudados.

Pesquisadores do Reino Unido genotiparam 148 mulheres com endometriose e incluíram 53 mulheres no grupo controle; os resultados corroboram os do nosso estudo uma vez que chegaram à conclusão de que os polimorfismos *GSTM1*-nulo e *GSTT1*-nulo não tiveram diferenças significativas quando se compara grupo experimental e controle, por outro lado se incluírem o polimorfismo *CYP1A1m1* esses genótipos estão estatisticamente relacionados a um pequeno aumento do risco de desenvolver a doença ⁽¹²⁹⁾.

Os resultados de um estudo publicado no Jornal de Andrologia da Ásia ⁽¹³⁰⁾ sugeriu que uma combinação dos polimorfismos genéticos nos genes *p53*, *CYP1A1* e *GSTM1* está relacionada ao aparecimento de câncer de pulmão em pacientes fumantes e também ao câncer de próstata. O trabalho não diz respeito à endometriose, mas como essa doença é de cunho neoplásico, os

resultados desse grupo podem ser extrapolados no sentido de ser uma indicação de que esses polimorfismos possam atuar influenciando o risco da endometriose – como sugere os nossos próprios resultados para esse grupo de genes, $G = 0,0008$ (tabela 4).

Para exemplificar o quanto os resultados podem ser discrepantes, um grupo de estudo de Taiwan ⁽¹³¹⁾, trabalhando com os mesmos genes em relação ao câncer de pulmão, não encontrou nenhuma relação significativa entre grupo controle e grupo experimental. A explicação para as diferenças pode ser devido ao tamanho da amostra ou pelas diferenças étnicas dos grupos estudados, sem mencionar o fator ambiental que também pode somar na determinação do fenótipo dos indivíduos em questão.

Um estudo realizado em São Paulo ⁽¹³²⁾ sobre adenocarcinoma endometrial analisou a possível relação entre os polimorfismos dos genes *p53*, *PROGINS* e *REβ*. O objetivo da pesquisa foi comparar o grau de desenvolvimento da neoplasia com a expressão dos genes *p53*, receptor de estrogênio e receptor de progesterona; o resultado mostrou que alterações no *p53* estavam presentes em todos os estágios da doença e alterações no *REβ* e *PROGINS* em apenas alguns deles. Esses resultados não são suficientes para prever o estágio da doença como era o objetivo do grupo, mas é um indicativo de que anomalias nesses genes estão relacionados com alterações endometriais ⁽¹³²⁾. Essa extrapolação confere com os resultados obtidos nas nossas análises, onde encontramos diferenças significativas quando se compara a frequência dos polimorfismos nesses genes entre grupo controle e grupo com endometriose, $G = 0,0118$ (tabela 3).

Estudos realizados no México ⁽¹³³⁾ sobre câncer de mama analisou a atividade dos genes *GSTs* (*GSTM1* e *GSTT1*) com os receptores de estrogênio e progesterona. O objetivo do grupo era associar os polimorfismos nulos do *GSTM1* e *GSTT1* a uma resposta do tratamento quimioterápico e com a verificação da expressão dos genes *REβ* e *PROGINS*. O grupo não encontrou diferenças estatisticamente significativas em relação aos genes e à neoplasia ⁽¹³³⁾. Comparando esses genes três a três, apenas quando *PROGINS*, *GSTM1* e *GSTT1* ou *GSTM1*-nulo, *GSTT1*-nulo, e *PROGINS* (apêndice 2) são analisados juntos não encontramos diferenças significativas entre grupos controle e experimental ($G > 0,05$). Em todas as outras

possibilidades foram encontradas diferenças significativas com $G = 0,0067$ para as frequências dos polimorfismos *GSTM1*-nulo, *REβ* e *PROGINS* (tabela 1); $G = 0,062$ para *GSTT1*-nulo, *REβ* e *PROGINS* (tabela 3).

Um grupo de pesquisadores nos Estados Unidos ⁽¹³⁴⁾ elaborou um ensaio para analisar os efeitos dos receptores de estrogênio e progesterona na expressão do *CYP1A1*. O objetivo do trabalho era analisar os efeitos dos produtos desses genes no metabolismo da dioxina, substância exógena reconhecida por influenciar no desenvolvimento da endometriose. Os resultados do grupo mostram que alterações nos genes *REβ* e *PROGINS* levam a alterações importantes na expressão do *CYP1A1* e conseqüentemente no metabolismo da dioxina, o que por sua vez pode influenciar no risco do estabelecimento da doença ⁽¹³⁴⁾. O presente estudo encontrou uma correlação positiva na frequência dos polimorfismos desses mesmos três genes, compatível com os resultados encontrados pelo grupo americano ($G = 0,0166$ mostrado na tabela 3). Esses dados indicam que a compreensão dos papéis que esses genes exercem no metabolismo de xenobióticos é essencial para um melhor entendimento de doenças endometriais complexas (como a endometriose).

Uma pesquisa em Campinas ⁽¹³⁵⁾ analisou os genes *GSTs* e *p53* de 106 pacientes e 230 controles em relação à ocorrência de mielomas. Os resultados sugerem que não há correlação positiva, mas os autores perceberam que o polimorfismo do *p53* no códon 72 aliado ao polimorfismo *GSTM1*-nulo atuam no sentido da progressão da doença ⁽¹³⁵⁾. No nosso estudo foi encontrada uma diferença significativa para esses três genes (*GSTM1*-nulo, *GSTM1-nulo* e *p53*) com $G = 0,0192$ (tabela 4).

Estudos sobre câncer de mama revela uma relação entre *GSTM1*, *REβ* e *p53* ⁽¹³⁶⁾. Os resultados desse estudo mostram que o polimorfismo do gene *GSTM1* sozinho não exerce um papel fundamental no desenvolvimento da neoplasia, no entanto, outros polimorfismos como os do *p53* e do *REβ* podem ter efeito aditivo na determinação da doença. Esses resultados podem ser extrapolados para endometriose ⁽¹³⁶⁾, o que estaria de acordo com os dados da nossa pesquisa onde encontramos diferença significativa entre as frequências dos genótipos quando comparados os grupos controle e experimental, $G = 0,0039$ (tabela 3).

O nosso resultado mais expressivo foi em relação aos polimorfismos (Arg/Prol + Prol/Prol) + (AG) + (*GSTM1*-nulo) onde a frequência de pacientes com esses genótipos foi de 20% (10/50), como mostrado na tabela 3. Isso é uma indicação de que quando os polimorfismos dos genes *p53*, *REβ* e *GSTM1* estão juntos na mesma paciente, há um aumento significativo no risco para o aparecimento e desenvolvimento da endometriose ($G = 0,0039$). Mesmo com todos esses resultados positivos, os valores de $P < 0,05$ devem ser analisados cautelosamente, uma vez que a análise é limitada pelo número de indivíduos que compreendem cada grupo estudado (endometriose e controle), dentre outros fatores como etnia, costumes, ambiente e exposição a xenobióticos.

6. CONCLUSÃO

1. De acordo com a análise das frequências dos polimorfismos dos genes (*p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*) tomados dois a dois, encontramos que:

- A frequência dos genes polimórficos Arg/Prol + Prol/Prol juntamente com o polimorfismo AG foi 5,9 vezes maior no grupo endometriose do que no grupo controle.
- A frequência dos genótipos Arg/Prol + Prol/Prol juntamente com o polimorfismo *GSTM1*-nulo foi 2,39 vezes maior no grupo endometriose do que no grupo controle.
- A frequência dos genes AG e A1A2/A2A2 foi de 65,5% no grupo Endometriose enquanto nenhuma paciente do grupo controle apresentou os genótipos polimórficos.
- A frequência dos genes polimórficos *GSTM1*-nulo e A1/A2 + A2/A2 foi 3 vezes maior no grupo endometriose do que no grupo controle.
- A frequência dos genes Arg/Prol + Prol/Prol juntamente com o polimorfismo W1/m1 + m1/m1 foi de 31,25% no grupo endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou os genótipos polimórficos.
- A frequência dos genótipos *GSTT1*-nulo e W1/m1 + m1/m1 foi de 31,25% no grupo endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou os genótipos polimórficos.

2. De acordo com a análise das frequências dos polimorfismos dos genes (*p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*) tomados três a três, encontramos que:

- A frequência dos genótipos polimórficos Arg/Prol ou Prol/Prol + AG + A1A2 ou A2A2 foi de 12% no grupo com endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou os três polimorfismos juntos.

- A frequência dos genótipos polimórficos Arg/Prol ou Prol/Prol + W1m1 + A1A2 ou A2A2 foi de 4% no grupo com endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos em conjunto.
- A frequência dos genótipos A1/A2 ou A2/A2 + AG + *GSTM1*-nulo foi de 18% no grupo com endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos genótipos A1/A2 ou A2/A2 + AG + *GSTT1*-nulo foi de 10% no grupo experimental e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos polimorfismos A1/A2 ou A2/A2 + AG + W1m1 ou m1m1 foi de 4% no grupo com endometriose e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos genótipos polimórficos Arg/Prol ou Prol/Prol + AG + *GSTM1*-nulo foi de 20% no grupo experimental e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos genótipos polimórficos Arg/Prol ou Prol/Prol + AG + *GSTT1*-nulo foi 2,66 vezes maior no grupo experimental do que no grupo controle.
- A frequência dos genótipos polimórficos Arg/Prol ou Prol/Prol + *GSTM1*-nulo + *GSTT1*-nulo foi 4 vezes maior no grupo experimental do que no grupo controle.
- A frequência dos polimorfismos Arg/Prol ou Prol/Prol + *GSTM1*-nulo + W1m1 ou m1m1 foi de 8% e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos polimorfismos Arg/Prol ou Prol/Prol + *GSTT1*-nulo + W1m1 ou m1m1 foi de 10% e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos polimorfismos A1A2 ou A1A2 + *GSTT1*-nulo + W1m1 ou m1m1 e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos genótipos polimórficos AG + *GSTM1*-nulo + *GSTT1*-nulo foi 1,9 vezes maior no grupo experimental do que no grupo controle.

- A frequência dos polimorfismos AG + *GSTT1*-nulo + W1m1 ou m1m1 foi 4% e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos polimorfismos W1m1 + m1m1 + *GSTM1*-nulo + *GSTT1*-nulo foi de 2% e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.
- A frequência dos polimorfismos AG + *GSTM1*-nulo + W1m1 + m1m1 foi de 4% e nenhuma paciente do grupo controle apresentou esses genótipos juntos.

3. De acordo com a análise das frequências dos polimorfismos dos genes (*p53*; *REβ*; *PROGINS*; *GSTM1*; *GSTT1*; *CYP1A1*) encontramos que alguns genótipos exercem efeito protetor contra o risco de desenvolver endometriose:

- Quando o gene *p53* e o gene *PROGINS* foram comparados, a frequência dos genótipos Arg/Arg + A1A1 foi 1,68 vezes maior no grupo controle do que no grupo endometriose.
- Quando o gene *GSTM1* e o gene *REβ* foram comparados, a frequência dos genótipos *GSTM1*-presente + AA ou GG foi 2,42 vezes maior no grupo controle do que no grupo endometriose.
- Quando o gene *GSTT1* e o gene *REβ* foram comparados, a frequência dos genótipos *GSTT1*-presente + AA ou GG foi 2,5 vezes maior no grupo controle do que no grupo endometriose.
- Quando o gene *REβ* e o gene *CYP1A1* foram comparados, a frequência dos genótipos AA ou GG + W1W1 foi 1,36 vezes maior no grupo controle do que no grupo endometriose.
- Quando o gene *GSTM1* e o gene *CYP1A1* foram comparados, a frequência dos genótipos *GSTT1*-presente + W1W1 foi 1,44 vezes maior no grupo controle do que no grupo endometriose.

7. PERSPECTIVAS

Avanços na Medicina Clínica e Biologia Molecular possibilitaram o desenvolvimento de novas terapias e tratamentos para doenças complexas. Ensaio genômicos automatizados e em larga escala através do uso de repetições de nucleotídeos em *tandem* com marcadores fluorescentes têm sido utilizados nos estudos de ligação gênica. Essas análises levaram à identificação de loci suscetíveis no desenvolvimento de doenças complexas, como é o caso da diabetes e também da endometriose ⁽¹²⁾. Abordagens semelhantes podem ser usadas na tentativa de identificar regiões do genoma com maior propensão de sofrer alterações que possam levar ao desenvolvimento da endometriose.

Os próximos estudos devem focar na análise de funções bioquímicas dos produtos de genes que possam estar relacionados à endometriose, o que poderá trazer maior entendimento da etiologia e fisiopatologia da doença ⁽¹²⁾.

Identificar a herança genética e as diferenças funcionais nas vias de apoptose em grupos experimentais com a doença e compará-los com grupos controle; também é uma alternativa para elaborar planos de ação no intuito de melhorar diagnóstico e tratamento.

Tomando como base os dados encontrados na literatura, tratamentos devem visar o controle dos efeitos do TNF- α na síntese de quimiocinas, na atividade das metaloproteinases, e também nos efeitos da angiogênese e estímulos à proliferação das células endometriais. Essa hipótese para novos tratamentos é evidenciada pela capacidade de inibição da progressão da doença apresentada por uma proteína solúvel receptora de TNF em um experimento com roedores ⁽¹⁵⁾.

9. REFERÊNCIAS

- 1 – Dangelo JG, Fattini CA: **Anatomia humana básica: sistema genital Feminino**. 2ª edição. São Paulo, Atheneu; 2002:150-159.
- 2 – Tate, P: **Seeley's principles of anatomy & physiology: reproductive system**. 2nd edition. Edited by Connely, JF. New York: McGraw-Hill; 2012:769-801.
- 3 – Saladin: **Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function: the female reproductive system**. 5th edition. United States of America: McGraw-Hill; 2009:1077-1115.
- 4 – Moore KL, Dalley AF: **Clinically Oriented Anatomy: pelvis and perineum**. 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2006:357-476.
- 5 – Martini FH, Nath JL, Bartholomew EF: **Fundamentals of anatomy and physiology: the reproductive system**. 9th edition. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings; 2012:1031-1075.
- 6 – Snell, RS: **Clinical anatomy by regions: the pelvis: part I – the pelvic walls**. 9th edition. Printed in China, Lippincott Williams & Wilkins; 2012:240-261.
- 7 – Tortora, GJ, Nielsen, MT: **Principles of human anatomy: the reproductive systems**. 12th edition. USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2012:884-931
- 8 – McKinley M, O'Loughlin VD: **Human anatomy: reproductive system**. 3rd edition. New York: McGraw-Hill; 2012:843-878.
- 9 – Rizzo DC: **Fundamentals of anatomy and physiology: the reproductive system**. 3rd edition. Clifton Park, NY: Cengage Learning; 2010:448-485
- 10 – Shier D, Butler J, Lewis R: **Hole's human anatomy and physiology**. 12th edition. New York: McGraw-Hill; 2010:830-874
- 11 – Tsuchiya M, Katoh T, Motoyama H, Sasaki H, Tsugane S, Ikenoue T: **Analysis of the AhR, ARNT, and AhRR gene polymorphisms: genetic contribution to endometriosis susceptibility and severity**. Fertility and Sterility 2005, **84**:454-458.
- 12 - Kennedy S. **The genetics of endometriosis**. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1999, **82**:129-33.

- 13 – Kyama CM, Mihalyi A, Gevaert O, Waelkens E, Simsa P, Van de Plas R, *et al*: **Evaluation of endometrial biomarkers for semi-invasive diagnosis of endometriosis**. *Fertility and Sterility* 2011, **95**:1338-1343.
- 14 – Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d’Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, *et al*: **Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries**. *Fertility and Sterility* 2011, **96**:366-373.
- 15 – Dmowski WP, Braun DP: **Immunology of endometriosis**. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2004, **18**:245-263.
- 16 – Nothnick, WB: **Treating endometriosis as an autoimmune disease**. *Fertility and Sterility* 2011, **76**(2):223-231.
- 17 – Mathur, SP. Autoimmunity in endometriosis: relevance to infertility. **American Journal of Reproductive Immunology** 2000; **44**: 89–95.
- 18 – Nakata LC; Bertollo EMC; Dos Santos I; Oliani A H; Vaz, DCM, Oliveira G H, Bertelli EC. Pavarino; **Biomarcadores de Susceptibilidade à Endometriosis**. *Rev Brasil Ginecol e Obste* 2004;**26**(4).
- 19 - Marques, RM. **Endometriose e infertilidade: revisão sistemática da literatura e relato de casos** [Monografia]. Universidade Federal de Santa Catarina: Florianópolis; 2005.
- 20 – Sampson, JA. **Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity**. *Am J Obstet Gynecol* 1927; **14**: 422-69.
- 21 – Bischoff, F; Simpson, JL: **Genetics of endometriosis: heritability and candidate genes**. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2004; **18**(2):219–232.
- 22 – Rawson JM: **Prevalence of endometriosis in asymptomatic women**. *J Reprod Med* 1991; **36**:513–5.
- 23 – Rogers PAW, d’Hooghe TM, Fazleabas A, Gargett CE, Giudice LC, Montgomery GW, *et al*: **Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop**. *Reprod Sci* 2009; **16**:335–46.
- 24 – Adamson GD, Kennedy SH, Hummelshoj L: **Creating solutions in endometriosis: global collaboration through the World Endometriosis Research Foundation**. *J Endometriosis* 2010; **2**:3–6.

- 25 – D’Hooghe TM, Hill JA. **Endometriosis**. In: Berek JS, ed. Novak’s gynecology. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2002; 931–72.
- 26 – Gao, X; Outley J; Botteman, M; Spalding, J; Simon, JA; Pashos, CL: **Economic burden of endometriosis**. Fertil Steril 2006; **86**:1561–72.
- 27 - Sangi Haghpeykar, H; Poindexter, AN: **Epidemiology of endometriosis among parous women**. Obstet Gynecol 1995; **85**:983–92.
- 28 – Bocker, J; Tadmor, OP; Gal, M; Diamant, YZ: **The prevalence of adenomyosis and endometriosis in an ultra-religious Jewish population**. Asia Oceania J Obstet Gynaecol 1994; **20**:125–9.
- 29 – Simoens, S; Hummelshoj, L; d’Hooghe TM: **Endometriosis: cost estimates and methodological perspective**. Hum Reprod Update 2007; **13**:395–404.
- 30 – Sundqvist, J; Falconer, H; Seddighzadeh, M; Vodolazkaia, A; Fassbender, A; Kyama, C; et. al.: **Endometriosis and autoimmune disease: association of susceptibility to moderate/severe endometriosis with CCL21 and HLA-DRB1**. Fertility and Sterility 2001; **95**(1):437-440.
- 31 – Bartosik, D; Jacob, S; Kelly, LJ: **Endometrial tissue in peritoneal fluid**. Fertil Steril 1986; **46**:796–800.
- 32 – Jenkins, S; Olive, DL; Haney, AF: **Endometriosis: pathogenic implications of the anatomic distribution**. Obstet Gynecol 1986; **67**:335–8.
- 33 – Liu, DTY; Hitchcock, A: **Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea, and tubal pathology**. Br J Obstet Gynaecol 1986; **93**:859–86.
- 34 – Koninckx, PR; Oosterlynck, D; D’Hooghe, T; Meuleman, C: **Deeply infiltrating endometriosis is a disease whereas mild endometriosis could be considered a non-disease**. Ann NY Acad Sci 1994; **734**:333–41.
- 35 – Gurates, B; Bulun, SE: **Endometriosis: the ultimate hormonal disease**. Seminars in Reproductive Medicine 2003; **21**(2): 125–134.
- 36 – Ness, RB: **Endometriosis and ovarian cancer: thoughts on shared pathophysiology**. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2003; **189**(1): 280–294.
- 37 – Lin, J; Zhang, X; Chen, Y: **Mutagen sensitivity as a susceptibility marker for endometriosis**. Human Reproduction 2003; **18**(10): 2052–2057.

- 38 – Simpson, JL; Elias, S; Malinak, LR; Buttram, VCJ: **Heritable aspects of endometriosis**. I Genetic studies. Am J Obstet Gynecol 1980; **137**:327–31.
- 39 – Tamura, M; Fukaya, T; Murakami, T; et. al.: **Analysis of clonality in human endometriotic cysts based on evaluation of X chromosome inactivation in archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissue**. Laboratory Investigation 1998; **78**: 213–218.
- 40 – Giudice, LC; Kao, LC: **Endometriosis**. Lancet **364**:1789, 2004
- 41 – Vercellini, P; Trespidi, L; De Giorgi, O; et. al.: **Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization**. Fertil Steril 1996; **65**:299.
- 42 – Hadfield, R; Mardon, H; Barlow, D; Kennedy, S: **Delay in the diagnosis of endometriosis: a survey of women from USA and the UK**. HumReprod 1996; **11**:878–80.
- 43 – Husby, GK; Haugen, RS; Moen, MH: **Diagnostic delay in women with pain and endometriosis**. Acta Obstet Gynecol Scand 2003; **82**:649–53.
- 44 – Arndt, V; Stürmer, T; Stegmaier, C; Ziegler, H; Dhom, G; Brenner, H: **Patient delay and stage of diagnosis among breast cancer patients in Germany—a population based study**. Br J Cancer 2002; **86**:1034–40.
- 45 – Denny, E; Mann, CH: **Endometriosis and the primary care consultation**. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2008; **139**:111–5.
- 46 – Casado-Vela, J; Rodriguez-Suarez, E; Iloro, I; Ametzazurra, A; Alkorta, N; García-Velasco, JÁ; et. al.: **Comprehensive proteomic analysis of human endometrial fluid aspirate**. J Proteome Res 2009; **8**:4622–32.
- 47 – Kennedy, S: **Genetics of endometriosis: a review of the positional cloning approaches**. Seminars in Reproductive Medicine 2003; **21**: 111–118.
- 48 – Kennedy, S; Hadfield, R; Westbrook, C; et. al.: **Magnetic resonance imaging to assess familial risk in relatives of women with endometriosis**. Lancet 1998; **352**: 1440–1441.
- 49 – Treloar, SA; Kennedy, SH: **Preliminary results from two combined genome-wide scans in endometriosis**. Fertility and Sterility 2002; **77**: 19-55.
- 50 – Stefansson, H; Geirsson, RT; Steinthorsdottir, V; et. al.: **Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis**. Human Reproduction 2002; **17**: 555–559.
- 51 – Kyama, CM; T’Jampens, D; Mihalyi, A; Simsa, P; Debrock, S; Waelkens, E; et. al.: **Protein Chip technology is a useful method in the pathogenesis**

and diagnosis of endometriosis: a preliminary study. Fertil Steril 2006; **86**:203–9.

52 - The American Society for Reproductive Medicine. **Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis:** 1996. Fertil Steril 1997; **67**:817–21.

53 – Dmowski, WP; Steele, RW; Baker, GF: **Deficient cellular immunity in endometriosis.** American Journal of Obstetrics and Gynecology 1981; **141**(4): 377–383.

54 – Kayisli, UA; Mahutte, NG; Arici, A: **Uterine chemokines in reproductive physiology and pathology.** American Journal of Reproductive Immunology 2002; **47**: 213–221.

55 – Kitaya, K; Nakayama, T; Okubo, T; et. al.: **Expression of macrophage inflammatory protein-1beta in human endometrium: its role in endometrial recruitment of natural killer cells.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2003; **88**: 1809–1814.

56 – Szamatowicz, J; Laudanski, P; Tomaszewska, I; Szamatowicz, M: **Chemokine growth-regulated-alpha: a possible role in pathogenesis of endometriosis.** Gynecologic Endocrinology 2002; **16**: 137–141.

57 – Pizzo, A; Salmeri, F; Ardita, F; et. al.: **Behavior of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis.** Gynecologic and Obstetric Investigation 2002; **54**: 82–87.

58 – Khorram, O; Taylor, RN; Ryan, IP; et. al.: **Peritoneal fluid concentrations of the cytokine RANTES correlate with the severity of endometriosis.** American Journal of Obstetrics and Gynecology 1993; **169**: 1545–1549.

59 – Hornung, D; Klingel, K; Dohrn, K; et. al.: **Regulated on activation, normal t-cell-expressed and –secreted mRNA expression in normal endometrium and endometriotic implants: assessment of autocrine/paracrine regulation by in situ hybridization.** American Journal of Pathology 2001; **158**: 1949–1954.

60 – Mettler, L; Volkov, NI; Kulakov, VI; et. al.: **Lymphocyte subsets in the endometrium of patients with endometriosis throughout the menstrual cycle.** American Journal of Reproductive Immunology 1996; **36**:342–348.

- 61 – Vigano, P; Parazzini, F; Somigliana, E; Vercellini, P: **Endometriosis: epidemiology and aetiological factors**. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 2004; **18**(2):177–200.
- 62 – Startseva, NV: **Clinical immunological aspects of genital endometriosis**. Akush Ginekol (Mosk) 1980; **3**:23–26.
- 63 – Weed, JC; Arguembourg, PC: **Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility?** Clinical Obstetrics and Gynecology 1980; **23**: 885–893.
- 64 – Mathur, SP: **Autoimmunity in endometriosis: relevance to infertility**. American Journal of Reproductive Immunology 2000; **44**: 89–95.
- 65 – Yeaman, GR; Collins, JE; Lang, GA; **Autoantibody responses to carbohydrate epitopes in endometriosis**. Annals of New York Academy of Science 2002; **955**: 174–182.
- 66 – Gleicher, N; El-Roeiy, A; Confino, E; Friberg, J: **Abnormal autoantibodies in endometriosis: is endometriosis an autoimmune disease?** Obstetrics and Gynecology 1987; **70**: 115–122.
- 67 – Dmowski, WP; Rana, N; Michalowska, J; et. al.: **The effect of endometriosis, its stage and activity, and of autoantibodies on in vitro fertilization and embryo transfer success rates**. Fertility and Sterility 1995; **63**:555–562.
- 68 – Zeller, JM; Henig, I; Radwanska, E; Dmowski, WP: **Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis**. American Journal of Reproductive Immunology and Microbiology **1987**; 13: 78.
- 69 – Oosterlynck, DJ; Cornillie, FJ; Waer, M; et. al.: **Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium**. Fertility and Sterility 1991; **56**:45–5.
- 70 – Lanier, LL; Phillips, JH: **Inhibitory MHC: class I receptors on NK cells and T cells, a standard nomenclature**. Immunology Today 1996; **17**(2): 86–91.
- 71 – Braun, DP; Gebel, H; Rotman, C; et. al.: **The development of cytotoxicity in peritoneal macrophages from women with endometriosis**. Fertility and Sterility 1992; **57**(6): 1203–1210.

- 72 – Wu, M; Yang, J; Chao, K; et. al.: **Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis.** *Fertility and Sterility* 2000; **74**: 1187–1191.
- 73 – Braun, DP; Gebel, H; House, R; et. al.: **Spontaneous and induced synthesis of cytokines by peripheral blood monocytes in patients with endometriosis.** *Fertility and Sterility* 1996; **65**(6): 1125–1129.
- 74 – Garcia-Velasco, JA; Arici, A: **Chemokines and human reproduction.** *Fertility and Sterility* 1999; **71**(6):983–993.
- 75 – Harada, T; Iwabe, T; Terakawa, N: **Role of cytokines in endometriosis.** *Fertility and Sterility* 2001; **76** (supplement 1): 1–10.
- 76 – Zhang, RJ; Wild, RA; Ojago, JM: **Effect of TNF- α on adhesion of human endometrial stromal cells to peritoneal mesothelial cells: an in vitro system.** *Fertil Steril* 1993; **59**:1196–201.
- 77 – McLaren, J; Prentice, A; Charnock-Jones, DS; et. al.: **Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids.** *Journal of Clinical Investigation* 1996; **98**: 482–489.
- 78 – Lebovic, DI; Bentzien, F; Chao, VA; et. al.: **Induction of an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1 β .** *Molecular Human Reproduction* 2000; **6**: 269–275
- 79 – Arici, A; Matalliotakis, I; Goumenou, A; et. al.: **Increased levels of interleukin-15 in the peritoneal fluid of women with endometriosis: inverse correlation with stage and depth of invasion.** *Human Reproduction* 2003; **18**: 429–432.
- 80 – Ria, R; Loverro, G; Ribatti, D; et. al.: **Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 agree with progression of ovarian endometriomas.** *European Journal of Clinical Investigation* 2002; **32**:199–206.
- 81 – Witz, CA; Montoya, IA; Dey, TD; Schenken, RS; **Characterization of lymphocyte subpopulations and T cell activation in endometriosis.** *American Journal of Reproductive Immunology* 1994; **32**: 173–179.
- 82 – Sillem, M; Prifti, S; Monga, B; et. al.: **Integrin-mediated adhesion of uterine endometrial cells from endometriosis patients to extracellular matrix proteins is enhanced by tumor necrosis factor alpha (TNF α)**

and interleukin-1 (IL-1). European Journal of Obstetrics and Gynaecology of Reproduction Biology 1999; **87**: 123–127.

83 – Maas, JW; Calhaz-Jorge, C; ter Riet, G; et. al.: **Tumor necrosis factor-alpha but not interleukin-1 beta or interleukin-8 concentrations correlate with angiogenic activity of peritoneal fluid from patients with minimal to mild endometriosis.** Fertility and Sterility 2001; **75**: 180–185.

84 – Cyster, JG: **Leukocyte migration: scent of the T-zone.** Curr Biol 2000; **10**:30–3.

85 – Flanagan, K; Moroziewicz, D; Kwak, H; Horig, H; Kaufman, HL: **The lymphoid chemokine CCL21 costimulates naive T cell expansion and Th1 polarization of non-regulatory CD4+ T cells.** Cell Immunol 2004; **231**:75–84.

86 – Chand, AL; Murray, AS; Jones, RL; Hannan, NJ; Salamonsen, LA; Rombauts, L: **Laser capture microdissection and cDNA array analysis of endometrium identify CCL16 and CCL21 as epithelial derived inflammatory mediators associated with endometriosis.** Reprod Biol Endocrinol 2007; **5**:18.

87 – Ho, HN; Chao, KH; Chen, HF; Wu, MY; Yang, YS; Lee, TY: **Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25+ CD3+ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis.** Hum Reprod 1995; **10**:2671–5.

88 – Ota, H; Igarashi, S; Sasaki, M; Tanaka, T: **Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis.** Human Reproduction 2001; **16**: 561–566.

89 – Saito, T; Mizumoto, H; Kuroki, K; Fujii, M; Moir, S; Kudo, R: **Expression of MMP-3 and TIMP-1 in endometriosis and the influence of danazol.** Acta Obstet Gynecol Jpn 1995; **47**:495–6.

90 – Singer, CF; Marbaix, E; Lemoine, P; Courtoy, PJ; Eeckhout, Y: **Local cytokines induce differential expression of matrix metalloproteinases but not their tissue inhibitors in human endometrial fibroblasts.** EurJ Biochem 1999; **259**:40–5.

91 – Arpin, M; Friederich, E; Algrain, M; Vernel, F; Louvard, D: **Functional differences between L- and T-plastin isoforms.** J Cell Biol 1994; **127**:1995–2008.

- 92 – Matsuda, R; Kaneko, N; Kikuchi, M; Chiwaki, F; Toda, M; Ieiri, T; et. al.: **Clinical significance of measurement of plasma annexin V concentration of patients in the emergency room.** Resuscitation 2003; **57**:171–7.
- 93 – Rier, SE; Martin, DC; Bowman, RE; et. al.: **Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.** Fundamental Application of Toxicology 1993; **21**:433–441.
- 94 – Mayani, A; Barel, S; Soback, S; Almagor, M: **Dioxin concentrations in women with endometriosis.** Hum Reprod 1997; **12**:373–5.
- 95 – Rier, S; Foster, WG: **Environment dioxins and endometriosis.** Seminars in Reproductive Medicine 2003; **21**(2): **145**–153.
- 96 – Baranova, H; Canis, M; Ivaschenko, T; et. al.: **Possible involvement of arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 genes in the development of endometriosis.** Molecular Human Reproduction 1999; **5**: 636–641.
- 97 - Al-Jefout, M: **Brief update on endometriosis treatment.** Middle East Fertility Society Journal 2011; 167-174.
- 98 – Redwine, D; Mann, CH; Wright, JT: **Evidence on endometriosis. Elitism about randomised controlled trials is inappropriate.** BMJ 2000; **321**(7268):1077–8.
- 99 – Davis, CJ; McMillan, L: **Pain in endometriosis: effectiveness of medical and surgical management.** Curr Opin Obstet Gynecol 2003; **15**(6):507–12.
- 100 – Marcoux, S; Maheux, R; Berube, S: **Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis.** N Engl J Med 1997; **337**(4):217–22.
- 101 – Seal, SL; Kamilya, G; Mukherji, J; De, A; Ghosh, D; Majhi, AK: **Aromatase inhibitors in recurrent ovarian endometriomas: report of five cases with literature review.** Fertil Steril 2011; **95**(1):291.e15–8.
- 102 – Kupker, W; Felberbaum, RE; Krapp, M; Schill, T; Malik, E; Diedrich, K: **Use of GnRH antagonists in the treatment of endometriosis.** Reprod Biomed Online 2002; **5**(1):12–6.
- 103 – Kennedy, SH; Starkey, PM; Sargent, IL; Hicks, BR; Barlow, DH: **Anti-endometrial antibodies in endometriosis measured by an enzyme-linked,**

immunosorbent assay before and after treatment with danazol and nafarelin. *Obstet Gynecol* 1990; **75**:914–8.

104 – Braun, DP; Gebel, H; Dmowski, WP: **Effect of danazol in vitro and in vivo on monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis.** *Fertility and Sterility* 1994; **62**: 89–95.

105 – Kistner, RW: **The use of newer progestins in the treatment of endometriosis.** *Am J Obstet Gynecol* **1958**; 75(2):264–78.

106 – Crosignani, PG. Vercellini, P; Mosconi, P; Oldani, S; Cortesi, I; De Giorgi, O: **Levonorgestrel-releasing intrauterine device versus hysteroscopic endometrial resection in the treatment of dysfunctional uterine bleeding.** *Obstet Gynecol* 1997; **90**(2):257–63.

107 – Steinleitner, A; Lambert, H; Roy, S: **Immunomodulation with pentoxifylline abrogates macrophage-mediated infertility in an in vivo model: a paradigm for a novel approach to the treatment of endometriosis associated subfertility.** *Fertil Steril* 1991; **55**:26–31.

108 – Cramer, DW; Goldstein, DP; Fraer, C; Reichardt, JK: **Vaginal agenesis (Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome) associated with the N314D mutation of galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT).** *Mol Hum Reprod* 1996; **2**:145–8.

109 – Cauchi, S; Stucker, I; Cenee, S; Kremers, P; Beaune, P; Massaad-Massade, L: **Structure and polymorphisms of human aryl hydrocarbon receptor repressor (AhRR) gene in a French population: relationship with CYP1A1 inducibility and lung cancer.** *Pharmacogenetics* 2003; **13**:339–47.

110 – Sarhanis, P; Redman, C; Perrett, C; et. al.: **Epithelial ovarian cancer: influence of polymorphism at the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 loci on p53 expression.** *British Journal of Cancer* 1996; **74**:1757–1761.

111 – Eyster, KM; Boles, AL; Brannian, JD; et. al.: **DNA microarray analysis of gene expression markers of endometriosis.** *Fertility and Sterility* 2002; **77**: 38–42.

112 – Romano, A; Delvoux, B; Fischer, DC; Groothuis, P: **The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone.** *J Mol Endocrinol.* 2007; **38**(1-2):331-50.

- 113 – Ko, HE; Whang, DH; Noh, JH; Kim, YB: **Association of Progesterone Receptor Gene Polymorphism (PROGINS) and Estrogen Receptor Gene Polymorphism with Endometriosis in Korean Population.** *Korean J Obstet Gynecol.* 2006; **49**(7):1471-1480.
- 114 – Frare, Ariane Bocaletto. **Investigação dos polimorfismos GSTMI e GSTTI em mulheres com endometriose.** Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2011.
- 115 – Souza, Suelene Ribeiro. **Análise do polimorfismo CYP1A1 em Endometriose.** Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2012.
- 116 – Ribeiro Júnior, CL. **Análise do polimorfismo do gene p53 em pacientes com clínica de endometriose associado à infertilidade.** Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2009.
- 117 – Costa IR. **Análise do polimorfismo do gene receptor de progesterona (PROGINS) em mulheres com endometriose.** Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 09/06/2010.
- 118 – Silva, Rita de Cássia Pereira da Costa e. **Análise do polimorfismo RsaI do gene receptor beta estrógeno (REβ) em mulheres com endometriose.** Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-Graduação em Genética Mgene da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2010.
- 119 – Maeda, K; Tsuda, H; Hashiguchi, Y; Yamamoto, K; Inoue, T; Ishiko, O; Ogita, S: **Relationship between p53 pathway and estrogen receptor status in endometrioid-type endometrial cancer.** *Hum Pathol.* 2002; **33**(4):386-91.
- 120 – Wieser, F; Schneeberger, C; Tong, D; et. al.: **PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis.** *Fertility and Sterility* 2002; **77**: 309–312.
- 121 – Baranova, H; Bothorishvilli, R; Canis, M; et. al.: **Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population.** *Molecular Human Reproduction* 1997; **3**: 775–780.

- 122 - Hadfield, RM; Manek, S; Weeks, DE; et. al.: **Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1**. *Molecular Human Reproduction* 2001; **7**: 1073–1078.
- 123 – Baxter, SW; Thomas, EJ; Campbell, IG: **GSTM1 null polymorphism and susceptibility to endometriosis and ovarian cancer**. *Carcinogenesis* 2001; **22**: 63–65.
- 124 – Kawajiri, K; Nakachi, K; Imai, K; Watanabe, J; Hayashi, Shin-Ichi: **Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer**. *Oxford Journals, Life Sciences & Medicine, Carcinogenesis* 1993; **14**(6):1085-1089.
- 125 – Ricci, MS; Toscano, DG; Mattingly, CJ; Toscano, WA Jr: **Estrogen receptor reduces CYP1A1 induction in cultured human endometrial cells**. *J Biol Chem*. 1999; **274**(6):3430-8.
- 126 – Arvanitis, DA; Koumantakis, GE; Goumenou, AG; Matalliotakis, IM; Koumantakis, EE; Spandidos, DA: **CYP1A1, CYP19, and GSTM1 polymorphisms increase the risk of endometriosis**. *Fertil Steril*. 2003; **79**(1):702-9.
- 127 – Arvanitis, DA; Goumenou, AG; Matalliotakis, IM; Koumantakis, EE; Spandidos, DA: **Low-penetrance genes are associated with increased susceptibility to endometriosis**. *Fertility and Sterility* 2001; **76**(6):1202-1206.
- 128 – Babu, KA; Reddy, NG; Deendayal, M; Kennedy, S; Shivaji, S: **GSTM1, GSTT1 and CYP1A1 detoxification gene polymorphisms and their relationship with advanced stages of endometriosis in South Indian women**. *Pharmacogenet Genomics*; 2005; **15**(3):167-72.
- 129 – Hadfield, RM; Manek, S; Weeks, DE; Mardon, HJ; Barlow, DH; Kennedy, SH: **Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1**. *Mol Hum Reprod*. 2001 Nov; **7**(11):1073-8.
- 130 – Quiñones, LA; Irrarázabal, CE; Rojas, CR; Orellana, CE; Acevedo, C; Huidobro, C; Varela, NE; Cáceres, DD: **Joint effect among p53, CYP1A1, GSTM1 polymorphism combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study**. *Asian J Androl*; 2006; **8**(3):349-55.

- 131 – Wang, YC; Chen, CY; Wang, HJ; Chen, SK; Chang, YY; Lin, P: **Influence of polymorphism at p53, CYP1A1 and GSTM1 loci on p53 mutation and association of p53 mutation with prognosis in lung cancer.** *Zhonghua yi xue za zhi* = Chinese medical journal; Free China ed 1999; **62(7):** 402-410.
- 132 – Bonfitto, VLL; Andrade, LALA: **p53, estrogen and progesterone receptors in diagnostic curettage for endometrial adenocarcinoma and their correlation with morphological data and disease stage at hysterectomy.** *Sao Paulo Med. J.* vol.121 no.4 São Paulo 2003.
- 133 - Soto-Quintana, O; Cabrera-Galeana, P; Téllez-Trevilla, G; Barrera-Franco, JL; Juárez-Ramiro, A; Castillo-Cadena, J: **Relationship of Polymorphisms of Glutathione S-Transferase GSTT1 and GSTM1 with the Response to Chemotherapy in Mexican Women with Advanced Breast Cancer.** *Journal of Cancer Therapy*, 2011, 2, 354-361 doi:10.4236/jct.2011.23048 Published Online August 2011 (<http://www.SciRP.org/journal/jct>). Acesso dia 12 de Dezembro de 2012 às 00:35.
- 134 – Ricci, MS; Toscano, DG; Mattingly, CJ; Toscano Jr, WA: **Estrogen Receptor Reduces CYP1A1 Induction in Cultured Human Endometrial Cells.** Vol. 274, No. 6, Issue of February 5, pp. 3430–3438, 1999.
- 135 – Ortega, MM; Honma, HN; Zambon, L; Lorand-Metze, I; Costa, FF; De Souza, CA; Lima, CS: **GSTM1 and codon 72 P53 polymorphism in multiple myeloma.** *Ann Hematol.* 2007 Nov;86(11):815-9. Epub 2007 Jul 25.
- 136 – Rundle, A; Tang, D; Zhou, J; Cho, S; Perera, F: **The association between glutathione S-transferase M1 genotype and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in breast tissue.** *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 9, 1079–1085.

ANEXO I

Todos os polimorfismos dos genes analisados dois a dois através do Teste Exato de Fisher.

Genes	Polimorfismo	*p	Diferença	Efeito Protetor
<i>p53</i> e <i>REβ</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + AG	0,0110	S	Sim
<i>p53</i> e <i>PROGINS</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + A1/A2 + A2/A2	0,4389	NS	Sim
<i>p53</i> e <i>GSTM1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + <i>GSTM1</i> -nulo	0,0280	S	Não
<i>p53</i> e <i>GSTT1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + <i>GSTT1</i> -nulo	0,4870	NS	Não
<i>p53</i> e <i>CYP1A1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + W1/m1 + m1/m1	0,0079	S	Sim
<i>REβ</i> e <i>PROGINS</i>	AG + A1/A2 + A2/A2	0,0227	S	Sim
<i>REβ</i> e <i>GSTM1</i>	AG + <i>GSTM1</i> -nulo	0,1433	NS	Sim
<i>REβ</i> e <i>GSTT1</i>	AG + <i>GSTT1</i> -nulo	0,1224	NS	Sim
<i>REβ</i> e <i>CYP1A1</i>	AG + W1/m1 + m1/m1	0,5227	NS	Sim
<i>PROGINS</i> e <i>GSTM1</i>	A1/A2 + A2/A2 + <i>GSTM1</i> -nulo	0,0283	S	Não
<i>PROGINS</i> e <i>GSTT1</i>	A1/A2 + A2/A2 + <i>GSTT1</i> -nulo	0,0567	NS	Não
<i>PROGINS</i> e <i>CYP1A1</i>	A1/A2 + A2/A2 + W1/m1 + m1/m1	0,1713	NS	Não
<i>GSTM1</i> e <i>GSTT1</i>	<i>GSTM1</i> -nulo + <i>GSTT1</i> -nulo	0,4534	NS	Não
<i>GSTM1</i> e <i>CYP1A1</i>	<i>GSTM1</i> -nulo + W1/m1 + m1/m1	0,2955	NS	Sim
<i>GSTT1</i> e <i>CYP1A1</i>	<i>GSTT1</i> -nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0217	S	Sim

* Teste Exato de Fisher; S = Significativa; NS = Não-significativa.

ANEXO II

Todos os polimorfismos dos genes analisados três a três através do Teste G.

Genes	Polimorfismo	*G	Diferença
<i>p53, REβ e PROGINS</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + A1/A2 + A2/A2	0,0118	S
<i>p53, GSTM1 e PROGINS</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + A1/A2 + A2/A2	0,1904	NS
<i>p53, GSTT1 e PROGINS</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTT1-nulo + A1/A2 + A2/A2	0,3108	NS
<i>p53, CYP1A1 e PROGINS</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + W1/m1 + m1/m1 + A1/A2 + A2/A2	0,0035	S
<i>PROGINS, REβ e GSTM1</i>	A1/A2 + A2/A2 + AG + GSTM1-nulo	0,0067	S
<i>PROGINS, REβ e GSTT1</i>	A1/A2 + A2/A2 + AG + GSTT1-nulo	0,0062	S
<i>PROGINS, REβ e CYP1A1</i>	A1/A2 + A2/A2 + AG + W1/m1 + m1/m1	0,0166	S
<i>p53, REβ e GSTM1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTM1-nulo	0,0039	S
<i>p53, REβ e GSTT1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + GSTT1-nulo	0,0070	S
<i>p53, REβ e CYP1A1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + AG + + W1/m1 + m1/m1	1,0000	NS
<i>p53, GSTM1 e GSTT1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0192	S
<i>p53, GSTM1 e CYP1A1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTM1-nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0008	S
<i>p53, GSTT1 e CYP1A1</i>	Arg/Prol + Prol/Prol + GSTT1-nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0059	S
<i>PROGINS, GSTM1 e GSTT1</i>	A1/A2 + A2/A2 + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0963	NS
<i>PROGINS, GSTT1 e CYP1A1</i>	A1/A2 + A2/A2 + GSTT1-nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0029	S
<i>REβ, GSTM1 e GSTT1</i>	AG + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0042	S
<i>REβ, GSTT1 e CYP1A1</i>	AG + GSTM1-nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0007	S
<i>CYP1A1, GSTM1 e GSTT1</i>	W1/m1 + m1/m1 + GSTM1-nulo + GSTT1-nulo	0,0011	S
<i>PROGINS, GSTM1 e CYP1A1</i>	A1/A2 + A2/A2 + GSTM1-nulo + W1/m1 + m1/m1	1,0000	NS
<i>REβ, GSTM1 e CYP1A1</i>	AG + GSTM1-nulo + W1/m1 + m1/m1	0,0014	S

* Teste G; S = Significativa; NS = Não-significativa.