



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Nathalya Paiva Arêas do Val Thompson

Diagnóstico Laboratorial da Endometriose

e

Novas Metodologias de Diagnóstico

- Revisão Bibliográfica-

NITERÓI

2014

NATHALYA PAIVA ARÊAS DO VAL THOMPSON

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA ENDOMETRIOSE E NOVAS
METODOLOGIAS DE DIAGNÓSTICO

– REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à
obtenção do Grau de Bacharel em Biomedicina. Área de Concentração:
Análises Clínicas

Orientadora: Prof^a./Dr^a Luciene de Carvalho Cardoso Weide

Faculdade de Medicina

Departamento de Patologia

Disciplina de Bioquímica Clínica

Niterói, 2014

"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável."

(Galileu Galilei)

“Ore como se tudo dependesse de Deus e trabalhe como se tudo dependesse de você”

Pr. Henrique Araújo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu a vida e me proporcionou tudo que tenho e conquistei para a Sua honra e glória. Sem Ele nada do que tenho vivido seria possível. Agradeço por sentir que estava presente, não somente nos momentos de felicidade, mas também nos de tristeza e lágrimas. A força e a perseverança, proporcionadas por Ele, me fizeram chegar aonde cheguei. Porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas. Por isso, mesmo depois de mais uma vitória alcançada, o meu desejo é que Ele nunca me deixe esquecer que tudo o que tenho, tudo o que sou e o que vier a ser, vem desse Deus incrível.

A meus pais Ruth e Ronaldo e ao meu irmão Gabryell, as palavras me faltam, pois nenhuma delas poderia expressar ou se comparar ao que sinto por vocês. Agradeço por cada palavra de amor e incentivo, por cada oração, por cada abraço, por cada sorriso e por cada lágrima. Sei que fariam tudo de novo, cada gesto de vocês demonstrou o quanto eu era importante, querida e amada. Sempre fizeram o que podiam e o que não podiam para me fazer feliz e realizada. Tudo isso seria muito difícil sem vocês!

Ao meu amado marido, agradeço a Deus por te separar pra mim. Você é umas das maiores provas do Seu amor para comigo. Obrigada por sua cumplicidade, compreensão, pelas noites mal dormidas, pelas palavras de ânimo, pela prontidão em me ajudar e por cada olhar e gesto de amor. Você foi usado por Deus para me ajudar a caminhar quando estava muito difícil e para me fazer feliz em cada momento. Você é mais do que eu sonhei. Ao meu bebê lindo, tão pequenino ainda dentro de mim, por fazer parte desse momento de conquista. Você foi mais um e um lindo presente de Deus pra mim. Amo vocês!!

Aos meus pais do coração, Ozielma e Gerardo e Soraya e Jorge. Obrigada por serem presentes em minha vida e por cada gesto de amor e carinho nessa longa caminhada. Agradeço a Deus por fazerem parte da minha

história. Aos meus avós, aqueles que já se foram e a que está ainda pertinho de mim. O amor e carinho vindo de cada um de vocês são indescritíveis.

Aos meus tios, tias e primos, cada um é muito especial e importante pra mim. Obrigada pelas palavras de amor e incentivo sempre.

Aos meus amigos, obrigada pelas orações e apoio em momentos difíceis e por compreenderem a minha ausência algumas vezes. Aos amigos que conquistei na faculdade, em especial a Carolina. Obrigada pela parceria em todos os momentos. Agradeço pelo carinho e amizade retribuídos.

A minha orientadora de monografia Luciene, obrigada pela amizade, paciência e orientação nessa reta final. A minha orientadora de pesquisa Danielle pela experiência e conhecimentos a mim concedidos e a todos os amigos que tive o prazer de trabalhar no Laboratório de Terapia Celular e Bioengenharia Ortopédica, INTO, em especial a Aline, minha parceira de estágio.

A todos os funcionários da Coordenação de Biomedicina da UFF, obrigada por sempre poder contar com a dedicação e paciência em nos ajudar.

A todos que, de alguma forma contribuíram para a vitória de mais uma etapa, o meu muito obrigada!!!

RESUMO

A endometriose é uma doença crônica, benigna, estrogênio-dependente, associada com dor pélvica e infertilidade e que acomete, em sua grande maioria, mulheres em idade reprodutiva. Estudos mostram que tal doença está relacionada a fatores de risco, ambientais, alterações hormonais, genéticas e imunológicas. Para muitas mulheres, a endometriose atrapalha e compromete o seu bem-estar, as relações pessoais, tempo gasto fora de suas atividades de rotina, necessidade de cirurgia e tratamentos caros, reduzindo sua qualidade de vida e principalmente sua autoestima. O diagnóstico é feito após suspeita da história clínica da paciente, juntamente com o exame físico e confirmado com exames laboratoriais, principalmente à dosagem da glicoproteína sérica CA-125. Além disso, o diagnóstico deve estar associado à exames de imagem, tais como: ultrassonografia transvaginal e ressonância magnética. No entanto, o padrão ouro para o diagnóstico da doença pélvica é a avaliação cirúrgica, por laparoscopia, onde se retira um pequeno fragmento do tecido suspeito (biópsia) para a avaliação anatomopatológica. Em muitos casos não há a necessidade do procedimento cirúrgico, sendo realizado o diagnóstico preditivo, através dos exames citados anteriormente, embora apresentem algum grau de inespecificidade. Dessa forma, o diagnóstico rápido, menos invasivo, preciso e específico é essencial para o tratamento precoce e para a melhoria da qualidade de vida dessas mulheres. A falta de especificidade e a dificuldade de métodos especializados de diagnóstico podem resultar na demora da descoberta da doença e o seu consequente tratamento. Avanços importantes foram feitos nos últimos anos, mantendo a promessa do desenvolvimento de novos métodos diagnósticos e terapêuticos objetivando a descoberta precisa e a melhora dos sintomas. Neste sentido, este trabalho realizará uma revisão bibliográfica sobre o diagnóstico laboratorial, os marcadores séricos utilizados na rotina clínica, incluindo suas técnicas e novas metodologias de diagnóstico, usados atualmente em pesquisas clínicas.

Palavras-chave: Endometriose; Métodos de diagnóstico laboratorial; Marcadores séricos.

ABSTRACT

Endometriosis is a chronic disease, benign, estrogen-dependent, followed by pelvic pain and infertility, coming over women of reproductive age in the majority. Studies show that it is related to risk and environmental factors and hormonal, genetic and immunological alterations. For many women, endometriosis disturbs and compromises their wellbeing, personal relationships and time spent out of their routine activities, bringing the need of surgery and expensive treatments, reducing their life quality and, mainly, their self-esteem. The diagnosis is made after suspects from patient's clinical history along with physical exams and confirmed by lab exams, especially the dosage of serum glycoprotein CA-125. Furthermore, the diagnosis must be associated to image examinations such as: transvaginal ultrasound and magnetic resonance. Nevertheless, the gold standard for this pelvic illness is the surgical evaluation by laparoscopy, when a small fragment of the suspected tissue is withdrawn (biopsy) for an anatomopathological evaluation. In many cases, surgical procedure is not necessary and the predictive diagnosis is made through the examinations cited before, although they present some inespecificity. Under these circumstances, the rapid diagnosis, less invasive, precise and specific is essential for a premature treatment and increasing of these women's life quality. The lack on specificity and the difficulty from the specialized diagnosis methods may result in a long delay for disease's detection and its consequent treatment. Important advances were made in the last years, maintaining the promise of the development of new diagnosis and therapeutic methods aiming at the precise detection and improvement of symptoms. In this sense, this work will present a bibliographic review on lab diagnosis, serum markers used on the clinic routine, including the new techniques and methodologies for diagnosis used nowadays in clinic researches.

Key-words: Endometriosis; Lab diagnosis methods; Serum markers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Sistema Reprodutor Feminino.....	2
Figura 2- Diagrama esquemático dos eventos que ocorrem na pelve com menstruação retrógrada e os principais bioquímicos envolvidos na patogênese da endometriose.....	5
Figura 3- Distribuição das pacientes conforme idade no diagnóstico.....	10
Figura 4- Interação das citocinas e seus papéis na endometriose.....	18
Figura 5- Curva ROC avaliando a IL-1 e a IL-6 no sangue (S) e fluido peritoneal (P) como preditores da presença de endometriose.....	22
Figura 6- Quadro de marcadores biológicos utilizados na endometriose.	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação da endometriose proposta pela <i>American Society for Reproductive Medicine</i> (revisada em 1997).....	3
Tabela 2- Distribuição das principais queixas relatadas pelas pacientes com endometriose.....	4
Tabela 3 - Comparação entre os principais marcadores bioquímicos da endometriose na rotina laboratorial.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µg - Micrograma

aCL (IgM) – Anticorpo IgM Anticardiolipina

AEA – Anticorpo Antiendométrio

CA-125 – Antígeno do Câncer 125

CA 15-3 – Antígeno do Câncer 15-3

CA 19-9 – Antígeno do Câncer 19-9

CEA – Antígeno Carcinoembrionário

dL - Decilitro

ELISA – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

ELISPOT – Enzyme Linked Immuno Sorbent Spot

ENA-78 – Peptídeo Epitelial Ativador de Neutrófilos

FAN – Fator Antinuclear

FP – Fluido Peritoneal

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador da Gonadotrofina

IgA – Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IFN-γ – Interferon γ

IL – Interleucina

IMC – Índice de Massa Corporal

LH – Hormônio Luteinizante

Lilacs – Literatura Latino-Americana em Ciências da Saúde

MCP-1 – Proteína Quimiotática de Monócitos

MedLine – Literatura Internacional em Ciências da Saúde

MIF – Fator Inibidor da Migração dos Macrófagos

mg - Miligrama

mL - Mililitro

MMP – Metaloproteinases de Matriz Extracelular

ng - Nanograma

pg - Picograma

PCR – Proteína C Reativa

PSA – Antígeno Prostático Específico

ROC – Receiver Operating Characteristics

SAA – Proteína Sérica Amilóide A

Scielo – Scientific Electronic Library Online

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral α

UI – Unidade Internacional

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1. Introdução e desenvolvimento	1
1.1 Anatomia do Sistema Reprodutor Feminino	1
1.2 Estágios	3
1.3 Sintomatologia	4
1.4 Teorias da Patogênese.....	5
1.5 Fatores relacionados à endometriose.....	6
1.5.1 Fatores genéticos	6
1.5.2 Fatores imunológicos.....	7
1.5.3 Fatores hormonais.....	8
1.6 Fatores de Risco.....	9
1.7 Epidemiologia	11
1.8 Diagnóstico laboratorial	11
1.9 Novas abordagens.....	17
2. Objetivos	24
2.1. Objetivo geral	24
2.2. Objetivo específico.....	24
3. Metodologia	24
4. Discussão	25
5. Conclusão	31
6. Referência Bibliográfica	32

1. Introdução e desenvolvimento

A endometriose é uma doença caracterizada pela presença de estroma ou epitélio glandular endometrial fora da cavidade uterina.^{1,2,3} Os locais mais acometidos estão na cavidade pélvica, sendo o peritônio, os ovários, o septo retovaginal e tubas uterinas, podendo comprometer intestinos, vias urinárias e raramente chegar ao pericárdio, diafragma, pleura e sistema nervoso central.^{4,5,6}

1.1 Anatomia do Sistema Reprodutor Feminino

Para entender melhor a endometriose é necessário saber os principais locais onde a doença se instala e conhecer a anatomia e estrutura dos órgãos genitais femininos.

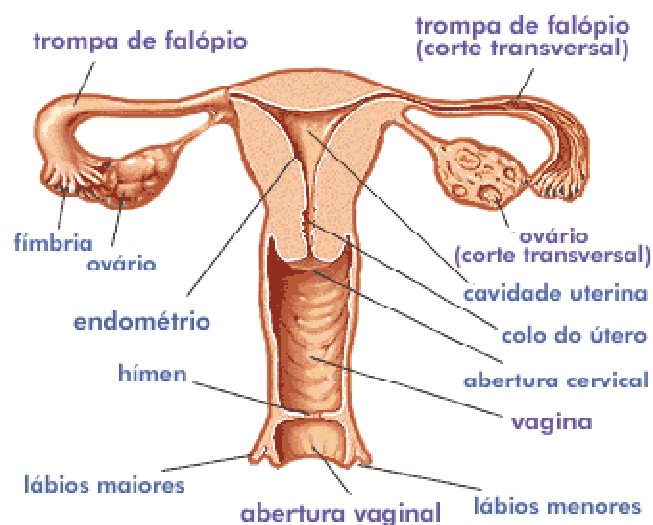
Os órgãos genitais femininos consistem de um grupo de órgão internos e externos. Os órgãos internos estão no interior da pelve e incluem os ovários, tubas uterinas ou trompas de Falópio, útero e vagina. Os órgãos externos são superficiais ao diafragma urogenital e acham-se abaixo do arco púbico. Compreendem o monte do púbis, os lábios maiores e menores, o clitóris e os óstios da vagina e da uretra. Estas estruturas formam a vulva (Figura 1). As glândulas mamárias também são consideradas parte do sistema genital feminino.

Os ovários são glândulas sexuais femininas que se localizam na parte inferior da cavidade abdominal, um de cada lado do útero. São responsáveis por produzirem óvulos e hormônios como o estrogênio e a progesterona. As tubas uterinas são tubos musculares e flexíveis que comunicam o ovário com o útero para transportarem os espermatozóides que penetram na vagina e atingem o óvulo, podendo, portanto ser este o local onde pode haver a fecundação. O útero apresenta um formato de pêra invertida e situa-se entre a bexiga urinária e o reto, comunicando de um lado com a tuba uterina e do outro com a vagina. Divide-se em corpo do útero, fundo do útero, istmo e colo do útero. Sua estrutura é dividida em três partes: camada interna ou endométrio, camada média ou miométrio e camada

externa ou perimétrio. O endométrio sofre modificações com o ciclo menstrual ou gravidez (onde o bebê se instala), mensalmente, aumentando sua espessura e formando rede de capilares. Se não houver fecundação, sofre descamação, ocorrendo a menstruação. A vagina é um conduto muscular membranoso, que se estende desde o colo do útero até a vulva. É muito elástica e recebe o pênis no ato sexual. Por ele passam o fluxo menstrual e o feto na hora do parto. A entrada da vagina é protegida por uma membrana circular, o hímen, que fecha parcialmente o orifício vaginal e geralmente se rompe nas primeiras relações sexuais.

Em relação aos órgãos externos (vulva), temos o clitóris, um órgão erétil situado na parte antero posterior da vulva, que apresenta uma porção oculta entre os lábios maiores e outra livre. Os grandes lábios são duas pregas cutâneas e alongadas, que delimitam entre si uma fenda. Os pequenos lábios são duas pregas localizadas medialmente aos lábios maiores. O monte púbico é uma elevação mediana anterior constituída principalmente de tecido adiposo e apresenta pêlos espessos após a puberdade. O óstio da vagina é a área circundada pelos pequenos lábios que contem a uretra, a vagina e os ductos das glândulas vestibulares. Essas glândulas secretam algumas gotas de muco durante a excitação sexual, destinadas a tornar as estruturas úmidas e propícias a relação sexual.

Figura 1 – Sistema Reprodutor Feminino



Fonte: www.infoescola.com, acessado em 20 de Set. 2014.

1.2 Estágios

Com a finalidade de padronizar os registros dos dados patológicos da endometriose, a *American Society for Reproductive Medicine* (1997)^{75,76} organizou e propôs a classificação da endometriose em quatro estágios (Tabela 1). O estágio I é considerado o estágio de intensidade mínima, onde os implantes endometriais são isolados e sem aderências significantes. No estágio II os implantes são superficiais, com menos de 5 cm de profundidade e sem aderências significantes. Já no estágio III, a intensidade já é considerada moderada, apresentando múltiplos implantes, aderências peritubárias e periovarianas evidentes. A endometriose grave é conhecida como estágio IV, onde os múltiplos implantes são superficiais e profundos, incluindo endometriomas e aderências densas e firmes.¹³ Esses implantes são atribuídos à ligação de fragmentos do endométrio para o epitélio do peritônio, a invasão do epitélio e o estabelecimento de um fornecimento de sangue no local.¹

Tabela 1 – Classificação da endometriose proposta pela *American Society for Reproductive Medicine* (revisada em 1997).

ESTÁDIO I (MÍNIMA): 1-5 ESTÁDIO II (LEVE): 6-15
ESTÁDIO III (MODERADA): 16-40 ESTÁDIO IV (SEVERA): > 40

	ENDOMETRIOSE	< 1 cm	1-3 cm	> 3 cm	
	PERITÔNIO	Superficial	1	2	4
Profunda		2	4	6	
OVÁRIO	D superficial	1	2	4	
	Profunda	4	16	20	
	E superficial	1	2	4	
	Profunda	4	16	20	
OBLITERAÇÃO DO FUNDO DE SACO POSTERIOR		Parcial		Completa	
		4		40	
OVÁRIO	ADERÊNCIAS	< 1/3 Envolvido	1/3 - 2/3 Envolvidos	> 2/3 Envolvidos	
	D Velamentosa	1	2	4	
	Densa	4	8	16	
	E Velamentosa	1	2	4	
	Densa	4	8	16	
	TROMPA	D Velamentosa	1	2	4
		Densa	4*	8*	16
		E Velamentosa	1	2	4
Densa		4*	8*	16	

* Se as fimbrias tubárias estiverem totalmente envolvidas por aderências, mude o escore para 16.

Fonte: PODGAEC S., 2006, p.21.

1.3 Sintomatologia

O quadro clínico da paciente com endometriose varia entre situações assintomáticas até quadros sintomáticos de intensa dor pélvica. A maioria apresenta sintomas, de diferentes intensidades, sendo os principais: dismenorrea (cólica menstrual), infertilidade, dispareunia de profundidade (dor durante a relação sexual), dor pélvica crônica (independente da menstruação), alterações urinárias e intestinais cíclicas como urgência miccional, poliúria (urinar em excesso), dor ao urinar/evacuar durante o período menstrual, sangramento, diarreia e anormalidades endócrinas.^{2,4,7,8} (Tabela 2). Todavia, a inespecificidade do quadro clínico, a variabilidade dos sintomas e confusão com outras doenças podem explicar a demora no diagnóstico da endometriose, podendo levar cerca de 8 a 10 anos.^{1,9}

Tabela 2 – Distribuição das principais queixas relatadas pelas pacientes com endometriose

Queixa Principal	n	%
Alteração Urinária Cíclica	1	0,1%
Alteração Intestinal Cíclica	33	3,7%
Assintomática	23	2,6%
Dismenorrea	555	62,2%
Dispareunia de Profundidade	19	2,1%
Dor Pélvica Crônica	119	13,3%
Infertilidade	125	14,0%
Total	892	100,0%

Fonte: NÁCUL A. P., 2010.

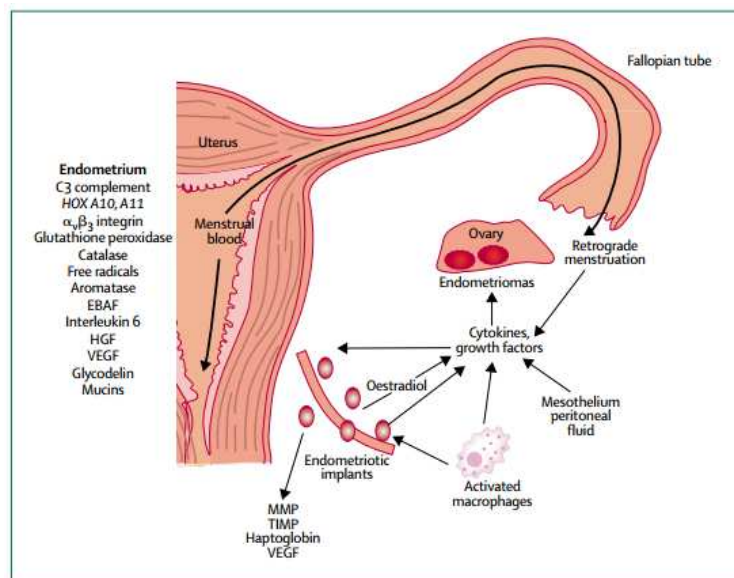
1.4 Teorias da Patogênese

A endometriose é considerada uma doença enigmática e intrigante, de etiopatogenia incerta. Várias teorias foram propostas para explicar a patogenia da doença, mas nenhuma conseguiu explicar todas as suas formas de aparecimento e manifestação. Dentre elas, se destacam as teorias da origem Mulleriana que sugere que as lesões da endometriose surgem na fase embrionária e da metaplasia celômica, onde células celômicas teriam capacidade de se diferenciar em tecido endometrial. Contudo, nenhuma delas foi capaz de esclarecer completamente sua etiopatogenia.^{2,4,10} Embora a endometriose seja umas das alterações mais estudadas, sua origem e etiologia ainda não foram esclarecidas.

A teoria mais aceita, ainda é a descrita por Sampson, em 1921, sendo conhecida como teoria da menstruação retrógrada. Segundo tal teoria, parte do tecido endometrial descamado durante a menstruação sofre um refluxo através das tubas uterinas e acaba se aderindo e proliferando em sítios ectópicos fora da cavidade uterina.^{5,11} A presença da doença tem sido atribuída à ligação de fragmentos do endométrio para o peritônio, a invasão do epitélio, o estabelecimento de um fornecimento de sangue e a geração de uma resposta imune sub-ótima que não limpa adequadamente os implantes, resultando em sobrevivência e crescimento destes (Figura 2). No entanto, a maioria das mulheres apresenta algum grau de menstruação retrógrada, mas apenas 6-10% manifestam a doença¹. Isso mostra que apenas o fluxo tubário não é capaz de estabelecer a doença e vários estudos sugerem uma etiologia multifatorial, com a presença de condições hereditárias, hormonais e imunológicas que preestabeleçam o desenvolvimento da endometriose.^{1,12}

Figura 2 - Diagrama esquemático dos eventos que ocorrem na pelve com menstruação retrógrada e os princípios bioquímicos envolvidos na patogênese da endometriose

Fator EBAF =sangramento endometrial associado; HGF = fator de crescimento de hepatócitos; VEGF = fator de crescimento endotelial vascular; MMP = metaloproteinase de matriz; TIMP = inibidor de tecido de metaloproteinase



Fonte: GIUDICE L.C., 2004.

1.5 Fatores relacionados à endometriose:

1.5.1 Fatores genéticos

A base da doença é poligênica e multifatorial. O conhecimento epigenético também tem possibilitado esclarecer as possíveis relações existentes entre a expressão de genes e a influência de efeitos ambientais na sua regulação, como exposição a poluentes, produtos tóxicos, estilo de vida e exposição a compostos similares ao estrogênio, conhecidos como “desreguladores endócrinos”.^{1,14} O risco é de 5% a 8% para mulheres com histórico familiar e principalmente parentes de

primeiro grau. Há estudos com taxas de endometriose de 4,8% a 8,8% em irmãs de portadoras de endometriose.^{2,14} Alguns trabalhos demonstram risco aumentado de três a nove vezes para irmãs e mães de mulheres com endometriose¹⁵, além de estudos com gêmeos mostrarem que a concordância entre gemes monozigóticas é duas vezes maior em relação às dizigóticas.¹⁶ Portanto, um aumento da gravidade da doença em casos familiares, corrobora a ideia de herança poligênica.¹⁷

A procura por polimorfismos de susceptibilidade levou a hipótese de que determinados genes estariam envolvidos com o desenvolvimento da endometriose.¹⁸ Nesse sentido, os genes de expressão HOXA10 e HOXA11 se apresentam como fatores essenciais para o desenvolvimento embrionário, atuando também na regulação do desenvolvimento e implantação do endométrio na vida adulta, durante o curso de um ciclo menstrual. A expressão do gene HOX possivelmente regula o crescimento e desenvolvimento do endométrio humano.¹⁹ Embora a função do HOXA10 que é um fator de transcrição necessário para a implantação do embrião e controle direto da remodelação endometrial já esteja bem definida, o mecanismo molecular pelo qual esse fator atua não está totalmente caracterizado. Sabe-se que o HOXA10 é um fator de transcrição que interage com genes co-fatores tais como a *CALPAIN*. A expressão dos genes HOXA10 e HOXA11 varia em resposta a esteróides sexuais durante o ciclo menstrual. Em 1999, Taylor e colaboradores, avaliaram a expressão do HOXA10 no endométrio eutópico de pacientes portadoras de endometriose e determinaram que esse gene perde o seu padrão de expressão durante a janela de implantação nessas pacientes. Alterações nesses genes, cuja expressão é necessária para implantação, podem fornecer evidências de alterações moleculares no endométrio destes pacientes, e sugerem um defeito no desenvolvimento e receptividade do endométrio em pacientes com endometriose, podendo ser um dos mecanismos relacionados à infertilidade.⁷⁸

1.5.2 Fatores imunológicos

Deficiências no sistema imunológico no peritônio podem estar envolvidas na patogênese da doença. Por algum motivo, as células endometriais que adentram na

cavidade peritoneal não seriam eliminadas, permitindo assim a implantação e o desenvolvimento da doença.² Fragmentos do endométrio se ligam e invadem o epitélio do peritônio, estabelecendo um fornecimento de sangue e uma resposta imunológica ineficiente. A incapacidade do peritônio de reagir e destruir esse material facilita a implantação dessas células endometriais e a evolução da doença. As células principais envolvidas na perpetuação da endometriose são as células da linhagem monocítico-macrofágica, cujos efeitos adversos podem ser de citotoxicidade ou proliferação dessas células endometrióticas. Há muitas evidências de ativação de macrófagos peritoneais com o aumento da produção e liberação de citocinas, em mulheres com endometriose, embora seja observada uma diminuição da atividade fagocitária no local. Tais citocinas são fatores solúveis com função imunorreguladora, ativadora ou supressora.²⁰ Entre as principais citocinas envolvidas e as que apresentam concentração elevada no soro ou no líquido peritoneal de portadoras da doença, podemos citar: o fator de necrose tumoral (TNF- α), as interleucinas, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), as metaloproteinases de matriz extracelular (MMP), a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), o fator inibidor de migração dos macrófagos (MIF), o peptídeo epitelial ativador de neutrófilos (ENA-78).²¹

A utilização *in vivo* dessas substâncias tem sido estudadas preliminarmente, por meio de sua identificação no soro e no líquido peritoneal de portadoras da doença. Várias hipóteses, associadas a esses fatores, tem sido propostas para explicar como a endometriose leve pode causar infertilidade, principalmente relacionados aos processos imunológicos. Portanto, há necessidade de mais estudos, a fim de utilizar métodos não invasivos para o diagnóstico precoce da endometriose, evitando um atraso na detecção da doença.²⁰

1.5.3 Fatores hormonais

É sabido que a endometriose é uma doença estrogênio dependente. Portanto, em condições em que a exposição desse hormônio aumenta, observa-se um maior risco de aparecimento dessa enfermidade. Esta endocrinopatia é conhecida como

uma doença da mulher moderna, por ser mais prevalente em mulheres com menarca mais precoce, menor número de gestações e cada vez mais tardias, com grande diferença de tempo entre a menarca e a primeira gravidez, o que implicaria em um número maior de menstruações aumentando a exposição à menstruação retrógrada.^{4,22} No entanto, em mulheres obesas, onde também há uma maior exposição ao estrogênio, parece haver uma proteção, talvez por apresentarem maiores índices de anovulação e irregularidade menstrual.^{9,23} Além disso, situações em que possam ocorrer a diminuição da exposição ao estrogênio, podem ser consideradas protetoras, como a atividade física que inibe a produção de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), reduzindo a produção de estrógenos ovarianos e o tabagismo, que também promove essa redução (hipoestrogenismo).²⁴ Todas as alterações no corpo da mulher são decorrentes de oscilações nos níveis séricos de estrogênio, progesterona, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). O bom funcionamento do ciclo menstrual e a fertilidade feminina dependem de um eixo neuroendócrino hipotálamo-hipófise-ovários. Portanto, alterações na secreção ou ação de um desses hormônios podem desencadear sérios problemas endócrinos, como a endometriose.

1.6 Fatores de Risco

Alguns fatores de risco podem estar associados à ocorrência e ao desenvolvimento da doença. Dentre eles podemos citar:

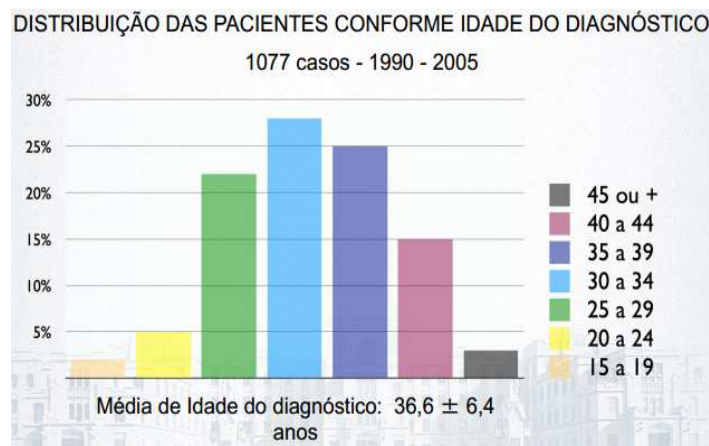
- Idade

A endometriose é uma doença rara antes da menarca e tende a diminuir após a menopausa.²⁷ Ocorre principalmente em mulheres em idade reprodutiva (1ª a última menstruação), apesar de existirem relatos de casos em mulheres que nunca menstruaram ou ainda de mulheres na menopausa. Bellelis e colaboradores, em 2010, encontraram a média de idade de 33,2 anos, das 892 pacientes com endometriose²⁸, confirmando o publicado na literatura por Arruda e colaboradores,

em 2003.²⁶ Nesse mesmo estudo Arruda e colaboradores, observaram atraso de 7 anos entre o início dos sintomas e a realização do diagnóstico definitivo, intervalo variando de 3,5 a 12,1 anos, dependendo da idade da paciente e da queixa clínica específica, se dor ou infertilidade. A maioria dos estudos epidemiológicos aponta que uma idade precoce da menarca pode aumentar o risco para a doença.²³

A figura 3 mostra a distribuição das pacientes conforme a idade do diagnóstico, de acordo com o estudo realizado no Setor de Endometriose da Universidade de São Paulo.

Figura 3- Distribuição das pacientes conforme idade do diagnóstico



Fonte: Banco de Dados - Setor de Endometriose HCFM USP 1990-2005

- **Gestação**

A nuliparidade (nunca ter tido filhos) vem sendo constantemente retratada como tendo forte associação com a endometriose²⁹, devido a maior ação dos estrógenos por mais tempo. Na realidade, não é possível determinar essa condição como sendo um fator de risco para a doença, ou se pacientes portadoras de endometriose têm uma maior dificuldade em engravidar.²⁵ No entanto, no estudo de Bellelis e colaboradores, há prevalência maior de nuligestas (mulheres que nunca engravidaram) e nulíparas (mulheres que nunca tiveram filhos).²⁸

- Hereditariedade

A base genética e hereditária é cada dia mais evidente. A história familiar da endometriose, talvez possa ser explicada pela mesma herança genética, mas também podem ocorrer similaridades no estilo de vida das pacientes que viabilizem tal fato.

1.7 Epidemiologia

A endometriose representa uma afecção ginecológica comum, atingindo cerca de 5% a 15% das mulheres em idade reprodutiva e 3% a 5% na fase pós-menopausa.²⁵ Nas mulheres com dor, infertilidade, ou ambos, a frequência é de 35-50%.¹ O aparecimento na idade pré-puberdade e pós-menopausa é exceção. Estima-se que ela afeta uma em cada dez mulheres durante seus anos reprodutivos. Somente no Brasil, a doença atinge cerca de seis milhões de brasileiras, sendo 15% das mulheres entre 15 e 45 anos de idade.¹⁸ A idade média de diagnóstico, nos anos 1990 a 2005, está na faixa de 30 a 34 anos. Arruda e colaboradores, em 2003, demonstraram idade média de diagnóstico da doença de 30 anos para as mulheres inférteis e de 33 para pacientes com queixas de dor.²⁶ Sua associação com dor pélvica crônica pode acontecer em 70% a 90% dos casos.

No caso específico da endometriose, os dados de incidência e prevalência são difíceis de serem obtidos, pois o diagnóstico não é tão facilmente realizado, além de não existir uma relação direta entre a presença da doença e a sintomatologia, o que impede o diagnóstico na maioria das pessoas assintomáticas.

1.8 Diagnóstico laboratorial

O marcador ideal reúne as características de diagnóstico precoce de neoplasias e de sua origem, estabelecimento da extensão da doença, monitorização da resposta terapêutica e detecção precoce de recidiva,⁵¹ além de ser órgão-sítio específico e ter meia-vida curta, permitindo acompanhar temporariamente as

mudanças do tumor. A maioria dos marcadores disponíveis peca pela falta de especificidade e sensibilidade,⁵² exceção feita ao Antígeno Prostático Específico (PSA) que é utilizado para rastreamento de neoplasia prostática. Portanto, usam-se marcadores tumorais com as seguintes finalidades: triagem populacional, diagnóstico diferencial em pacientes sintomáticos, estadiamento clínico, estabelecimento do diagnóstico, monitorização da eficiência terapêutica, localização de metástases, tratamento e detecção precoce da recorrência (grande utilidade).⁵³

Em relação à endometriose, os marcadores mais utilizados são: CA-125, CA19-9, proteína sérica amilóide A (SAA), anticorpo anticardiolipina e proteína C reativa (PCR).

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado através da dosagem de marcadores séricos das pacientes e também da análise de exames de imagem. O diagnóstico subsidiário é dado através da dosagem da glicoproteína sérica CA-125, devido à maior concentração desse marcador no endométrio ectópico comparado ao normal. A dosagem da CA-125 deve estar associada à exames de imagem como ultrassonografia transvaginal, ultrassom endovaginal e ressonância magnética, que também são utilizadas como ferramentas diagnósticas.¹²

O antígeno do câncer 125 é uma proteína (antígeno de superfície da célula, membro da família das glicoproteínas mucinas, codificada pelo gene MUC 16) conhecida desde os anos 80. Ele serve como um marcador biológico do câncer de ovário, mas outras neoplasias também podem apresentar elevação dessa proteína, entre eles os originários no endométrio, trompas, pulmões, mama e trato gastrointestinal.³⁴ Até o momento, nenhum marcador bioquímico pode ser considerado como de eleição para o diagnóstico de endometriose, porém o CA-125 tem sido o marcador mais utilizado com este propósito e quando coletado nos primeiros três dias do ciclo menstrual (durante a menstruação), pode ser útil para o diagnóstico em estágio avançado, principalmente quando os valores são superiores a 100UI/mL.^{5,9} Entretanto, estudos mostram que ele apresenta baixa sensibilidade e especificidade, o que significa que pode apresentar taxas aumentadas em mulheres sem endometriose e níveis normais em mulheres com casos graves da doença. Os marcadores moleculares, como o CA-125 possuem sua concentração aumentada ou

diminuída em determinadas épocas do ciclo menstrual e servem como parâmetro para a avaliação do estágio da doença. Esses marcadores, na maioria das vezes, têm concentrações mais elevadas quando a endometriose se encontra em estágios mais avançados, especialmente em sangue coletado nos três primeiros dias do ciclo menstrual.^{4,32} Os níveis séricos de CA-125 estão elevados principalmente nos estágios III e IV da doença (com sensibilidade de 47,2%) e, em menor nível, nos estágios iniciais (I e II). Zehra e colaboradores em 2009, mostraram que os níveis de CA-125 e CA19-9 não foram diferentes em pacientes nos estágios I e II em comparação com pacientes sem endometriose.⁴⁰ Isto mostra um ponto negativo do CA-125, pois os grupos de pacientes com endometriose mínima e leve são os que mais precisam de um marcador sensível para que se faça o diagnóstico precoce desta doença.³³ Os níveis sanguíneos normais de CA-125 são normalmente inferiores a 35 UI/mL e o método utilizado para a dosagem é a eletroquimioluminescência. Em mulheres normais, as concentrações plasmáticas de Ca-125 estão um pouco mais elevadas na ovulação e significativamente mais elevadas durante a menstruação.³⁵

Abrão e colaboradores, em 1997, testaram além do CA-125, proteínas de fase aguda inflamatória, a proteína C reativa (PCR) e sérica amilóide A (SAA). Neste estudo clínico composto por 50 pacientes, encontraram aumento significativo dos níveis de CA-125 e SAA nos casos mais avançados da endometriose, frente aos controles.³⁶

A proteína sérica amilóide A, é uma apoliproteína de 200 kDa produzida principalmente no fígado e que integra as proteínas na fase aguda da inflamação sistêmica. Seu mecanismo de ação não está completamente esclarecido tendo atividades pró e antiinflamatória. Os níveis de SAA estão elevados, em resposta ao aumento do fator de necrose tumoral – α (TNF- α) e às interleucinas 1, 2 e 6, como ocorre em casos de infecção ou inflamação. Há um único estudo de SAA em relação à endometriose de Abrão e colaboradores, em 1997 que encontraram níveis séricos elevados em pacientes nos estágio III e IV. Seu valor de referência no soro ou plasma é de 1 a 5 $\mu\text{g/mL}$, sendo dosado pelo método de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Considerando o caráter inflamatório da endometriose,

alguns dados ainda são controversos quando se analisa determinados marcadores séricos. A dosagem da SAA, nos três primeiros dias do ciclo menstrual pode, quando em níveis superiores a 50 µg/mL em associação com a CA-125 superior a 100 UI/mL, predizer comprometimento intestinal.³⁶

A proteína C reativa é umas das chamadas “proteínas de fase ativa ou aguda”. É produzida no fígado em resposta a quase todos os estímulos inflamatórios como infecções, neoplasias, traumas e “reumatismos”. Sua concentração começa a subir cerca de 2 horas, podendo atingir o pico com até 48 horas. Seu papel fisiológico consiste em se ligar a moléculas que são expressas na superfície de células mortas e/ou bactérias, ativando o sistema imune. O valor de referência da proteína C varia entre 0,25 a 0,50 mg/dL e é dosado pelo método de radioimunoensaio ou aglutinação. Inflamações importantes costumam resultar em valores acima de 1,0 mg/dL.

O anticorpo IgM anticardiolipina (aCL IgM), também dosado no início do ciclo menstrual em associação com a CA-125, pode ser usado como marcador da doença em seus estágios iniciais.³⁶ Os anticorpos antifosfolídeos são imunoglobulinas que reagem com fosfolídeos de membrana. Em obstetrícia, a presença de anticorpos antifosfolídeos no soro de indivíduos é associada, além da endometriose, às perdas fetais recorrentes, patologias placentárias, doença inflamatória pélvica, antecedente de infertilidade, insucesso em tratamento de esterilidade e outras condições.⁴⁸ O diagnóstico laboratorial é possível pela detecção do anticorpo anticardiolipina, o método utilizado é o ELISA. A interpretação é difícil porque pode ser positivo em situações de infecções e doenças inflamatórias e malignas. São considerados negativos se menores que 10 unidades GPL ou MPL/mL. Os resultados positivos, por sua vez, são subdivididos em fracos, entre 10 e 29 unidades MPL/mL, moderados, entre 30 e 60 unidades MPL/mL e fortes, acima de 60 unidades MPL/mL.⁴⁹ A determinação combinada de aCL (IgM) > 10 MPL e proteína C reativa (PCR) > 3 µg/mL é preditivo de endometriose em 98% dos casos. Quando alterados se forma isolada, tem valor preditivo de 73% a 78%, respectivamente. A determinação deve ser feita entre os dias 1 a 3 do ciclo.⁴⁴

Zehra e colaboradores, em 2009, mostraram que o CA19-9 pode ser utilizado para prever as pacientes com endometriose grave, junto com o CA-125.⁴⁰ No entanto, resultados dos poucos estudos anteriores comparando os níveis de CA-125 e CA19-9 em pacientes com a doença foram contraditórios.^{41,42} Um estudo relatou níveis significativamente mais elevados de CA 19-9 e sua correlação com a gravidade da doença.⁴¹ Já os outros estudos revelaram que pacientes com endometriose tiveram níveis significativamente mais elevados de CA-125, mas eles não conseguiram mostrar que o CA 19-9 pode ser usado para discriminar pacientes com ou sem endometriose, mesmo em combinação com o CA-125.^{42,43} Portanto, serve em sua maioria, como marcador tumoral de câncer colorretal e pancreático. A concentração sérica do CA 19-9 mostra-se elevada em pacientes com carcinoma de pâncreas (80%), carcinoma hepatocelular (67%), carcinoma gástrico (40 a 50%) colorretal (30%) e em alguns pacientes com carcinoma de mama (15%). Seu valor de referência é até 37 U/mL, sendo dosado pelo método de quimioluminescência.

Outros métodos de avaliação também cooperam para o diagnóstico e tratamento dessa patologia, sem ter que recorrer a videolaparoscopia. Dentre esses, podemos citar: anticorpos antiendométrio (AEA), antígeno carcinoembrionário (CEA), CA 15-3, alfa-fetoproteína, β -2-microglobulina, Fator inibitório da migração de macrófagos (MIF) e leptina.³⁶ Porém os marcadores mais utilizados são os demonstrados anteriormente.

Randall e colaboradores, em 2007, propuseram a investigação da concordância entre a presença de endometriose diagnosticada pela laparoscopia e os achados laboratoriais. Os autores avaliaram 2.609 mulheres. Destas, 1.193 com queixa de dismenorreia ou dor pélvica (das quais 145 tiveram confirmação de endometriose pela laparoscopia) e 1.416 com queixa de infertilidade (das quais 392 com confirmação laparoscópica de endometriose). O estudo apontou que a relação entre dosagem sérica de anticorpo antiendometrial (AEA) por imunofluorescência indireta e laparoscopia foi caracterizada por um valor preditivo positivo de 88%, um valor preditivo negativo de 86%, sensibilidade de 87% e especificidade de 87%. Sendo assim, acredita-se que, embora algumas mulheres com endometriose

expressem componentes de autoimunidade, como a presença de autoanticorpos, estes não são suficientes para confirmar a natureza autoimune da doença.⁵⁰

Estudo prévio tem demonstrado níveis mais elevados de leptina no líquido peritoneal de pacientes com endometriose mínima e leve (estádios I e II – American Society for Reproductive Medicine).⁵⁴ Porém, em relação aos níveis séricos desta proteína, os resultados dos estudos tem sido negativos. Quando comparadas com a concentração de leptina no fluido de endometriomas ovarianos, os resultados foram mais significativos no fluido endometrioma do que em relação à concentração de leptina sérica e no fluido peritoneal.⁵⁵

Um estudo desenvolvido a fim de avaliar os níveis de leptina sérica em pacientes com endometriose pélvica e correlacioná-las com a severidade da doença, mostrou que este não diferiu significativamente em relação às pacientes controle. No entanto, pacientes com endometriose moderada e grave apresentaram níveis de leptina em torno de três vezes mais elevados do que as pacientes com endometriose mínima, porém sem significância estatística ($p=0,242$, ANOVA). Observou-se, portanto, uma correlação positiva e significativa entre níveis de leptina e a gravidade de endometriose, sugerindo que a leptina possa ter um papel na patogênese da doença.⁵⁶ Seu valor de referência em adultos com índice de massa corporal (IMC) entre 18 a 25 é de 1,2 a 9,5 ng/mL em homens e 4,1 a 25,0 ng/mL em mulheres. Para IMC acima de 25, os valores são 4,0 a 35,0 ng/mL para homens e 7,0 a 59,0 ng/mL para mulheres.

Embora o CA-125, CA19-9, SAA, PCR e aCL (IgM) sejam os marcadores laboratoriais mais utilizados no diagnóstico da endometriose, o diagnóstico definitivo é eminentemente cirúrgico, preferencialmente por videolaparoscopia,^{4,30} sendo o padrão ouro.

A laparoscopia pode determinar a localização, classificação, extensão e tipo das lesões e dos implantes, mesmo que algumas não sejam reconhecidas devido ao pequeno tamanho ou por estarem atrás de estruturas de adesão.³¹

1.9 Novas abordagens

Mais recentemente, novas abordagens e estudos para a determinação de marcadores no soro, fluido peritoneal e folicular tem se desenvolvido. Existem vários marcadores possíveis de serem dosados isoladamente ou em combinação com outros.

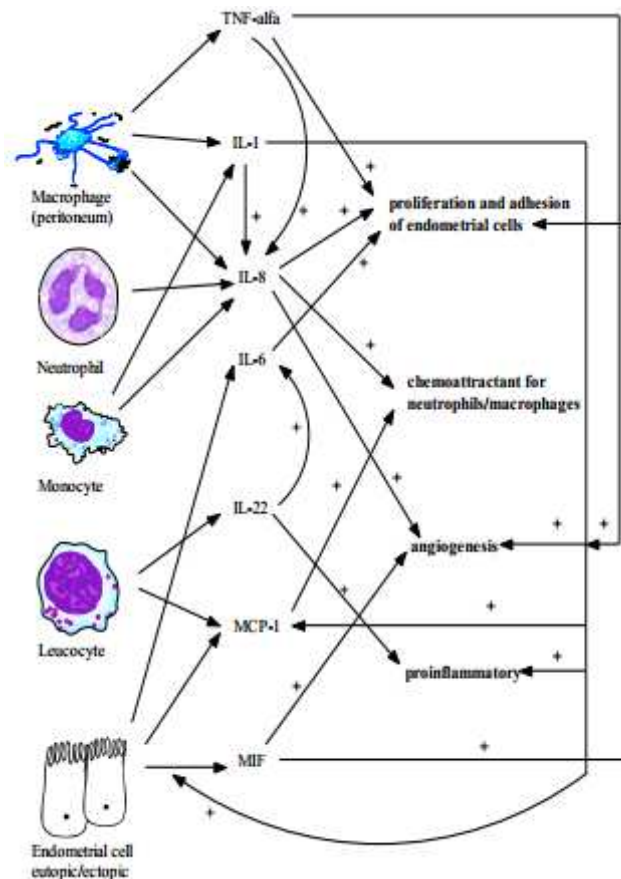
Algumas citocinas vêm sendo estudadas como novos marcadores não-cirúrgicos da endometriose. Evidências indicam que a endometriose está associada com o aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e de angiogênese no fluido peritoneal (FP). Como estão presentes em diversos fluidos e tecidos, a maneira mais utilizada é a detecção extracelular das mesmas.

O teste de absorvância ligado à enzima (ELISA– *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) é umas das mais utilizadas na pesquisa de citocinas, por se tratar de uma técnica conhecida, com custo acessível e amplo acesso aos pesquisadores.⁴⁶ Outra técnica é o teste *Enzyme Linked Immuno Sorbent Spot* (ELISPOT), usado para identificar e numerar as células produtoras de citocinas, no nível individual de cada célula. Ou seja, esse teste permite visualizar o produto de secreção de cada célula ativada, permitindo uma análise, qualitativa (tipo de proteína) e quantitativa (número de células ativas). A sensibilidade do ELISPOT é muito superior à técnica de ELISA.⁴⁷ A citometria de fluxo é outra técnica que pode ser utilizada na detecção de citocinas.

A interação dinâmica entre as citocinas pode desempenhar um papel na criação de um microambiente que favorece a implantação de células endometriais e a progressão da doença (Figura 4). A presença e o papel das diferentes citocinas no FP e no soro de mulheres com endometriose têm sido estudada,^{57,58} embora os dados disponíveis na literatura ainda apresentem falta de consistência.⁵⁹ Ao invés de desempenharem um papel na eliminação de células endometriais descamadas, células imunitárias peritoneais podem contribuir para o seu crescimento ectópico.

Disfunções endometriais intrínsecas podem ser seguidas pela ativação de células imunes em locais ectópicos, reproduzindo um papel importante na patogênese da endometriose. Além disso, a doença pode ser considerada uma doença auto-imune, devido a seus desvios imunes, incluindo o aumento da produção local de algumas citocinas pró-inflamatórias, bem como a elevação da produção de auto-anticorpos e o recrutamento da imunidade local e sistêmica.⁵⁸ No entanto, não é conhecida se reações inflamatórias pélvicas e desvios imunológicos podem causar ou provocar o crescimento do endométrio ectópico.

Figura 4 – Interação das citocinas e seus papéis na endometriose



Fonte: ILIE I., 2013.

A interleucina-6 (IL-6), atualmente, é a citocina que melhor discrimina pacientes com endometriose.³⁷ Essa citocina está envolvida na fisiologia reprodutiva, incluindo a regulação da produção de esteróides e os primeiros eventos relacionados com a implantação. A IL-6 é produzida tanto pelo endométrio eutópico quanto ectópico⁵⁹, participa dos processos da imunidade inata e adquirida, produzida em resposta ao TNF, a IL-1 e algumas células T. Barcz e colaboradores relataram que a endometriose se correlaciona com o aumento das concentrações no fluido peritoneal de IL-6 e IL-8 e que o aumento dos níveis de ambas estão associados com o estágio mais avançado da doença.⁶³ No entanto, não foi possível identificar diferenças estatisticamente significativas no caso das outras citocinas testadas (IL-1 β , TNF, IFN- γ , e IL-12).⁶²

Outras citocinas também estão sendo associadas à endometriose, entre as mais importantes são: o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e a interleucina-8 (IL-8). Essas citocinas podem regular a ação de leucócitos no fluido peritoneal ou agir diretamente no endométrio ectópico. O TNF- α está envolvido no processo de inflamação, pois desempenha um papel principal na cascata das citocinas e estimula a síntese de outras citocinas, incluindo IL-8.⁶⁰ Também estimula o endométrio e ainda pode contribuir para a produção de proteínas de fase aguda inflamatória, levando a inflamação ou necrose das lesões endometrióticas.²¹ A Interleucina-8 apresenta atividade trombogênica e fortemente angiogênica, favorecendo o implante e proliferação da célula endometrial ectópica, contribuindo para o desenvolvimento e progressão da endometriose. O processo de angiogênese é essencial para a formação e perpetuação de novos blocos de tecido endometrial extrauterino.⁶⁹ A IL-8 mostrou elevação nos níveis séricos e no líquido peritoneal de pacientes com endometriose. No entanto, suas concentrações diminuem nos estágios mais avançados.⁷⁰

Bedaiwy e colaboradores realizaram dosagens séricas e do fluido peritoneal de IL-8 e TNF- α e outras citocinas e concluíram que níveis acima de 15 pg/mL no fluido peritoneal proporcionaram 100% de sensibilidade e 89% de especificidade, e quando a concentração sérica da IL-6 situava-se acima de 2pg/mL, a sensibilidade foi de 90% e a especificidade de 67% para as pacientes com endometriose em

relação ao grupo controle.⁴⁵ O aumento do TNF- α e da IL-6 no líquido peritoneal estão correlacionados de forma associada com o número e a extensão das lesões vermelhas da endometriose peritoneal.⁶¹ Seu valor de referência é até 5,9 pg/mL.

Um estudo envolvendo 130 pacientes e um painel de citocinas mostrou elevada sensibilidade e especificidade apenas para a IL-6 sérica (90% e 67%) e para o TNF- α peritoneal (100% e 85%) adotando como nível de corte 2pg/mL e 15pg/mL, respectivamente.⁶⁴ Em contrapartida, Somigliana e colaboradores em 2004, em trabalho com 80 pacientes, 45 com endometriose e 35 com outras doenças benignas, não observaram benefício na avaliação adicional da IL-6 aos valores do CA-125 para o diagnóstico da endometriose. Neste estudo o CA-125 apresentou sensibilidade de 27% e especificidade de 97%.⁴³

Em 2007, avaliou-se as concentrações de IL-6 e IL-1 β no soro e líquido peritoneal de pacientes com e sem endometriose.⁶⁷ Através das dosagens desses mediadores, foi construída uma curva ROC (Receiver Operating Characteristics) para se estabelecer qual seria o melhor preditor de endometriose (Figura 5). O desempenho de um teste em auxiliar diagnósticos clínicos é usualmente demonstrado pela curva ROC. Geralmente, a sensibilidade e a especificidade são características difíceis de conciliar, isto é, é complicado aumentar a sensibilidade e a especificidade de um teste ao mesmo tempo.

As curvas ROC são uma forma de representar a relação, normalmente antagônica, entre a sensibilidade e a especificidade de um teste diagnóstico quantitativo, ao longo de determinados valores de corte ("*cutoff points*"). Descrevem a capacidade discriminativa de um teste diagnóstico para um determinado número de valores. Isto permite colocar em evidência os valores para os quais existe maior otimização da sensibilidade em função da especificidade. O ponto, numa curva ROC, onde isto acontece é aquele que se encontra mais próximo do canto superior esquerdo do diagrama.⁷⁹

Por outro lado, as curvas ROC permitem quantificar a exatidão de um teste diagnóstico, já que esta é proporcional à área sob a curva ROC, isto é, tanto maior quanto mais a curva se aproxima do canto superior esquerdo do diagrama. Sabendo

isto, a curva será útil, também, na comparação de testes diagnósticos, tendo um teste uma exatidão tanto maior, quanto maior for a área sob a curva ROC.⁷⁹

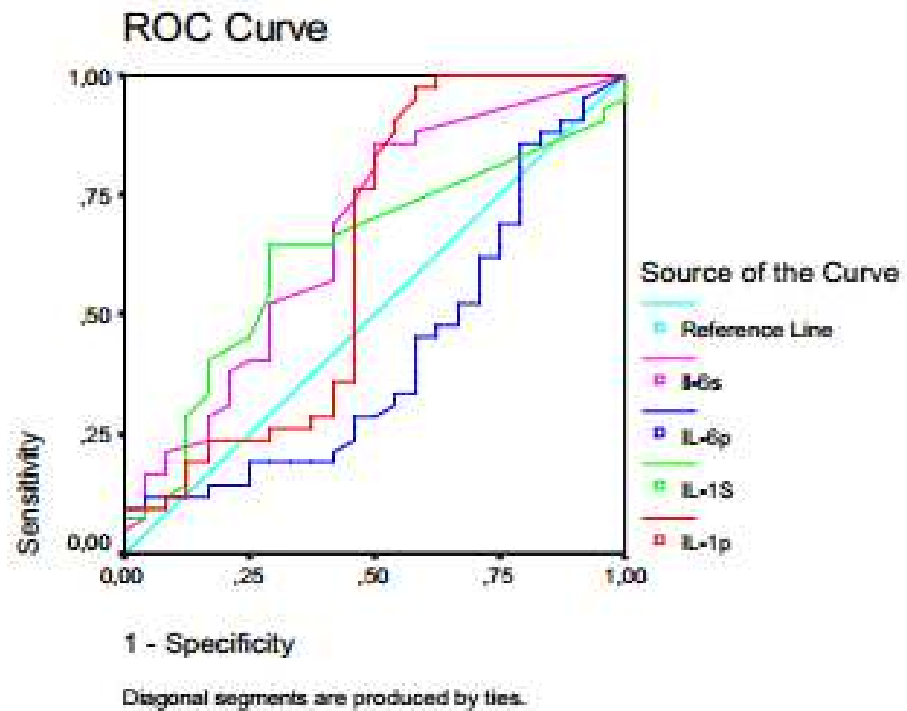
A sensibilidade é definida como a probabilidade do teste em investigação fornecer um resultado positivo, dado que o indivíduo é realmente portador da enfermidade, e a especificidade é definida como a probabilidade de um teste fornecer um resultado negativo, dado que o indivíduo está livre da doença.

Foram avaliadas a IL-1 no soro e líquidos peritoneais e a IL-6 nos mesmos locais. Na figura 5, segundo a área sob a curva ROC podemos observar que o melhor preditor entre os mediadores estudados para a endometriose é o IL-6 sérico. O ponto de corte de 3,45 pg/mL desta interleucina, teve sensibilidade de 52,6%, especificidade de 61,5%, acurácia de 52,1%, valor preditivo positivo de 61,7% e valor preditivo negativo de 42,9% para o diagnóstico de endometriose.

A acurácia pode ser definida como a relação de proximidade entre o resultado alcançado e o real valor obtido por uma grandeza física. Reflete a precisão do teste no diagnóstico de determinada doença. O valor preditivo positivo (VPP) pode ser entendido como a proporção de pacientes com resultados verdadeiramente positivos (tanto no padrão ouro quanto no teste de avaliação) entre os diagnosticados como positivos. Já o valor preditivo negativo (VPN) é a proporção de pacientes com resultados verdadeiramente negativos (tanto no padrão ouro quanto no teste em avaliação) entre os diagnosticados como negativos.

Neste mesmo estudo, conclui-se que as concentrações séricas e peritoneais da IL-1 β , IL-6 e SAA, mostraram-se elevadas em pacientes com endometriose pélvica. O mesmo pode ser observado em pacientes sem endometriose, mas com sintomas. Porém, essas concentrações foram muito maiores se comparadas às pacientes sem endometriose e sem sintomas⁶⁷.

Figura 5 - Curva ROC avaliando a IL-1 e a IL-6 no sangue (S) e fluido peritoneal (P) como preditores da presença de endometriose



AREA UNDER THE CURVE	
TEST RESULT VARIABLE	AREA
(S)	
IL-1P	,621
IL-1S	,627
IL-6P	,417
IL-6S	,668

Fonte: EJZENBERG D., 2007.

As células endometriais possuem alta capacidade de síntese de citocinas inflamatórias, culminando em uma via quase comum: o espessamento estromal, acompanhado de intenso processo inflamatório. Porém, somente isso não garante o desenvolvimento da endometriose: é necessário que o bloco de endométrio, que migrou por refluxo até a cavidade abdominal, seja suficientemente hábil para se

esquivar do sistema imune e ali permanecer. A permanência do endométrio ectópico se dá, primeiramente, por meio de uma deficiência imunológica ou aumento da tolerância imune. Estas alternativas do uso de algumas citocinas, não fazem parte da rotina clínica diária, mas são focos promissores de estudos, envolvendo a chance de se realizar o diagnóstico não invasivo da endometriose.

Marcadores tumorais como o fator antinuclear (FAN) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) também estão sendo estudados a fim de realizar uma associação entre tais marcadores e a endometriose. No entanto, apesar da atuação do VEGF na implantação de lesões endometrióticas, não há correlação da doença com os níveis séricos desse fator.⁷¹ Seu valor de referência é de 62-707 pg/mL e dosado pela técnica de ELISA.

A associação entre concentrações séricas de fatores hormonais e a endometriose também é realizada. Estudos anteriores demonstraram que as concentrações de LH e FSH não foram significativamente diferentes entre mulheres com ou sem endometriose.³⁸ Os dados da literatura mostram que nem sempre a endometriose está associada com uma disfunção hipófise-ovário. Com relação às concentrações de estradiol e progesterona, os dados também são conflitantes. Os estágios iniciais de endometriose podem estar associados a níveis plasmáticos aumentados de estradiol em comparação com mulheres sem a doença. A ausência de diferenças significativas nos níveis séricos de progesterona entre pacientes com e sem endometriose também foi relatada. Por outro lado, outros autores os quais verificaram que as concentrações séricas de estradiol e progesterona estão diminuídas em mulheres com endometriose pélvica.^{74,75}

O papel da prolactina na endometriose vem sendo estudada há vários anos. Estudos anteriores apontam que este grupo de mulheres tem secreção de prolactina sérica aumentada, assim como anormalidades na fase lútea, com a disfunção dos esteróides ovarianos. Alguns estudos não demonstram essa associação, embora a maioria dos estudos a sugira.³⁹

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Realizar o levantamento bibliográfico e revisar os parâmetros de diagnóstico laboratorial da endometriose e as novas abordagens de diagnóstico.

2.2. Objetivo específico

- 1) Abordar os marcadores clássicos séricos como CA-125, CA 19-9, proteína sérica amilóide (SAA), anticorpo IgM anticardiolipina (aCLIgM) e proteína C reativa.
- 2) Avaliar os novos marcadores, avaliando suas concentrações, especificidade e sensibilidade à doença, a fim de que o diagnóstico seja mais preciso e específico.

3. Metodologia

Foi realizado um levantamento bibliográfico através de artigos científicos, dissertações e teses no período de 2000 a 2014 e laboratórios de diagnóstico. Os artigos foram obtidos por meio de sites de busca como PubMed, Lilacs (Literatura Latino-Americana em Ciências da Saúde), Scielo (Scientific Electronic Library Online) e Medline (Literatura Internacional em Ciências da Saúde), utilizando os seguintes descritores: endometriose, artigos de revisão, diagnóstico laboratorial, epidemiologia, fatores de risco, citocinas, marcadores séricos e metodologia.

Embora não tenha sido adotado um critério de inclusão de obras no que se refere à data de publicação, foi dada preferência aos artigos publicados a partir do ano 2000. Após a leitura e organização das obras, a discussão foi realizada de forma sistematizada adotando-se a seguinte sequência: anatomia, fisiopatologia, sintomatologia, teorias da patogênese, fatores genéticos, imunológicos e hormonais,

fatores de risco, epidemiologia, diagnóstico laboratorial, rotina clínica e novas abordagens.

4. Discussão

O rápido avanço e desenvolvimento das pesquisas médicas, em diversos setores do conhecimento, atingem uma vasta gama de profissionais. O objetivo desse estudo de revisão é trazer e reunir informações que possam garantir uma melhor compreensão da endometriose, no que se relaciona à etiopatogenia e métodos de diagnóstico da doença mais precisos e confiáveis.

Através do desenvolvimento, da melhoria da tecnologia e do conhecimento científico, houve um grande avanço nos recursos diagnósticos e na terapêutica da doença.

Os marcadores bioquímicos são substâncias dosadas no sangue que, indiretamente, podem dar indícios da presença da endometriose e indicar com maior precisão a indicação da videolaparoscopia. Essa diversidade de substâncias pesquisadas na busca do melhor biomarcador se explica devido às características da endometriose, dentre as quais podem ser destacadas: a heterogeneidade da doença e a alta complexidade de fatores atuantes na migração, fixação, angiogênese e reprodução celular do endométrio ectópico, que dificultam a identificação do marcador ideal.⁷² Além disso, grande parte desses marcadores está alterada em processos inflamatórios, enfermidades pélvicas ou mesmo em condições fisiológicas normais, o que dificulta a determinação do melhor biomarcador. Para testes laboratoriais clínicos, o diagnóstico deve ter alta sensibilidade, em condições ideais iguais a 100%, porém na endometriose, um teste com essas características ainda não foi identificado.⁷³

Na figura 6, observam-se alguns dos marcadores previamente avaliados para o diagnóstico da endometriose, dentre outros que não foram abordados nessa revisão.⁷⁸

Figura 6– Quadro de marcadores biológicos utilizados na endometriose

Categorias de marcadores biológicos	Marcadores biológicos
Glicoproteínas	CA-125 CA-19.9 CA-72 CA-15-3 CD-23 solúvel Folistatina Transferrina β 2-microglobulina Glicodelina-A
Fatores de crescimento	Fatores de crescimento de hepatócitos (HGF) Fator de crescimento de fibroblastos (FGF-2) Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF-A) Haptoglobina Metaloproteinases Inibidores de metaloproteinases
Moléculas de adesão solúveis	Formas solúveis da molécula de adesão 1 (sICAM-1) Antígenos leucocitários humanos da classe I ou II (sHLA-I, sHLA-II) E-caderina solúvel Integrina α E-selectina Osteopontina
Citocinas	Interleucinas 2,4,6,8,10,12,13,15,16,18 Proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1) Interferona γ Fator de necrose tumoral α Receptor-1 do fator de necrose tumoral Angiogênina Fator de crescimento insulina-like
Auto-anticorpos	Anti-endometriais Anti-marcadores de stress oxidativo (proteínas de choque térmico, tioredoxina, albumina modificadora de isquemia) Anti-laminina 1 Anti-transferrina Anti-LDL (<i>low density lipoprotein</i>) Anti-cardiolipina
Enzimas proteolíticas	Metaloproteinases de matriz (MMP) (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9) Inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP) (TIMP-1 e TIMP-2) Amilóide A Urocortina
Hormônios	Hormônio luteinizante Progesterona Leptina Prolactina Adiponectina Hormônio tireo-estimulante

Fonte: RAMOS I.M.L., 2010

Conforme observado no quadro acima, existem vários marcadores que embora não garantam o diagnóstico, nem a extensão da doença, podem sugerir seu diagnóstico. A ciência tem se empenhado em encontrar procedimentos menos invasivos para o diagnóstico da endometriose e procurado analisar marcadores que dosados no sangue ou no fluido peritoneal, possam dar o diagnóstico preciso sem a necessidade de um procedimento invasivo. Esses marcadores são analisados no sangue ou no líquido peritoneal que pode ser colhido pela vagina utilizando-se a aspiração pelo ultra-som transvaginal. Assim, os avanços tem aproximado, cada vez mais, o diagnóstico definitivo com a facilidade laboratorial. Em relação aos marcadores séricos clássicos utilizados na rotina, apesar não serem invasivos, o intuito tem sido avaliar quais deles poderiam ser apresentar maior sensibilidade e especificidade para um diagnóstico seguro e preciso. Porém, como ainda não há um marcador com essas características, estes são utilizados somente para sugerir a doença.

O marcador mais utilizado é o CA-125 dosado preferencialmente nos primeiros dias do ciclo menstrual. É um exame de fácil execução, realizado por laboratórios de análises clínicas e deve ser solicitado logo na primeira suspeita da doença. Por outro lado, apesar da facilidade, tem o inconveniente de ser pouco específico, isto é, outras doenças como miomas e alguns tumores, podem provocar alterações semelhantes. Além disso, pela sua baixa sensibilidade e especificidade, pode apresentar taxas aumentadas em mulheres sem endometriose e níveis normais em mulheres com casos graves da doença. Com o aprimoramento do método de dosagem, foi comprovado que havia uma relação positiva entre as concentrações séricas e no fluido peritoneal, permitindo supor que a monitorização da concentração sérica de CA-125 podia permitir a avaliação da doença na cavidade abdominal. No entanto, os níveis de CA-125 estão mais elevados nos estágios III e IV da doença, em relação aos estágios iniciais, o que acaba por prejudicar o diagnóstico das pacientes com endometriose mínima e leve. Além disso, a dosagem do CA-125 facilita a orientação terapêutica, principalmente se a razão da dor pélvica ou da infertilidade for inconclusiva.

Dessa forma, os marcadores que podem prever a endometriose necessitam ser dosados e interpretados em conjunto. A dosagem de SAA de forma isolada é considerada muito inespecífica, visto que sua concentração aumenta em condições de caráter inflamatório. No entanto, quando dosado nos primeiros dias do ciclo e a partir de valores de corte, podem prever comprometimento intestinal quando analisado em associação com o marcador CA-125. O mesmo acontece com a PCR e a aCL IgM, que também aumentam em casos inflamatórios e de infecção, dificultando a interpretação do resultado. A melhor condição é que o aCL IgM seja dosado no início do ciclo menstrual, juntamente com o CA-125 para que se possa verificar a doença em seus estágios iniciais. O que não acontece quando se verifica o marcador CA-125 isoladamente, já que este se encontra aumentado em condições mais graves da doença. A determinação combinada de aCL IgM e proteína C reativa (PCR) também pode ser preditivo de endometriose em 98% dos casos.

A combinação de CA-125 e CA19-9 para o diagnóstico da endometriose ainda é contraditório. Em alguns casos, a gravidade da doença eleva significativamente os níveis de CA 19-9. Já em outros, os níveis de CA-125 são significativamente mais elevados. Embora, essa associação possa ser utilizada para prever pacientes com endometriose grave, alguns estudos não conseguem concluir que o CA19-9 pode ser usado, em associação com o CA-125, para discriminar pacientes com a doença.

Em relação aos hormônios, a leptina pode ser dosada no líquido peritoneal, pois parece ter correlação positiva com a gravidade da doença, o mesmo não ocorre com os níveis séricos.

A tabela 3 mostra a comparação entre alguns dos marcadores mais utilizados na rotina laboratorial.

Tabela 3 – Comparação entre os principais marcadores bioquímicos da endometriose na rotina laboratorial

	CA-125	CA19-9	SAA	PCR Reativa	aCL IgM
Material	Soro	Soro	Soro ou plasma EDTA	Soro	Soro
Valor de referência	<35 U/mL	≤37 U/mL	1 a 5 µg/mL	0,25 a 0,50 mg/dL	<10 unidades GPL ou MPL/mL
Especificidade	89%	NA*	NA*	NA*	NA*
Sensibilidade	47,20%	NA*	NA*	NA*	NA*
Restrições	Jejum de 4 ou mais horas	Jejum de 4 ou mais horas	Jejum de 4 ou mais horas	Jejum de 8 horas	Jejum de 4 horas ou mais
Interferentes	Fibrina, anticorpos heterofilicos	Fibrina, descongelamento repetido	NA*	Lipemia, hemólise	Hemólise, lipemia, contaminação bacteriana, VDRL ou Fator reumatóide positivos e Drogas
Coleta	1,0 mL de soro	1,0 mL de soro	1,0 mL de soro ou plasma EDTA	2,0 mL de soro ou plasma EDTA ou heparina	1,0 mL de soro
Método	Eletroquimioluminescência	Eletroquimioluminescência	ELISA	Radioimunoensaio ou aglutinação	ELISA

* NA= Ainda não foi avaliado na endometriose.

Nenhum dos marcadores mencionados é específico para a endometriose, devido ao fato de que muitos estão aumentados em outras doenças. Portanto, exibem baixa sensibilidade e especificidade, possibilitando que muitos pacientes positivos sejam considerados como falsos-negativos. Um dos motivos pelo quais a maioria deles são dosados e analisados em associação.

Para dosagem desses marcadores, pode ser requerido jejum mínimo de 4 horas. Além disso, quando dosados, podem apresentar algum tipo de interferente (não avaliado na SAA) que possa alterar o resultado, conforme descrito na tabela 4.

Em comparação com outros marcadores, a SAA também pode ser analisada não só no soro, mas no plasma. Em relação a PCR foi observado que, dentre os marcadores mais utilizados, é ela que, necessita de mais material (soro) para a realização do teste. Os valores de referência, preparo do paciente e volume necessário de material varia de laboratório para laboratório. A técnica de aglutinação

também pode ser utilizada para PCR, possibilitando baixo custo, leitura visual e facilidade de execução.

O método de eletroquimioluminescência é utilizado para dosagem dos marcadores CA-125 e CA19-9. Essa técnica tem alta sensibilidade com um período curto de incubação, além de ser possível controlar com rigor toda a reação. No entanto, os marcadores da rotina laboratorial usados para o diagnóstico da endometriose, não apresentam em si, alta sensibilidade para a doença.

O ELISA, para a dosagem de SAA e aCL IgM, apresenta alta sensibilidade, rapidez e baixo custo, objetividade na leitura, possibilita grande adaptação a diferentes graus de automação, utiliza reagentes estáveis e não trabalha com radioisótopos.

Além dos marcadores mencionados, novos marcadores não-cirúrgicos estão sendo estudados. É o caso das citocinas que podem ser associadas à processos inflamatórios. Em 2012, um estudo relatou que a endometriose se correlaciona com o aumento das concentrações no fluido peritoneal de IL-6 e que o aumento dos níveis dessa citocina está associado ao estágio mais avançado da doença.⁶³ No entanto, muitos estudos que relacionam a concentrações de IL-6 no soro e no fluido peritoneal são contraditórios. Alguns mostraram concentrações mais altas de IL-6 no fluido peritoneal de pacientes com estágios mais avançados da doença.⁶⁵ Já outros mostram níveis discretamente elevados nos estágios mais avançados frente aos estágios iniciais e controles com níveis superiores.⁶⁶ Em contrapartida, Rapkin e colaboradores, não verificaram diferenças nos níveis peritoneais de pacientes com e sem endometriose.⁶⁷

A esperança é que esses novos marcadores possuam alta especificidade e a sensibilidade para o diagnóstico da endometriose. No entanto, muitos estudos ainda são contraditórios e inespecíficos, dificultando a utilização destes na rotina laboratorial. A procura, portanto, tem sido por um marcador específico e sensível, com equipamentos de baixo custo e fácil execução, onde toda a população tenha acesso ao diagnóstico.

5. Conclusão

No presente estudo foi feito o levantamento dos principais biomarcadores da rotina laboratorial e de novas abordagens de diagnóstico que visam aprimorar e revolucionar as possibilidades de diagnóstico da endometriose.

Pode-se observar que o CA-125 é o principal marcador de rotina utilizado para prever a doença. Até o momento, não há marcador bioquímico que possa ser considerado padrão ouro para o diagnóstico da endometriose. O CA-125 tem sido o marcador mais utilizado com este propósito e quando coletado nos primeiros três dias do ciclo menstrual, pode ser útil para o diagnóstico em estágio avançado, principalmente quando os valores são superiores a 100UI/mL.^{9,5} Entretanto, estudos mostram que ele apresenta baixa sensibilidade e especificidade, o que significa que pode apresentar taxas aumentadas em mulheres sem endometriose e níveis normais em mulheres com casos graves da doença.

Mais recentemente, novas abordagens sugerem outros marcadores da doença no soro e fluido peritoneal. Evidências indicam que a endometriose está associada com o aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e de angiogênese no fluido peritoneal (FP). Assim, algumas citocinas vêm sendo estudadas como novos marcadores não-cirúrgicos da endometriose.

A interleucina-6 (IL-6) parece ter um desempenho melhor do que outras citocinas em discriminar pacientes com endometriose³⁷, porém, uma vez que os resultados são contraditórios, ainda não é utilizado laboratorialmente para o diagnóstico da doença.

Considerando os marcadores hormonais, não há nenhuma evidência da relação direta dos mesmos com a endometriose.

Isso mostra que ainda é necessário um estudo maior e mais profundo dos possíveis novos marcadores da doença. O desafio tem sido encontrar um marcador que se relacione diretamente e de maneira específica no diagnóstico da endometriose.

6. Referência Bibliográfica

- 1 GIUDICE, L.C.; KAO, L.C. Endometriosis. *Lancet*, v. 364, n. 9447, p. 1789-99, 2004.
- 2 BELLELIS, P. et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos da endometriose pélvica – uma série de casos. *Rev. Assoc. Med. Bras*, v. 56, n. 4, p. 467-471, 2010.
- 3 GAO, X.; YEH Y.C.; OUTLEY, J.; SIMON, J.; BOTTEMAN, M.; SPALDING, J. Health-related quality of life burden of women with endometriosis: a literature review. *Curr Med Res Opin*, v. 22, p. 1787-97, 2006.
- 4 SILVA, I. D. C. D.; HERMOSO, P. V.; NAKATANI, C. H.; RAMOS, E. R. D. P. Aspectos fisiopatológicos, diagnósticos e terapêuticos da endometriose na atenção farmacêutica: um estudo de revisão. *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 6, n. 1, p. 99-108, 2013.
- 5 NÁCUL, A. P.; SPRITZER, P. M. Aspectos atuais do diagnóstico e tratamento da endometriose. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.32, n.6, 2010.
- 6 PODGAEC, S.; GONÇALVES, M.O.; KLAJNER, S.; ABRÃO, M. S. Epigastric pain relating to menses can be a symptom of bowel endometriosis. *São Paulo Med J*, v.126, n.4, p. 242-4, 2008.
- 7 COUTINHO JUNIOR, A. C. Ressonância magnética na endometriose pélvica profunda: ensaio iconográfico. *Radiol Bras.*, São Paulo, v.41, n.2, 2008.
- 8 MATTA, A. Z.; MULLER, M. C. Uma análise qualitativa da convivência da mulher com sua endometriose. *Psic., Saúde & Doenças*, Lisboa, v.7, n.1, p. 57-72, 2006.

- 9 STEFANSSON, H.; GEIRSSON, R.T.; STEINTHORSDOTTIR, V.; JONSSON, H.; MANOLESCU, A.; KONG, A. et al. Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis. *Hum Reprod*, v.17, p. 555-9, 2002.
- 10 AMARAL, V. F. et al. Desenvolvimento de modelo experimental de endometriose em ratas. *Rev. Col. Bras. Cir.*, Rio de Janeiro, v.36, n.3, 2009.
- 11 SILVA, J. C. R. et al. Modelo experimental para endometriose em coelhas com seguimento evolutivo das lesões. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v.26, n.9, 2004.
- 12 CASTELLI, L. C. V. Hibridação genômica comparativa em endometriose. 2008. 111 f. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2008.
- 13 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 144, de 31 de março de 2010. Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/sas/103494-144?q=0>>.
- 14 SCHENKEN, R. Treatment of endometriosis. Up To Date. 2008 Oct [cited 2008Nov24]. Available from:<http://www.uptodate.com/home/store/index.do>.
- 15 KASHIMA, K.; ISHIMARU, T.; OKAMURA, H.; SUGINAMI, H.; IKUMA, K.; MURAMAKI, T., et al. Familial risk among Japanese patients with endometriosis. *Int J Gynecol Obstet*, v. 84, p. 61-4, 2004.
- 16 SANGI-HAGHPEYKAR, H.; POINDEXTER, A. N. Epidemiology of endometriosis among parous women. *Obstet Gynecol*, v. 85, p. 983-92, 1995.

- 17 BISCHOFF, F.; SIMPSON, J. L. Genetics of Endometriosis: heritability and candidate genes. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v. 18, n. 2, p. 219-232, 2004.
- 18 SANTOS, D. B. D., SOARES, I. A., FAVERO FILHO, L. A. et al. Uma abordagem integrada da endometriose. Cruz das Almas – BA: UFRB, p 1-120, 2012.
- 19 TAYLOR, H.; VANDEN HEUVEL, G.B.; IGARASHI, P. A conserved Hoxaxis in the mouse and human female reproductive system: Late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol. Reprod.*, v. 57, p.1338–1345, 1997.
- 20 IHLENFELD, M. F. K.; DIAS, R.; DIAS, D. S.; LEITE, N. J., MODOTTE, W.; UEMURA, G. Teoria Imunológica da Endometriose: O Papel das Citocinas. *Femina*, v.33, n. 5, 2005.
- 21 WU, M. Y.; HO, H.N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J ReprodImmuno*, v. 49, p. 285-96, 2003.
- 22 LORENÇATTO, C. et al. Avaliação da frequência de depressão em pacientes com endometriose e dor pélvica. *Ver AssocMéd Bras.*, Campinas, v.48, n.3, p. 217-221, 2002.
- 23 PARAZZINI, F.; CHIAFFARINO, F.; SURACE, M.; CHATENOU, L.; CIPRIANI, S.; CHIANTERA, V, et al. Selected food intake and risk of endometriosis. *Hum Reprod*, v.19, p. 1755-9, 2004.
- 24 VERCELLINI, P.; FEDELE, L.; AIMI, G.; PIETROPAOLO, G.; CONSONNI, D.; CROSIGGNANI, P.G. Association between endometriosis stage, lesion type, patient characteristics and severity of pelvic pain symptoms: a multivariate analysis of over 1000 patients. *Hum Reprod*, v. 22, p. 266-71, 2007.

- 25 VIGANÒ, P. et al. Endometriosis: epidemiology and etiological factors. *Best Pract Rev Clin Obstet Gynecol*, v. 18, n. 2, p. 177-200, 2004.
- 26 ARRUDA, M. S.; PETTA, C. A.; ABRÃO, M. S.; BENETTI-PINTO, C. L. Time elapsed from the onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women. *Hum Reprod*, v. 18, p. 756-59, 2003.
- 27 HEILIER, J.F. et al. Environmental and host-associated risk factors in endometriosis and deep endometriotic nodules: a matched case control study. *Environ Res*, v. 103, n. 1, p. 121-129, 2007.
- 28 BELLELIS, P. et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos da endometriose pélvica – uma série de casos. *Rev. Assoc. Med. Bras*, v. 56, n. 4, p. 467-471, 2010.
- 29 KUOHUNG, W.; JONES, G. L.; VITONIS, A. F. Characteristics of patients with endometriosis in the United States and the United Kingdom. *Fertil Steril*, v. 78, p. 767-72, 2002.
- 30 ABRÃO, M. S.; NEME, R. M.; AVERBACH, M. Rectovaginal septum endometriosis: a disease with specific diagnosis and treatment. *Arquivos de gastroenterologia*, v. 40, n.3, p. 192-197, 2003.
- 31 BROSENS, I. et al. Diagnosis of endometriosis: pelvic endoscopy and imaging techniques. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, v. 18, n. 2, p. 285-303, 2004.
- 32 BERBEL, B. T.; PODGAEC, S.; ABRÃO, M. S. Análise da associação entre o quadro clínico referido pelas pacientes portadoras de endometriose e o local de acometimento da doença. *Rev Med.*, São Paulo, v.87, n.3, p. 195-200, 2008.

- 33 BILIBIO, J. P. Avaliação do nível sérico de prolactina e CA 125 como marcadores diagnósticos de endometriose. 51 f. Dissertação (Mestrado em Medicina), 2010.
- 34 ZOMER, M. T. Correlação entre os níveis de Ca-125 séricos e os achados cirúrgicos em mulheres com sintomas sugestivos de endometriose. *CEP: 80250*, 190, Curitiba, 2013.
- 35 SZUBERT, M.; SUZIN, J.; WIERZBOWSKI, T.; KOWALCZYK-AMICO, K. CA-125 concentration in serum and peritoneal fluid in patients with endometriosis - preliminary results. *Arch Med Sci*, v. 8, n. 3, p. 504-8, 2012.
- 36 ABRÃO, M. S.; PODGAEC, S.; FILHO, M. B.; RAMOS, L.O.; PINOTTI, J. A.; DE OLIVEIRA, R. M. The use of biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis. *Hum Reprod*, v. 12, p. 2523-7, 1997.
- 37 OTHMAN EEL-D, HOURNG, D.; SALEM, H. T.; KHALIFA, E. A.; ELMETWALLY, T. H., AL-HENRY, A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v. 137, n. 2, p.240-6, 2008
- 38 OMLAND, A.K; FEDORCSAK, P; STORENG, R.; DALE, P.O.; ABYHOLM, T.; TANBO, T. Natural cycle IVF in unexplained, endometriosis-associated and tubal factor infertility. *Hum Reprod*, v. 16, n. 12, p. 2587-92, 2001.
- 39 WANG, H.; CORPUDOLO, N. et al. "The role of prolactin-endometriosis-associated infertility." *Obstet Gynecol Surv*, v. 64, n. 8, p. 542-7, 2009.
- 40 KURDOGLU Z., GURSOY R., KURDOGLU M., ERDEM M., ERDEM O., ERDEM A. Comparison of the clinical value of CA19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*, v. 92, n. 5, p.1761-3, 2009.

- 41 HARADA T., KUBOTA T., ASO T. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*, v.78, n.4 p.733–9, 2002.
- 42 XAVIER P., BEIRES J., BELO L., REBELO I., MARTINEZ DE OLIVEIRA J., LUNET N. Are we employing the most effective CA 125 and CA 19-9 cut-off values to detect endometriosis? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v.123, n.2 p.254–5, 2005.
- 43 SOMIGLIANA E., VIGANO P., TIRELLI A.S., FELICETTA I., TORRESANI E., VIGNALI M. Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions. *Hum Reprod*, v. 19, n.8, p. 1871–6, 2004.
- 44 ABDELMASSIH R. Coletânea Infertilidade. Clínica e Centro de Pesquisa em Reprodução Humana, São Paulo, pag 8.
- 45 BEDAIWY M.A., FALCONE T., et al. “Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial”. *Hum. Reprod*, v.17, n.2, p.426-31, 2002.
- 46 VIGNALI D.A. “Multiplexed particle-based flow cytometric assays”. *J Immunol Methods*, v. 243 (1-2), p. 243-55, 2000.
- 47 CZERKINSKY C.C., NILSSON L.A., et al. “A solid-phase enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells”. *J Immunol Methods*, v.65 (1-2), p.109-21, 1983.
- 48 KWAK J.Y.K., BARINI R., GILMAN-SACHS A., BEAMAN K.D., BEER A.E. Down regulation of maternal antiphospholipid antibodies during early pregnancy and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*, v.171, p.239-46, 1994.

- 49 CECATTI, José Guilherme et al. Anticorpos Anticardiolipina entre Gestantes com Óbito Fetal. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [online], vol.22, n.2, p. 101-106. ISSN 0100-7203, 2000.
- 50 RANDALL G.W., GANTT P.A., POE-ZEIGLER R.L., et al. Serum Antiendometrial Antibodies and Diagnosis of Endometriosis. *Am J Reprod Immunol*, v.58, n.4, p.374-82, 2007.
- 51 REIS F.J.C. Rastreamento e diagnóstico das neoplasias de ovário: papel dos marcadores tumorais. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v. 27, n.4, p.222-27, 2005.
- 52 ROSA G.D., BARCELLOS G.B., CARVALHAL G.F. DORNELLES NETO E.J. Marcadores tumorais em urologia. *Acta Médica (Porto Alegre)*, v.26, p.155-6, 2005.
- 53 IHLENFELD M. F. K. Determinação de citocinas no diagnóstico laboratorial da endometriose peritoneal mínima e leve. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* v.30, n.1, Rio de Janeiro, 2008.
- 54 RUDGE C. Z. M. Expressão da leptina e seus receptores no ovário humano normal e no acometido por endometrioma. Dissertação de Mestrado. Hospital Universitário Pedro Ernesto – HUPE, Rio de Janeiro, 2013.
- 55 SILVEIRA J. F., NÁCUL A., MORSCH D. M., SPRITZER P. M., LECKE S. B., RAMOS R. B. Correlação entre leptina sérica e grau da endometriose. Livro de Resumos. Salão de Iniciação Científica, p.19-23, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2009.
- 56 CALHAZ-JORGE C., COSTA A.P., BARATA M., SANTOS M.C., MELO A., PALMA-CARLOS M.L. Tumour necrosis factor alpha concentrations in the peritoneal fluid of infertile women with minimal or mild endometriosis are lower in patients with red lesions only than in patients without red lesions. *Hum Reprod*, v.15, p.1256-60, 2000.

- 57 GAZVANI R., TEMPLETON A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction*, v.123, p.217-26, 2002.
- 58 KALU E., SUMAR N., GIANNOPOULOS T., PATEL P., CROUCHER C., SHERRIFF E. Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, v.33, p.490-5, 2007.
- 59 SAKAMOTO Y., HARADA T., HORIE S., IBA Y., TANIGUCHI F., YOSHIDA S., et al. Tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 (IL-8) expression in endometriotic stromal cells, probably through nuclear factor-kappa B activation: gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced IL-8 expression. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, v.88, p.730-5, 2003.
- 60 IWABE T., HARADA T., TERAOKAWA N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest*, v.53 Suppl , p.19-25, 2002.
- 61 MILEWSKI L., BARCZ E., DZIUNYCZ P., RADOMSKI D., KAMINSKI P., ROSZKOWSKI P.I., et al. Association of leptin with inflammatory cytokines and lymphocyte subpopulations in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Journal of reproductive immunology*, v.79, p.111-7, 2008.
- 62 BARCZ E., MILEWSKI L., DZIUNYCZ P., KAMINSKI P., PLOSKI R., MALEJCZYK J. Peritoneal cytokines and adhesion formation in endometriosis: an inverse association with vascular endothelial growth factor concentration. *Fertility and sterility*, v. 97, p.1380-6 e1, 2012.
- 63 BEDAIWY M.A., FALCONE T., SHARMA R.K, GOLDBERG J.M., ATTARAN M., NELSON D.R., et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod.*, v.17, p.426-31, 2002.

- 64 KEENAN J.A., CHEN T.T., CHADWELL N.L., TORRY D.S., CAUDLE M.R. Interferon-gamma (IFN-gamma) and interleukin-6 (IL-6) in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol.*, v.32, n.3, p.180-3, 1994.
- 65 SCHRODER W., GAETJE R., BAUMANN R. Interleukin-6 and inteleukin-6 receptor in peritoneal fluid and serum of patients with endometriosis. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, v.23, n.1, p.10-4, 1996.
- 66 RAPKIN A., MORGAN M., BONPANE C., MARTINEZ-MAZA O. Peritoneal fluid interleukin-6 in women with chronic pelvic pain. *Fertil Steril.*, v.74, n.2, p.325-8, 2000.
- 67 EJZENBERG D. Avaliação das interleucinas 1- β e 6 e da proteína amilóide A, no líquido peritoneal e no soro de pacientes com endometriose pélvica. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2007.
- 68 BERBIC M., SCHULKE L., MARKHAM R., TOKUSHIGE N., RUSSELL P., FRASER I.S. Macrophage expression in endometrium of women with and without endometriosis. *Hum Reprod*, v.24, n.2, p.325-32, 2009.
- 69 PIZZO A., SALMERI F.M., ARDITA F.P., et al. Behaviour of citokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest*, v.54, p.82-7, 2002.
- 70 GAGNÉ D., PAGÉ M., ROBITAILLE G., et. al. Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum. Reprod.*, v.18, p.1674-80, 2003.
- 71 BEDAIWY M.A., FALCONE T. Laboratory testing for endometriosis. *Clin. ChimActa.*, v.340, p.41-56, 2004.

- 72 SIMSA P., MIHALYI A., KYAMA C.M., MWENDA J.M., FULOP V., D'HOOOGHE T.M. Future of endometriosis research. *Women's Health.*, v.3, n.5, p.647-54, 2007.
- 73 KUSUHARA K. Luteal function in infertile patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.*, v.167, n.1, p.274-7, 1992.
- 74 CUNHA-FILHO J.S., GROSS J.L., BASTOS DE SOUZA C.A., LEMOS N.A. GIUGLIANI C., FREITAS F., et al. Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *J Assist Reprod Genet.*, v.20, n.3, p.117-21, 2003.
- 75 *American Society for Reproductive Medicine*, v.67,(5), p.817-21, 1997
- 76 PODGAEC S. Padrões de resposta imune em pacientes com endometriose [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; p.21, 2006.
- 77 RAMOS I.M.L., Avaliação do CA-125 e do CD-23 solúvel em pacientes com endometriose pélvica [Tese de Mestrado]. São Paulo, 2010.
- 78 TAYLOR H. S., BAGOT C., KARDANA A., et. al. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction*, vol.14, n.5, p.1328-1331, 1999.
- 79 MARTINEZ E. Z., NETO F. L., PEREIRA B. B. A Curva ROC para Testes Diagnósticos. *Cadernos Saúde Coletiva.*, v.11, n.1, p. 7-31, 2003.