

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher

Ana Cláudia Miranda Scalioni

**EXPRESSÃO DE MARCADORES DE FIBROSE EM LEIOMIOMAS UTERINOS DE
MULHERES BRASILEIRAS NEGRAS E BRANCAS**

Belo Horizonte

2025

Ana Cláudia Miranda Scalioni

**EXPRESSÃO DE MARCADORES DE FIBROSE EM LEIOMIOMAS UTERINOS DE
MULHERES BRASILEIRAS NEGRAS E BRANCAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde da Mulher.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Marcos dos Reis

Coorientadora: Prof^a.Dra. Wiviane Alves de Assis

Belo Horizonte 2025

Scalioni, Ana Cláudia Miranda.
SCA282e Expressão de marcadores de Fibrose em Leiomiomas Uterinos de mulheres brasileiras negras e brancas [recurso eletrônico]. / Ana Cláudia Miranda Scalioni. - - Belo Horizonte: 2025.
42f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Fernando Marcos dos Reis.
Coorientador (a): Wiviane Alves de Assis.
Área de concentração: Saúde da Mulher.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Leiomioma. 2. Grupos Raciais. 3. Saúde das Minorias Étnicas. 4. Fibrose. 5. Colágeno. 6. Fibronectinas. 7. Versicanas. 8. Dissertação Acadêmica. I. Reis, Fernando Marcos dos. II. Assis, Wiviane Alves de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WP 459

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às **dezessete** horas do dia trinta de janeiro de dois mil e vinte e cinco, online, através da plataforma TEAMS, realizou-se a sessão pública para a defesa da Dissertação de **ANA CLÁUDIA MIRANDA SCALIONI**, matrícula 2022665923. A presidência da sessão coube ao Prof. Fernando Marcos dos Reis, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **Profa. Larissa Milani Coutinho**- UFJF, **Prof. Marcelo Antônio Pascoal Xavier**-UFMG, **Dra. Wiviane Alves de Assis**-UFMG, co-orientadora e **Prof. Fernando Marcos dos Reis**-UFMG, orientador. Em seguida, a candidata fez a apresentação do trabalho que constitui sua **Dissertação de Mestrado**, intitulada: "**EXPRESSÃO DE MARCADORES DE FIBROSE EM LEIOMIOMAS UTERINOS DE MULHERES BRASILEIRAS NEGRAS E BRANCAS**". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença da candidata e do público e decidiu considerar **aprovada** a **Dissertação de Mestrado**. O resultado final foi comunicado publicamente a candidata pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 17 de janeiro de 2025.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Marcos dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 05/02/2025, às 10:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Antonio Pascoal Xavier, Professor do Magistério Superior**, em 06/02/2025, às 10:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Larissa Milani Coutinho, Usuário Externo**, em 13/02/2025, às 23:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Batista Candido, Professor do Magistério Superior**, em 17/02/2025, às 08:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wiviane Alves de Assis, Usuária Externa**, em 24/02/2025, às 11:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=4205974&infra_sistema...

1/2



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3891798** e o código CRC **BBC9218E**.

Dedico esta dissertação aos meus filhos, Pedro e Maria. Com eles me tornei mais forte e determinada. Por eles acordo diariamente com uma imensa vontade de ser uma pessoa melhor. Espero inspirá-los a sempre buscar o conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me fortalecer e permitir essa conquista mesmo diante de diversas dificuldades. Agradeço aos meus pais, Luiz Fernando e Andréa, por não medirem esforços para que eu estudasse e conquistasse tudo o que almejava. Ao meu esposo, João Paulo, o meu principal incentivador dessa conquista, sem você eu não conseguiria. Aos meus irmãos, Fernando e Marina, por me ensinarem desde cedo a importância do trabalho em equipe. Aos familiares e amigos, pela torcida.

Agradeço ao professor Fernando Marcos dos Reis pelos ensinamentos e orientação excepcional e fundamental durante todo o processo. À professora Wiviane Alves de Assis, pela contribuição e ensinamentos. Aos amigos do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas – UFMG, especialmente à Elaine, Tays, Lorrane e André, por compartilharem comigo o conhecimento e me ajudarem na realização dos procedimentos.

Aos professores do Programa de Pós-graduação da UFMG, em especial à Profa. Zilma, Juliano, Prof. Clécio, por compartilhar brilhantemente o conhecimento. Ao Dr. Maurício Bechara, Dr. Admário Filho e toda a equipe do Hospital da Baleia e São Francisco de Assis, por toda amizade e ajuda neste projeto. Às pacientes que aceitaram fazer parte na construção deste conhecimento.

À banca examinadora, pela disponibilidade e pelas críticas, sugestões e comentários que, sem dúvida, contribuirão para que eu continue me empenhando na carreira acadêmica.

RESUMO

Leiomiomas uterinos (miomas) são tumores ginecológicos benignos altamente prevalentes e a principal indicação para histerectomia. Mulheres negras sofrem um impacto desproporcional de leiomiomas uterinos em comparação com mulheres brancas, mas os mecanismos subjacentes a essa disparidade racial permanecem indefinidos. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o grau de fibrose e a expressão de genes pró-fibróticos em leiomiomas de mulheres brasileiras de acordo com a raça autorrelatada e ancestralidade genômica. **Métodos:** Os participantes do estudo (n=30) foram divididos em três grupos (n=10) de acordo com a raça autodeclarada: negra, mestiça e branca. O tecido do leiomioma foi coletado após a histerectomia. A fibrose foi quantificada pela coloração tricrômica de Masson e a expressão dos genes pró-fibróticos COL1A1 (colágeno tipo 1), FN1 (fibronectina 1) e VCAN (versican) foi avaliada por qPCR. A ancestralidade genética foi determinada pela tipagem de DNA para um painel de 40 polimorfismos de DNA de inserção/deleção curta bialélicos informativos de ancestralidade validados. Os dados foram resumidos como medianas de grupo e comparados pela análise de variância de Kruskal-Wallis seguida pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. **Resultados:** Os três grupos apresentaram dados clínicos e demográficos homogêneos. A proporção de tecido fibrótico nas seções histológicas de leiomioma foi semelhante nos três grupos. Os níveis de mRNA do colágeno tipo 1 foram menores nos grupos de raça negra do que nos grupos de raça mista ($p<0,05$), enquanto a expressão de fibronectina e versican não mudou de acordo com a raça autorrelatada. Não houve correlação entre fibrose ou expressão gênica pró-fibrótica e a proporção de ancestralidade genômica europeia, africana ou nativa americana dos participantes. **Conclusão:** Essas descobertas sugerem que as diferenças na quantidade de fibrose ou na expressão de genes pró-fibróticos no momento da histerectomia provavelmente não explicam as disparidades raciais na carga de leiomiomas uterinos entre mulheres brasileiras.

Palavras-chave: leiomioma; raça; ancestralidade genômica; fibrose; colágeno; fibronectina; versican.

ABSTRACT

Background: Uterine leiomyomas (fibroids) are highly prevalent benign gynecologic tumors and the leading indication for hysterectomy. Black women experience a disproportionate impact of uterine leiomyomas compared to White women, but the mechanisms underlying this racial disparity remain elusive. **Objective:** The aim of this study was to evaluate the degree of fibrosis and the expression of pro-fibrotic genes in leiomyomas from Brazilian women according to self-reported race and genomic ancestry. **Methods:** Study participants (n=30) were divided into three groups (n=10) according to self-declared race: Black, Mixed race and White. Leiomyoma tissue was collected after hysterectomy. Fibrosis was quantified by Masson's trichrome staining and the expression of pro-fibrotic genes *COL1A1* (type 1 collagen), *FNI* (fibronectin 1) and *VCAN* (versican) was assessed by qPCR. The genetic ancestry was determined by typing DNA for a panel of 40 validated ancestry-informative biallelic short insertion/ deletion DNA polymorphisms. Data were summarized as group medians and compared by Kruskal-Wallis analysis of variance followed by Dunn's multiple comparisons test. **Results:** The three groups presented homogeneous clinical and demographic data. The proportion of fibrotic tissue in the leiomyoma histological sections was similar in the three groups. The mRNA levels of type 1 collagen were lower in Black than in Mixed race groups ($p<0.05$) while fibronectin and versican expression did not change according to self-reported race. There was no correlation between fibrosis or pro-fibrotic gene expression and the proportion of European, African or Native American genomic ancestry of the participants. **Conclusion:** These findings suggest that differences in the amount of fibrosis or the expression of pro-fibrotic genes by the time of hysterectomy are unlikely to explain racial disparities in the burden of uterine leiomyomas among Brazilian women.

Keywords: leiomyoma; skin color; race; genomic ancestry; fibrosis; collagen; fibronectin; versican.

LIST OF FIGURES

Table 1: Clinical characteristics of the study participants.....	13
Table 2: Primer sequences used for PCR amplification.....	15
Figure 1: Extent of fibrosis in uterine leiomyoma tissue of Black (A), Mixed race (B) and White (C) women. The proportion of fibrotic area (D) is shown in the boxplots as group medians and interquartile ranges.....	17
Figure 2: Relative mRNA expression of fibrosis-related genes <i>COL1A1</i> (A), <i>FNI</i> (B) and <i>VCAN</i> (C) in uterine leiomyoma tissue according to self-reported race.....	18
Figure 3: Standard estimates of patient ancestry from genotyping data.....	19
Figure 4: Extent of fibrosis in uterine leiomyoma tissue of women in the top (A), middle (B) and bottom (C) tertiles of African ancestry. The proportion of fibrotic area (D) is shown in the boxplots as group medians and interquartile ranges.....	20
Figure 5: Relative mRNA expression of fibrosis-related genes <i>COL1A1</i> (A), <i>FNI</i> (B) and <i>VCAN</i> (C) in uterine leiomyoma tissue according to tertiles of African ancestry.....	20

ABBREVIATIONS

COL1A1	Type 1 collagen
Ct	Threshold cycle
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid
DNA	Deoxyribonucleic acid
ECM	Extracellular matrix
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
FN1	Fibronectin 1
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone
mRNA	Messenger ribonucleic acid
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonucleic acid
SD	Standard deviation
ULMs	Uterine leiomyomas
VAS	Visual Analogue Scale
VCAN	Versican

SUMMARY

1. INTRODUCTION.....	11
2. METHODS.....	13
2.1 Study design and participants.....	13
2.2 Sample collection.....	14
2.3 DNA extraction and ancestry genotyping.....	14
2.4 RNA extraction, complementary DNA synthesis, and semi-quantitative PCR.....	15
2.5 Tissue Staining and Image Processing.....	16
2.6 Statistical analysis.....	16
3. RESULTS	17
3.1 Self-reported race, fibrosis extent and expression of fibrosis markers.....	17
3.2 Self-reported race and genetic ancestry	18
3.3 Genetic ancestry and expression of fibrosis markers.....	19
4. DISCUSSION.....	21
5. CONCLUSION.....	23
6. STATEMENTS AND DECLARATIONS.....	24
REFERENCES.....	25
 ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	 30
ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	34
B.1 HOSPITAL DA BALEIA – FUNDAÇÃO BENJAMIN GUIMARÃES.....	34
B.2 FUNDAÇÃO HOSPITALAR SÃO FRANCISCO DE ASSIS.....	39

1. INTRODUCTION

Uterine leiomyomas (ULMs), also termed fibroids, are highly prevalent benign gynecologic tumors, affecting about 70-80% of women during their lifetime (Baird et al., 2003). It is estimated that 20-50% of all women with ULMs experience related symptoms, which can seriously affect women's quality of life (Neumann et al., 2024). The main symptoms associated with ULMs are abnormal uterine bleeding, chronic pelvic pain, infertility and obstetrical complications (Coutinho et al., 2022; Leal et al., 2024). ULMs are the leading indication for hysterectomy, but despite its effectiveness the loss of reproductive potential and a significant morbidity are major limitations of this intervention (Islam et al., 2014).

ULMs originate from the smooth muscle layer of the uterus and probably develop from a single transformed myometrial smooth muscle cell (Ligon & Morton, 2000; Mashal et al., 1994). They are characterized by abundant extracellular matrix (ECM) accumulation (Leppert et al., 2014), and alterations in its composition significantly contribute to the growth of these tumors (Rafique et al., 2017; Yang & Al-Hendy, 2023). Tumor bulk results from a disorder of fibrosis (Catherino et al., 2004; Chegini, 2010; Leppert et al., 2004; Malik et al., 2010) and they produce large amounts of ECM proteins, such as collagens, fibronectin and proteoglycans (Arici & Sozen, 2000;). Of particular importance, collagen type 1 / subtype 1A1 (COL1A1), fibronectin 1 (FN1) and the proteoglycan versican (VCAN) are overexpressed by ULM cells and have been implicated in the pathophysiology of ULMs not only as components of the ECM but also promoters of cell proliferation and fibrosis (Britten et al., 2012; Iwahashi & Muragaki, 2011; Leppert et al., 2004; Malik & Catherino, 2012; Norian et al., 2009; Stewart et al., 1994).

African ancestry is considered a key risk factor for the development of ULMs. The cumulative incidence of ULMs for Black women exceeds that for White women by

20% in their 30s and by 10% in their late 40s (Baird et al., 2003). In addition, African American women have ULMs diagnosed at earlier ages, are more likely to be symptomatic and non-responsive to medical treatments than White women (Jacoby et al., 2010). The size and growth rates of ULMs are greater in African American women, who undergo surgical intervention more often than other racial groups (Laughlin & Stewart, 2011).

Despite the growing knowledge of the pathophysiology of ULMs, the underlying mechanisms of racial disparities in their incidence, progression and clinical manifestations are largely unknown (Zota & VanNoy, 2021). A study in the United States revealed novel protein traits like tetratricopeptide repeat protein 38 (TTC38) in Black patients with ULMs and found evidence that *MED12* mutations, which are more prevalent in the Black population and predisposes to ULM development, also correlate with increased tissue fibrosis (Bateman et al., 2024). Clearly, more information is needed on diverse populations, including those with a large proportion of mixed-race individuals. Thus, the aim of this study was to evaluate the degree of fibrosis and the expression of pro-fibrotic genes in leiomyomas from Brazilian women according to self-reported race and genomic ancestry.

2. METHODS

2.1 Study design and participants

This prospective cross-sectional study included 30 women with indication of hysterectomy for uterine myomatosis. The patients were selected at the Gynecology services of two general hospitals in Belo Horizonte, Brazil, from November 2022 to April 2023. Women with malignant neoplasm, current use of corticosteroids, current pituitary blockade with GnRH analogue or postmenopausal were excluded. The participants were divided according to self-reported skin color/race into Black, White or Mixed (Pereira et al., 2024). The clinical characteristics of the study participants are summarized in Table 1.

Table 1: Clinical characteristics of the study participants

	Black n = 10	Mixed n = 10	White n = 10
Age (years)	42.2 ± 4.9	45.1 ± 3.5	44.8 ± 4.2
Menarche (years)	12.3 ± 1.9	13.4 ± 1.6	12.3 ± 2.6
Weight (kg)	77.3 ± 17.8	74.3 ± 15.2	79.5 ± 12.8
Body mass index (kg/m ²)	28.6 ± 6.3	28.0 ± 5.2	30.2 ± 4.8
Uterine volume (cm ³)	394 ± 296	394 ± 272	333 ± 203
Hemoglobin level (g/dL)	13.1 ± 2.4	11.9 ± 2.5	13.5 ± 0.8
Menstrual cycle (days)	7 (6 - 8)	7 (6 - 7)	7 (7 - 8)
Dysmenorrhea (VAS)	8.0 (4.5 - 9.0)	9.0 (6.5 - 10.0)	8.0 (0.0 - 10.0)
Pelvic pain (VAS)	6.0 (0.0 - 8.5)	6.0 (0.0 - 10.0)	5.0 (0.0 - 8.3)
Parity	2 (2 - 3)	2 (1 - 4)	3 (2 - 3)
Systolic blood pressure (mmHg)	127 (117 - 148)	120 (117 - 132)	122 (117 - 138)
Diastolic blood pressure (mmHg)	78 (75 - 81)	80 (73 - 82)	80 (70 - 87)

Values are given as mean ± SD or median (interquartile range).

Source: Prepared by the author and the co-author

The study protocol was approved by the Ethics Committee on Human Research at both hospitals and all the participants provided written informed consent to be enrolled.

2.2 Sample collection

Core tissue samples of ULMs type 2 to 6 (Munro et al., 2018) were obtained immediately after removal of the uterus and split into two fragments that were stored in fixative solution (Histochoice®, Sigma) and RNA preservation solution (RNAlater®, Sigma), respectively.

Blood samples (1-2 ml) were collected from a peripheral vein in EDTA-coated tubes and stored at -20°C for up to 30 days until DNA extraction.

2.3 DNA extraction and ancestry genotyping

All individuals had genetic ancestry determined by typing DNA for a panel of 40 validated ancestry-informative biallelic short insertion/ deletion DNA polymorphisms (InDels) (Bastos-Rodrigues et al., 2006). Amplicons were sized using an ABI3130 DNA Sequencer (Applied Biosystems) and analyzed using the GeneMapper Software version 3.7. As a population clustering algorithm, we used the Structure program version 2.3, available at <<http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>> to infer the structure of each population and allocate individuals to the three different ethnic groups: Africans, Europeans and Amerindians (Pritchard et al., 2000).

2.4 RNA extraction, complementary DNA synthesis, and semi-quantitative PCR

Total RNA was isolated using the TRIzol® protocol and quantified by light absorbance at 260 nm (NanoDrop - Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware, USA). One µg of RNA was pretreated with DNase I, Amplification Grade for 15 minutes (CAT: 18068015; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) to remove undesired genomic DNA contamination. First-strand complementary DNA (cDNA) was synthesized from 750 ng of DNase I-treated total RNA using Superscript IV first-strand synthesis system (CAT: 18091050; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Real-time PCR was carried out in an ABI-Prism 7500 Sequence Detection System using the fluorescent dye Power SYBR Green Master Mix Kit (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). The PCR parameters were: [stage 1] a cycle of 95 °C / 10min; [stage 2] 40 cycles of 95 °C / 15 seconds, 60 °C / 15 seconds and 72 °C / 20 seconds; [Stage 3] 95 °C / 15 seconds, 54 °C / 15 seconds and 95 °C / 15 seconds. The gene encoding the ribosomal protein S26 was used as the internal control.

The synthesized primer sequences used for PCR amplification are described in Table 2.

Table 2: Primer sequences used for PCR amplification

Gene	Forward primer	Reverse primer	Length (pb)
<i>S26</i>	TGTGCTTCCCAAGCTGTATGTGAA	CGATTCTGACTACTTTGCTGTGA	74 pb
<i>FNI</i>	TCAGCTTCCTGGCACTTCTG	TCTTGTCTACATTGGCGG	147 pb
<i>COL1A1</i>	GCTCTTGCAACATCTCCCCT	CCTTCCTGACTCTCCTCCGA	88 pb
<i>VCAN</i>	AGTGTGTGCACGGAATGGAA	GTGGCTCTGGACACAACAGA	162 pb

Source: Prepared by the author and the co-author

Primers were designed to span two sequential exons and thus anneal only to cDNA. The specificity of PCR products was confirmed by single peak dissociation curves. Threshold cycle (Ct) values were normalized to S26 (Δ Ct), and each sample value was reported as $1/\Delta$ Ct.

2.5 Tissue Staining and Image Processing

Fixed tissue samples were embedded in paraffin and cut into 4 μ m thick sections, which were stained with hematoxylin and eosin for morphological analysis and with Masson's trichrome to assess the extent of tissue fibrosis.

The images were scanned (3DHISTEC Ltd., Budapest, Hungary) and fibrosis was quantified using ImageJ software, as described by Chen *et al.* (2017). Briefly, all images were acquired under the same light conditions, without automatic exposure and white balance, and digitalized with 24-bit and 640 x 480 pixel resolution. Digital images were processed by color deconvolution and the proportion of green color, which corresponds to collagen fibers, was quantified from the selected areas of interest (Chen et al., 2017).

2.6 Statistical analysis

The results were analyzed by the D'Agostino-Pearson test to determine normal data distributions. Continuous variables were summarized as mean \pm standard deviation or medians (interquartile ranges) and categorical variables were expressed as frequency (percentage). Differences between groups were assessed using the Kruskal-Wallis analysis of variance followed by Dunn's test. All analyses were performed using GraphPad Prism version 6.0.

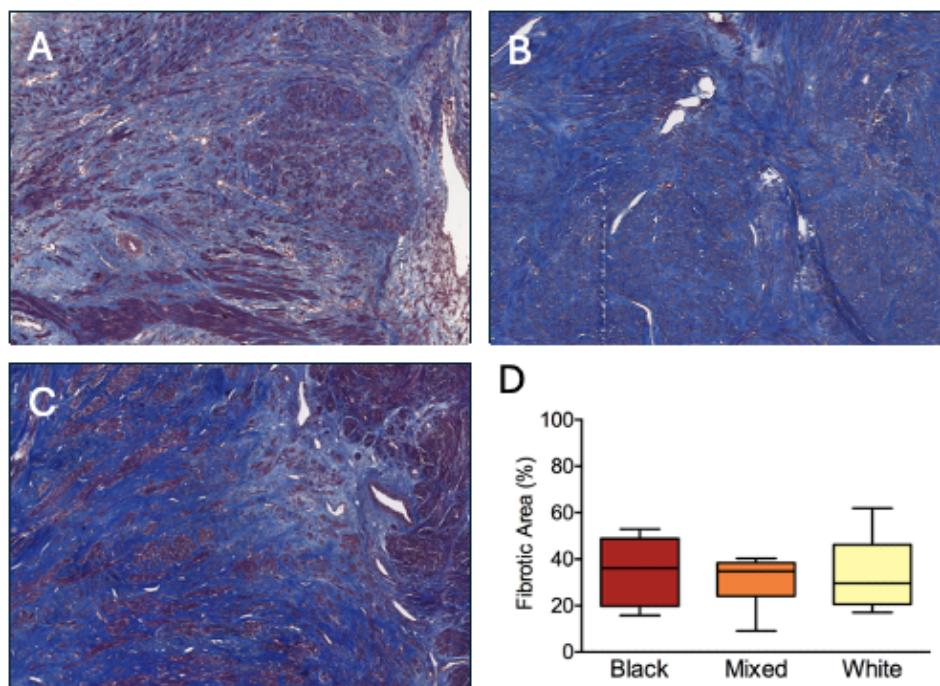
3. RESULTS

As shown in Table 1, the three groups were comparable in terms of age at the time of hysterectomy, age of menarche, parity, blood pressure, body weight and body mass index. Moreover, the groups were similar in clinical characteristics such as uterine volume, menstrual cycle length, hemoglobin levels and painful symptoms (Table 1).

3.1 Self-reported race, fibrosis extent and expression of fibrosis markers

As shown in Figure 1, the proportion of fibrotic tissue in the ULM histological sections was similar in the three groups.

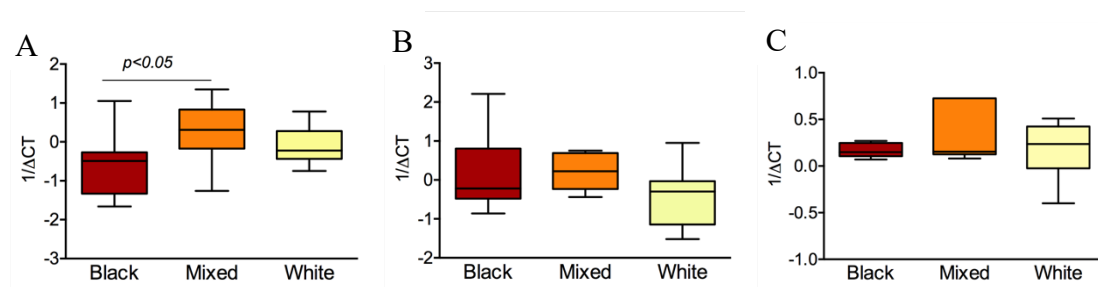
Figure 1: Extent of fibrosis in uterine leiomyoma tissue of Black (A), Mixed race (B) and White (C) women. The proportion of fibrotic area (D) is shown in the boxplots as group medians and interquartile ranges.



Source: Prepared by the author and the co-author

Black women presented a significantly lower expression ($p < 0.05$) of type I collagen mRNA compared to the Mixed group. We observed no significant association between the expression of fibronectin or versican mRNA in ULM tissue and self-declared race (Figure 2).

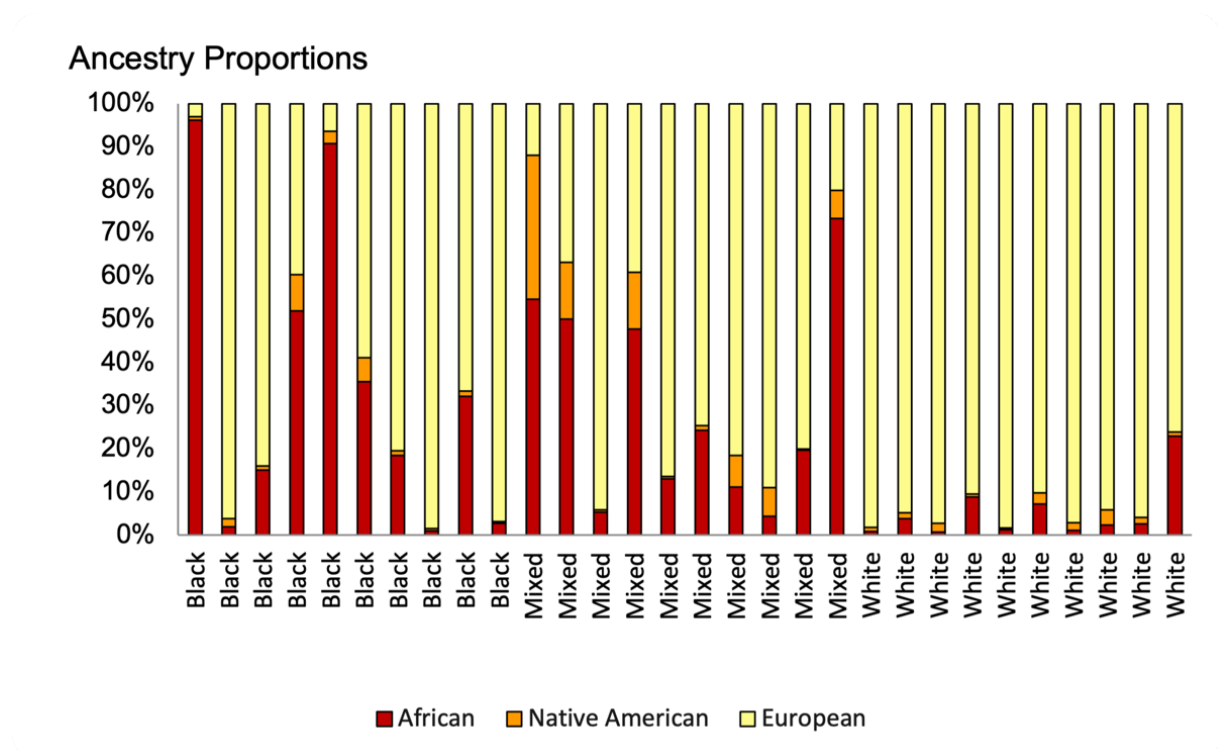
Figure 2 - Relative mRNA expression of fibrosis-related genes *COL1A1* (A), *FNI* (B) and *VCAN* (C) in uterine leiomyoma tissue according to self-reported race



Source: Prepared by the author and the co-author

3.2 Self-reported race and genetic ancestry

Self-reported Black race was not associated with a predominance of African genetic ancestry (Figure 3). As expected, all the participants in the White group had at least 75% European ancestry, while Mixed race was associated with a more variable pattern of ancestry-related gene polymorphisms, including the highest proportion of Amerindian ancestry among the groups.

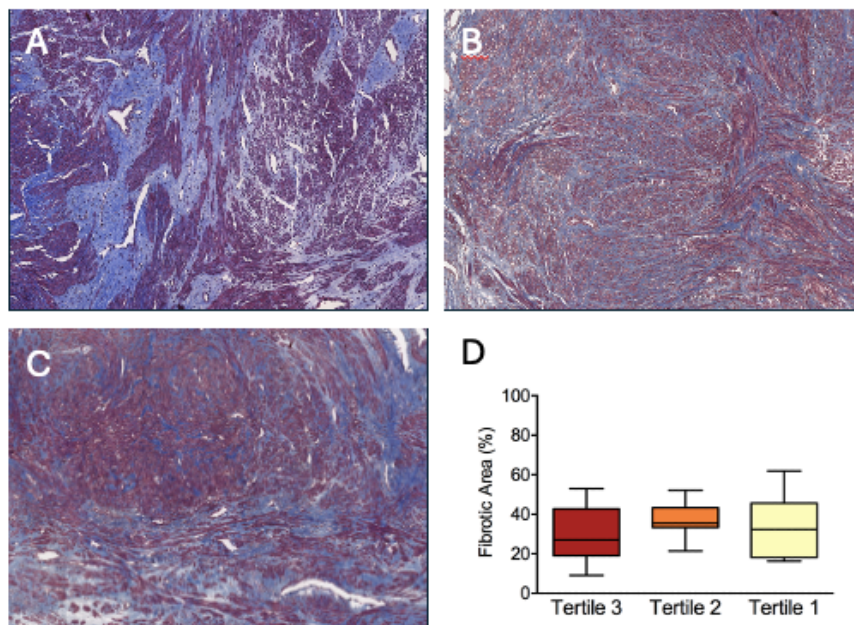
Figure 3 - Standard estimates of patient ancestry from genotypic data

Source: Prepared by the author and the co-author

3.3 Genetic ancestry and expression of fibrosis markers

When the study participants were reclassified into tertiles by the proportion of African ancestry in their genotype profiles, we observed a similar extent of fibrosis in all groups (Figure 4).

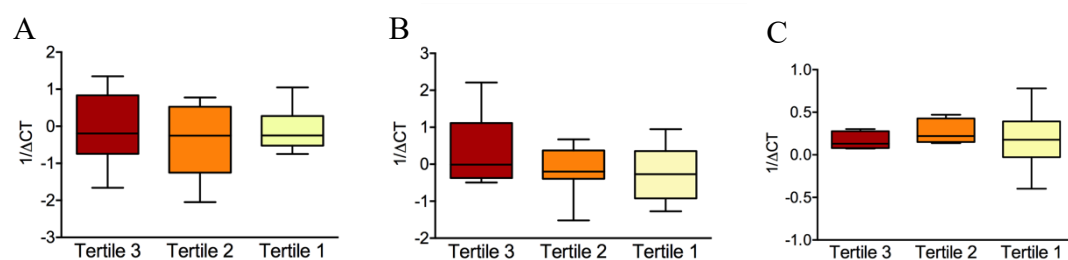
Figure 4: Extent of fibrosis in uterine leiomyoma tissue of women in the top (A), middle (B) and bottom (C) tertiles of African ancestry. The proportion of fibrotic area (D) is shown in the boxplots as group medians and interquartile ranges.



Source: Prepared by the author and the co-author

Likewise, the expression levels of type 1 collagen, fibronectin and versican did not show any meaningful difference according to the degree of African ancestry (Figure 5).

Figure 5 - Relative mRNA expression of fibrosis-related genes *COL1A1* (A), *FNI* (B) and *VCAN* (C) in uterine leiomyoma tissue according to tertiles of African ancestry



Source: Prepared by the author and the co-author

4. DISCUSSION

The present study investigated the fibrosis extent and the expression of pro-fibrotic genes *COL1A1*, *FNI* and *VCAN* in ULM tissue of Brazilian women from different racial groups. As a result, the mRNA levels of type 1 collagen were lower in Black than in Mixed race groups while fibronectin and versican expression did not change according to self-reported race. There was no correlation between fibrosis or pro-fibrotic gene expression and the proportion of European, African or Native American genomic ancestry of the participants.

Bateman *et al.* (2024) demonstrated using shear wave ultrasonography that Black women had firmer ULMs than White patients, even when the tumors were similar in size. Furthermore, Black women harbor *MED12* mutations (the most prevalent genetic alteration associated with sporadic ULMs and related to increased fibrosis) more frequently than White women. Bairiane *et al.* (2024) evaluated the expression of pro-fibrotic genes (type I collagen and fibronectin) in the myometrium of uteri with or without ULMs and observed an increase in the levels of both markers in ULM-associated myometrium, but this difference was only seen among Black women. These results together with previously accumulated evidence indicate that the racial disparities observed in ULMs may be attributed, at least in part, to exacerbated production of ECM in the myometrium of Black women, even before the appearance of the tumors (Bariani *et al.*, 2024).

To the best of our knowledge, no previous study made direct comparisons between ethnic or racial groups for the severity of fibrosis in ULMs. Based on the known racial differences in tumor progression and symptoms (Baird *et al.*, 2003; Jacoby *et al.*, 2010) and considering the central role of fibrotic tissue in ULM pathophysiology (Yang & Al-

Hendy, 2023), we hypothesized that the tumor would have greater expression of fibrosis in Black women. However, this hypothesis was not supported by the present findings. In the present study, the similarity in fibrosis extent between racial groups may be explained because all ULM samples were obtained from symptomatic patients with indication for hysterectomy, i.e., they presented an advanced stage of the disease. In fact, the three groups had similar uterine volume, menstrual cycle length, hemoglobin levels and painful symptoms. Nevertheless, it is still possible that such racial differences in ECM deposition and fibrosis exist in early stages of ULM growth and even in the myometrium before tumoral transformation (Bariani et al., 2024).

The strengths of this study include the prospective design with strict selection criteria and the assessment of genetic ancestry to complement the investigation. A further strength is the demographic profile of the Brazilian population, with diverse and mixed racial and ethnic groups (Pereira et al., 2024), which adds to the existing knowledge on ULM pathophysiology obtained mostly from more homogeneous racial groups. A study limitation is that samples were collected at a time of symptomatic and advanced disease. In addition, we assessed only three pro-fibrotic genes, although several other genes related to fibrosis have already been documented (Bariani et al., 2024; Catherino et al., 2004; Yang & Al-Hendy, 2023).

5. CONCLUSION

In conclusion, the present findings suggest that differences in the amount of fibrosis or the expression of pro-fibrotic genes by the time of hysterectomy are unlikely to explain racial disparities in the burden of ULMs among Brazilian women. Further investigation of the molecular mechanisms underlying the particularities of ULM in Black women is of paramount importance to subsidize more precise and tailored interventions, especially for patients who do not respond to current medical treatments and end up in hysterectomy.

6. STATEMENTS AND DECLARATIONS

Funding

Research supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant # 310608/2020-1), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, grant # APQ-03015-21) and Ferring Pharmaceuticals (Application # 1542705915).

Data Availability: The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Declaration of Interest

The authors have no conflicts of interest to declare. The funders had no role in the study design, analysis, interpretation or manuscript writing.

REFERENCES

- Arici, A., & Sozen, I. (2000). Transforming growth factor-beta3 is expressed at high levels in leiomyoma where it stimulates fibronectin expression and cell proliferation. *Fertil Steril*, 73(5), 1006-1011. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00418-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00418-0)
- Baird, D. D., Dunson, D. B., Hill, M. C., Cousins, D., & Schectman, J. M. (2003). High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: ultrasound evidence. *Am J Obstet Gynecol*, 188(1), 100-107. <https://doi.org/10.1067/mob.2003.99>
- Bariani, M. V., Grimm, S. L., Coarfa, C., Velez Edwards, D. R., Yang, Q., Walker, C. L., Ali, M., & Al-Hendy, A. (2024). Altered extracellular matrix-related pathways accelerate the transition from normal to prefibroid myometrium in Black women. *Am J Obstet Gynecol*, 231(3), 324.e321-324.e312. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.05.048>
- Bastos-Rodrigues, L., Pimenta, J. R., & Pena, S. D. J. (2006). The Genetic Structure of Human Populations Studied Through Short Insertion-Deletion Polymorphisms. *Ann Hum Genet*, 70(5), 658-665. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2006.00287.x>
- Bateman, N. W., Abulez, T., Tarney, C. M., Bariani, M. V., Driscoll, J. A., Soltis, A. R., Zhou, M., Hood, B. L., Litzi, T., Conrads, K. A., Jackson, A., Oliver, J., Ganakammal, S. R., Schneider, F., Dalgard, C. L., Wilkerson, M. D., Smith, B., Borda, V., O'Connor, T., Segars, J., Shobeiri, S. A., Phippen, N. T., Darcy, K. M., Al-Hendy, A., Conrads, T. P., & Maxwell, G. L. (2024). Multiomic analysis of uterine leiomyomas in self-described Black and White women: molecular insights into health disparities. *Am J Obstet Gynecol*, 231(3), 321.e321-321.e311.

<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.04.051>

Britten, J. L., Malik, M., Levy, G., Mendoza, M., & Catherino, W. H. (2012). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist leuprolide acetate and GnRH antagonist cetrorelix acetate directly inhibit leiomyoma extracellular matrix production. *Fertil Steril*, 98(5), 1299-1307.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.07.1123>

Catherino, W. H., Leppert, P. C., Stenmark, M. H., Payson, M., Potlog-Nahari, C., Nieman, L. K., & Segars, J. H. (2004). Reduced dermatopontin expression is a molecular link between uterine leiomyomas and keloids. *Genes Chromosomes Cancer*, 40(3), 204-217. <https://doi.org/10.1002/gcc.20035>

Chegini, N. (2010). Proinflammatory and profibrotic mediators: principal effectors of leiomyoma development as a fibrotic disorder. *Semin Reprod Med*, 28(3), 180-203. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1251476>

Chen, Y., Yu, Q., & Xu, C. (2017). A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by ImageJ software. *Int J Clin Exp Med*, 10(10), 14904-14910

Coutinho, L. M., Assis, W. A., Spagnuolo-Souza, A., & Reis, F. M. (2022). Uterine Fibroids and Pregnancy: How Do They Affect Each Other? *Reprod Sci*, 29(8), 2145-2151. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00656-6>

Islam, M. S., Protic, O., Ciavattini, A., Giannubilo, S. R., Tranquilli, A. L., Catherino, W. H., Castellucci, M., & Ciarmela, P. (2014). Tranilast, an orally active antiallergic compound, inhibits extracellular matrix production in human uterine leiomyoma and myometrial cells. *Fertil Steril*, 102(2), 597-606. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.05.013>

Iwahashi, M., & Muragaki, Y. (2011). Increased type I and V collagen expression in

- uterine leiomyomas during the menstrual cycle. *Fertil Steril*, 95(6), 2137-2139.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.12.028>
- Jacoby, V. L., Fujimoto, V. Y., Giudice, L. C., Kuppermann, M., & Washington, A. E. (2010). Racial and ethnic disparities in benign gynecologic conditions and associated surgeries. *Am J Obstet Gynecol*, 202(6), 514-521.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.02.039>
- Laughlin, S. K., & Stewart, E. A. (2011). Uterine leiomyomas: individualizing the approach to a heterogeneous condition. *Obstet Gynecol*, 117(2 Pt 1), 396-403.
<https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31820780e3>
- Leal, C. R. V., Vannuccini, S., Jain, V., Dolmans, M. M., Di Spiezio Sardo, A., Al-Hendy, A., & Reis, F. M. (2024). Abnormal uterine bleeding: The well-known and the hidden face. *J Endometr Uterine Disord*, 6.
<https://doi.org/10.1016/j.jeud.2024.100071>
- Leppert, P. C., Baginski, T., Prupas, C., Catherino, W. H., Pletcher, S., & Segars, J. H. (2004). Comparative ultrastructure of collagen fibrils in uterine leiomyomas and normal myometrium. *Fertil Steril*, 82 Suppl 3(0 3), 1182-1187.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.04.030>
- Leppert, P. C., Jayes, F. L., & Segars, J. H. (2014). The extracellular matrix contributes to mechanotransduction in uterine fibroids. *Obstet Gynecol Int*, 2014, 783289.
<https://doi.org/10.1155/2014/783289>
- Ligon, A. H., & Morton, C. C. (2000). Genetics of uterine leiomyomata. *Genes Chromosomes Cancer*, 28(3), 235-245
- Malik, M., & Catherino, W. H. (2012). Development and validation of a three-dimensional in vitro model for uterine leiomyoma and patient-matched myometrium. *Fertil Steril*, 97(6), 1287-1293.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.02.037>

Malik, M., Norian, J., McCarthy-Keith, D., Britten, J., & Catherino, W. H. (2010). Why leiomyomas are called fibroids: the central role of extracellular matrix in symptomatic women. *Semin Reprod Med*, 28(3), 169-179.

<https://doi.org/10.1055/s-0030-1251475>

Mashal, R. D., Fejzo, M. L., Friedman, A. J., Mitchner, N., Nowak, R. A., Rein, M. S., Morton, C. C., & Sklar, J. (1994). Analysis of androgen receptor DNA reveals the independent clonal origins of uterine leiomyomata and the secondary nature of cytogenetic aberrations in the development of leiomyomata. *Genes Chromosomes Cancer*, 11(1), 1-6. <https://doi.org/10.1002/gcc.2870110102>

Munro, M. G., Critchley, H. O. D., Fraser, I. S., & Committee, F. M. D. (2018). The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions. *Int J Gynaecol Obstet*, 143(3), 393-408.

<https://doi.org/10.1002/ijgo.12666>

Neumann, B., Singh, B., Brennan, J., Blanck, J., & Segars, J. H. (2024). The impact of fibroid treatments on quality of life and mental health: a systematic review. *Fertil Steril*, 121(3), 400-425. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2024.01.021>

Norian, J. M., Malik, M., Parker, C. Y., Joseph, D., Leppert, P. C., Segars, J. H., & Catherino, W. H. (2009). Transforming growth factor beta3 regulates the versican variants in the extracellular matrix-rich uterine leiomyomas. *Reprod Sci*, 16(12), 1153-1164. <https://doi.org/10.1177/1933719109343310>

Pereira, J. L., de Souza, C. A., Neyra, J. E. M., Leite, J., Cerqueira, A., Mingroni-Netto, R. C., Soler, J. M. P., Rogero, M. M., Sarti, F. M., & Fisberg, R. M. (2024). Genetic Ancestry and Self-Reported "Skin Color/Race" in the Urban Admixed

- Population of São Paulo City, Brazil. *Genes (Basel)*, 15(7).
<https://doi.org/10.3390/genes15070917>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
<https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Rafique, S., Segars, J. H., & Leppert, P. C. (2017). Mechanical Signaling and Extracellular Matrix in Uterine Fibroids. *Semin Reprod Med*, 35(6), 487-493.
<https://doi.org/10.1055/s-0037-1607268>
- Stewart, E. A., Friedman, A. J., Peck, K., & Nowak, R. A. (1994). Relative overexpression of collagen type I and collagen type III messenger ribonucleic acids by uterine leiomyomas during the proliferative phase of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 79(3), 900-906.
<https://doi.org/10.1210/jcem.79.3.8077380>
- Yang, Q., & Al-Hendy, A. (2023). Update on the Role and Regulatory Mechanism of Extracellular Matrix in the Pathogenesis of Uterine Fibroids. *Int J Mol Sci*, 24(6).
<https://doi.org/10.3390/ijms24065778>
- Zota, A. R., & VanNoy, B. N. (2021). Integrating Intersectionality Into the Exposome Paradigm: A Novel Approach to Racial Inequities in Uterine Fibroids. *Am J Public Health*, 111(1), 104-109. <https://doi.org/10.2105/ajph.2020.305979>

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Título da Pesquisa: Efeitos antifibróticos da Angiotensina-(1-7) e da Alamandina no endométrio e miométrio humanos: implicações fisiológicas e fisiopatológicas.

Registro: CAAE: 54103821.1.0000.5123

Prezada Senhora,

Gostaria de convidá-la a participar de um estudo científico que tem a finalidade de gerar novos conhecimentos sobre o útero humano normal e sobre doenças relacionadas ao útero, como miomas e endometriose.

1. INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

1.1. O que pretendemos com esta pesquisa?

Esta pesquisa irá estudar o efeito de dois candidatos a remédios, chamados angiotensina-(1-7) e alamandina, sobre pequenos fragmentos de tecido do útero ou da endometriose, na esperança de que esses tratamentos reduzam a tendência à formação de fibrose e possam ser úteis no tratamento da endometriose e dos miomas.

1.2 Em que consiste a sua participação?

Sua participação consistirá no seguinte: se a sra. for ser operada para retirada do útero (histerectomia) ou só de miomas (miomectomia) ou para tratar endometriose, os pesquisadores vão separar uma pequena parte do material removido pela cirurgia depois utilizar na pesquisa no laboratório. Caso a cirurgia não inclua a retirada do útero, o cirurgião fará uma aspiração de pequena quantidade do tecido interno do útero (endométrio) utilizando uma fina cânula de plástico estéril, através da vagina, quando a sra. já estiver anestesiada. Também iremos anotar informações da sua história médica, que serão obtidas no seu prontuário.

1.3. O que faremos com a suas amostras de tecido uterino, miomas ou endometriose nesta pesquisa?

Vamos fazer testes no laboratório para avaliar se a angiotensina-(1-7) e alamandina são capazes de reduzir a tendência à formação de fibrose e assim possam ser úteis no tratamento da endometriose e dos miomas.

CAAE: 54103821.1.0000.5123 TCLE PÁGINA 1/4 Rubricas _____

2. SIGILO DOS DADOS

Suas amostras serão etiquetadas com um código numérico e armazenadas durante o período da pesquisa sob responsabilidade da UFMG, sendo acessadas apenas pelos pesquisadores. Os pesquisadores gostariam de ter sua permissão para consultar seu prontuário e obter informações relevantes para esta pesquisa. Também gostariam de ter sua permissão para analisar e publicar imagens microscópicas de amostras de tecido obtidas na sua cirurgia. Todos os seus dados serão confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente em hipótese alguma e somente os pesquisadores envolvidos neste projeto terão acesso a essas informações, que serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

3. BENEFÍCIOS DA PESQUISA

Este estudo irá contribuir para o conhecimento mais detalhado sobre a regulação do útero e também sobre a endometriose e os miomas. Os resultados poderão apoiar o desenvolvimento de novos tratamentos para essas doenças.

4. RISCOS

A coleta de amostra do endométrio pode aumentar em até 10 minutos o tempo de anestesia e/ou sedação e permanência no bloco cirúrgico. A biópsia de endométrio, quando realizada em condições técnicas desfavoráveis, pode resultar em perfuração uterina acidental. Entretanto, tal risco será evitado pelo cuidado de só realizar o procedimento se as condições técnicas forem inteiramente favoráveis

5. DESPESAS

A sua participação no estudo é voluntária e não está prevista qualquer forma de remuneração para os participantes, nem ressarcimento de despesas. Entretanto, as despesas específicas relacionadas com o estudo são de responsabilidade dos pesquisadores, isto é, o participante da pesquisa e seu acompanhante não arcarão com nenhum custo referente a procedimentos e/ou exames do estudo. Caso você precise se deslocar ao hospital apenas para participar da pesquisa, os custos do transporte serão reembolsados.

6. RECUSA EM PARTICIPAR

Você poderá recusar-se a participar deste estudo e/ou abandoná-lo a qualquer momento, sem precisar se justificar. A aceitação ou não da participação neste estudo não influenciará no seu tratamento.

7. ARMAZENAMENTO E DESCARTE DE AMOSTRAS

As amostras ficarão armazenadas por um período de até 6 anos em um biorrepositório, sob a responsabilidade dos pesquisadores, sendo 4 anos previstos para a conclusão da pesquisa e mais 2 anos para a eventualidade de serem necessários novos testes. Após o término do período de armazenamento, as amostras serão descartadas em lixo hospitalar obedecendo às normas nacionais e locais de biossegurança e gestão de resíduos.

Caso você decida retirar seu consentimento para a guarda das suas amostras armazenadas para pesquisa, poderá fazê-lo a qualquer tempo, sem sofrer qualquer prejuízo. A retirada do consentimento terá validade a partir da data da comunicação da sua decisão por escrito e assinada.

8. GARANTIAS

Como em todo projeto de pesquisa, a lei garante o direito à assistência integral e gratuita ao participante caso haja algum dano decorrentes da participação na pesquisa e pelo tempo que for necessário. A lei também garante o direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.h).

9. ACESSO A RESULTADOS

O pesquisador responsável dará acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do participante ou ao próprio participante sempre que solicitado e/ou indicado (Resolução CNS nº 251 de 1997, item III.2.i).

10. ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante a pesquisa. Para isso você poderá contatar a Dra Ana Cláudia Scalioni pelo telefone (31)

996272373 ou o Prof Fernando Reis no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da UFMG, à Av. Prof. Alfredo Balena, nº 110, 9º andar, ala norte, Santa Efigênia, Belo Horizonte/MG, Telefone (31) 3307-9484, e-mail lrh.hc.ufmg@gmail.com. Você também poderá obter esclarecimentos sobre esta pesquisa contatando os órgãos encarregados de autorizar e acompanhar as pesquisas envolvendo seres humanos, zelando pela segurança, proteção e garantia dos direitos dos participantes de pesquisa. Esses órgãos reguladores são:

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Francisco de Assis. R. Itamaracá, 535 - Concórdia, Belo Horizonte - MG, 31110-580, Telefone (31) 2126-1579, e-mail nep@saofrancisco.br

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – Conep SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte CEP: 70719-040, Brasília/DF, Telefone (61) 3315-2150. <http://conselho.saude.gov.br>

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este termo de consentimento é elaborado em duas vias, que deverão ser assinadas ao final pela pessoa convidada a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s).

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____ voluntariamente, concordo em participar desta pesquisa no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Estou ciente do exposto acima e ainda de que esta pesquisa não trará qualquer prejuízo à minha saúde.

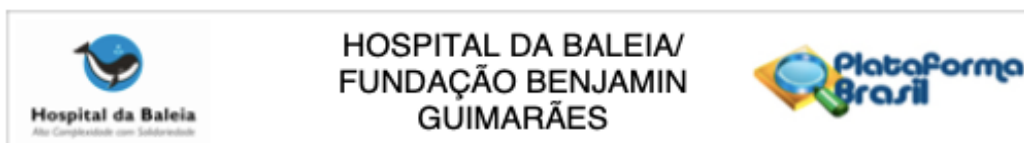
Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

Assinatura da voluntária

Assinatura e carimbo do pesquisador (a)

CAAE: 54103821.1.0000.5123 TCLE PÁGINA 4/4 Rubricas _____

ANEXO B.1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – HOSPITAL DA BALEIA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Efeitos antifibróticos da Angiotensina-(1-7) e da Alamandina no endométrio e miométrio humanos: implicações fisiológicas e fisiopatológicas de pacientes do Hospital da Baleia

Pesquisador: ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 3

CAAE: 54103821.1.0000.5123

Instituição Proponente: Hospital da Baleia/ Fundação Benjamin Guimarães

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.553.696

Apresentação do Projeto:

O interesse em investigar os possíveis efeitos anti-fibróticos e antiproliferativos da Ang-(1-7) no endométrio e miométrio humanos e motivado pela importância de duas doenças caracterizadas por intensa fibrose e originárias desses dois tecidos, a saber, endometriose e miomatose uterina. Além de muito prevalentes, tanto a endometriose como a miomatose causam dor pélvica e associam-se a infertilidade, evoluem cronicamente e não possuem tratamento farmacológico específico capaz de eliminar as lesões. Por conseguinte, as portadoras dessas doenças convivem durante anos com sintomas que podem trazer grande prejuízo a sua qualidade de vida.

O grupo que propõe o estudo já caracterizou amplamente os componentes do Sistema ReninaAngiotensina(SRA) no endométrio, observando a expressão de Ang-(1-7) com predomínio no epitélio glandular e na fase secretora do ciclo menstrual. Padrão semelhante se observa para a ACE2, enquanto o receptor Mas tem expressão mais constante ao longo do ciclo. Outros autores observaram que a Ang- (1-7) inibe a proliferação e a transdiferenciação de células epiteliais

Endereço: Rua Juramento, 1464

Bairro: Saudade

CEP: 30.285-000

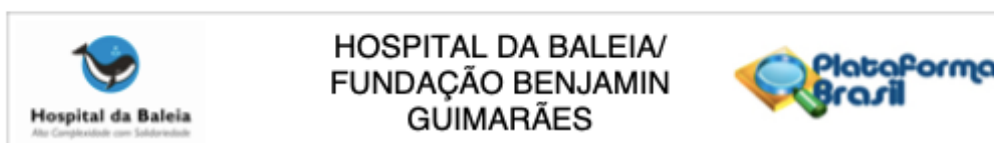
UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3489-1548

Fax: (31)3461-4840

E-mail: cep@hospitaldabaleia.org.br



Continuação do Parecer: 5.553.696

endometriais em miofibroblastos, além de inibir a proliferação e a secreção de componentes da matriz extracelular por células estromais do endométrio humano in vitro.

Quanto a endometriose, sabe-se que o componente fibrotico é típico das lesões, principalmente as profundas infiltrativas, e é parte importante da fisiopatologia e da sintomatologia, mas não se conhece a influência dos peptídeos do SRA no controle da deposição de matriz e da formação de fibrose nas lesões.

A presença dos componentes da SRA no miométrio já é conhecida. Sabe-se que a Ang II atua de forma a modular a atividade miometrial através de seus receptores AT1 e AT2, localizados na membrana celular, promovendo a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático e a contração muscular. Também foi demonstrada a presença de Ang-(1-7) no miométrio de ratas durante a gestação. No miométrio humano e em miomas uterinos ainda não é conhecida a presença e possíveis funções fisiológicas dos peptídeos antifibróticos do SRA.

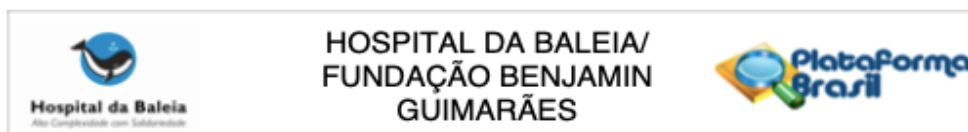
Quanto a metodologia proposta, trata-se de estudo clínico observacional controlado transversal, seguido de estudo experimental in vitro. As participantes serão selecionadas prospectivamente no serviço de Ginecologia do Hospital da Baleia. Uma vez preenchidos os critérios de inclusão, as pacientes elegíveis serão convidadas a participar do estudo. A participação consistirá em permitir a obtenção de dados clínicos e demográficos (idade, paridade, cor, história familiar) e a retirada de pequenos fragmentos das peças cirúrgicas (leiomioma e miométrio adjacente), no caso das portadoras de leiomiomas uterinos que forem se submeter a histerectomia; ou a realização de biópsia endometrial sob anestesia geral, imediatamente antes da laparoscopia, no caso das portadoras de doença ginecológica benigna ou candidatas a ligadura tubária, que forem se submeter a tratamento cirúrgico por via laparoscópica.

Os critérios de inclusão serão:

- Mulheres com idade entre 18 e 50 anos
- Indicação de histerectomia por miomatose uterina ou de laparoscopia por doença ginecológica benigna ou
- ligadura tubária.

Os critérios de exclusão serão:

Endereço: Rua Juramento, 1464
Bairro: Saudade **CEP:** 30.285-000
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3489-1548 **Fax:** (31)3461-4840 **E-mail:** cep@hospitaldabaleia.org.br



Continuação do Parecer: 5.553.696

- Neoplasia maligna
- Uso atual de corticosteroides
- Bloqueio hipofisário atual com análogo de GnRH
- Amenorreia

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo geral do presente estudo é avaliar os efeitos da Ang-(1-7) e da Alamandina no controle da proliferação celular e da fibrose no endométrio e miométrio humanos assim como na endometriose e nos leiomiomas uterinos.

Objetivos Secundários:

- Investigar se os efeitos da Ang-(1-7) são dependentes de ativação específica do receptor Mas, se as da Alamandina são mediadas pelo receptor MrgD, e mapear as vias de sinalização intracelular envolvidas na ação dos dois peptídeos.
- Caracterizar as amostras de leiomiomas uterinos de acordo com as características clínicas e demográficas das pacientes, avaliando, entre outros marcadores, o fator de crescimento miostatina, seus receptores ActRIIB, ALK4 and ALK5, a metaloproteinase de matriz MMP14 e marcadores de fibrose como colágeno, fibronectina e versican.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

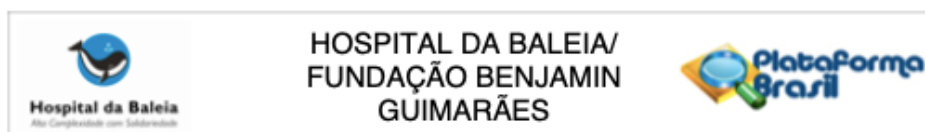
Riscos:

A biópsia de endométrio poderia, quando realizada com cânula rígida ou em condições técnicas desfavoráveis (colo uterino estenosado, morfologia uterina anormal) pode resultar em perfuração uterina acidental. Entretanto, tal risco será extremamente reduzido pelo uso de cânula flexível e pelo cuidado de só realizar o procedimento se as condições técnicas forem inteiramente favoráveis. As cânulas serão estéreis e descartáveis, para evitar o risco de infecção. A coleta de amostras de miométrio, leiomioma e lesões endometrióticas será feita ex-vivo, não implicando em riscos para a participante.

Benefícios:

A participação no estudo não implicará em nenhum benefício para as participantes. Não haverá qualquer tipo de vantagem, remuneração ou benefício para a saúde dos participantes

Endereço: Rua Juramento, 1464
Bairro: Saudade **CEP:** 30.285-000
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3489-1548 **Fax:** (31)3461-4840 **E-mail:** cep@hospitaldabaleia.org.br



Continuação do Parecer: 5.553.696

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é pertinente e foram respondidas as pendências solicitadas:

O TCLE foi ajustado, e evidencia adequadamente para as participantes da pesquisa os riscos aos quais as mesmas estariam expostas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A folha de rosto conta com a assinatura da superintendente do Hospital da Baleia, o que pode ser considerado como anuência da instituição.

Anuência do chefe do serviço de Ginecologia do Hospital da Baleia apresentada.

O documento com anuência do Núcleo de Ensino, Pesquisa e Inovação do Hospital da Baleia foi apresentado.

Há documento do laboratório responsável corroborando a pesquisa e se comprometendo com a guarda do material.

O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) está adequado.

Recomendações:

Recomendo a aprovação do projeto de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

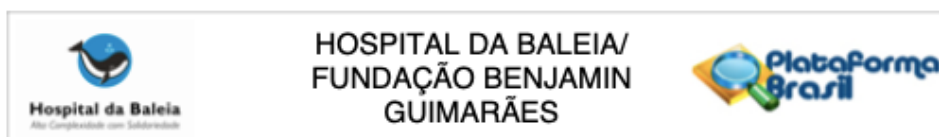
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1861209.pdf	07/06/2022 14:54:06		Aceito
Cronograma	CronogramaAtualizado.pdf	07/06/2022 14:53:28	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCompletoJunho.pdf	07/06/2022 14:48:48	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito

Endereço: Rua Juramento, 1464

Bairro: Saudade **CEP:** 30.285-000

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3489-1548 **Fax:** (31)3461-4840 **E-mail:** cep@hospitaldabaleia.org.br



Continuação do Parecer: 5.553.696

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.pdf	07/06/2022 14:46:58	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Resposta.pdf	05/04/2022 21:38:41	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_5243237.pdf	05/04/2022 21:35:26	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ParecerAprovadoUFMG.pdf	05/04/2022 21:35:02	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Outros	AnuenciaChefeServico.pdf	05/04/2022 21:32:37	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de concordância	Nepi.pdf	05/04/2022 21:31:23	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	05/04/2022 21:20:19	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Folha de Rosto	aprovacao.pdf	03/12/2021 14:56:47	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	18/11/2021 21:38:15	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 31 de Julho de 2022

Assinado por:
PEDRO HENRIQUE FARIA SILVA TROCOLI COUTO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Juramento, 1464

Bairro: Saudade

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

CEP: 30.285-000

Telefone: (31)3489-1548

Fax: (31)3461-4840

E-mail: cep@hospitaldabaleia.org.br

ANEXO B.2 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA – FUNDAÇÃO HOSPITALAR SÃO FRANCISCO DE ASSIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos antifibróticos da Angiotensina-(1-7) e da Alamandina no endométrio e miométrio humanos: implicações fisiológicas e fisiopatológicas

Pesquisador: ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 1

CAAE: 51472421.2.2001.5120

Instituição Proponente: Fundação Hospitalar São Francisco de Assis

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS
LABORATORIOS FERRING LTDA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.890.898

Apresentação do Projeto:

Um estudo clínico observacional, seguido de estudo experimental, onde participantes serão selecionadas no serviço de Ginecologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Uma vez preenchidos os critérios de inclusão (Mulheres com idade entre 18 e 50 anos/ Indicação de histerectomia por miomatose uterina ou de laparoscopia por doença ginecológica benigna ou ligadura tubária), as pacientes serão convidadas a participar do estudo. A participação consistirá em permitir a obtenção de dados clínicos e demográficos e a retirada de pequenos fragmentos das peças cirúrgicas (leiomioma e miométrio adjacente), no caso das portadoras

de leiomiomas uterinos que forem se submeter a histerectomia; ou a realização de biópsia endometrial, imediatamente antes da laparoscopia, no caso das portadoras de doença ginecológica benigna ou candidatas a ligadura tubária, que forem se submeter a tratamento cirúrgico por via laparoscópica. Tanto as células estromais de endométrio ou endometriose como os explantes de miométrio ou leiomioma serão tratados in vitro com concentrações seriadas de Ang-(1-7), isolada ou

Endereço: Rua Itamaracá, 535

Bairro: Concórdia

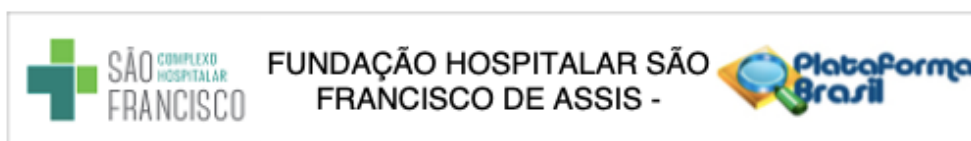
CEP: 31.110-580

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)2126-1693

E-mail: cep@saofrancisco.org.br



Continuação do Parecer: 5.890.898

associada ao seu antagonista específico A-779, ou com as mesmas concentrações de Alamandina, isolada ou associada ao seu antagonista DPro7-Ang-(1-7).

O índice de proliferação celular será avaliado nas culturas celulares primárias por meio do teste.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral do presente estudo é avaliar os efeitos da Angiotensina-(1-7) e da Alamandina no controle da proliferação celular e da fibrose no endométrio e miométrio humanos assim como na endometriose e nos leiomiomas uterinos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A biópsia de endométrio poderia, quando realizada com cânula rígida ou em condições técnicas desfavoráveis (colo uterino estenosado, morfologia uterina anormal) pode resultar perfuração uterina acidental. Entretanto, tal risco será extremamente reduzido pelo uso de cânula flexível e pelo cuidado de só realizar o procedimento se as condições técnicas forem inteiramente favoráveis. As cânulas serão estéreis e descartáveis, para evitar

o risco de infecção. A coleta de amostras de miométrio, leiomioma e lesões endometrióticas será feita ex-vivo (fora do corpo), não implicando em riscos para a participante.

A participação no estudo não implicará em nenhum benefício para as participantes. Não haverá qualquer tipo de vantagem, remuneração ou benefício para a saúde dos participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa descrita de forma clara e detalhada, com todas as exigências cumpridas em relação ao projeto, cronograma e custos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória estão de acordo.

Devido a complexidade do método da pesquisa, considero o TCLE bastante claro e completo, auxiliando na compreensão da participante que optar pela participação no projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem inadequações

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Itamaracá, 535

Bairro: Condiórdia

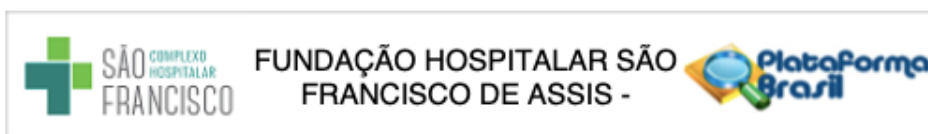
CEP: 31.110-580

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)2126-1693

E-mail: cep@saofrancisco.org.br



Continuação do Parecer: 5.890.898

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2043983.pdf	27/01/2023 11:13:55		Aceito
Cronograma	cronograma_atualizado.pdf	27/01/2023 11:13:37	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Parecer Anterior	parecer_aprovado_baleia.pdf	12/01/2023 20:48:06	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ParecerAprovadoUFMG.pdf	12/01/2023 20:47:41	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Sanfra.pdf	12/01/2023 20:42:50	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Completo_Sanfra.pdf	12/01/2023 20:42:38	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Orçamento	orcamento_sanfra.pdf	12/01/2023 20:42:17	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de concordância	carta_anuencia_sanfra.pdf	12/01/2023 20:42:01	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	12/01/2023 20:41:43	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_estrutura_sanfra.pdf	12/01/2023 20:41:18	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_sanfra.pdf	12/01/2023 20:40:43	ANA CLAUDIA MIRANDA SCALIONI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 13 de Fevereiro de 2023

Assinado por:
JORDAN VIEIRA DE OLIVEIRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Itamaracá, 535

Bairro: Condiária

CEP: 31.110-580

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)2126-1693

E-mail: cep@saofrancisco.org.br