

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

**AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DA UROCORTINA
COMO POTENCIAL MARCADOR SÉRICO DE
ENDOMETRIOSE PÉLVICA**

LAURA MARIA ALMEIDA MAIA

Belo Horizonte

2013

LAURA MARIA ALMEIDA MAIA

**AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DA UROCORTINA
COMO POTENCIAL MARCADOR SÉRICO DE
ENDOMETRIOSE PÉLVICA**

Dissertação apresentada ao curso de
Pós-Graduação em Saúde da Mulher
da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Minas Gerais

Área de concentração: Patologia
Ginecológica e Reprodução

Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Reis
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Luiza
Lunardi Rocha Baroni

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2013

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Fernando Marcos dos Reis, que me fez apreciar a parte científica da medicina e querer aprender sempre mais. Além de ser sempre humano e dedicado, é um profissional de excelência em tudo que faz. Agradeço a toda confiança que deposita em mim e por ser sempre tão disponível.

À Professora Doutora Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni, minha amiga-orientadora, foi importante desde minha formação em Ginecologia e Obstetrícia até a conclusão final do meu trabalho. Agradeço pelo tempo e espaço que me concedeu e por ser essa pessoa doce e carinhosa.

Ao meu marido, Frederico Ladeia Alvarenga, parceiro de todas as minhas escolhas e fases de vida acadêmica, me proporcionou tranquilidade para atingir meus objetivos. Sem sua companhia teria sido impossível chegar aqui. Te amo, sempre!

À minha família, meus pais Geraldo Helber e Maria Vanilva, exemplos de vida e amor, reflexos de tudo que me tornei hoje, e meus irmãos, Maria Cecília e Helber, por ter sido, cada um do seu jeito, apoiadores e companheiros. Agradeço por toda dedicação às minhas escolhas e paciência comigo em todas as minhas conquistas.

Às minhas amigas, Danielle, Cristina, Amanda e Isabela, que torcem por mim e me acompanham desde a Faculdade de Medicina. Agradeço todo o carinho e torcida, tanto na vida profissional quanto pessoal.

À minha colega de trabalho e de vida, Marina Mariz, me acompanhou e incentivou durante a elaboração desse projeto, sempre disposta a ajudar e a minimizar as dificuldades. Agradeço pela amizade e convivência durante toda nossa formação.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Reprodução Humana Professor Aroldo F. Carmargos, em especial a Helen DelPuerto, pela ajuda incondicional, tempo e carinho dedicados a mim durante a execução dos meus experimentos. Agradeço por ser tão doce e dedicada.

**Trabalho realizado no Laboratório de Reprodução Humana Professor
Aroldo F. Camargos do Hospital das Clínicas da UFMG, com
financiamento do CNPq, por meio do Instituto Nacional de Ciência e
Tecnologia (INCT) Hormônios e Saúde da Mulher.**

RESUMO

Fundamentos e Objetivo: O teste diagnóstico ideal para endometriose continua sendo investigado. Recentemente, um estudo do tipo caso-controle constatou que o neuropeptídeo urocortina é produzido no tecido endometriótico e sugeriu que suas concentrações plasmáticas estão aumentadas em mulheres com cisto endometriótico de ovário. No presente estudo, buscamos avaliar o valor preditivo da urocortina para o diagnóstico de endometriose em mulheres com suspeita da doença e indicação de laparoscopia.

Métodos: Realizou-se um estudo de coorte incluindo 77 pacientes com dor pélvica crônica, infertilidade e/ou massa anexial sugestiva de endometrioma. No pré-operatório, uma amostra de sangue foi coletada em tubo revestido com EDTA, centrifugada a 4°C, e o plasma foi estocado a -80 °C até a extração em coluna de cromatografia e dosagem de urocortina por ensaio imunoenzimático (EIA). Todas as pacientes foram submetidas a videolaparoscopia e todas as lesões suspeitas foram biopsiadas. A concentração de urocortina plasmática foi analisada em função do diagnóstico final de endometriose (cirúrgico e anatomopatológico) e de outras características clínicas, como dor pélvica e infertilidade.

Resultados: A prevalência de endometriose na coorte foi de 26 casos (34%). Urocortina foi detectada em todas as amostras de plasma avaliadas e apresentou concentrações significativamente mais altas nas mulheres com diagnóstico final de endometriose (mediana 62 pg/ml [intervalo interquartil 51-108 pg/ml], n=26) em comparação com aquelas em que se excluiu esse diagnóstico (47 pg/ml [33-66 pg/ml], n=51); $p = 0,029$, teste de Mann-Whitney. Foram identificados níveis de urocortina significativamente mais altos em pacientes com dor pélvica acíclica ($p=0,006$) e dispareunia ($p=0,003$), quando comparadas a pacientes sem os sintomas. Entretanto, não houve correlação linear entre a dosagem de urocortina e o tempo ou intensidade dos sintomas algícos. Análise da curva ROC definiu o ponto de corte que discriminaria pacientes com endometriose com alta especificidade (90%) em 101 pg/ml. Esse limiar diagnóstico resultou em valor preditivo positivo de 62% e valor preditivo negativo de 72%.

Conclusão: O valor preditivo positivo de 62% comparado à prevalência (probabilidade pré-teste) de 34% sugere que níveis altos de urocortina plasmática reforçam a probabilidade de endometriose em mulheres com sinais e sintomas sugestivos da doença.

ABSTRACT

Background: Accurate non-invasive diagnostic tests for endometriosis are still missing. In a previous case-control study, high plasma levels of the neuropeptide urocortin were found in women with ovarian endometrioma, along with evidence of urocortin production by the endometriotic tissue. Here, we evaluated the predictive value of plasma urocortin to detect pelvic endometriosis in symptomatic women scheduled to laparoscopy.

Methods: In a prospective cohort study, 77 women with chronic pelvic pain, infertility and/or adnexal mass suggestive of ovarian endometrioma were enrolled. Preoperative blood samples were obtained in EDTA-coated tubes, centrifuged at 4°C, and the plasma was stored at -80 °C until extracted in C-18 chromatography column and assayed for urocortin using enzyme immunoassay (EIA). All patients underwent laparoscopy and all suspect lesions were biopsied. Plasma urocortin levels were analyzed according to the final diagnosis of endometriosis (surgical and histological) and to clinical variables such as pelvic pain and infertility.

Results: The prevalence of endometriosis in the cohort was 26 cases (34%). Urocortin was detected in all plasma samples. Plasma urocortin levels were significantly higher in the women with endometriosis (median 62 pg/ml, interquartile range 51-108 pg/ml, n=26) compared to those without the disease (47 pg/ml [33-66 pg/ml], n=51), $p=0.029$, Mann-Whitney test. Higher plasma urocortin levels were also found in association with acyclic pelvic pain ($p=0.006$) and dyspareunia ($p=0.003$). However, there was no linear correlation between plasma urocortin and the duration or intensity of pain. ROC curve analysis identified the 90% specificity cut-off point at 101 pg/ml. This value corresponded to positive predictive value of 62% and negative predictive value of 72%.

Conclusion: In this cohort, the probability of endometriosis increased from 34% (pre-test probability, or overall prevalence) to 62% (post-test probability, or positive predictive value) after a positive urocortin test. The present findings suggest that high plasma urocortin levels increase the likelihood of endometriosis in symptomatic women.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ASRM	Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (<i>American Society Reproductive Medicine</i>)
CA- 125	Antígeno Cancerígeno 125
CA- 19-9	Antígeno Cancerígeno 19-9
COX	Ciclooxygenase
CRH	Hormônio Liberador da Corticotropina
CRH-BP	Proteína Ligante do CRH
CRH-R1	Receptor 1 do CRH
CRH-R2	Receptor 2 do CRH
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EIA	Ensaio Imunoenzimático (<i>enzyme immunoassay</i>)
EVA	Escala Visual Analógica
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IL	Interleucina
INF	Interferon
MCP-1	Proteína Quimiotática de Monócitos-1
MMPs	Metaloproteinases de Matriz
mRNA	Ácido Ribonucléico Mensageiro
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PG	Prostaglandina

RANTES	<i>Regulated and Activation Normal T- Cell Excreted and Secreted</i>
RE	Receptor de Estrogênio
ROC	<i>Receiving Operator Characteristics</i>
SA-HRP	Estreptovidina Peroxidase
TGF	Fator de Transformação do Crescimento
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UCN	Urocortina
UCN2	Urocortina 2
UCN3	Urocortina 3
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Aumento da produção de estradiol pelas células endometrióticas através do estímulo da prostaglandina E2.....	19
FIGURA 2 - Diluições seriadas do padrão de urocortina para obtenção da curva-padrão do ensaio	32
FIGURA 3 - Parte central da curva-padrão no ensaio de urocortina	34
FIGURA 4 - Concentrações plasmáticas de urocortina na coorte completa de 77 pacientes dividida segundo o diagnóstico	40
FIGURA 5 - Concentrações plasmáticas de urocortina nas 60 pacientes com indicação de videolaparoscopia por dor pélvica e/ou infertilidade.....	41
FIGURA 6 – Concentrações plasmáticas de urocortina no grupo de pacientes com e sem dor pélvica crônica acíclica	41
FIGURA 7 – Concentrações plasmáticas de urocortina no grupo de pacientes com e sem dispareunia	42
FIGURA 8 – Correlação entre a concentração plasmática de urocortina e intensidade da dor, aferida pela escala visual analógica (EVA) no grupo de pacientes com e sem dor pélvica crônica	42
FIGURA 9 - Correlação entre a concentração plasmática de urocortina e tempo de dor acíclica e tempo de dispareunia.....	43
FIGURA 10 - Curva ROC para concentrações de urocortina.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características demográficas e clínicas da coorte de 77 pacientes incluídas no estudo.....	37
TABELA 2 - Diagnóstico final após videolaparoscopia e exame anatomopatológico	38
TABELA 3 - Estadiamento de endometriose pélvica nos 26 casos confirmados	38
TABELA 4 – Localização predominante das lesões supostamente endometrióticas vistas à laparoscopia e proporção de casos confirmados ao exame anatomopatológico.....	38
TABELA 5 - Diagnósticos finais nos 51 casos sem endometriose.....	39

ÍNDICE

1. Introdução	13
1.1 – Endometriose	13
1.2 – Etiopatogênese	14
1.3 – Regulação do mecanismo de sobrevivência celular	16
1.3.1 – Processo inflamatório.....	17
1.3.2 – Hormônios esteroides	18
1.4 – Diagnóstico de endometriose	20
1.5 – Urocortina	24
2. Objetivos	28
3. Pacientes e Métodos	29
3.1- População estudada	29
3.1.1 - Critérios de inclusão	30
3.1.2 - Critérios de exclusão	30
3.2 - Coleta das amostras	30
3.3 – Dosagem de urocortina	31
3.3.1 – Extração do peptídeo do plasma.....	32
3.3.2 – Realização do ensaio imunoenzimático (EIA) para urocortina.....	32
3.3.3 – Cálculo final da concentração de UCN plasmática	34
3.4 - Análise estatística	35
4. Resultados	36
4.1- Características clínicas das pacientes incluídas no estudo	36
4.2 - Urocortina plasmática e diagnóstico de endometriose	39
4.3 - Acurácia e valor preditivo da urocortina plasmática no diagnóstico de endometriose	44
5. Discussão	45
6. Conclusões	50
7. Referências Bibliográficas	51
8. Anexos	60
8.1 -Termo de consentimento livre e esclarecido	60
8.2 - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa	61
8.3 – Declaração de Aprovação em Defesa de Dissertação	62
8.4 – Ata da Defesa de Dissertação	63

1. Introdução

1.1 – Endometriose

A endometriose é uma doença ginecológica, hormônio-dependente, que acomete mulheres em idade reprodutiva. Estima-se que 10% das mulheres em idade reprodutiva tenham endometriose (1).

A endometriose pélvica é caracterizada pela implantação e crescimento de glândulas e estroma endometrial fora da cavidade uterina (endométrio ectópico), podendo acometer miométrio, peritônio, tubas uterinas, ovários, ou outros órgãos da região pélvica (2).

Os principais sintomas associados a essa afecção são dor e infertilidade. A prevalência de endometriose pode atingir 15-50% em mulheres sintomáticas (3-5). Entretanto, o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico pode ser longo, devido a variabilidade de sintomas, assim como a baixa especificidade ou ausência dos mesmos. O tempo médio entre o aparecimento dos sintomas e o diagnóstico da paciente pode ser de até sete anos, sendo que, em mulheres com menos de 19 anos esse período pode ser superior a 12 anos (6).

Existem formas distintas de apresentação da endometriose. Os implantes endometrióticos podem aderir-se à superfície do peritônio pélvico e ovários (endometriose peritoneal), formar cistos ovarianos revestidos por mucosa endometrial (endometriomas) ou formar uma massa composta de tecido endometrial, tecido adiposo e fibromuscular aderida aos órgãos pélvicos (endometriose infiltrativa profunda) (7-9). As principais características histológicas das lesões são a presença de células estromais ou epiteliais do endométrio, sangramento crônico, e sinais de inflamação. A inflamação envolvida na endometriose pode estimular as terminações nervosas na pelve e, assim, causar dor e aderências (8).

A dor pélvica crônica está associada à endometriose em 33% dessas pacientes e pode ser definida como dor por mais de 6 meses, em região pélvica, parede anterior do abdome e infra umbilical, e em região lombossacra, que interfere na qualidade de vida das pacientes (10).

A causa da infertilidade associada à endometriose permanece incerta, com os achados atuais sugerindo mecanismo multifatorial. Em revisão realizada pelo Comitê da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM), alguns achados em pacientes com endometriose que podem aumentar o risco de infertilidade incluem: distorsão da anatomia da pelve, alterações inflamatórias no líquido peritoneal, e alterações hormonais e celulares no endométrio que podem alterar a receptividade endometrial e a implantação do embrião (11). As pacientes com endometriose submetidas a tratamento de infertilidade apresentam menor taxa de fecundidade quando comparadas com outras causas de infertilidade (12).

1.2 – Etiopatogênese

Existem várias teorias que tentam explicar a patogênese da endometriose: a metaplasia celômica, a persistência de células embrionárias, a disseminação hematogênica e linfática, e o transplante de tecido endometrial (2, 8, 13). Desde a descrição da doença por Tomas Cullen até hoje, a origem das glândulas endometriais encontradas fora da cavidade uterina ainda continua controversa (14).

A teoria mais aceita é a disseminação de células endometriais durante a menstruação, por regurgitação do sangue pelas tubas uterinas, descrita por Sampson, e o tecido transplantado, que se diferenciou em estrutura semelhante ao endométrio foi chamado de endometriose (15).

Sampson também descreveu a presença de células endometriais em vasos, sugerindo que durante a menstruação possa ocorrer o transporte de células pela circulação venosa para focos distantes do útero, e que esses fragmentos poderiam causar as lesões (16).

A teoria de implantes endometriais por fluxo menstrual retrógrado foi corroborada por outros estudos. Pacientes com endometriose submetidas à ultrassonografia durante o período menstrual apresentam predominância da onda retrógrada de contração miometrial (17). A avaliação por ultrassonografia

com Doppler revelou maior perfusão do endométrio na fase secretora tardia, próximo à menstruação, em pacientes com endometrioma de ovário, o que facilitaria o processo de implantação de células endometriais fora do útero por maior atividade vascular no endométrio dessas pacientes (18). Além disso, há maior prevalência de endometriose em adolescentes com mal formações uterinas e obstrução à saída do fluxo menstrual (19), assim como em mulheres com septo uterino e estenose de colo do útero (20, 21). A origem dos implantes endometriais através do fluxo menstrual retrógrado foi estudada em modelos de primatas que foram submetidos a oclusão cervical e injeção intrapélvica de sangue menstrual, resultando em lesões endometrióticas na cavidade peritoneal (22).

A descrição de Sampson, entretanto, não é capaz de justificar todos os casos de endometriose, como aqueles que acometem pacientes que não apresentam fluxo menstrual. Entre outras propostas estão a diferenciação do tecido através de estímulos endógenos e exógenos, como a metaplasia celômica do tecido peritoneal em tecido endometrial e a transformação de resquícios müllerianos embriológicos, que mantêm a capacidade de transformar-se em endométrio após estímulo estrogênico (8, 23). Por último, estudo em modelo experimental de ratas histerectomizadas demonstrou que células tronco de medula óssea, adicionadas a implantes de endometriose peritoneal, foram capazes de se diferenciar em epitélio e estroma endometrial. Dados adicionais de ratas que foram transplantadas com medula óssea de doadores machos e tiveram células tronco incorporadas ao endométrio sugerem que as células da medula óssea podem contribuir para a homeostase do tecido endometrial e a patogênese da endometriose (24).

Essas observações sobre células progenitoras favorecem as teorias já existentes, pois células tronco da camada basal do endométrio podem originar implantes endometriais através de células transportadas pela tuba uterina, e as células tronco, originadas da medula óssea, podem ser responsáveis pela metaplasia celômica e resquícios de tecidos embriológicos pela formação de tecido endometriótico, assim como por implantes em locais distantes através do sistema linfo-vascular (25).

A patogênese da endometriose é multifatorial e envolve a perda da capacidade de diferenciação das células endometrióticas, adesão celular do endométrio ao peritônio, angiogênese, características do fluido peritoneal, bem como o sistema imune (2, 8, 11, 13, 26). As células endometriais, uma vez na cavidade peritoneal, evocam resposta inflamatória acompanhada de angiogênese, adesão celular e invasão peritoneal (8, 27). A inflamação é um processo complexo regulado por citocinas e fatores de crescimento sendo determinante na patogênese da endometriose (28). Os implantes endometrióticos secretam fatores pró-angiogênicos que estimulam a neovascularização contribuindo para a sua sobrevivência na superfície peritoneal (29).

1.3 – Regulação do mecanismo de sobrevivência celular

Apesar de a patogênese da endometriose ainda não estar bem elucidada, alguns mecanismos favorecem o implante e o crescimento do tecido endometrial ectópico. Entre estes mecanismos estão anormalidades do sistema imune e do sistema de apoptose e alterações moleculares no endométrio de mulheres acometidas pela doença (8, 23, 26).

O endométrio eutópico de mulheres com endometriose exibe alterações moleculares que incluem a ativação de oncogenes e produção de estrogênios, citocinas, prostaglandinas e metaloproteínas, assim como maior sobrevivência das células endometriais fora da cavidade uterina devido à falha no sistema imune dessas mulheres (8).

Estudos recentes indicam que alterações na sinalização do ciclo celular podem estar relacionadas com o mecanismo de proliferação do endométrio e sobrevivência dos implantes ectópicos. Foi identificado diminuição da expressão da proteína p27 no endométrio de fase lútea de mulheres com endometriose. Essa proteína é um inibidor das ciclinas, que regula o ciclo celular, através de mediadores que conduzem as células por suas diversas fases. Quando a proteína p27 está ausente, as células não seguem os sinais cíclicos e, conseqüentemente, proliferam exaceradamente. A diminuição dos níveis dessa

proteína, tanto em células epiteliais quanto estromais de mulheres com endometriose, foi verificada em diversos estágios da doença, sugerindo que essa alteração se relaciona com fatores de instauração da doença (30).

1.3.1 – Processo inflamatório

A resposta do sistema imune pode ser humoral, através do reconhecimento de antígenos por anticorpos produzidos por linfócitos B e T, ou celular. Essa recruta células para o local da lesão, como granulócitos, mastócitos, células NK e macrófagos, produtoras de mediadores bioquímicos como prostaglandinas e citocinas. Tal resposta deveria ser capaz de eliminar as células ectópicas no local da inflamação. Entretanto, sugere-se que macrófagos e células NK podem mediar o crescimento celular e a viabilidade do endométrio em local ectópico, através da secreção de factores de crescimento e citocinas (31).

O tecido endometriótico também está associado à produção de mediadores inflamatórios. O fluido peritoneal de mulheres com endometriose exhibe níveis aumentados de citocinas, factores de crescimento e de angiogênese, derivados das próprias lesões e secretados por macrófagos e outras células do sistema imune (32). Observou-se aumento da secreção da interleucina-6, uma citocina inflamatória que regula a secreção de outras citocinas, em amostras sérica e de fluido peritoneal de pacientes com endometriose (33, 34).

Outras citocinas, interleucina 8 (IL-8) e fator de necrose tumoral (TNF- α), que promovem proliferação e adesão de células endometriais, apresentam maior expressão no endométrio menstrual de pacientes com endometriose (35).

Alguns peptídeos, chamados de quimiocinas, podem recrutar leucócitos para o sítio da lesão. Estão associados com amplificação da resposta inflamatória local e sobrevivência das células endometrióticas, por aumentar a proliferação e diminuir a apoptose das mesmas. Pode-se observar aumento da expressão do gene da quimiocina RANTES (*regulated and activation normal T cell excreted and secreted*) em células estromais endometrióticas em resposta ao TNF α , interferon- γ (INF- γ) e IL -1 β (36). Foi também demonstrado *in vitro* que RANTES pode induzir tolerância em marcadores de superfície dos macrófagos e inibir seu efeito apoptótico (37).

Observou-se ainda que, macrófagos, em peritônio de mulheres com endometriose, liberam mais prostaglandina E2 (PGE2) e prostaglandina F2 α (PGF2 α) (38). O aumento da síntese de prostaglandina E2 no tecido endometriótico está relacionado à hiperatividade das enzimas COX-2 e PGE sintetase. A expressão aumentada de COX-2 pode ser induzida por IL -1 β , fator de crescimento vascular ou estradiol, através do receptor β , e pela PGE2, por ação autócrina (8).

Em pacientes com endometriose a expressão de ciclooxigenase 2 (COX-2), responsável pela produção de prostaglandinas, no endométrio foi maior do que no grupo controle nas fases do ciclo menstrual, sendo significativamente maior na fase secretora tardia (39). Pensa-se, portanto, que a síntese aumentada de PGE2 e PGF2 α pode ter um papel importante na regulação dessa doença.

1.3.2 – Hormônios esteroides

A endometriose é uma condição ginecológica benigna dependente de hormônios sexuais. Percebe-se uma maior produção de estrogênio e progesterona no fluido peritoneal de pacientes com endometriose, e o principal meio de manutenção do nível aumentado desses hormônios são as próprias lesões endometrióticas (40, 41). O endométrio ectópico exibe maior síntese e menor inativação do estradiol, quando comparadas com o endométrio de mulheres não afetadas (41).

A presença de genes responsáveis pela esteroidogênese e da enzima aromatase nas células de implantes endometrióticos produzem estradiol através da conversão do colesterol em androgênios (42). A produção de estrogênio favorece o *feedback* positivo entre a expressão de COX-2 e produção contínua de estradiol e prostaglandina E2 no tecido endometriótico. A PGE2 estimula a expressão dos genes necessários para a esteroidogênese, assim o tecido endometriótico possui uma capacidade de produção aberrante do estradiol (43) (Figura 1).

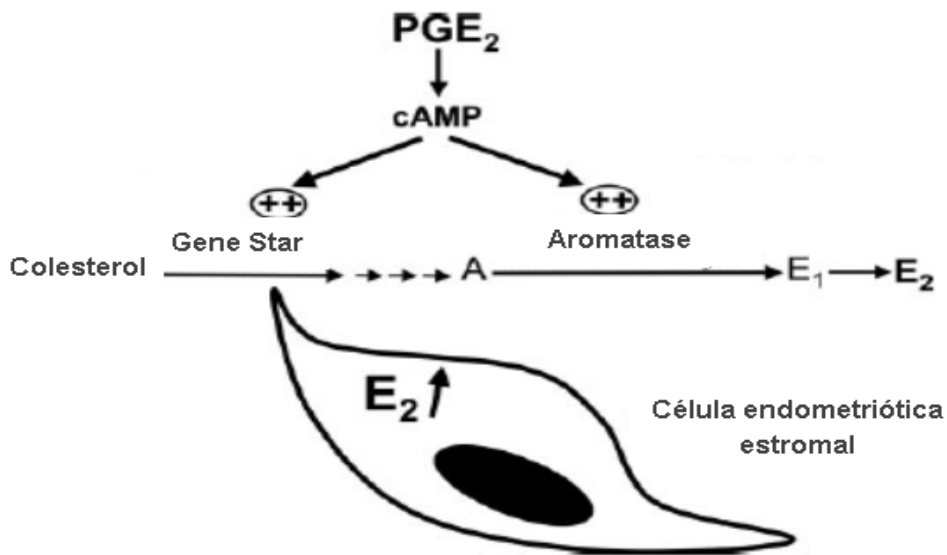


Figura1: Aumento da produção de estradiol pelas células endometrióticas através do estímulo da prostaglandina E2

Estudos demonstraram que o tecido endometriótico produz grande quantidade de progesterona, mas contém menor quantidade de receptores que o epitélio glandular do endométrio (44, 45).

A ligação da progesterona ao seu receptor, que possui duas isoformas A e B, está relacionada a ação anti-inflamatória desse hormônio. No endométrio, pode-se observar aumento dos níveis dos receptores A e B durante a fase proliferativa, maior expressão antes da ovulação e diminuição na fase secretora, sugerindo que o estradiol estimule o receptor de progesterona. Entretanto, no tecido endometriótico, o receptor B não foi detectado e o receptor A encontra-se diminuído (45). Além disso, o receptor A pode atuar como repressor da transcrição do receptor B, assim como possui ação inibitória na transcrição de alguns genes mediadores da ação hormonal, diferindo do receptor B (46).

Pacientes com endometriose apresentam diminuição de receptores de progesterona do tipo B (ativador dos genes-alvo da progesterona) levando à resistência à ação desse hormônio no endométrio dessas mulheres (47).

O efeito da progesterona na limitação do crescimento do endométrio ainda não foi elucidado. Alguns estudos sugerem a ação apoptótica desse hormônio

através de demonstrações da modulação de genes relacionados a apoptose, diminuição da expressão da proteína anti-apoptótica, Bcl-2, e à observação de indução da apoptose em culturas celulares de endométrio (48-50).

Na maioria dos tecidos humanos, inclusive no endométrio, em condições fisiológicas, a ativação do receptor de estrogênio (RE) por estradiol ou outros ligantes resulta na inibição de apoptose. Essa inibição é resultante do aumento da transcrição da proteína Bcl-2, por ligação do complexo estradiol – RE (51).

As células endometrióticas possuem maior sobrevivência mediada por estrogênios e apresentam diferentes expressões de receptores para este hormônio, sendo descrito maior expressão do Re β em implantes endometrióticos (52).

Considerando que os mecanismos normais de apoptose estão suprimidos em células de lesões endometrióticas, deve-se notar o efeito inflamatório e anti-apoptótico dos estrogênios nas pacientes com endometriose e a resistência da progesterona nessas células, contribuindo ainda mais para a sobrevivência dos implantes de endometriose (26).

1.4 – Diagnóstico de endometriose

A endometriose pode apresentar-se como dor pélvica crônica que interfere na qualidade de vidas das mulheres e/ou infertilidade. A dor pélvica pode ser caracterizada como dor acíclica, dismenorreia e dispareunia de caráter progressivo (7, 27). Não existe clara correlação entre a intensidade dos sintomas e o grau de acometimento pélvico e/ou do estadiamento da doença, assim como pacientes assintomáticas podem ser portadoras de endometriose (9). Entretanto, existe uma correlação entre alguns sintomas como dismenorreia, dispareunia e disquezia com a presença de nódulos em região posterior da pelve e endometriose profunda infiltrativa (53, 54).

Mulheres na fase reprodutiva apresentando dor pélvica progressiva, infertilidade, dispareunia e presença de massa pélvica, de forma isolada ou em associações, devem ser investigadas para endometriose (2, 8, 11, 55).

O diagnóstico clínico da endometriose é realizado com base nos sinais e sintomas da doença, exames complementares (ultrassonografia transvaginal e ressonância magnética) e nos marcadores sorológicos existentes (8). Contudo, o diagnóstico definitivo da doença é invasivo, por videolaparoscopia, com exame anatomopatológico para confirmação (8,55). A necessidade de métodos diagnósticos invasivos como laparoscopia e biópsia permanece um fator de limitação para o diagnóstico correto e oportuno da endometriose. Marcadores bioquímicos precisos e confiáveis trariam um grande avanço nessa área, no entanto, na prática, o marcador ideal ainda não existe (56).

Exames de Imagem

A avaliação clínica de pacientes com endometriose pode ser complementada com exames de imagem. A ultrassonografia transvaginal e a ressonância magnética apresentam boa acurácia para detecção de endometriomas ovarianos (55,57). No diagnóstico diferencial de endometriomas, a ultrassonografia transvaginal apresenta alta sensibilidade (84% -100%) e especificidade (90% -100%) e a ressonância magnética possui elevada especificidade (98%)(58).

A endometriose superficial peritoneal e ovariana não são detectadas por ultrassonografia transvaginal, mas a ressonância magnética pode detectar até 50% das lesões hemorrágicas, auxiliando, em alguns casos, no diagnóstico da endometriose leve. Porém, ambos os exames podem contribuir para o diagnóstico e avaliação da extensão das lesões de endometriose infiltrativa profunda e na região posterior da pelve(59).

A ultrassonografia transvaginal, realizada após preparo intestinal, deve ser o exame de primeira escolha após suspeita clínica de endometriose. Esse método obtém melhores resultados que a ressonância magnética para a avaliação de endometriose infiltrativa profunda (58). A ressonância deve ser o método preferencial na suspeita de acometimento ureteral e aderências pélvicas extensas (58).

Marcadores séricos e plasmáticos

Estudos anteriores identificaram possíveis marcadores relacionados com a patogênese e desenvolvimento das lesões de endometriose, no entanto, nenhum marcador único, ou um painel de marcadores foi validado como teste não invasivo confiável para o diagnóstico de endometriose (60, 61).

O antígeno cancerígeno 125 (CA-125), uma glicoproteína normalmente expressa em tecidos fetais, foi encontrada em adultos, em células epiteliais endometriais e de cistos ovarianos e células mesoteliais na pleura, pericárdio e peritônio, particularmente relacionado com áreas de inflamação e aderência (62). O CA-125 é um marcador periférico que apresenta níveis elevados em pacientes com endometriose, principalmente durante o período menstrual (63). A dosagem sérica desse marcador apresenta melhor acurácia diagnóstica em pacientes com doença moderada a grave, porém ainda é um teste que apresenta baixa sensibilidade para o diagnóstico de endometriose (64-67). Observa-se também maior concentração de CA-125 em fluido peritoneal de pacientes com endometriose, porém deve ser realizado procedimento semi-invasivo para a dosagem do marcador (68). Apesar de o CA-125 não ter sido validado como teste diagnóstico para endometriose, ainda é considerado o marcador com maior repercussão na prática clínica, pois apresenta alta especificidade e aceitável sensibilidade, entretanto o teste tem maior utilidade na avaliação de doença recorrente ou no prognóstico após tratamento cirúrgico (64, 69).

A interleucina-6 apresenta níveis aumentados em mulheres com endometriose (34,70). A avaliação de nove citocinas inflamatórias séricas mostrou níveis estatisticamente mais elevados de IL-6, MCP-1 (proteína quimiotática do monócito-1) e INF- γ , nas pacientes com endometriose. No entanto, os três marcadores em conjunto não mostrou maior discriminação entre os doentes e o controle, do que a dosagem de IL-6 apenas (33). A IL-6 também apresentou níveis aumentados em fluido peritoneal de mulheres com endometriose (70), com alta acurácia para diagnóstico de endometriose moderada a grave (34). Esse marcador sérico apresentou sensibilidade de 71 - 90% e especificidade de 66 - 67% (33, 70).

Alguns painéis de marcadores plasmáticos têm sido estudados para melhorar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico de endometriose. As dosagens de IL-6, IL-8, CA-125, CA-19-9, proteína C reativa de alta sensibilidade (hsCRP) e TNF- α avaliadas em conjunto para o diagnóstico de endometriose, demonstraram alta sensibilidade (87–92%) e especificidade aceitável (60–71%), quando dosados durante a fase secretora do ciclo menstrual (71). Outro painel de marcadores, anexina V, CA-125, fator de crescimento endotelial (VEGF) e glicodelina, avaliados durante a fase menstrual do ciclo, mostrou sensibilidade 90% e especificidade 81% para o diagnóstico de endometriose não detectável à ultrassonografia (72).

A ativina A é um peptídeo presente no tecido endometriótico (73, 74) pertencente à família do fator de transformação do crescimento β (TGF- β), que está relacionado com a decidualização do endométrio e implantação do embrião (75). A folistatina regula a atividade da ativina, agindo como antagonista da sua ação. A expressão da folistatina foi identificada em endométrio e lesões endometrióticas em todas as fases do ciclo (76, 77). A concentração de ativina A e folistatina foi dosada em amostras séricas de pacientes com endometriose e controles saudáveis. A ativina A mostrou níveis mais elevados no grupo com endometrioma, quando comparados com controles sem a doença (77). Os níveis da folistatina não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados. A acurácia dos marcadores foi modesta para diagnóstico de endometriose com especificidade 90%, mas sensibilidade de 41% para os dois marcadores dosados em conjunto (78).

A urocortina já foi demonstrada em estudos prévios como um potencial marcador de diagnóstico diferencial entre endometrioma ovariano e outros cistos ovarianos benignos. A urocortina apresentou níveis plasmáticos mais elevados em mulheres com endometrioma e possibilitou o diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade, 89% e 90%, respectivamente (79).

Apesar de vários estudos demonstrarem alterações em citocinas inflamatórias, fatores de crescimento e moléculas de adesão, ainda não foi validado um teste não-invasivo para o diagnóstico de endometriose. A endometriose possui localização e evolução variadas, assim como sintomas

inespecíficos, o que pode dificultar a identificação de um marcador único da doença (60).

A identificação de um marcador não-invasivo para a endometriose seria útil para a detecção e instituição de tratamento precoce de endometriose em mulheres sintomáticas que têm dor pélvica e / ou infertilidade sem alterações aos exames de imagem. Assim como a exclusão do diagnóstico nessas pacientes, as pouparia de intervenções cirúrgicas desnecessárias.

Videolaparoscopia

A laparoscopia vídeo-assistida oferece ampla visualização da região pélvica e identifica lesões presentes em peritônio e demais órgãos. Tornou-se o padrão ouro para o diagnóstico e tratamento de endometriose (80). Atualmente, tem sido usada também a laparoscopia robótica-assistida, com visão tridimensional da pelve, oferecendo visão unidirecional. Possui maior benefício na identificação de implantes suspeitos em detrimento da identificação de fibrose da doença infiltrativa profunda (81, 82).

As lesões sugestivas de endometriose precisam ser confirmadas por exame histopatológico (83), devido à diversidade na morfologia, colorações e texturas das lesões, assim como significativa variabilidade inter-observadores quando comparando resultados visuais cirúrgicos com resultados de biópsia para o diagnóstico de endometriose (84).

Apesar de taxas de complicações menos comuns em cirurgias laparoscópicas, quando comparadas à laparotomia (85), e a associação dessas complicações à experiência do cirurgião, pode-se observar morbidades graves durante o procedimento, como lesões vasculares, pneumotórax, embolia gasosa, lesões de trato urinário ou intestinais e queimaduras por corrente elétrica utilizada em cauterios (86).

1.5 – Urocortina

Urocortina (UCN) é um péptido de 40 aminoácidos, que pertence à família do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Foi identificado, em 2002, nas

células epiteliais e estromais do endométrio através de transcrição reversa por PCR (reação em cadeia da polimerase) (87).

O hormônio liberador de corticotropina atua como regulador do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, produzido por neurônios do hipotálamo para o sistema porta-hipofisário. Estimula, juntamente com a vasopressina, o hormônio adrenocorticotrófico hipofisário (ACTH) e, conseqüentemente, a secreção de glicocorticóides pelo córtex da adrenal. Está relacionado com a resposta ao estresse e, em ligação com o receptor, pode ser encontrado em outros sítios do sistema nervoso central (88). Foram identificados três receptores, porém somente os receptores tipo 1 e 2 estão presentes em mamíferos. O efeito biológico do CRH é modulado pela proteína ligante do CRH (CRH-BP), que controla a biodisponibilidade deste hormônio (89).

A urocortina possui homologia biológica com o CRH e afinidade pelos mesmos receptores (CRH-R1 e CRH-R2) e por sua proteína ligadora (CRH-BP). Essa proteína ligadora ao se ligar ao CRH ou à UCN bloqueia a secreção de ACTH, conforme demonstrado *in vitro* (90). A resposta do eixo CRH mediada pelo estresse possui efeitos distintos dependentes da ligação nos receptores, CRH-R1, ação inicial ao estresse, e ao CRH-R2, relacionado com a fase de recuperação do estresse (91).

A UCN parece exercer importante papel na reprodução humana e está envolvida em importantes funções, como esteroidogênese ovariana, crescimento de células endometriais, decidualização do endométrio, manutenção da função placentária e início do trabalho de parto (92).

A detecção de UCN, por imunohistoquímica, em células do corpo lúteo sugere sua ação na esteroidogênese ovariana. Os resultados permitiram concluir que a concentração da UCN é maior nas células tecais do corpo lúteo em regressão, diferindo dos níveis detectados no meio da fase lútea e no corpo lúteo gravídico (93). Parece ter um papel importante na regressão lútea, e não no funcionamento e manutenção do corpo lúteo gravídico. As dosagens foram confirmadas por PCR e identificado a presença do CRH e CRH-R (93).

Durante o ciclo menstrual, a concentração e a expressão da urocortina, no endométrio, são maiores na fase secretora do que na fase proliferativa e mais elevado na fase secretora tardia em comparação com a fase secretora precoce. A urocortina é capaz de induzir a decidualização endometrial *in vitro* (94).

O CRH, UCN, urocortina 2 (UCN2) e urocortina 3 (UCN3) são neuropeptídeos, originalmente descritos no sistema nervoso central, exercendo efeitos endócrinos, imunológicos e vasoativos (89, 95). UCN2 e UCN3 foram identificadas no endométrio humano e decídua materna e localizadas em células epiteliais, estromais e endoteliais, através de expressão do mRNA e produção do peptídeo. Demonstrou-se que a expressão do mRNA da UCN2 foi mais elevada no endométrio da fase proliferativa precoce e da UCN3 foi maior na decídua gravídica (96).

UCN2 e UCN3 se ligam especificamente ao CRH-R2 (96). A ligação a cada receptor, CRH-R1 e/ou CRH-R2, ativa diferentes cascatas de sinalização intracelular, que medeiam efeitos diferentes do CRH e UCN, sugerindo a existência de redes distintas de ativação no endométrio humano envolvendo as UCN2 e UCN3 e o CRH-R2 e o CRF e UCN com o CRH-R1. A expressão do mRNA dos peptídeos da família CRH e seus receptores, no endométrio, em diferentes fases no ciclo menstrual, permite concluir que o endométrio humano também possui capacidade para sintetizar esses neuropeptídeos (96).

As UCN2 e UCN3 estão expressas nos tecidos endometrióticos. No endométrio eutópico de pacientes com endometriose, estes peptídeos não apresentam mudanças cíclicas e estão em menor quantidade do que em mulheres sem a doença (97). UCN 2 e UCN 3 modulam a secreção do fator de necrose tumoral (TNF- α), citocina pró-inflamatória, e da interleucina 4 (IL-4), anti-inflamatória, em cultura de células endometriais, sugerindo um possível papel desses peptídeos no mecanismo da endometriose (97).

Mulheres com endometriose podem apresentar alteração na expressão e função de CRH e UCN no endométrio eutópico. Em mulheres sem endometriose, a expressão de CRH e UCN é significativamente maior na fase secretora que na proliferativa, diferença não observada em mulheres com a doença. Na presença da endometriose, a expressão de CRH e UCN se reduz, e esses peptídeos não

mais modulam a decidualização endometrial em culturas de células estromais (98).

Em estudo prévio, demonstrou-se que a urocortina pode ser um novo marcador do endometrioma com alta sensibilidade e especificidade. Quando comparada ao CA-125, a urocortina demonstrou maior sensibilidade e a mesma especificidade. Os níveis plasmáticos e do líquido intra-cístico de urocortina foram mais elevados em mulheres com endometrioma do que naquelas com cistos ovarianos benignos, sendo útil no diagnóstico diferencial (79).

2. Objetivos

- Avaliar a concentração plasmática de urocortina como marcador diagnóstico de endometriose em pacientes submetidas a videolaparoscopia por dor pélvica, infertilidade e/ou massa anexial sugestiva de endometrioma;
- Investigar se a urocortina plasmática varia em função de outras características clínicas e achados patológicos na mesma coorte de pacientes.

3. Pacientes e Métodos

3.1- População estudada

Trata-se de estudo do tipo coorte prospectiva, que avaliou 77 mulheres com idade entre 17 e 52 anos, atendidas no serviço de Vídeo-endoscopia Ginecológica do Hospital das Clínicas da UFMG e submetidas à laparoscopia por dor pélvica aguda ou crônica, infertilidade, massa anexial ou cisto ovariano sugestivo de endometrioma à ultrassonografia pélvica ou transvaginal.

As pacientes atendidas neste serviço são encaminhadas do setor primário de atendimento ginecológico, para realização de cirurgia por via laparoscópica. Todas as pacientes foram avaliadas pela mesma equipe previamente à cirurgia quanto presença de sintomatologia clínica (dor, infertilidade, tempo de sintomas e intensidade da dor através da escala visual analógica) e resultados de exames de imagem (ultrassonografia pélvica ou transvaginal). Todas as pacientes que concordaram em participar do estudo foram incluídas, no período de Julho de 2008 a Novembro de 2010.

As informações clínicas necessárias à análise dos dados foram obtidas de modo prospectivo, por fontes primárias, diretamente pelos pesquisadores e foram coletadas amostras de sangue, para dosagem de urocortina plasmática, de todas as pacientes incluídas no estudo.

As cirurgias foram realizadas no Hospital das Clínicas da UFMG com identificação de lesões sugestivas de endometriose e descrição dos achados cirúrgicos em prontuário quanto à localização e tamanho das lesões, assim como presença e tipo de aderências em região pélvica.

O estadiamento da endometriose foi realizado baseado nos achados à laparoscopia, segundo o sistema de classificação da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM), revisto em 1996. As pacientes foram classificadas como endometriose mínima, leve, moderada ou grave (I, II, III ou IV).(99)

Todos os casos de endometriose foram confirmados por exame anatomopatológico, diante da identificação de glândulas e/ou estroma endometrial no material avaliado.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Parecer número ETIC 183/07) e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas. Todas as pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.1.1 - Critérios de inclusão

- Mulheres submetidas a videolaparoscopia por sintomas clínicos como dor e infertilidade e/ou diagnóstico ultrassonográfico de massa anexial ou cisto ovariano sugestivo de endometrioma à ultrassonografia.
- Mulheres em qualquer fase do ciclo menstrual.
- Assinatura da paciente no termo de consentimento livre e esclarecido.

3.1.2 - Critérios de exclusão

- Presença de massa anexial ou cistos ovarianos sugestivos de malignidade à ultrassonografia.
- Pacientes que tiveram a indicação de videolaparoscopia suspensa ou que foram submetidas a cirurgia em outro serviço.
- Não aceitação, pela paciente, da coleta de sangue periférico ou do uso de seus dados para pesquisa.

3.2 - Coleta das amostras

As amostras de sangue foram obtidas de veia periférica durante o pré-operatório, por ocasião de consulta ambulatorial ou na internação para cirurgia, em qualquer fase do ciclo menstrual.

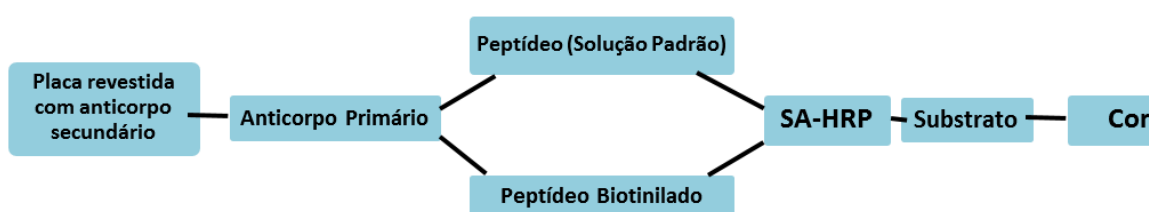
Todas as amostras de sangue foram coletadas em tubos com anticoagulante, EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), e levemente agitadas

imediatamente após a coleta para homogeneização, mantidas em gelo até centrifugação a 3000 xg durante 15 minutos a 4 °C para separação do plasma. As amostras de plasma foram congeladas a -80 °C para serem usadas posteriormente na dosagem plasmática do peptídeo, a urocortina.

3.3 – Dosagem de urocortina

As dosagens de urocortina plasmática foram realizadas pelo Kit de ensaio imunoenzimático (EIA), produzido pela Phoenix Pharmaceuticals, Inc. (Burlingame, CA, Estados Unidos), conforme protocolo do fabricante e metodologia descrita em estudos publicados anteriormente (100, 101).

A realização do ensaio ocorre pela ligação do anticorpo secundário, que reveste a microplaca, ao fragmento Fc do anticorpo primário (anticorpo anti-urocortina humana). O fragmento Fab do anticorpo primário se liga ao peptídeo biotinilado e ao peptídeo padrão ou ao peptídeo da amostra. O peptídeo biotinilado interage com a estreptovidina-peroxidase (SA-HRP), que catalisa a reação do substrato. A intensidade da luz amarela que é produzida pela reação é diretamente proporcional à quantidade do complexo estreptovidina-peroxidase e ao peptídeo biotinilado, mas inversamente proporcional à quantidade do peptídeo padrão ou peptídeo das amostras. A curva padrão para leitura das dosagens é construída através das concentrações conhecidas do peptídeo padrão em escala logarítmica (eixo X) e a absorbância, também em escala logarítmica (eixo Y). A faixa de concentrações para a UCN detectável é 0,01-100 ng/ml (10-100.000 pg/ml).



Esquema do ensaio imunoenzimático (EIA)

3.3.1 – Extração do peptídeo do plasma

As amostras de plasma foram retiradas do freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e mantidas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para obter o peptídeo do plasma utilizou-se a coluna Bond Elut, que foi ativada previamente com 8ml de acetonitrila e 8ml da solução de acetato de amônia a 0,2% e pH 4, aplicados à coluna, com uma seringa, sem pressão. Em seguida, a amostra foi aplicada na coluna e lavada levemente com 5ml de acetato de amônia a 0,2% (pH 4). A eluição do peptídeo foi realizada com 3ml da solução contendo 60% acetonitrila e 40% de acetato de amônio a 0,2%, em tubos de polietileno. As amostras foram secas em centrífuga evaporadora por 10-12 horas e, em seguida, congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para realização do EIA.

3.3.2 – Realização do ensaio imunoenzimático (EIA) para urocortina

O peptídeo extraído manteve-se a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, liofilizado, para realização do EIA. Todas as amostras foram reconstituídas no mesmo volume de solução tampão do kit, 0,125 mL, conforme recomendação do fabricante do kit. Para preparo da solução, o tampão concentrado 20x (50ml) foi diluído em 950ml de água destilada.

As diluições de UCN para a curva padrão foram preparadas a partir do peptídeo padrão reconstituído em 1ml da solução tampão e deixado em repouso por 10 minutos em temperatura de bancada. Para diluição seriada da concentração padrão (1000ng/ml) foram acrescentados 100 microlitros de cada novo padrão a 900 microlitros da solução tampão, por cinco vezes (Figura 2).

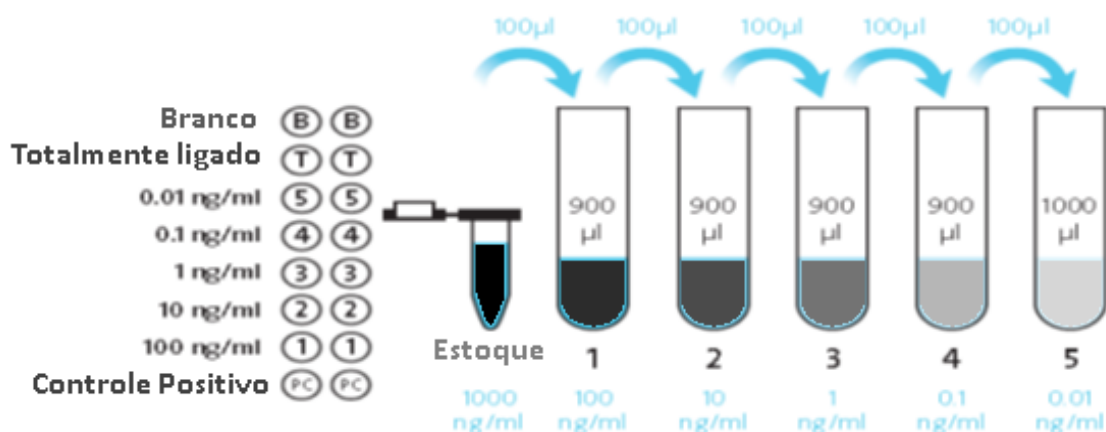


Figura 2: Diluições seriadas do padrão de urocortina para obtenção da curva-padrão do ensaio

O anticorpo primário e a urocortina biotinilada foram diluídos em 5ml da solução tampão e o controle positivo para urocortina foi centrifugado e diluído em 200microL da solução tampão. Todos os componentes ficaram em repouso por 5 minutos após preparo.

As placas de EIA para urocortina foram preparadas após 30 minutos de repouso em temperatura ambiente. Cada placa possui 96 poços pré-revestidos com anticorpo secundário, numerados por colunas de 1-12 e linhas A-H. Inicialmente o preparo da placa ocorre nas colunas 1 e 2, seguidos por cada linha, de amostras duplicadas: vazios, 50 microL da solução tampão, 50microL de cada concentração da curva padrão em ordem crescente e 50 microL do controle positivo para urocortina.

Em seguida, 50 microL de cada amostra a ser testada é pipetada e acrescentada à placa. Todos os poços, exceto os vazios ou brancos, receberam 25microL do anticorpo primário e 25microL da urocortina biotinilada, rehidratados. A placa é selada e incubada por 2 horas em movimento orbital a 300-400rpm.

A estreptovidina-peroxidase é centrifugada a 3.000-5.000rpm por 5 segundos e 12microL acrescentado a 12ml da solução tampão. Após incubação da placa, a mesma foi lavada 4x com 350microL da solução tampão em cada poço, em lavadora automática. Com a utilização da pipeta multicanal, 100microL da solução de SA-HRP foi adicionado em cada poço. Novamente a placa foi incubada por 1 hora em orbital shaking 300-400rpm e lavada 4x com solução tampão (350microL em cada poço).

O substrato de tetrametilbenzidina (TMB) foi acrescentado, 100 microL, em cada poço e a placa foi incubada no orbital shaking coberta e protegida da luz. Após 1 hora de incubação foi acrescentado 100microL de solução ácida (HCl) para interromper a reação quimioluminescente e então, fez-se a leitura da densidade óptica em 450nm.

Após leitura da absorbância da luz, foi calculada a concentração da UCN no ensaio através da equação de regressão linear gerada pela curva-padrão (Figura3).

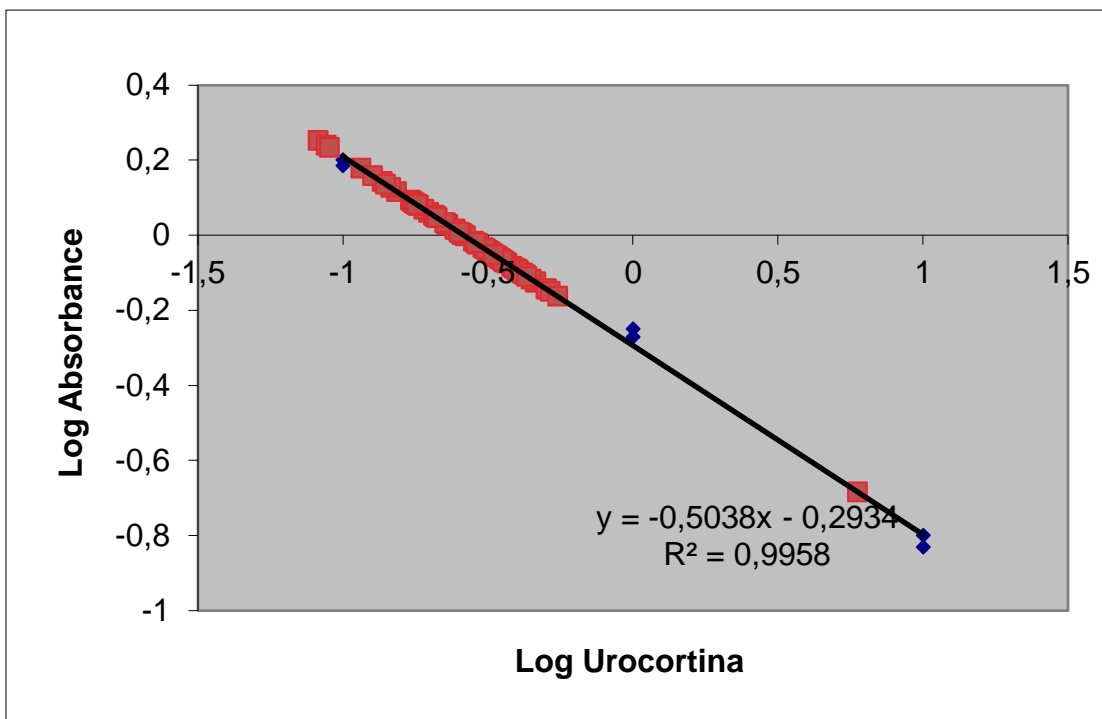


Figura 3: Parte central da curva-padrão (pontos azuis, correspondentes aos padrões 2, 3 e 4) e localização das leituras de absorbância das amostras de plasma (pontos vermelhos) no ensaio de urocortina. As amostras ficaram situadas, predominantemente, entre os padrões 4 (0,1 ng/ml) e 3 (1 ng/ml).

3.3.3 – Cálculo final da concentração de UCN plasmática

Como as amostras de plasma submetidas a extração em coluna de cromatografia tinham volumes variados e todos os produtos da extração foram reconstituídos no mesmo volume (0,125 ml), a concentração de UCN no plasma foi calculada após multiplicar o valor obtido no ensaio pelo fator de diluição da amostra. Por exemplo, nos casos em que se partiu de 1 ml de plasma extraído, o fator de diluição foi $0,125 \text{ ml}/1 \text{ ml} = 0,125$. Portanto, a concentração da UCN calculada após leitura da placa foi multiplicada por 0,125 para se obter a concentração real de UCN plasmática.

3.4 - Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa SPSS para Mac, versão 21.0. As variáveis analisadas pelo estudo apresentaram distribuição não-paramétrica, sendo então descritas em medianas, intervalos inter-quartis, com percentis entre 25 e 75 e representadas por gráficos de Boxplot. Foi realizado teste de Mann-Whitney para comparação entre os grupos. Em todos os testes a significância estatística foi estabelecida em 95%, com valor de $p < 0,05$.

As possíveis correlações entre a concentração de UCN e algumas variáveis clínicas foram analisadas pelo coeficiente de correlação linear de Spearman.

Para análise da acurácia e preditividade da urocortina plasmática no diagnóstico da endometriose, foi construída a curva ROC (*receiving operator characteristics*) e definido um ponto de corte para cálculo da especificidade, sensibilidade, valor preditivo e razão de verossimilhança para resultados positivos e negativos, com os respectivos intervalos de confiança de 95%.

4. Resultados

4.1- Características clínicas das pacientes incluídas no estudo

As variáveis demográficas no grupo de estudo, após análise da curva, apresentaram distribuição não-paramétrica e portanto calculados a mediana e intervalo interquartil de cada uma delas. A mediana de idade foi 34 anos e da paridade foi zero.

A principal indicação de vídeolaparoscopia foi dor pélvica (dispareunia, dismenorreia e dor acíclica), presente em 81,8% das pacientes, seguida de infertilidade, 35,1% e cisto ovariano sugestivo de endometrioma à ultrassonografia, 22,1%. Foram avaliados o tempo de sintomatologia e intensidade da dor pélvica, através da escala visual analógica de dor (EVA), conforme dados da Tabela 1. Observou-se dosagem de CA-125 com mediana e intervalo interquartil dentro dos limites da normalidade, nas pacientes estudadas, entretanto somente 42 pacientes tinham dosagem prévia deste marcador (Tabela 1).

O diagnóstico anatomopatológico das lesões biopsiadas foi positivo para endometriose em 26 mulheres (Tabela 2). Entre essas pacientes, conforme os critérios de estadiamento da ASRM, revisados em 1996, 34,6% foram diagnosticadas com endometriose grave, 42,3% endometriose moderada e 7,7% endometriose leve. Não houve diagnóstico de endometriose mínima e houve 4 casos com adenomiose (15,4%) (Tabela 3).

Em relação à localização das lesões de endometriose identificadas à cirurgia, observou-se uma predominância de lesões ovarianas, sendo 38,5% (10/26) das lesões confirmadas ao exame anatomopatológico. A identificação de endometriose em implantes peritoneais foi confirmada em apenas 50% das lesões que forma biopsiadas. Devido a descrição das lesões, pode-se considerar a possibilidade de escassez do material examinado (Tabela 4).

Apenas 4 pacientes não apresentaram alterações detectadas à cirurgia, em outras 16 pacientes, o material para realização de exame anatomopatológico

não foi colhido. As demais pacientes tiveram diagnóstico final de cisto ovariano benigno, doença inflamatória pélvica, hidrossalpinge, mioma e gestação ectópica (Tabela 5).

Tabela 1: Características demográficas e clínicas da coorte de 77 pacientes incluídas no estudo

Idade (anos)	34 [31-41]
Paridade	0 [0-2]
Dor Pélvica	
Prevalência	63/77 (81,8%)
Intensidade (EVA)	7 [6-8]
Dor acíclica	
Prevalência	47/77 (61,0%)
Duração (anos)	5 [4-6]
Dismenorréia	
Prevalência	50/77 (64,9%)
Duração (anos)	5 [4-6]
Dispareunia	
Prevalência	35/77 (45,5%)
Duração (anos)	5 [4-7]
Sintomas intestinais	
Prevalência	4/77 (5,2%)
Duração (anos)	3 [2-4]
Sintomas urinários	
Prevalência	1/77 (1,3%)
Duração (anos)	3 [3-3]
Infertilidade	
Prevalência	27/77 (35,1%)
Duração (anos)	6 [4-8]
Endometrioma ao US	
Prevalência	17/77 (22,1%)
CA-125 sérico (UI/ml)	22 [12-32]

Os dados quantitativos são expressos como mediana e intervalo inter-quartil.

Tabela 2: Diagnóstico final após videolaparoscopia e exame anatomopatológico

Diagnóstico anatomopatológico	Frequência	Percentual (%)
Endometriose	26	33.8
Outros	51	66.2
Total	77	100.0

Tabela 3: Estadiamento de endometriose pélvica nos 26 casos confirmados

Estadiamento (ASRM, 1996)	Frequência	Percentual (%)
2	2	7,7
3	11	42,3
4	9	34,6
Adenomiose	4	15,4
Total	26	100

Tabela 4: Localização predominante das lesões supostamente endometrióticas vistas à laparoscopia e proporção de casos confirmados ao exame anatomopatológico

Identificação e localização de Endometriose à laparoscopia	Endometriose (anatomopatológico)		Total
	não	sim	
Ausente	43	0	43
peritoneal	4	4	8
Ovariana	3	10	13
profunda infiltrativa	1	6	7
adenomiose	0	4	4
Parede	0	2	2
Total	51	26	77

Tabela 5: Diagnósticos finais nos 51 casos sem endometriose

Videolaparoscopia / Anatomopatológico	Casos não confirmados Endometriose
Sem alterações	4
Sem anatomopatológico	16
Doença Inflamatória Pélvica	3
Cistos Ovarianos Benignos	12
Fragmento peritoneal ou ovariano sem alterações	8
Hidrossalpinge	1
Gestação ectópica	2
Miomas	2
Outros	4
Total	51

4.2 - Urocortina plasmática e diagnóstico de endometriose

A urocortina foi detectada em todas as amostras de plasma avaliadas e apresentou padrão linear conforme a curva padrão do teste de EIA utilizado.

As concentrações plasmáticas da urocortina foram significativamente mais altas nas mulheres com diagnóstico final de endometriose (mediana 62 pg/ml [intervalo interquartil 51-108 pg/ml], n=26) em comparação com aquelas em que se excluiu o diagnóstico de endometriose em exame anatomopatológico (47 pg/ml [33-66 pg/ml], n=51) ($p = 0,029$, teste de Mann-Whitney, Figura 4).

Após avaliação das concentrações de Urocortina do grupo de pacientes submetidas à laparoscopia por dor pélvica ou infertilidade, excluída a indicação por cistos ovarianos sugestivos de endometrioma à ultrassonografia, observou-se também níveis de urocortina significativamente mais altas nas mulheres com diagnóstico final de endometriose (92 pg/ml [56-109 pg/ml], n=15) em comparação com aquelas em que se excluiu o diagnóstico anatomopatológico de endometriose (47 pg/ml [31-67 pg/ml], n=45) ($p = 0,026$), teste de Mann-Whitney, Figura 5).

Com relação aos diferentes sintomas de dor pélvica, foram identificados níveis de urocortina significativamente mais altos em pacientes com dor pélvica acíclica (59pg/ml [42-100 pg/ml], n=47 vs. 43pg/ml [26-61 pg/ml], n=30) ($p=0,006$, Figura 6) e dispareunia (63 pg/ml [53-102 pg/ml], n=35 vs. 46 pg/ml [29-61 pg/ml], n=42) ($p=0,003$, Figura 7), quando comparadas a pacientes sem o sintoma.

Entretanto, não houve correlação linear entre a dosagem de urocortina e o tempo ou intensidade dos sintomas algícos. Os coeficientes de correlação linear de Spearman entre a urocortina plasmática e os sintomas foram: $r = 0,111$ ($p=0,438$) para tempo de dor pélvica acíclica; $r = -0,013$ ($p=0,941$) para tempo de dispareunia; e $r = 0,167$ ($p=0,181$) para intensidade da dor (Figuras 8 e 9).

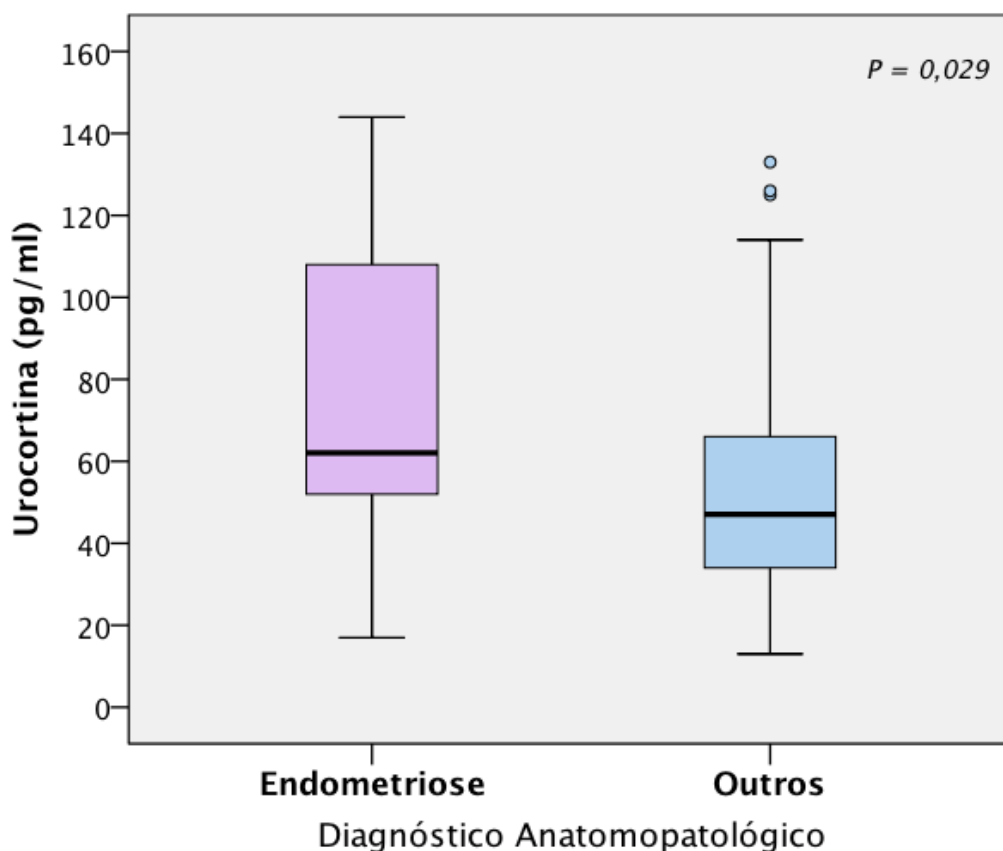


Figura 4: Concentrações plasmáticas de urocortina na coorte completa de 77 pacientes dividida segundo o diagnóstico conclusivo de endometriose (n=26) ou outros (n=51). Os gráficos representam medianas, quartis e percentis 10 e 90. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney ($p=0,029$).

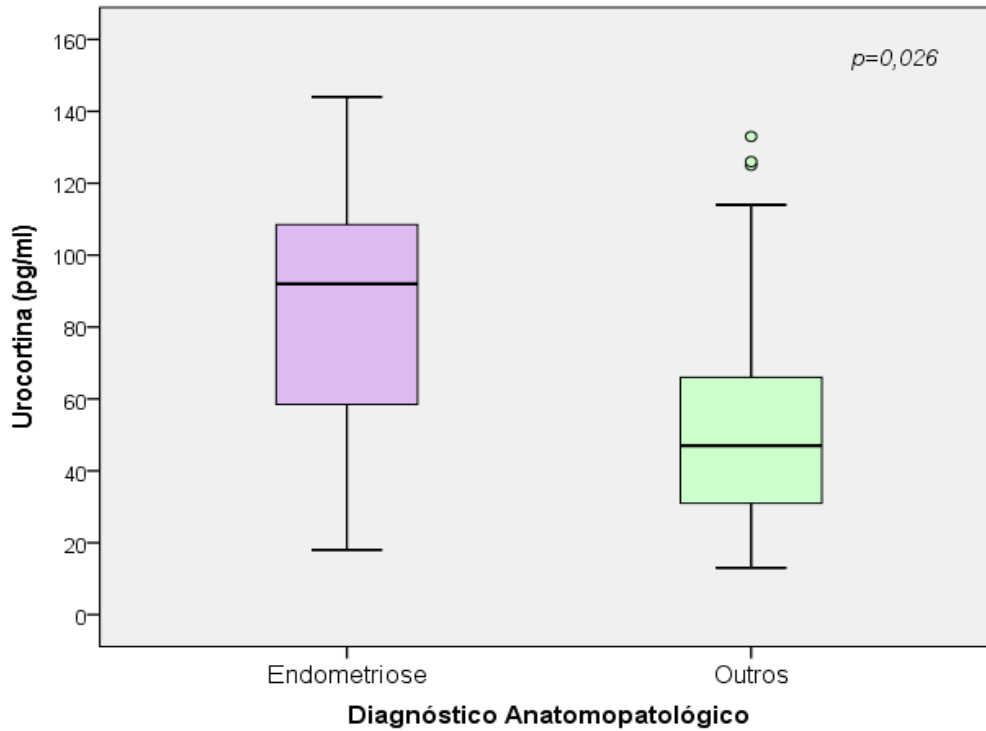


Figura 5: Concentrações plasmáticas de urocortina nas 60 pacientes com indicação de videolaparoscopia por dor pélvica e/ou infertilidade (ou seja, excluídas as 17 pacientes que tinham imagem ecográfica sugestiva de endometrioma), divididas segundo o diagnóstico conclusivo de endometriose (n=15) ou outros (n=45). Os gráficos representam medianas, quartis e percentis 10 e 90. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney ($p=0,026$).

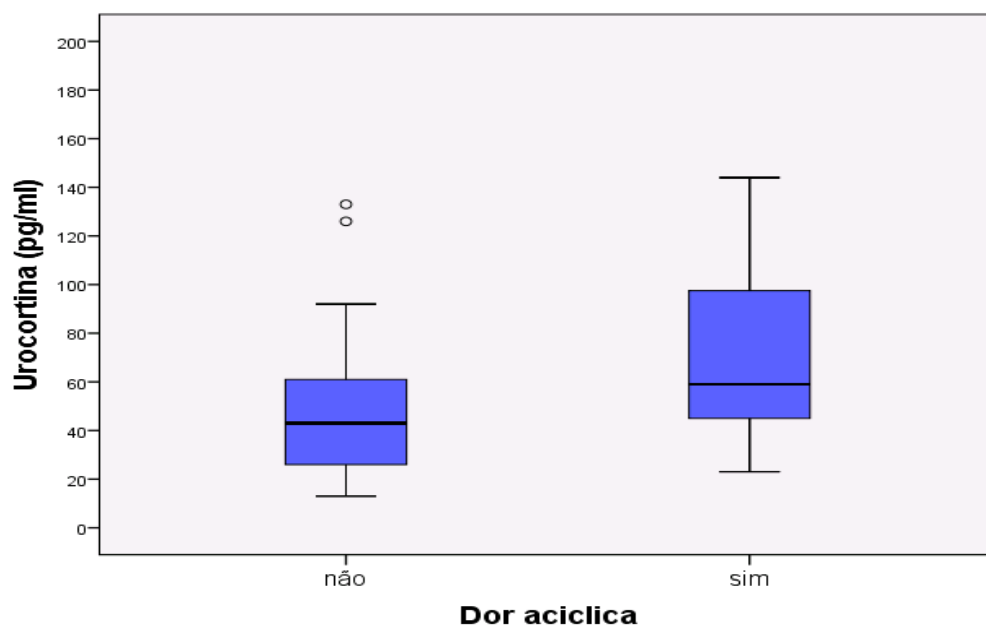


Figura 6: Concentrações plasmáticas de urocortina no grupo de pacientes com (n=47) e sem (n=30) dor pélvica crônica acíclica ($p=0,006$)

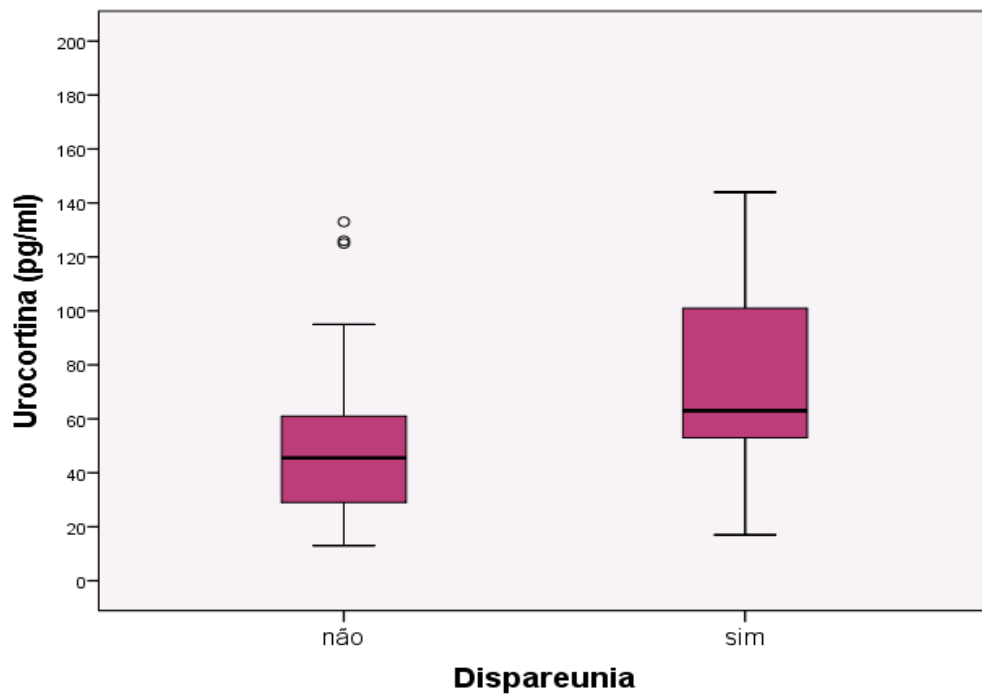


Figura 7: Concentrações plasmáticas de urocortina no grupo de pacientes com (n=35) e sem (n=42) dispareunia ($p=0,003$).

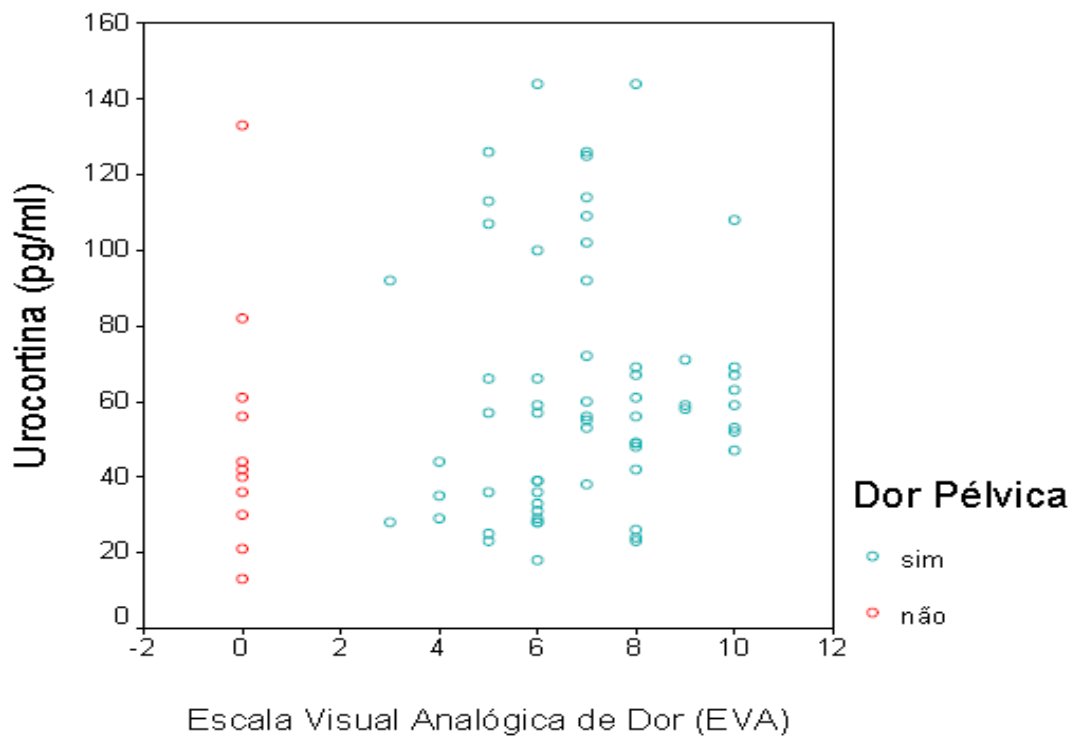


Figura 8: Correlação entre a concentração plasmática de urocortina e intensidade da dor, aferida pela Escala Visual Analógica (EVA) no grupo de pacientes com e sem dor pélvica crônica ($r = 0,167$, $p=0,181$)

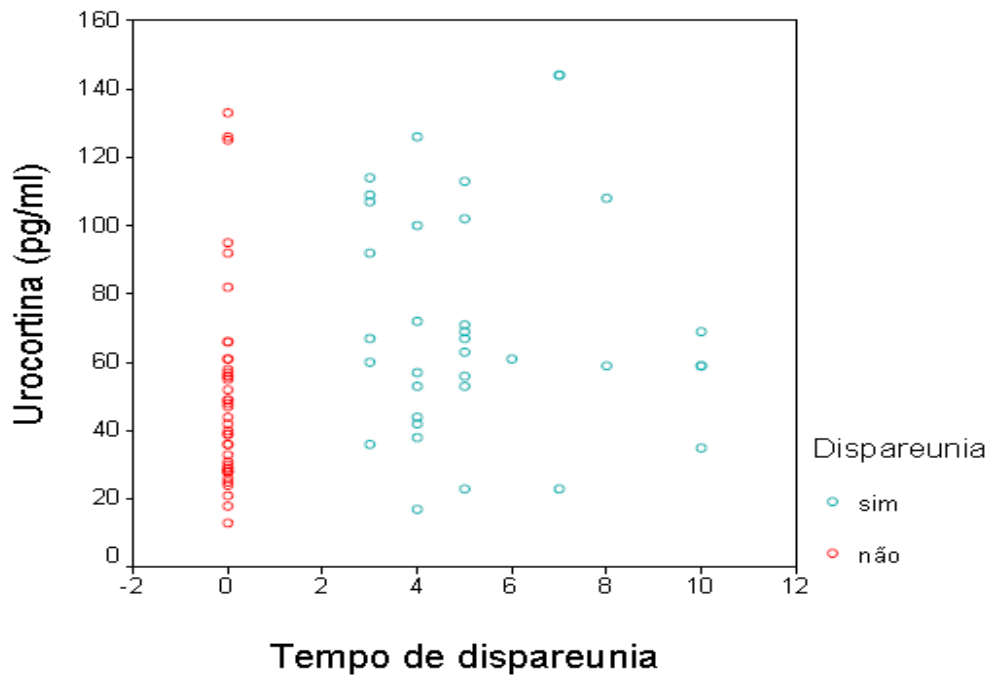
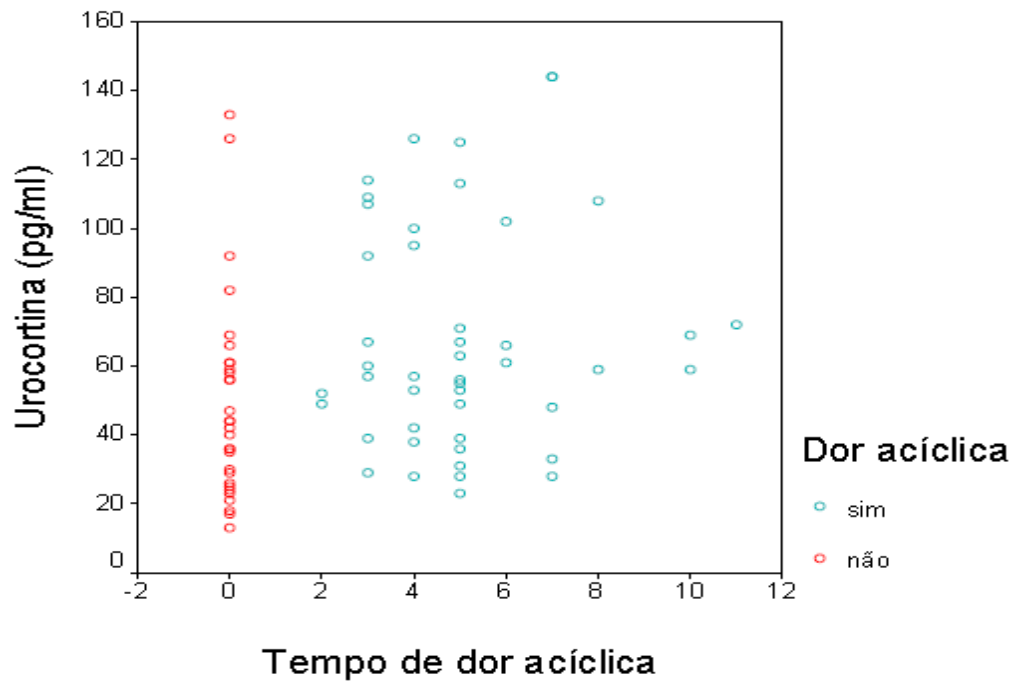


Figura 9: Correlação entre a concentração plasmática de urocortina e tempo de dor acíclica ($r = 0,111$, $p=0,438$) e tempo de dispareunia ($r = -0,013$, $p=0,941$)

4.3 - Acurácia e valor preditivo da urocortina plasmática no diagnóstico de endometriose

Analisamos a curva ROC (Figura 10) para determinar o valor de corte da dosagem de urocortina com melhor acurácia no diagnóstico de endometriose. A área sob a curva foi 0,638. Para determinar o ponto de corte que discriminaria pacientes com endometriose, foi escolhido um valor com alta especificidade (90%), correspondente a 101pg/ml. Esse valor resultou em sensibilidade de 31% (15-50%), valor preditivo positivo 62% (36-82%) e negativo 72% (60-81%), razão de verossimilhança positiva 3,14 (1,14-8,64) e negativa 0,77 (0,59-1,01).

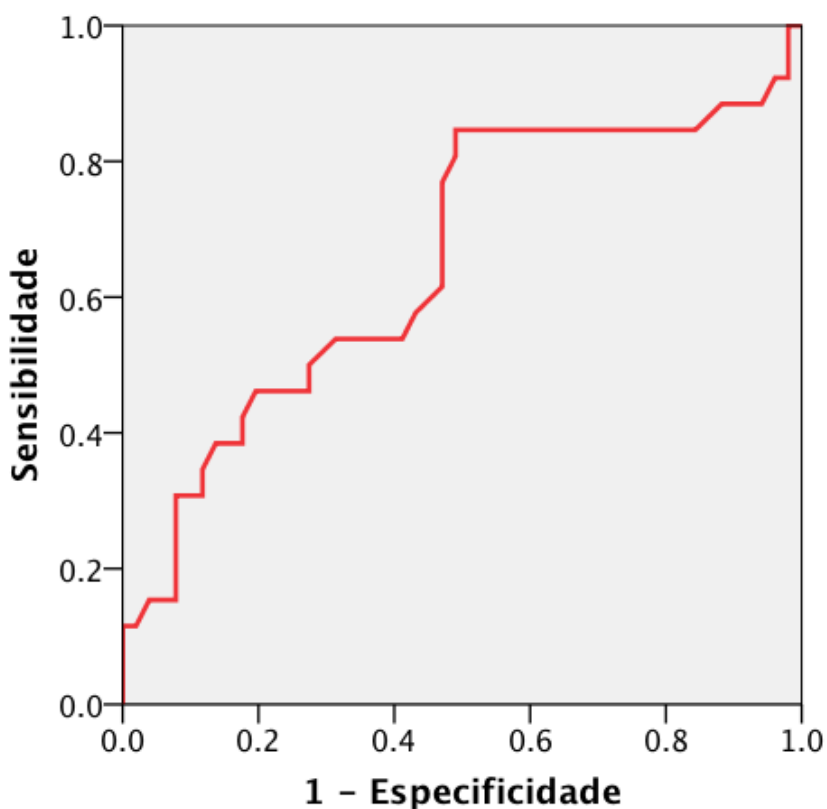


Figura 10: Curva ROC para concentrações de Urocortina

5. Discussão

Dor pélvica e infertilidade são sintomas pouco específicos para o diagnóstico de endometriose e, apesar dos avanços nos exames de imagem, muitas lesões de endometriose ainda não são identificadas, atrasando o diagnóstico da doença e interferindo na qualidade de vida das pacientes. O padrão-ouro para diagnóstico de endometriose, atualmente, é a biópsia dirigida por videolaparoscopia e anatomopatológico das lesões. Entretanto, por ser um procedimento invasivo, muitas pacientes não são diagnosticadas, contribuindo para a demora no início do tratamento e progressão da doença.

O marcador ideal para endometriose deve ser capaz de detectar a doença através de métodos não invasivos, permitir o início do tratamento e alívio dos sintomas, assim como excluir outros diagnósticos diferenciais para os sintomas de dor pélvica e infertilidade.

Nenhum dos marcadores plasmáticos ou séricos já estudados mostrou-se satisfatório no diagnóstico definitivo de endometriose. O CA-125, está frequentemente elevado em pacientes com endometriose, particularmente, nos estágios III e IV da doença e na presença de endometriomas, no entanto, a correlação com o diagnóstico da doença por laparoscopia ainda é limitada (55). Outros biomarcadores estão sendo estudados, tanto isoladamente quanto em testes combinados. Porém, ainda não foi identificado o teste diagnóstico que assuma a mesma acurácia diagnóstica da videolaparoscopia com biópsia das lesões (80).

No presente estudo, nós avaliamos 77 pacientes que foram submetidas a videolaparoscopia por sinais e sintomas sugestivos de endometriose pélvica (dor pélvica crônica, infertilidade e/ou presença de imagem sugestiva de endometrioma à ultrassonografia) e comparamos a dosagem de urocortina plasmática prévia à cirurgia com o diagnóstico final, por anatomopatológico, de endometriose. Foram diagnosticadas 26 pacientes (33,8%) com endometriose, prevalência concordante com estudos anteriores (102-104).

A urocortina se mostrou um marcador para endometriose pélvica, com concentrações plasmáticas mais elevadas, estatisticamente significativas, em pacientes com diagnóstico de endometriose por anatomopatológico, quando comparadas com outros diagnósticos. Além disso, para o ponto de corte de 101pg/ml de urocortina, a especificidade foi 90% e o valor preditivo positivo para o diagnóstico de 62%, na população de estudada, com sintomas e sinais sugestivos de endometriose. Este marcador também apresentou níveis plasmáticos significativamente mais elevados nas pacientes com dor acíclica e dispareunia em comparação com as que não apresentavam esses sintomas.

A endometriose está relacionada com processo de inflamação, adesão celular e sobrevivência de tecidos ectópicos. A presença de células produtoras de neuropeptídeos foi identificada em maior quantidade no endométrio eutópico de mulheres com endometriose quando comparadas a controles saudáveis (105). A UCN é um neuropeptídeo produzido pelas células endometriais humanas (79) e sua regulação está alterada no endométrio de pacientes com endometriose (98), o que também sugere que esse neuropeptídeo possa participar na patogênese da endometriose.

A urocortina foi o peptídeo escolhido para diagnóstico de endometriose, pois já foi identificada em endométrio ectópico e eutópico de mulheres com endometriose (98, 106), assim como apresentou níveis mais elevados em cistos de endometriomas, quando comparados a outros cistos ovarianos (79). No endométrio saudável, a expressão de urocortina encontra-se aumentada na fase secretora do ciclo menstrual e age na regulação da prolactina (94). A urocortina aumenta a expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs), estimula a secreção de MMP-9 em células do trofoblasto, e está associada a produção de prostaglandinas pelo endométrio (98). Portanto, parece estar relacionada com a sobrevivência e adesão das células ectópicas devido a ações no processo de decidualização endometrial e resistência à progesterona no endométrio de mulheres com endometriose.

A urocortina também está associada com o processo de inflamação e fibrose nas pacientes com endometriose devido a ativação de mastócitos no endométrio ectópico (106). Implantes endometrióticos apresentam número

significativamente maior de mastócitos que os tecidos saudáveis e lesões da endometriose profunda infiltrativa apresentam maior número de mastócitos degranulados quando comparadas com lesões peritoneais superficiais (107).

Os peptídeos da família CRH estão relacionados com respostas neuroendócrinas e comportamentais às situações de estresse (108). Observa-se que o CRH e a UCN desempenham papéis diferentes na resposta ao estresse, devido a ligações em receptores distintos. A UCN foi relacionada com a ativação de neurônios envolvidos na fase tardia ou adaptativa do estresse, em ratos que foram induzidos a dor aguda (109). A exposição crônica ao estresse também aumenta a expressão de UCN em neurônios de roedores, porém sugere-se uma ativação prolongada dos neurônios (110).

A população estudada apresenta como principal sintoma a dor pélvica, presente em 81,8% das pacientes avaliadas. Não foi possível estabelecer uma correlação linear entre o tempo e intensidade da dor e a concentração de urocortina plasmática, embora as pacientes que relataram dor pélvica acíclica ou dispareunia tenham apresentado níveis de urocortina significativamente mais altos que os do grupo de pacientes sem o respectivo sintoma. Portanto, nossos dados não permitem esclarecer definitivamente se a elevação da urocortina associada à endometriose decorre da presença dos implantes, dos sintomas algícos, ou de ambos os fatores.

A dor pélvica crônica deve ser investigada para melhor elucidação da doença específica e orientação do tratamento. Entretanto, a causa específica da dor pode não ser encontrada e as pacientes devem ser atendidas por equipe multidisciplinar com foco no tratamento primário do sintoma, que é tão importante quanto o diagnóstico da doença. Em estudo que avaliou pacientes submetidas a videolaparoscopia por dor pélvica crônica, não se observou diferença em relação à idade, paridade, duração da dor e frequência de dismenorreia, dispareunia, sintomas urinários e gastrointestinais entre as pacientes com causa identificada para dor pélvica e aquelas sem alterações à cirurgia (111). Recomenda-se realização de exame clínico, que inclui avaliação de parede vaginal e fundo de saco posterior da vagina para identificação de lesões em mucosa e/ou nódulos ou regiões dolorosas em ligamentos ou órgãos pélvicos, para aumentar a

acurácia do diagnóstico. Porém, não foi demonstrado uma relação entre o estadiamento de endometriose (ASRM) e intensidade e frequência sintomas (112).

A realização de videolaparoscopia apenas para o diagnóstico de endometriose não tem benefício para as pacientes. Estudos de meta-análise recentes demonstraram que o tratamento cirúrgico, com remoção de lesões visíveis de endometriose e restauração da anatomia da pelve, através de lise de aderências, tem melhor resultado no alívio de sintomas dolorosos e no tratamento da infertilidade, quando comparado à cirurgia diagnóstica (113, 114).

Nos casos em que a dor é a principal indicação de tratamento, a avaliação clínica associada a exames de imagem objetiva a escolha do melhor tratamento e evita procedimentos cirúrgicos repetidos ou desnecessários. Outras causas de dor pélvica devem ser excluídas antes do início da terapia para endometriose. Ambos os tratamentos, clínico e cirúrgico, são eficazes para a melhora da dor em endometriose. Entretanto, a videolaparoscopia cirúrgica em pacientes com endometriose infiltrativa profunda, diagnosticada em exames de imagem, e/ou resistentes ao tratamento clínico da dor, deve ser oferecida como terapia radical para ablação de todos os focos da doença. Tal procedimento não demonstrou maior benefício no alívio da dor nas pacientes com endometriose mínima e leve. (115).

Não existe consenso sobre a indicação de videolaparoscopia no tratamento de todos os casos de endometriose, portanto, mais estudos devem ser realizados para identificação de estratégias não invasivas e seleção de marcadores, que estabeleçam o diagnóstico mais preciso de endometriose pélvica.

A utilização de métodos não invasivos e acessíveis na prática clínica para o diagnóstico de endometriose deve considerar, principalmente, pacientes com sinais e sintomas inespecíficos ou assintomáticas e ausência de alterações nos exames de imagem. Para essas pacientes, deve-se realizar a videolaparoscopia apenas se houver necessidade de tratamento cirúrgico e não para o diagnóstico da doença.

Portanto, um teste diagnóstico que possa discriminar as mulheres sem endometriose precisa ter uma elevada especificidade. Mas, também é necessário uma sensibilidade alta, para identificar a maioria das pacientes com a doença. Como o valor preditivo positivo inclui informações sobre a população testada (prevalência da doença) e a acurácia do teste diagnóstico, o valor encontrado para essa coorte estudada (62%) comparado à prevalência (probabilidade pré-teste) de 33,8% sugere que níveis altos de urocortina reforçam a probabilidade de endometriose em mulheres com sinais e sintomas sugestivos da doença.

No presente estudo, a dosagem de urocortina aplicada ao diagnóstico de endometriose em geral (incluindo diversos estágios e localizações) apresentou sensibilidade muito inferior à verificada no estudo anterior, que comparou endometrioma de ovário com outros cistos ovarianos benignos (79). A diferença encontrada entre os dois estudos com relação à sensibilidade (31% no presente estudo vs 89% no estudo anterior) do teste diagnóstico pode ser explicada devido a populações distintas nos estudos, assim como à inclusão, no presente estudo, de uma casuística mais heterogênea, refletindo as diversas formas e localizações dos implantes endometrióticos. Acreditamos que um estudo multicêntrico deva ser realizado para validar esses achados em uma população maior e para investigar se a urocortina plasmática é efetivamente útil, quando associada a outros marcadores, no diagnóstico não invasivo da endometriose.

6. Conclusões

- A urocortina plasmática é um potencial marcador diagnóstico de endometriose. Apesar da sensibilidade limitada, o encontro de níveis altos de urocortina plasmática reforça a probabilidade de endometriose em mulheres com sinais e sintomas sugestivos da doença, como dor pélvica crônica, infertilidade e massa anexial sugestiva de endometrioma.

- A concentração de urocortina plasmática é maior nas mulheres com dor pélvica crônica acíclica e dispareunia, mas não se correlaciona com a intensidade nem a duração desses sintomas. Mesmo com a demonstração prévia de que os endometriomas produzem urocortina, os mecanismos responsáveis pelo aumento da urocortina nas mulheres com endometriose ainda precisam ser mais amplamente investigados.

7. Referências Bibliográficas

1. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*. 1997;24(2):235-58.
2. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364(9447):1789-99.
3. Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertility and sterility*. 2009;92(1):68-74.
4. Mahmood TA, Templeton A. Prevalence and genesis of endometriosis. *Human reproduction*. 1991;6(4):544-9.
5. Balasch J, Creus M, Fabregues F, Carmona F, Ordi J, Martinez-Roman S, et al. Visible and non-visible endometriosis at laparoscopy in fertile and infertile women and in patients with chronic pelvic pain: a prospective study. *Human reproduction*. 1996;11(2):387-91.
6. Arruda MS, Petta CA, Abrao MS, Benetti-Pinto CL. Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women. *Human reproduction*. 2003;18(4):756-9.
7. Murphy AA. Clinical aspects of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002;955:1-10; discussion 34-6, 396-406.
8. Bulun SE. Endometriosis. *The New England journal of medicine*. 2009;360(3):268-79.
9. Fauconnier A, Chapron C. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications. *Human reproduction update*. 2005;11(6):595-606.
10. Cheong Y, William Stones R. Chronic pelvic pain: aetiology and therapy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2006;20(5):695-711.
11. Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertility and sterility*. 2012;98(3):591-8.
12. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Seminars in reproductive medicine*. 2003;21(2):243-54.
13. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Evers JL, Dunselman GA. Pathogenesis of endometriosis. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2004;18(2):233-44.
14. Benagiano G, Brosens I. Who identified endometriosis? *Fertility and sterility*. 2011;95(1):13-6.
15. Sampson J. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetric and Gynecology*; 1927. p. 442-69.

16. Sampson JA. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. *The American journal of pathology*. 1927;3(2):93-110 43.
17. Salamanca A, Beltran E. Subendometrial contractility in menstrual phase visualized by transvaginal sonography in patients with endometriosis. *Fertility and sterility*. 1995;64(1):193-5.
18. Xavier P, Beires J, Barros H, Martinez-de-Oliveira J. Subendometrial and intraendometrial blood flow during the menstrual cycle in patients with endometriosis. *Fertility and sterility*. 2005;84(1):52-9.
19. Sanfilippo JS, Wakim NG, Schikler KN, Yussman MA. Endometriosis in association with uterine anomaly. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1986;154(1):39-43.
20. Nawroth F, Rahimi G, Nawroth C, Foth D, Ludwig M, Schmidt T. Is there an association between septate uterus and endometriosis? *Human reproduction*. 2006;21(2):542-4.
21. Barbieri RL. Stenosis of the external cervical os: an association with endometriosis in women with chronic pelvic pain. *Fertility and sterility*. 1998;70(3):571-3.
22. D'Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertility and sterility*. 1997;68(4):613-25.
23. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertility and sterility*. 2012;98(3):511-9.
24. Du H, Taylor HS. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. 2007;25(8):2082-6.
25. Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1127:106-15.
26. Reis FM, Petraglia F, Taylor RN. Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis. *Human reproduction update*. 2013.
27. Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *The New England journal of medicine*. 2010;362(25):2389-98.
28. 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*. 2012;97(6):1380-6 e1.
29. Taylor RN, Yu J, Torres PB, Schickedanz AC, Park JK, Mueller MD, et al. Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2009;16(2):140-6.
30. Schor E, da Silva ID, Sato H, Baracat EC, Giraó MJ, de Freitas V. P27Kip1 is down-regulated in the endometrium of women with endometriosis. *Fertility and sterility*. 2009;91(3):682-6.

31. Dmowski WP, Gebel HM, Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica Supplement*. 1994;159:7-14.
32. Gazvani R, Templeton A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2002;123(2):217-26.
33. Othman Eel D, Hornung D, Salem HT, Khalifa EA, El-Metwally TH, Al-Hendy A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2008;137(2):240-6.
34. Wickiewicz D, Chrobak A, Gmyrek GB, Halbersztadt A, Gabrys MS, Goluda M, et al. Diagnostic accuracy of interleukin-6 levels in peritoneal fluid for detection of endometriosis. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2013.
35. Kyama CM, Overbergh L, Debrock S, Valckx D, Vander Perre S, Meuleman C, et al. Increased peritoneal and endometrial gene expression of biologically relevant cytokines and growth factors during the menstrual phase in women with endometriosis. *Fertility and sterility*. 2006;85(6):1667-75.
36. Hornung D, Klingel K, Dohrn K, Kandolf R, Wallwiener D, Taylor RN. Regulated on activation, normal T-cell-expressed and -secreted mRNA expression in normal endometrium and endometriotic implants: assessment of autocrine/paracrine regulation by in situ hybridization. *The American journal of pathology*. 2001;158(6):1949-54.
37. Wang XQ, Yu J, Luo XZ, Shi YL, Wang Y, Wang L, et al. The high level of RANTES in the ectopic milieu recruits macrophages and induces their tolerance in progression of endometriosis. *Journal of molecular endocrinology*. 2010;45(5):291-9.
38. Karck U, Reister F, Schafer W, Zahradnik HP, Breckwoldt M. PGE2 and PGF2 alpha release by human peritoneal macrophages in endometriosis. *Prostaglandins*. 1996;51(1):49-60.
39. Ota H, Igarashi S, Sasaki M, Tanaka T. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human reproduction*. 2001;16(3):561-6.
40. Tsai SJ, Wu MH, Lin CC, Sun HS, Chen HM. Regulation of steroidogenic acute regulatory protein expression and progesterone production in endometriotic stromal cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(12):5765-73.
41. Bulun SE, Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Zhou J, et al. Role of aromatase in endometrial disease. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2001;79(1-5):19-25.
42. Zeitoun KM, Bulun SE. Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertility and sterility*. 1999;72(6):961-9.
43. Bulun SE, Lin Z, Imir G, Amin S, Demura M, Yilmaz B, et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. *Pharmacological reviews*. 2005;57(3):359-83.
44. Sun HS, Hsiao KY, Hsu CC, Wu MH, Tsai SJ. Transactivation of steroidogenic acute regulatory protein in human endometriotic stromal cells is mediated by the prostaglandin EP2 receptor. *Endocrinology*. 2003;144(9):3934-42.

45. Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(8):2897-902.
46. Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 1993;7(10):1244-55.
47. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, et al. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;248(1-2):94-103.
48. Tao XJ, Sayegh RA, Tilly JL, Isaacson KB. Elevated expression of the proapoptotic BCL-2 family member, BAK, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertility and sterility*. 1998;70(2):338-43.
49. von Rango U, Classen-Linke I, Krusche CA, Beier HM. The receptive endometrium is characterized by apoptosis in the glands. *Human reproduction*. 1998;13(11):3177-89.
50. Tang L, Zhang Y, Pan H, Luo Q, Zhu XM, Dong MY, et al. Involvement of cyclin B1 in progesterone-mediated cell growth inhibition, G2/M cell cycle arrest, and apoptosis in human endometrial cell. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2009;7:144.
51. Amaral JD, Sola S, Steer CJ, Rodrigues CM. Role of nuclear steroid receptors in apoptosis. *Current medicinal chemistry*. 2009;16(29):3886-902.
52. Bulun SE, Monsavais D, Pavone ME, Dyson M, Xue Q, Attar E, et al. Role of estrogen receptor-beta in endometriosis. *Seminars in reproductive medicine*. 2012;30(1):39-45.
53. Leng JH, Lang JH, Dai Y, Li HJ, Li XY. [Relationship between pain symptoms and clinico-pathological features of pelvic endometriosis]. *Zhonghua fu chan ke za zhi*. 2007;42(3):165-8.
54. Dai Y, Leng JH, Lang JH, Li XY, Zhang JJ. Anatomical distribution of pelvic deep infiltrating endometriosis and its relationship with pain symptoms. *Chinese medical journal*. 2012;125(2):209-13.
55. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Human reproduction*. 2005;20(10):2698-704.
56. Rogers PA, D'Hooghe TM, Fazleabas A, Gargett CE, Giudice LC, Montgomery GW, et al. Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2009;16(4):335-46.
57. Moore J, Copley S, Morris J, Lindsell D, Golding S, Kennedy S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2002;20(6):630-4.

58. Chamie LP, Blasbalg R, Pereira RM, Warmbrand G, Serafini PC. Findings of pelvic endometriosis at transvaginal US, MR imaging, and laparoscopy. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 2011;31(4):E77-100.
59. Brosens I, Puttemans P, Campo R, Gordts S, Kinkel K. Diagnosis of endometriosis: pelvic endoscopy and imaging techniques. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology.* 2004;18(2):285-303.
60. Fassbender A, Vodolazkaia A, Saunders P, Lebovic D, Waelkens E, De Moor B, et al. Biomarkers of endometriosis. *Fertility and sterility.* 2013;99(4):1135-45.
61. May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review. *Human reproduction update.* 2010;16(6):651-74.
62. Kabawat SE, Bast RC, Jr., Bhan AK, Welch WR, Knapp RC, Colvin RB. Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125. *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists.* 1983;2(3):275-85.
63. Kafali H, Artuc H, Demir N. Use of CA125 fluctuation during the menstrual cycle as a tool in the clinical diagnosis of endometriosis; a preliminary report. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology.* 2004;116(1):85-8.
64. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertility and sterility.* 1998;70(6):1101-8.
65. Martinez S, Garrido N, Coperias JL, Pardo F, Desco J, Garcia-Velasco JA, et al. Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis. *Human reproduction.* 2007;22(3):836-42.
66. Mabrouk M, Elmakky A, Caramelli E, Farina A, Mignemi G, Venturoli S, et al. Performance of peripheral (serum and molecular) blood markers for diagnosis of endometriosis. *Archives of gynecology and obstetrics.* 2012;285(5):1307-12.
67. Ramos IM, Podgaec S, Abrao MS, Oliveira R, Baracat EC. Evaluation of CA-125 and soluble CD-23 in patients with pelvic endometriosis: a case-control study. *Revista da Associacao Medica Brasileira.* 2012;58(1):26-32.
68. Amaral VF, Ferriani RA, Sa MF, Nogueira AA, Rosa e Silva JC, Rosa e Silva AC, et al. Positive correlation between serum and peritoneal fluid CA-125 levels in women with pelvic endometriosis. *Sao Paulo medical journal = Revista paulista de medicina.* 2006;124(4):223-7.
69. Bedaiwy MA, Falcone T. Laboratory testing for endometriosis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2004;340(1-2):41-56.
70. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Human reproduction.* 2002;17(2):426-31.
71. Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, Simsa P, Pochet N, De Smet F, et al. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Human reproduction.* 2010;25(3):654-64.

72. Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM, et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Human reproduction*. 2012;27(9):2698-711.
73. Omwandho CO, Konrad L, Halis G, Oehmke F, Tinneberg HR. Role of TGF-betas in normal human endometrium and endometriosis. *Human reproduction*. 2010;25(1):101-9.
74. Reis FM, Di Blasio AM, Florio P, Ambrosini G, Di Loreto C, Petraglia F. Evidence for local production of inhibin A and activin A in patients with ovarian endometriosis. *Fertility and sterility*. 2001;75(2):367-73.
75. Jones RL, Salamonsen LA, Zhao YC, Ethier JF, Drummond AE, Findlay JK. Expression of activin receptors, follistatin and betaglycan by human endometrial stromal cells; consistent with a role for activins during decidualization. *Molecular human reproduction*. 2002;8(4):363-74.
76. Torres PB, Florio P, Ferreira MC, Torricelli M, Reis FM, Petraglia F. Deranged expression of follistatin and follistatin-like protein in women with ovarian endometriosis. *Fertility and sterility*. 2007;88(1):200-5.
77. Florio P, Severi FM, Luisi S, Ciarmela P, Calonaci G, Cobellis L, et al. Endometrial expression and secretion of activin A, but not follistatin, increase in the secretory phase of the menstrual cycle. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2003;10(4):237-43.
78. Reis FM, Luisi S, Abrao MS, Rocha AL, Vigano P, Rezende CP, et al. Diagnostic value of serum activin A and follistatin levels in women with peritoneal, ovarian and deep infiltrating endometriosis. *Human reproduction*. 2012;27(5):1445-50.
79. Florio P, Reis FM, Torres PB, Calonaci F, Toti P, Bocchi C, et al. Plasma urocortin levels in the diagnosis of ovarian endometriosis. *Obstetrics and gynecology*. 2007;110(3):594-600.
80. Schipper E, Nezhat C. Video-assisted laparoscopy for the detection and diagnosis of endometriosis: safety, reliability, and invasiveness. *International journal of women's health*. 2012;4:383-93.
81. Nezhat C, Lewis M, Kotikela S, Veeraswamy A, Saadat L, Hajhosseini B, et al. Robotic versus standard laparoscopy for the treatment of endometriosis. *Fertility and sterility*. 2010;94(7):2758-60.
82. Nezhat C, Hajhosseini B, King LP. Robotic-assisted laparoscopic treatment of bowel, bladder, and ureteral endometriosis. *JSLs : Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons / Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2011;15(3):387-92.
83. Stegmann BJ, Sinaii N, Liu S, Segars J, Merino M, Nieman LK, et al. Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women. *Fertility and sterility*. 2008;89(6):1632-6.
84. Pardanani S, Barbieri, R.L. The gold standard for the surgical diagnosis of endometriosis: Visual findings or biopsy results? *Journal of Gynecologic Techniques*. 1998;4(4):121-24

85. Chapron C, Fauconnier A, Goffinet F, Breart G, Dubuisson JB. Laparoscopic surgery is not inherently dangerous for patients presenting with benign gynaecologic pathology. Results of a meta-analysis. *Human reproduction*. 2002;17(5):1334-42.
86. Chapron C, Querleu D, Bruhat MA, Madelenat P, Fernandez H, Pierre F, et al. Surgical complications of diagnostic and operative gynaecological laparoscopy: a series of 29,966 cases. *Human reproduction*. 1998;13(4):867-72.
87. Florio P, Arcuri F, Ciarmela P, Runci Y, Romagnoli R, Cintonio M, et al. Identification of urocortin mRNA and peptide in the human endometrium. *The Journal of endocrinology*. 2002;173(2):R9-14.
88. Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Annals of internal medicine*. 1998;129(3):229-40.
89. Kalantaridou SN, Zoumakis E, Makrigiannakis A, Lavasidis LG, Vrekoussis T, Chrousos GP. Corticotropin-releasing hormone, stress and human reproduction: an update. *Journal of reproductive immunology*. 2010;85(1):33-9.
90. Donaldson CJ, Sutton SW, Perrin MH, Corrigan AZ, Lewis KA, Rivier JE, et al. Cloning and characterization of human urocortin. *Endocrinology*. 1996;137(5):2167-70.
91. Hsu SY, Hsueh AJ. Human stresscopin and stresscopin-related peptide are selective ligands for the type 2 corticotropin-releasing hormone receptor. *Nature medicine*. 2001;7(5):605-11.
92. Florio P, Vale W, Petraglia F. Urocortins in human reproduction. *Peptides*. 2004;25(10):1751-7.
93. Muramatsu Y, Sugino N, Suzuki T, Totsune K, Takahashi K, Tashiro A, et al. Urocortin and corticotropin-releasing factor receptor expression in normal cycling human ovaries. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(3):1362-9.
94. Torricelli M, De Falco G, Florio P, Rossi M, Leucci E, Vigano P, et al. Secretory endometrium highly expresses urocortin messenger RNA and peptide: possible role in the decidualization process. *Human reproduction*. 2007;22(1):92-6.
95. Zoumakis E, Kalantaridou SN, Makrigiannakis A. CRH-like peptides in human reproduction. *Current medicinal chemistry*. 2009;16(32):4230-5.
96. Florio P, Torres PB, Torricelli M, Toti P, Vale W, Petraglia F. Human endometrium expresses urocortin II and III messenger RNA and peptides. *Fertility and sterility*. 2006;86(6):1766-70.
97. Novembri R, Carrarelli P, Toti P, Rocha AL, Borges LE, Reis FM, et al. Urocortin 2 and urocortin 3 in endometriosis: evidence for a possible role in inflammatory response. *Molecular human reproduction*. 2011;17(9):587-93.
98. Novembri R, Borges LE, Carrarelli P, Rocha AL, De Pascalis F, Florio P, et al. Impaired CRH and urocortin expression and function in eutopic endometrium of women with endometriosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(4):1145-50.
99. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and sterility*. 1997;67(5):817-21.

100. Gruson D, Ahn SA, Ketelslegers JM, Rousseau MF. Circulating levels of stress associated peptide Urocortin in heart failure patients. *Peptides*. 2010;31(2):354-6.
101. Wang H, Aodong, Shu Y, Momotani Y, Wang X, Mori Y, et al. Corticotropin-releasing hormone and urocortin expression in peripheral blood cells from experimentally infected cattle with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2007;9(9):1061-9.
102. Vercellini P, Fedele L, Molteni P, Arcaini L, Bianchi S, Candiani GB. Laparoscopy in the diagnosis of gynecologic chronic pelvic pain. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 1990;32(3):261-5.
103. Preciado Ruiz R, Torres Calleja J, Zuniga Montiel JA, Martinez Chequer JC, Manterola Alvarez D, Garcia Luna A. [Incidence of endometriosis in infertile women: clinical and laparoscopic characteristics]. *Ginecologia y obstetricia de Mexico*. 2005;73(9):471-6. Incidencia de la endometriosis en mujeres con infertilidad: características clínicas y laparoscópicas.
104. Peterson CM, Johnstone EB, Hammoud AO, Stanford JB, Varner MW, Kennedy A, et al. Risk factors associated with endometriosis: importance of study population for characterizing disease in the ENDO Study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013;208(6):451 e1- e11.
105. Wang G, Tokushige N, Russell P, Dubinovsky S, Markham R, Fraser IS. Neuroendocrine cells in eutopic endometrium of women with endometriosis. *Human reproduction*. 2010;25(2):387-91.
106. Kempuraj D, Papadopoulou N, Stanford EJ, Christodoulou S, Madhappan B, Sant GR, et al. Increased numbers of activated mast cells in endometriosis lesions positive for corticotropin-releasing hormone and urocortin. *Am J Reprod Immunol*. 2004;52(4):267-75.
107. Anaf V, Chapron C, El Nakadi I, De Moor V, Simonart T, Noel JC. Pain, mast cells, and nerves in peritoneal, ovarian, and deep infiltrating endometriosis. *Fertility and sterility*. 2006;86(5):1336-43.
108. Hauger RL, Risbrough V, Brauns O, Dautzenberg FM. Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2006;5(4):453-79.
109. Rouwette T, Klemann K, Gaszner B, Scheffer GJ, Roubos EW, Scheenen WJ, et al. Differential responses of corticotropin-releasing factor and urocortin 1 to acute pain stress in the rat brain. *Neuroscience*. 2011;183:15-24.
110. Korosi A, Schotanus S, Olivier B, Roubos EW, Kozicz T. Chronic ether stress-induced response of urocortin 1 neurons in the Edinger-Westphal nucleus in the mouse. *Brain research*. 2005;1046(1-2):172-9.
111. Newham AP, van der Spuy ZM, Nugent F. Laparoscopic findings in women with chronic pelvic pain. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 1996;86(9 Suppl):1200-3.

112. Panel P, Renouvel F. [Management of endometriosis: clinical and biological assessment]. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*. 2007;36(2):119-28. Prise en charge de l'endométriose: évaluation clinique et biologique.
113. Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, Koninckx PR, Garry R. Laparoscopic surgery for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane database of systematic reviews*. 2009(4):CD001300.
114. Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, Farquhar C, Koninckx PR, Olive D. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane database of systematic reviews*. 2010(1):CD001398.
115. Practice Committee of American Society for Reproductive M. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Fertility and sterility*. 2008;90(5 Suppl):S260-9.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Avaliação prospectiva da folistatina, urocortina e metastina como potenciais marcadores séricos de endometriose pélvica

Prezada Senhora,

Gostaria de convidá-la a participar de um estudo científico que tem a finalidade de gerar novos conhecimentos sobre a endometriose e outras doenças do ovário.

I. INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Esta pesquisa visa ao estudo de novos testes para detectar alterações hormonais no sangue de mulheres com endometriose, na tentativa de se descobrirem novos testes para o diagnóstico da doença. Como a endometriose pode acometer pessoas sem sintomas, e também pode ser confundida com outras doenças, estudaremos também pessoas sadias que pretendem fazer ligadura de trompas, assim como pessoas que serão operadas de cisto de ovário (de qualquer tipo).

II. SIGILO DOS DADOS

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.

III. BENÉFICIOS DA PESQUISA

Este estudo trará informações que poderão beneficiar muitas mulheres no futuro. O conhecimento de algumas alterações hormonais associadas à endometriose poderá ajudar no desenvolvimento de novos métodos para diagnosticar e monitorar a doença.

IV. RISCOS

A coleta de amostras de sangue periférico (10 ml, volume equivalente a duas colheres de sopa) pode causar pequeno desconforto no local da coleta e, eventualmente, uma pequena mancha (hematoma) que desaparece naturalmente. O sangue será colhido em material inteiramente estéril e descartável, que não oferece risco para a sua saúde.

V. RESSARCIMENTO DAS DESPESAS

Não está prevista qualquer forma de remuneração para as voluntárias, nem ressarcimento de despesas. Entretanto, as despesas específicas relacionadas com o estudo são de responsabilidade dos pesquisadores.

VI. DEMAIS ESCLARECIMENTOS

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante a pesquisa. 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.

VII. 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

Telefone do pesquisador:
(31) 3248-9484 - Prof. Fernando M. Reis

Telefone do COEP:
(31) 3499-4592

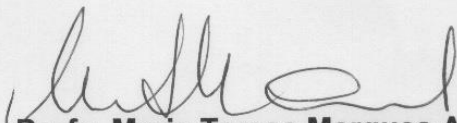
Parecer nº. ETIC 455/07

Interessado(a): Prof. Fernando Marcos dos Reis
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 20 de dezembro de 2007, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação prospectiva da folistatina, urocortina e metastina como potenciais marcadores séricos de endometriose pélvica**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG


FOLHA DE APROVAÇÃO

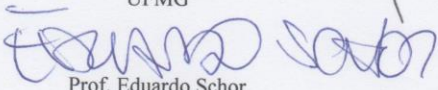
"Avaliação prospectiva da urocortina como potencial marcador sérico de endometriose pélvica"

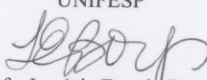
LAURA MARIA ALMEIDA MAIA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PATOLOGIA GINECOLÓGICA E REPRODUÇÃO.

Aprovada em 28 de junho de 2013, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Fernando Marcos dos Reis - Orientador
UFMG


Prof. Eduardo Schor
UNIFESP


Prof. Lavinia Estrela Borges
HC-UFMG

Belo Horizonte, 28 de junho de 2013.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA

LAURA MARIA ALMEIDA MAIA - 2011656324

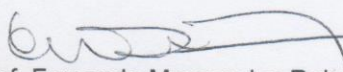
Realizou-se, no dia 28 de junho de 2013, às 09:00 horas, Sala 526 - 5º andar da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada "*Avaliação prospectiva da urocortina como potencial marcador sérico de endometriose pélvica*", apresentada por LAURA MARIA ALMEIDA MAIA, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Fernando Marcos dos Reis - Orientador (UFMG), Prof. Eduardo Schor (UNIFESP), Profa. Lavínia Estrela Borges (HC-UFMG).


A Comissão considerou a dissertação:

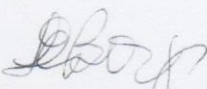
- Aprovada
 Aprovada condicionalmente, sujeita a alterações, conforme folha de modificações, anexa
 Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 28 de junho de 2013.


Prof. Fernando Marcos dos Reis
Doutor - UFRGS


Prof. Eduardo Schor
Doutor - UNIFESP


Profa. Lavínia Estrela Borges
Doutora - Università degli Studi di Siena

CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG