

MAURO FERNANDO KÜRTEH IHLENFELD

**DETERMINAÇÃO DE CITOCINAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL
DA ENDOMETRIOSE PERITONEAL MÍNIMA E LEVE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, área de Ginecologia, para obtenção do título de Doutor

Orientador: Prof. Adjunto Rogério Dias

**BOTUCATU - SP
2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MAURO FERNANDO KÜRTEH IHLENFELD

**DETERMINAÇÃO DE CITOCINAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL
DA ENDOMETRIOSE PERITONEAL MÍNIMA E LEVE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, área de Ginecologia, para obtenção do título de Doutor

Orientador: Prof. Adjunto Rogério Dias

**BOTUCATU - SP
2007**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus

Ihlenfeld, Mauro Fernando Kürten.

Determinação de citocinas no diagnóstico laboratorial da endometriose peritoneal mínima e leve / Mauro Fernando Kürten Ihlenfeld. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2007.

Orientador: Rogério Dias

Assunto CAPES: 40101150

1. Endometriose - Diagnóstico 2. Endométrio - Doenças

CDD 618. 14

Palavras chave: Citocinas; Endometriose; Imunologia; Videolaparoscopia

“O QUE SABEMOS É UMA GOTA, O QUE IGNORAMOS É UM OCEANO”

Isaac Newton
(1643-1727)

Dados Curriculares



DADOS CURRICULARES

MAURO FERNANDO KÜRTEH IHLENFELD

Nascimento: 20 de maio de 1971, Curitiba, Paraná

Nacionalidade: brasileira

Filiação: Valdemar Ihlenfeld e Teresinha Kürten

FORMAÇÃO

- 1990 - 1995 Graduação em Medicina, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- 1996 - 1998 Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- 2002 - 2004 Mestrado em Ginecologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, sob orientação do Prof. Dr. Rogério Dias.

TÍTULOS E QUALIFICAÇÕES

- 2001 Especialista em Ginecologia e Obstetrícia, FEBRASGO – Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (TEGO nº 472/2001).
- 2002 Habilitação em Histeroscopia nº 044/2002 e Laparoscopia em Ginecologia e Obstetrícia nº 061/2002, FEBRASGO - Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia.
- 2004 - Médico Ginecologista, Departamento de Ginecologia,
2005 Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

- 2005 - Médico Ginecologista, Departamento de Serviços de
2007 Saúde, Secretaria de Estado da Saúde do Paraná – SESA,
Curitiba, Paraná.
- 2005 - Médico Ginecologista e sócio proprietário, Íntegra Medicina
2007 Especializada Ltda., Curitiba, Paraná.

Dedicat6rias



À minha esposa e companheira **Wanessa**
que sempre me incentivou e acompanhou
nessa longa e cansativa jornada.

Aos meus pais **Teresinha e Valdemar**
que, com dedicação, persistência e amor, orientaram-me
e incentivaram a concluir mais essa etapa de vida.

À minha tia **Elvira**,
minha segunda mãe ("timãe"), sempre presente nos momentos
mais importantes da minha vida.

Aos meus irmãos **Ricardo, Carlos e Guilherme**
que sempre serviram como exemplo e colaboraram
para a minha formação.

Ao meu padrasto **Ernst**,
meu segundo pai, exemplo de retidão, que proporcionou
as bases para minha vida profissional.

Agradecimento Especial



Ao orientador desta tese,

Professor Adjunto Rogério Dias

que, com sua amizade, experiência e dedicação sempre incentivou-me e orientou-me para a realização deste trabalho, proporcionando-me grandes oportunidades e valiosas lições de vida.



Homemag, em Postuma.



Ao Professor Dr. Francesco Antonio Viscomi (*in memoriam*),
responsável por minha iniciação na Endoscopia Ginecológica,
que, com sua amizade, confiança e liderança científica,
apresentou-me o estado da arte na atuação profissional.

Agradecimentos



Aos **Professores** do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia,
Obstetrícia e Mastologia
da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP
que, com dedicação e competência, transmitiram valiosos
conhecimentos para a concretização desta meta.

Às **Pacientes** do ambulatório do Setor de Endoscopia Ginecológica
e Planejamento Familiar do Hospital das Clínicas da
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP,
que tornaram possível a realização desta pesquisa.

A realização deste trabalho somente foi possível graças à colaboração direta ou indireta de muitas pessoas e, de forma particular, o meu reconhecimento:

À *Prof.^a Dra. Marilza Vieira Cunha Rudge*, Pró-Reitora de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP e ao *Prof. Adjunto Rogério Dias*, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, pela viabilização do auxílio financeiro concedido pela PROAP/Capes para a aquisição dos *kits* para a determinação das citocinas utilizadas nesta pesquisa.

À *Prof. Dra. Maria Terezinha Serrão Peraçoli* e à *Dra. Erika Takahashi Nakaira*, do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP - Campus de Botucatu, pela enorme contribuição na orientação das análises imunológicas, na recepção do material e determinação das dosagens de citocinas.

Ao *Prof. Dr. José Eduardo Corrente*, do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, pela assessoria estatística, análise dos dados obtidos e pelas sugestões sempre pertinentes.

Ao *Prof. Dr. Adriano Dias*, Coordenador do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelas orientações à elaboração dos processos de solicitação de auxílio financeiro às agências de fomento à pesquisa.

À Sra. *Rita de Cássia A. Hellodoro*, analista de custos do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela pronta realização do orçamento financeiro e da tomada de preços para a aquisição do material utilizado na pesquisa.

Aos colegas *Dr. Nilton José Leite* e *Dr. Flávio Ferreira Fernandes*, pela amizade e grande contribuição na coleta de espécimes para a realização deste trabalho.

Aos **funcionários** da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, especialmente à *Regina Célia Spadin*, *Lilian Nadal Bianchi Nunes* e *Nathanael Pinheiro Salles* pela sua amizade, competência e presteza no auxílio à resolução de problemas institucionais.

Aos **funcionários** do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, em especial à *Cristiane Abe* pela editoração gráfica e impressão deste trabalho.

À **Bibliotecária** *Selma Maria de Jesus*, da Biblioteca Central do Campus de Botucatu – UNESP, pela pronta elaboração da ficha catalográfica desta publicação.

Aos **médicos residentes** do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, especialmente os *Drs. Bráulio Sanches de Oliveira Zorzella*, *José Joaquim Gomes Nabuco* e *Anny Karina Perasso Fonseca* pela grande contribuição na coleta e encaminhamento das amostras.

À *Prof.^a Dra. Eliana Marisa Ganem* e aos **médicos residentes** do Serviço de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pelo auxílio na coleta e identificação das amostras obtidas durante os procedimentos cirúrgicos.

A **todos os colegas** do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu -

UNESP, que contribuíram com o estímulo para a conclusão deste trabalho.

À *Prof. Gilda Maria Mercer Dotti*, pela revisão ortográfica e gramatical do texto.

À queles que involuntariamente omitimos
e que nos auxiliaram de alguma forma
- a certeza de que este fato -
não diminui a nossa
gratidão.



Sumário



Sumário

Resumo.....	22
Abstract	24
1 Introdução	26
2 Objetivos	44
3 Pacientes e Métodos	47
3.1 Tipo de estudo	47
3.2 População de estudo	48
3.3 Local de realização do estudo	49
3.4 Critérios de inclusão	49
3.5 Critérios de exclusão	50
3.6 Coleta de dados	51
3.7 Descrição dos procedimentos	53
3.8 Dosagem laboratorial das citocinas	58
3.8.1 Dosagem laboratorial da leptina	58
3.8.2 Dosagem laboratorial da interleucina-6	60
3.8.3 Dosagem laboratorial do fator de necrose tumoral alfa	60
3.9 Análise estatística	61
3.10 Aspectos éticos	63
4 Resultados.....	66
5 Discussão	90
5.1 Considerações gerais	90
5.2 Discussão dos resultados	95
6 Conclusões	105
7 Referências Bibliográficas	108
Anexos.....	124



RESUMO.



Resumo

As dosagens da leptina, da interleucina-6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foram avaliadas no diagnóstico da endometriose peritoneal mínima e leve (estádios I e II – *American Society for Reproductive Medicine*). Participaram, deste estudo prospectivo e caso-controle, 29 mulheres, em idade reprodutiva, submetidas a videolaparoscopia. O grupo de estudo foi composto por 15 pacientes em investigação de esterilidade conjugal ou dor pélvica crônica (grupo E) e o grupo controle por 14 mulheres assintomáticas encaminhadas para realização de ligadura tubária (grupo C). Foram coletadas amostras de sangue periférico e líquido peritoneal para a dosagem laboratorial das citocinas determinadas por meio de testes ELISA. No soro, não se observou diferenças significantes nas amostras de leptina, de IL-6 e do TNF- α entre os grupos estudados ($p>0,05$). No líquido peritoneal, houve diferenças significantes nas dosagens da leptina e do TNF- α entre os grupos estudados ($p<0,05$); não havendo diferenças significantes para as amostras de IL-6 ($p>0,05$). No líquido peritoneal, há evidências da possibilidade da utilização da leptina e do TNF- α no diagnóstico da endometriose mínima ou leve, na amostra estudada.

Palavras-chave: Endometriose; imunologia; videolaparoscopia; citocinas.

Abstract



Abstract

The levels of leptin, interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) were evaluated as a diagnostic tool for minimal and mild peritoneal endometriosis (stages I and II – American Society for Reproductive Medicine). The subjects of this prospective, case-control study were 29 women of reproductive age, who underwent laparoscopy. Subjects of the study-group were 15 women under investigation of infertility or chronic pelvic pain (E-group) and controls were patients with no symptoms in which tubal ligation would be performed (C-group). In all these patients were collected samples of peripheral blood and peritoneal fluid, in order to determine cytokine levels employing ELISA tests. There were no statistical differences of the sera on the studied groups concerning the levels of leptin, IL-6 and TNF- α ($p > 0.05$). There were statistical differences in the peritoneal fluid of the studied groups, concerning the levels of leptin and TNF- α ($p < 0.05$) but not for IL-6 ($p > 0.05$). There is an evidence of using leptin and TNF- α in the peritoneal fluid as a diagnostic tool for minimal and mild endometriosis.

Keywords: Endometriosis, immunology, laparoscopy, cytokines.



Introdução



1. Introdução

A maioria dos estudos credits a Von Rokitanski, em 1860, a primeira descrição da endometriose como uma entidade patológica¹. No entanto, Daniel Schroen relatou em 1690, no livro *Disputatio Inauguralis Medica de Ulceribus Ulceri*, a primeira descrição detalhada da endometriose, sob a forma de ulcerações localizadas na superfície da bexiga, intestinos e útero que tinham a tendência de formar aderências entre si². Em 1896, Cullen sugeriu que o endométrio ectópico reagia, exatamente, da mesma maneira que a mucosa uterina, possuindo epitélio, estroma e glândulas¹.

Em 1925, John Sampson considerou o termo endometriose mais adequado para descrever a presença do endométrio localizado na parede uterina (até então chamado de müllerianose), sob a forma de implantes peritoneais e extraperitoneais, com localizações similares à disseminação maligna, e no sítio cirúrgico de intervenções pélvicas³. Naquela ocasião, Sampson concluiu que a invasão e a disseminação do tecido endometrial benigno utiliza os mesmos canais da invasão e disseminação do câncer³. Dois anos após, o mesmo autor publicou outro trabalho no qual sugeria que a menstruação retrógrada fosse a responsável pela disseminação do tecido endometrial fora da cavidade uterina⁴. Em 1960, Roddick *et al.* relataram que, em 70% das pacientes estudadas, os focos ectópicos e a mucosa do endométrio eram histologicamente similares⁵. Em 1967, Novak e Wooddruff descreveram as diferenças na diferenciação para imaturidade celular ou na degeneração dos focos endometrióticos⁶.

A endometriose é definida como a presença de implante ectópico, extra-uterino, de glândulas e/ou estroma endometriais¹, ou seja, representa uma condição na qual um tecido com estrutura histológica e resposta fisiológica da mucosa uterina, ocorre em locais que não o útero, principalmente na pelve⁷. Certamente é a doença, supostamente, benigna mais enigmática que afeta a mulher em idade reprodutiva. Embora não sendo uma doença maligna, a endometriose demonstra proliferação celular, invasão celular e neoangiogênese⁸.

A endometriose é considerada como uma das doenças ginecológicas benignas mais comuns na idade reprodutiva da mulher, tendo sido a terceira causa ginecológica de internação nos Estados Unidos da América⁹. Naquele país, 50% das pacientes que relataram serem portadoras de endometriose, necessitaram repouso ao leito por pelo menos um dia ao ano, com média de 17,8 dias de restrição ao leito por ano¹⁰.

Estudos sugerem uma prevalência de 0,5 a 5% em mulheres férteis e de 25 a 40% em inférteis¹¹⁻¹³. Estudos de coorte demonstraram que a mesma pode estar presente em cerca de 10% na idade reprodutiva a partir de achados cirúrgicos em mulheres que não apresentavam sintomas¹² e em estudos caso-controle bem selecionados¹³⁻¹⁵. A incidência de endometriose é estimada em 160 casos para uma população de 100.000 mulheres-ano entre 15 a 49 anos, podendo variar de 17 casos em 100.000 mulheres-ano de 15 a 19 anos de idade, até 285 casos em 100.000 mulheres-ano entre 40 e 44 anos de idade^{14,15}.

Estudos prospectivos com mulheres assintomáticas submetidas a ligadura tubária selecionadas aleatoriamente, com idade média de 37 anos, demonstraram prevalência de 18 até 22%¹⁶. Dada a impossibilidade de estabelecer o diagnóstico na população geral, os resultados de prevalência e incidência são potencialmente prejudicados pela necessidade de intervenção cirúrgica por via laparotômica ou

laparoscópica, seguida por biópsia para diagnóstico definitivo, comprometendo a seleção de sujeitos do estudo⁸. Outra questão que se apresenta na prevalência da endometriose está relacionada às lesões atípicas e seu significado como representativo ou não da doença. Áreas de peritônio com aspecto macroscópico normal e que o estudo histológico revela endometriose, trazem dúvidas quanto a real prevalência de endometriose¹⁴.

Em estudo de revisão sobre a epidemiologia da endometriose, a idade é a única característica sócio-demográfica observada com correlação fortemente positiva^{9,14}. Também foram demonstrados como fatores de risco a menarca precoce e ciclos menstruais curtos¹⁴. Por outro lado, multíparas têm menor risco de desenvolvimento de endometriose¹⁵. Em relação ao índice de massa corporal, observou-se maior risco de endometriose em mulheres altas e magras¹⁴. Com evidências menos consistentes, também foi observado maior risco em mulheres brancas e menor risco em tabagistas¹⁴.

Estudos demonstram incidência maior de endometriose em mulheres inférteis do que em mulheres férteis. De acordo com o avanço da doença, ocorrem alterações anatômicas que determinam a perda da fertilidade, nos estádios mais avançados². Porém, considerando-se os estádios mais precoces da endometriose, a correlação com a infertilidade ainda é controversa^{17,18}. Outros estudos demonstram que a nuliparidade prolongada predispõe ao risco de endometriose¹⁴. Portanto,

a exposição prolongada e ininterrupta à menstruação tem sido relatada como fator de risco para endometriose em mulheres inférteis¹⁵. Laparoscopias repetidas em mulheres com infertilidade secundária e com laparoscopia normal realizada previamente, demonstraram frequência de 12 a 20% de endometriose¹⁹. Como a infertilidade existia anteriormente, é questionável que a endometriose causasse infertilidade nessas mulheres¹⁴.

Há uma prevalência maior de endometriose em parentes de primeiro grau de mulheres portadoras, quando comparadas à população geral, com recorrência de 5 a 7%, devido à hereditariedade poligênica multifatorial^{20,21}. Embora seja, primariamente, uma doença da idade reprodutiva, ela pode ser encontrada na adolescência e também na pós-menopausa¹⁴.

A endometriose pode cursar com quadro de dismenorréia, dor e infertilidade. No entanto, os sintomas de pacientes com endometriose são extremamente variados, não havendo associação entre o estágio, a localização ou características morfológicas da lesão²². Em relação à profundidade, as lesões de endometriose profunda estão fortemente associadas à dor pélvica²³. Em outras ocasiões, a endometriose pode ser assintomática, diagnosticada por meio de um achado cirúrgico de investigação de outras patologias¹².

O diagnóstico de endometriose pode ser suspeitado por meio da história clínica e exame pélvico-ginecológico, além de exames

complementares como ultra-sonografia e ressonância magnética²⁴. Mesmo com quadro clínico sugestivo, o diagnóstico é habitualmente firmado por meio da videolaparoscopia, indicada pela presença de dor pélvica crônica ou infertilidade, embora essa patologia possa ser encontrada em pacientes assintomáticas²⁵. A visualização de lesões típicas ou atípicas determina os locais para realização de biópsias peritoneais para o estudo anátomo-patológico, que determina seu diagnóstico definitivo²⁶.

As lesões típicas são caracterizadas pela coloração escura tipo “chamuscado de pólvora”. Essas lesões negras resultam de sangramentos cíclicos e retenção do pigmento sangüíneo refletindo a cor da lesão, responsável por sua aparência típica. Jansen e Russell (1986) descreveram outras características visuais de lesões como opacificações peritoneais, lesões vermelhas em “chama de vela”, excrescências glandulares, aderências subovarianas e lesões amarelo-pardacentas, denominando-as como “não pigmentadas” ou simplesmente atípicas²⁷. Outros aspectos importantes incluem lesões polipóides avermelhadas, lesões de hipervascularização, lesões petequiais, opacificações esbranquiçadas, aderências e defeitos peritoneais²⁷. As lesões atípicas tendem a ser mais freqüentes, conforme os relatos de Redwine (1987) que encontrou lesões típicas em 60% e atípicas em 66% entre 137 pacientes portadoras de endometriose²⁸.

As lesões da endometriose peritoneal de acordo com sua cor são classificadas em negras, vermelhas e brancas^{29,30}. Os implantes endometrióticos variam de ativos a inativos e estes estágios podem ser reconhecidos visualmente²⁹.

Nisolle *et al.* (1993) concluíram que as lesões vermelhas são ativas e podem representar o estágio inicial da implantação da lesão³⁰. As lesões vermelhas costumam se localizar mais frequentemente nos ligamentos largos e nos útero-sacros³⁰. A aparência laparoscópica costuma ser de uma lesão superficial com coloração e translucência semelhante à mucosa endometrial vista durante um exame histeroscópico²⁹. As lesões vermelhas também podem ser representadas por áreas peritoneais de hiper-vascularização e petéquias e costumam localizar-se na reflexão vésico-uterina e no ligamento largo^{29,30} (Figura 1).

Em contraste com as anteriores, as lesões negras demonstram inatividade e formas regressivas. A progressiva descamação menstrual, provocaria uma reação inflamatória com escarificação local. A presença de debris menstruais circunscritos numa área de peritônio é responsável pela aparência negra típica^{29,30} (Figura 2).

As lesões brancas têm aparência de opacificações peritoneais e habitualmente são lesões mais espessas³⁰. Outro aspecto é representado pelas aderências, que ao contrário das seqüelas de salpingite ou peritonite, têm localização entre o ovário e o peritônio na fosseta ovárica^{29,30} (Figura 3).



Figura 1 – Lesão vermelha



Figura 2 – Lesão negra



Figura 3 – Lesão branca

Por ser uma doença enigmática, os efeitos da endometriose, com frequência, podem ser psicologicamente debilitantes, especialmente devido a erros de diagnóstico e o tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico definitivo¹⁴. Nos Estados Unidos da América e no Reino Unido, o tempo médio do diagnóstico definitivo da endometriose foi de 11,7 e 7,9 anos respectivamente³¹. No Brasil, o tempo médio para diagnóstico foi de 7 anos, podendo chegar a 12,1 anos em pacientes com menos de 19 anos de idade³¹.

A necessidade da realização da videolaparoscopia para o diagnóstico definitivo da endometriose tem como consequência a grande demora na instituição do tratamento apropriado em pacientes portadoras de dor pélvica crônica e infertilidade. Este fato se deve à grande demanda para a realização da videolaparoscopia em nosso meio, bem como os altos custos com equipamentos e instrumental necessário e ao longo período de formação de profissionais especializados na área. No entanto, de acordo com recente e extensa revisão sistemática de 16 estudos, a cirurgia laparoscópica, no tratamento da endometriose mínima ou leve, demonstrou melhorar as taxas de gravidez³².

Várias teorias têm sido aventadas para explicar a endometriose. A etiologia da endometriose está distante de ser explicada, apesar de inúmeros trabalhos que foram realizados nas últimas décadas.

A teoria do refluxo menstrual foi proposta por John Sampson, em 1927, que observou células endometriais regurgitadas

através das trompas durante a menstruação⁴. As condições que reforçam esta teoria são representadas pela distribuição das lesões dentro da cavidade peritoneal³³, pela demonstração da viabilidade do endométrio menstrual em cultura de tecido³⁴, pelas características imunohistoquímicas do endométrio retrógrado e por sua similaridade com o endométrio *in situ*³⁵, pela capacidade de aderência e proliferação das células obtidas do fluido peritoneal durante a fase folicular precoce³⁶, pela alta prevalência de endometriose em mulheres com obstrução congênita do fluxo menstrual³⁷ e em animais de experimentação, nos quais a endometriose foi induzida com a criação de fístulas útero-pélvicas¹⁹.

No início da década de 80 iniciaram-se inúmeras pesquisas sobre o tecido ectópico e a endometriose propriamente dita. Alguns autores referiram que o tecido endometrial ectópico reagia de forma cíclica semelhante ao endométrio normal^{12,38}. No entanto, em recente e ampla revisão da literatura, observou-se que a endometriose difere em várias características do endométrio eutópico, incluindo-se a origem clonal das células, a atividade enzimática, a expressão protéica, além de características histológicas e morfológicas³⁹. Embora a teoria do refluxo seja a mais aceita para a explicação da patogênese da endometriose, nem todos os aspectos da doença podem ser explicados pela mesma.

A hipótese da teoria da metaplasia celômica foi proposta por Meyer em 1919, que descreveu que a membrana celômica original

sofria uma metaplasia formando glândulas endometriais e estroma. A teoria metaplásica pode explicar os casos de endometriose em que a teoria do refluxo não se aplica como na síndrome de Rokitanski-Küster-Hauser⁴⁰ e em homens com câncer de próstata submetidos a tratamento estrogênico⁴¹. A teoria do desenvolvimento de endometriose peritoneal, por intermédio do processo metaplásico, é consistente pelo conhecido potencial mülleriano do peritônio. A metaplasia endometrial da serosa do peritônio pode constituir-se numa explicação adicional sem se opor à teoria do refluxo. Células endometriais ou produtos destas, podem estimular a metaplasia, após terem sido transportadas para um local suscetível dentro da cavidade abdominal.

Em 1980, Weed e Argembourg cogitaram a hipótese da participação auto-imune na endometriose, sugerindo que o endométrio ectópico apresenta resposta imunológica com a constatação de depósito de complemento C3 e imunoglobulina IgG no endométrio tópico de pacientes com endometriose⁴². Steele *et al.* (1984) relataram a redução da resposta imunológica contra as células endometriais autólogas³⁴. A capacidade de o peritônio reagir ao material regurgitado, por meio de sua destruição e remoção, constitui o mecanismo pelo qual se impede a implantação de células endometriais, e a subsequente evolução para a lesão endometriótica. Atualmente, sugere-se que uma resposta inadequada deste mecanismo seja um fator facilitador para o desenvolvimento da endometriose. Fatores imunológicos têm sido objeto

de muitos estudos a esse respeito, embora tenha sido relatado que não existe aumento na frequência de desordens imunológicas em pacientes com endometriose⁴³.

Dmowski *et al.* (1995) observaram que as células principais, envolvidas no desenvolvimento e perpetuação da endometriose, são as da linhagem monocítico-macrofágica, cujos efeitos adversos podem ser de citotoxicidade às células endometriais ou de proliferação das mesmas⁴⁴. Na endometriose ocorre a produção de várias citocinas, que são fatores solúveis com função imuno-reguladora, ativadora ou supressora.

Dentre as principais citocinas envolvidas na patogênese da endometriose e que apresentam concentração elevada no fluido peritoneal de portadoras da doença, podemos citar: o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), as interleucinas, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), as matrizes-metaloproteases (MMP), a proteína quimiotática dos monócitos (MCP-1), o fator inibidor de migração de macrófagos, o peptídeo epitelial ativador de neutrófilos (ENA-78) e a leptina⁴⁵.

O fator de necrose tumoral (TNF) exerce papel central no processo inflamatório e estimula a proliferação de tecidos, como o endométrio, podendo contribuir para a produção de proteínas da fase aguda inflamatória, levando à inflamação ou necrose das lesões de endometriose^{45,46}. O principal fator de necrose tumoral é a fração alfa

(TNF- α), a qual é produzida pelos neutrófilos, linfócitos ativados, macrófagos, células *natural-killers* (células NK) e várias células não-hematopoiéticas⁴⁷. O TNF- α tem como função primordial iniciar a cascata de citocinas e outros fatores associados à resposta inflamatória⁴⁷.

A interleucina-6 (IL-6) promove a diferenciação de linfócitos B em células produtoras de anticorpos, sendo também responsável pela produção de complexos imunes e auto-anticorpos^{45,48}. A IL-6 é considerada um regulador do processo inflamatório, podendo exercer uma interação fisiológica entre os sistemas imunológico e endócrino⁴⁷. Esta citocina é produzida por monócitos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, células musculares lisas vasculares, pelo epitélio endometrial, pelo estroma endometrial, além de glândulas endócrinas⁴⁷. Acredita-se que a resposta à IL-6 dos macrófagos peritoneais e das células endometriais estromais esteja alterada em pacientes portadoras de endometriose⁴⁷.

De forma associada, o aumento do TNF- α e a IL-6 no fluido peritoneal estão correlacionadas com o número e a extensão das lesões vermelhas da endometriose peritoneal^{49,50}. Em recente publicação, autores descreveram a possibilidade de detectar pacientes com endometriose e livres da doença por intermédio da medida do IL-6 sérico e do TNF obtido no fluido peritoneal, porém são necessários estudos com maior número de casos^{45,46,50}.

A interleucina-8 (IL-8) apresenta atividade trombogênica e fortemente angiogênica⁵¹, favorecendo o implante da célula endometrial ectópica, induz quimiotaxia de neutrófilos, contribuindo para o acúmulo de células inflamatórias nestas lesões^{44,52}. Esta citocina está aumentada no fluido peritoneal de portadoras de lesões vermelhas na fase lútea⁵³, sendo diretamente proporcional à severidade das lesões⁵².

A IL-8 associada a MCP-1 e à expressão do gene RANTES (proteína secretada e expressada de células T normais reguladas sobre ativação) estão aumentadas no fluido peritoneal de pacientes com endometriose⁵⁴, no entanto, diminuem sua concentração em estágios avançados⁴⁷. A interleucina-1 (IL-1) possui como função principal ativar a resposta imunológica específica, por intermédio da iniciação da transcrição do gene RANTES⁵⁵.

As interleucinas 10, 12 e 15 também têm concentração aumentadas no fluido peritoneal de portadoras de endometriose^{45,56,57}, esta última, inversamente proporcional ao estágio clínico⁵⁷.

A interleucina-13 (IL-13), por sua vez, tem a capacidade de inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias em monócitos e macrófagos ativadas, além de ser potente reguladora dessas células. Sua concentração encontra-se diminuída no fluido peritoneal de portadoras de endometriose, justificando a presença de grande quantidade de macrófagos ativados neste meio⁵⁶. Também estão diminuídas as concentrações de IL-2 e IL-18 no líquido peritoneal destas pacientes⁵⁸.

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é uma das moléculas identificadas como indutora da angiogênese e promove o crescimento do endotélio, aumenta a permeabilidade vascular e modula a secreção de enzimas proteolíticas ligadas à angiogênese⁵⁹. No entanto, apesar da atuação do VEGF na implantação de lesões endometrióticas, não há correlação da doença com os níveis séricos desta substância⁶⁰.

As matrizes-metaloproteases (MMP) são uma família de enzimas zinco dependentes, capazes de degradar os componentes da matriz extracelular. Esta é importante para manter a integridade estrutural, além de orientar o desenvolvimento e morfogênese celular, influenciando na proliferação, migração e adesão entre as células⁵⁹. Os níveis de MMP plasmáticos e no fluido peritoneal estão correlacionados positivamente com as concentrações de 17- β -estradiol e negativamente com a progesterona, sugerindo, respectivamente, a existência do estímulo à formação e a inibição da formação da endometriose⁶¹.

Inicialmente descrita como um hormônio anti-obesidade, a leptina também é descrita como uma citocina do tipo 1, sendo capaz de influenciar na hematopoiese, na maturação celular, na termogênese, na reprodução, na angiogênese e na homeostase do sistema imunológico⁶². Tem ligação com o estado nutricional e na resposta imunológica do linfócito pró-inflamatório T-*helper*-1. Seu decréscimo plasmático durante a privação alimentar prejudicaria a função imunológica⁶³.

O aumento da concentração de leptina, em pacientes com endometriose, parece executar uma ação anti-apoptose em células endometriais estromais na cavidade peritoneal, estimulando a implantação de células endometriais, além de favorecer a infertilidade pela inibição da decidualização estromal⁶⁴. A leptina deve ser induzida pela presença de citocinas inflamatórias no fluido peritoneal, e por sua vez, induz a produção de matriz-metaloproteinases⁶⁵.

A concentração de leptina está aumentada no líquido peritoneal em mulheres com endometriose, mas diminuída com a progressão da doença⁶⁵. No entanto, anteriormente, não foi possível confirmar esta hipótese⁶⁶.

Várias teorias têm sido propostas para explicar como a endometriose leve pode causar infertilidade, especialmente no campo da teoria imunológica^{66,67}. Até o presente momento, não há mecanismo causal evidenciado entre a endometriose inicial e a infertilidade. Estudos mostram que as alterações imunológicas na endometriose mínima e leve, atualmente, podem ser essenciais para o processo de eliminação do endométrio ectópico, podendo ser relevantes para causar a esterilidade conjugal⁶⁸. A carência da citotoxicidade macrofágica parece estar associada com doença mais avançada e sugere-se que o aumento da citotoxicidade macrofágica na endometriose leve pode limitar o crescimento das células endometriais ectópicas⁶⁶.

Portanto, existe a necessidade de novas pesquisas no campo da patogênese da endometriose, à luz da teoria imunológica, a fim de ser possível a utilização de métodos diagnósticos não invasivos no seu diagnóstico precoce e a conseqüente redução da demanda pela realização da videolaparoscopia⁶⁹. Exames laboratoriais para diagnóstico presuntivo da endometriose devem ser pesquisados com o objetivo de evitar o atraso na detecção da doença e sua progressão, o que acarreta em piora do prognóstico reprodutivo da paciente⁶⁹.

Diante do exposto até o presente momento e, frente aos fatos contraditórios apresentados na literatura, propusemos a realização desta pesquisa.

Objetivos



2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar a utilização das citocinas no diagnóstico da endometriose peritoneal mínima ou leve.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar os níveis da leptina, interleucina-6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no líquido peritoneal.

2. Determinar os níveis da leptina, interleucina-6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no soro.

Pacientes e Métodos



3. Pacientes e Métodos

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de estudo prospectivo, analítico, caso-controle e quantitativo que envolveu 36 mulheres no menacme, em investigação de esterilidade conjugal ou dor pélvica crônica e mulheres assintomáticas encaminhadas para realização de ligadura tubária.

Todas as pacientes incluídas no presente estudo foram atendidas no período de março de 2005 a março de 2006, no ambulatório do Setor de Endoscopia Ginecológica e Planejamento Familiar do

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, e tinham indicação clínica para a realização de videolaparoscopia.

3.2 População de estudo

Nesse estudo, as pacientes foram divididas em dois grupos, assim distribuídos:

- Grupo C (grupo controle): foi composto por 18 pacientes férteis, assintomáticas encaminhadas para realização de ligadura tubária por videolaparoscopia.

- Grupo E (grupo de estudo): foi composto por 18 pacientes em investigação de esterilidade conjugal ou portadoras de dor pélvica crônica, com diagnóstico videolaparoscópico e anátomo-patológico de endometriose peritoneal mínima ou leve (estádios I e II, segundo a classificação atualizada de endometriose da ASRM – *American Society for Reproductive Medicine*)⁷⁰.

3.3 Local de realização do estudo

O estudo foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, tendo como sujeitos da pesquisa as pacientes atendidas do ambulatório do Setor de Endoscopia Ginecológica e Planejamento Familiar da Disciplina de Ginecologia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia.

3.4 Critérios de inclusão

Foram incluídas, no presente estudo, somente pacientes com idade superior a 25 anos. Para o cumprimento dos critérios pré-estabelecidos do grupo C (grupo controle), tais como: pacientes que tinham prole constituída, assintomáticas, saudáveis, sem processos inflamatórios detectáveis clinicamente e que apresentaram solicitação formal de ligadura tubária, conforme o protocolo de atendimento do Setor de Endoscopia Ginecológica e Planejamento Familiar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, tendo assinado ambos os cônjuges a Solicitação para Realização de Ligadura Tubária (Anexo I) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto de pesquisa em questão, para o grupo controle (Anexo II), na ocasião do atendimento ambulatorial.

No grupo E (grupo de estudo), foram incluídas as pacientes encaminhadas para investigação de esterilidade primária ou para investigação de dor pélvica crônica por videolaparoscopia, com suspeita clínica de endometriose mínima ou leve, sem evidências de processos inflamatórios detectáveis clinicamente. As participantes do grupo E assinaram após esclarecimento verbal, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação da pesquisa (Anexo III), na ocasião do atendimento ambulatorial.

3.5 Critérios de exclusão

Foram excluídas, pacientes portadoras de doenças do sistema imunológico correlacionadas à endometriose, tais como, doenças reumáticas ou do tecido conjuntivo e esclerose múltipla¹⁴. Da mesma forma, pacientes com evidências clínicas de processos inflamatórios, usuárias de medicamentos corticosteróides, imunossupressores, hormônios esteróides ou agonistas de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) não participaram do presente estudo.

Foram excluídas do grupo de estudo (grupo E) três pacientes, sendo duas portadoras de dor pélvica crônica, cujos resultados do exame anátomo-patológico não confirmaram o diagnóstico macroscópico de endometriose, evidenciado na ocasião da

videolaparoscopia. Outra paciente portadora de dor pélvica crônica foi excluída do presente estudo por apresentar estadiamento compatível com endometriose moderada.

Do grupo controle (grupo C) foram excluídas quatro participantes. Duas pacientes do grupo C, embora assintomáticas, apresentaram lesões compatíveis com endometriose confirmadas por exame histológico na ocasião da realização da ligadura tubária. Uma paciente foi excluída por extravio do líquido peritoneal coletado e finalmente, uma paciente foi excluída por revogar a aceitação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo controle (Anexo II).

Portanto, o nosso número final de participantes foi de 29 pacientes, sendo 14 no grupo controle (grupo C) e 15 no grupo de estudo (grupo E).

3.6 Coleta de dados

Na ocasião da primeira consulta, no Setor de Endoscopia Ginecológica e Planejamento Familiar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, as pacientes atendidas foram avaliadas de acordo com os critérios de inclusão e exclusão e convidadas a participar do estudo, tendo sido apresentado e aceito o

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para realização do protocolo apresentado a seguir.

Após a aceitação e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação do estudo, foi iniciado o preenchimento do protocolo de atendimento, de acordo com o apresentado no Anexo IV, no qual constam os seguintes dados concernentes às variáveis estudadas:

- Idade
- Origem étnica
- Peso corporal
- Altura
- Índice de massa corporal, obtida a partir da fórmula:

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso}}{\text{Altura}^2}$$

- Data da última menstruação para determinação da fase do ciclo menstrual
- Tabagismo
- Dados vitais (temperatura axilar, pressão arterial e frequência cardíaca)
- Exame físico geral e ginecológico
- Ultra-sonografia transvaginal

- Descrição dos tipos e localização de lesões encontradas
- Biópsias peritoneais das lesões encontradas
- Estadiamento das lesões de endometriose peritoneal segundo a *American Society for Reproductive Medicine*⁷⁰ (Anexo V)
- Dosagem de leptina no soro e no líquido peritoneal
- Dosagem de interleucina-6 (IL-6) no soro e no líquido peritoneal
- Dosagem de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) no soro e no líquido peritoneal

3.7 Descrição dos procedimentos

Todas as pacientes incluídas no presente estudo foram submetidas à coleta de sangue periférico em tubo de ensaio próprio, sem aditivos, para análise das citocinas estudadas antes da punção para acesso venoso para a indução anestésica. O sangue periférico foi corretamente identificado por meio de etiquetas de internação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu e conduzido logo após o término do procedimento ao Departamento de Microbiologia e

Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista - Campus de Botucatu.

Iniciado o procedimento anestésico, a droga utilizada para a indução foi o Propofol, na dose de 1 a 2,5 mg/kg de peso corporal, seguido por intubação orotraqueal e anestesia inalatória em circuito fechado com utilização de mistura gasosa de protóxido e isoflurano.

Conforme realizado rotineiramente, a paciente, ao ser submetida à videolaparoscopia, é colocada em posição semi-ginecológica para proceder à antissepsia com gluconato de clorexidina em solução tópica e à colocação de campos estéreis. Em seguida, é colocado o espéculo de Collin pela via vaginal para a identificação e preensão do colo uterino com pinça de Pozzi para a introdução de manipulador uterino.

É realizada a incisão longitudinal infra-umbilical de 10 a 12 mm de extensão com a utilização de lâmina de bisturi número 11 e introduzida a agulha de Verress sob tração da parede abdominal, a fim de proceder a formação de pneumoperitônio, após proceder todas as manobras de segurança. Finalmente é conectada a mangueira de gás do insuflador Laparoflator[®] (Storz, Tuttlingen, República Federal da Alemanha), e observada a pressão negativa da cavidade abdominal, para o início da introdução de gás carbônico com fluxo de 1 litro por minuto, sendo aumentado após a observação da correta formação do pneumoperitônio, com limite pressórico de 15 mmHg.

Após a estabilização da pressão intra-abdominal, ocorre a introdução do trocáter de 11mm, por onde é introduzido o endoscópio rígido Hopkins II[®] (Storz, Tuttlingen, República Federal da Alemanha) de 10mm de diâmetro e angulação de zero grau, acoplado à fonte de luz Xenon[®] de 300 W (Storz, Tuttlingen, República Federal da Alemanha) e à endocâmera Telecam DX[®] (Storz, Tuttlingen, República Federal da Alemanha), de sensibilidade de 3 lux, com resolução maior que 450 linhas, exposição automática de 1/60 a 1/10.000, cabeçote com controle remoto, rosca tipo C-mount e objetiva de 30mm, após balanço de cores.

Procede-se o inventário da cavidade abdominal e posteriormente realiza-se a introdução de trocáter acessório de 5 mm na fossa ilíaca esquerda e a avaliação da pelve inferior com a utilização de bastão palpador para a mobilização de vísceras e a coleta de 5 a 10 ml de líquido peritoneal do fundo de saco posterior. Após condicionamento do líquido peritoneal em tubo de ensaio próprio, sem aditivos, o material foi corretamente identificado por meio de etiquetas de internação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu e conduzido logo após o término do procedimento ao Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista - Campus de Botucatu.

Todas as pacientes incluídas no presente estudo foram submetidas ao inventário minucioso da cavidade abdominal para a identificação de lesões que apresentassem características de

endometriose peritoneal, especialmente em fossas ovarianas, espaço vésico-uterino e fundo de saco posterior.

As pacientes do grupo E (grupo de estudo), que apresentaram lesões compatíveis com endometriose peritoneal foram submetidas ao estadiamento de acordo com a classificação atualizada da *American Society for Reproductive Medicine*⁷⁰ (Anexo V), biopsiadas e enviadas ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu para confirmação diagnóstica.

As pacientes do grupo C (grupo controle) foram submetidas à ligadura tubária por meio da técnica de coagulação bipolar e subsequente secção do coto coagulado. Na vigência de lesões com características compatíveis com endometriose peritoneal, as mesmas foram estadiadas e biopsiadas, constituindo, assim, critério de exclusão do grupo em questão.

Ao término do procedimento cirúrgico, as amostras de sangue periférico e líquido peritoneal obtidas foram imediatamente encaminhadas ao Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista - Campus de Botucatu.

As pacientes do grupo C (controle) e do grupo E (estudo), foram submetidas rigorosamente ao mesmo procedimento cirúrgico que seriam submetidas, sem que houvesse a participação na pesquisa em questão. No entanto, somente a coleta de sangue periférico para exames

laboratoriais no pré-operatório e a coleta de líquido peritoneal durante a vídeolaparoscopia não fazem parte do atendimento de rotina a essas pacientes .

Considerando que a coleta de sangue periférico também foi realizada para a obtenção dos exames de rotina para a avaliação do risco cirúrgico, não houve risco adicional com a coleta de sangue periférico, na participação deste estudo.

Em relação à coleta de líquido peritoneal, não há evidências de risco adicional com a realização deste procedimento, com a visualização direta, via laparoscópica, pois se trata de procedimento corriqueiro durante a realização da vídeolaparoscopia.

A biópsia peritoneal consiste na excisão de pequeno fragmento de peritônio, sob visão vídeolaparoscópica, o que pode acarretar em pequeno sangramento local, facilmente controlado com a cauterização de seu leito, sempre afastado de estruturas nobres, como vísceras e nervos.

Portanto, os riscos foram, incomparavelmente, menores que o benefício de procurar obter dados científicos da evidência de exames laboratoriais úteis para o diagnóstico precoce da endometriose mínima e leve, evitando-se a utilização de um procedimento cirúrgico oneroso e com grande demanda reprimida em nosso meio, como a vídeolaparoscopia, para seu diagnóstico.

3.8 Dosagem laboratorial das citocinas

As amostras de sangue e de líquido peritoneal coletadas respectivamente, antes e durante a videolaparoscopia, foram, imediatamente após o procedimento cirúrgico, encaminhadas ao Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu. Após a recepção das amostras, foi procedida a centrifugação para a eliminação de células e obtenção do soro, e posteriormente identificadas e armazenadas à temperatura de 70° Celsius negativos. A armazenagem permitiu a determinação da dosagem das citocinas do presente estudo sob as mesmas condições de temperatura ambiente e metodologia descritas a seguir.

3.8.1 Dosagem laboratorial da leptina

A pesquisa da leptina foi realizada por meio da técnica de ELISA, utilizando-se *kits* Quantikine® (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América). As concentrações dos anticorpos, utilizadas nas reações, foram as recomendadas pelo fabricante. As amostras e os reagentes recombinantes foram adicionados aos orifícios da microplaca contendo o anticorpo monoclonal de camundongo anti-leptina humana

(R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América). Após 2 horas de incubação em temperatura ambiente os orifícios foram lavados quatro vezes com 300 µl de tampão fosfato pH 7,2 (PBS), contendo Tween 20 a 0,05% (PBST), sendo adicionado o anticorpo revelador policlonal de coelho anti-leptina conjugado com biotina (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América) em PBS contendo 0,1% de soro albumina bovina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos da América).

Após duas horas de incubação em temperatura ambiente, seguiu-se nova lavagem da placa por quatro vezes com PBST e incubada com estreptoavidina conjugada com peroxidase (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos da América), na concentração de 2 µg/ml por 60 minutos a 37°C. A placa foi novamente lavada por quatro vezes com PBST e foi adicionado 100 µl do substrato enzimático, constituído por 12,5 ml de tampão citrato-fosfato 0,1M e pH 5,0 contendo 1 mg/ml do revelador ortofenilenodiamina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos da América) e 10 µl de H₂O₂ a 30% (Sigma Chemical Co., St. Louis, Estados Unidos da América). As placas foram incubadas em temperatura ambiente por 30 minutos e a reação foi bloqueada pela adição de 50 µl de ácido sulfúrico 2M e a leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA (Multiskan) com comprimento de onda de 450 nm. Os níveis de leptina no sobrenadante de cultura de monócitos foram calculados, utilizando-se curva padrão, obtida com leptina recombinante

humana (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), em concentrações variando de 15,6 a 2.000 pg/ml.

3.8.2 Dosagem laboratorial da interleucina-6

A determinação da interleucina-6 (IL-6) no soro e no líquido peritoneal foi realizada segundo o protocolo descrito para a leptina, no item 3.8.1. O anticorpo monoclonal de camundongo anti-IL-6 marcado com biotina (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), foi empregado na concentração de 2 µg/ml e o anticorpo revelador policlonal de coelho anti-IL-6 (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), na concentração de 2 µg/ml. Os níveis de IL-6 no soro e no líquido peritoneal foram calculados, utilizando-se curva padrão, obtida com IL-6 recombinante humana (R&D Systems, Estados Unidos da América), em concentrações variando de 3,12 pg/ml a 300 pg/ml.

3.8.3 Dosagem laboratorial do fator de necrose tumoral alfa

A determinação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no soro e no líquido peritoneal foi realizada segundo o protocolo descrito para a leptina, no item 3.8.1. O anticorpo monoclonal de camundongo

anti-TNF- α marcado com biotina (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), foi empregado na concentração de 2 $\mu\text{g/ml}$ e o anticorpo revelador policlonal de coelho anti-TNF- α (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), na concentração de 2 $\mu\text{g/ml}$. Os níveis de TNF- α no soro e no líquido peritoneal foram calculados, utilizando-se curva padrão, obtida com TNF- α recombinante humana (R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos da América), em concentrações variando de 15,6 pg/ml a 2.000 pg/ml.

3.9 Análise estatística

Foi realizada por análise descritiva e numérica das variáveis estabelecidas e sua distribuição foi realizada de acordo com seus respectivos grupos, tendo como grupo controle as pacientes do grupo C. Os níveis de significância adotados no presente estudo foram de 5%.

Para o cálculo do tamanho da amostra, foi usada a informação sobre a idade das pacientes, obtida por meio de um levantamento de 1200 atendimentos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista - UNESP, em que, 25% (300) a 30% (360) das pacientes do ambulatório do Setor de Endoscopia Ginecológica e Planejamento Familiar apresentaram

endometriose⁶⁷. Considerando uma amostra inicial de tamanho 36 (referente a 10% de 360 pacientes), e considerando uma idade média de 29 anos com um desvio padrão de 5 anos, o intervalo de confiança de 95% de confiança foi de [27; 31], com um comprimento de tamanho 4. O comprimento é calculado pela fórmula:

$$L = 2t_{\alpha/2} \sqrt{\frac{s^2}{n}}$$

Para $t_{\alpha/2}$ sendo o quantil bilateral da distribuição t-Student com (n-1) graus de liberdade; s^2 é a variância amostral e n é o tamanho da amostra.

Assim, pré-fixando o comprimento do intervalo de confiança para um comprimento referente a 6 anos (referente a um intervalo entre 24 e 34 anos) calculamos o valor do tamanho da amostra, segundo a fórmula:

$$n \geq \frac{(2z_{\alpha/2}s)^2}{L^2}$$

Considerando $z_{\alpha/2}$ como sendo o quantil bilateral da distribuição normal padrão. Neste caso, o tamanho mínimo da amostra para a realização do experimento deve ser de 11 pacientes para cada grupo. Como serão considerados 2 grupos, o tamanho mínimo da amostra deve ser de 22 pacientes.

A metodologia estatística a ser utilizada segue a análise de um experimento do tipo caso-controle para as variáveis a serem estudadas.

Para as variáveis idade e índice de massa corpórea, foram aplicados o teste t de Student, para a comparação de duas médias. Para as demais variáveis de controle utilizadas, como fase do ciclo menstrual, raça e tabagismo, aplicou-se o teste para a comparação de duas proporções, com o cálculo de uma estatística z, com distribuição aproximadamente normal.

Para as variáveis de estudo leptina e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), obtidas no soro e no líquido peritoneal, foi utilizado o teste t de Student para a comparação de duas médias, após a eliminação de observações discrepantes e aplicação da transformação logarítmica.

Para a análise estatística da interleucina-6 obtida no soro e no líquido peritoneal, foi utilizado o teste de Wilcoxon, não paramétrico, uma vez que os dados apresentaram observações discrepantes e com alta variabilidade.

3.10 Aspectos éticos

A presente pesquisa foi realizada obedecendo às normas éticas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Nestes termos, foram ressaltadas as seguintes diretrizes:

- As informações obtidas na pesquisa são sigilosas e foram utilizadas apenas nesta pesquisa.

- Nome e endereço ou qualquer outra forma de identificação da paciente não aparecerão em nenhum tipo de publicação, nem serão revelados aos profissionais de saúde, exceto aos médicos dos ambulatórios do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP que têm acesso ao prontuário e fazem seu acompanhamento objetivando uma melhor abordagem diagnóstica ou terapêutica.

- O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP para apreciação e aprovação antes do início da pesquisa em questão.

- As pacientes foram esclarecidas, previamente, dos riscos e benefícios, da existência de métodos alternativos, da metodologia e da sua liberdade de recusa ou retirada do consentimento sem penalização, segundo os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexos II e III).

O projeto de pesquisa recebeu parecer favorável do relator do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, aprovado em reunião de 7 de março de 2005, de acordo com o ofício 23/2005-CEP (Anexo VI) e a justificativa de alteração no título do projeto de pesquisa (Anexo VII).

Resultados



4. Resultados

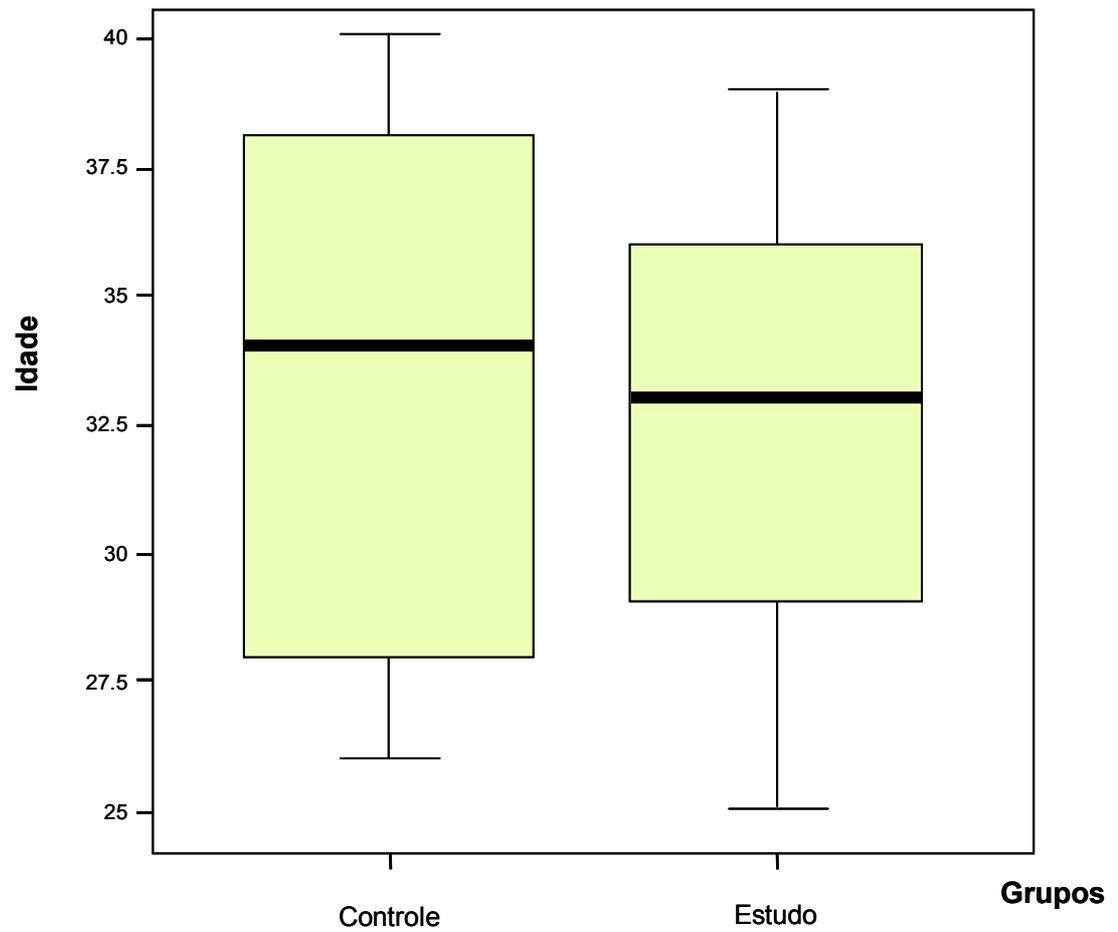
Os dados de **idade** encontrados no experimento com o grupo C (grupo controle), correspondente às pacientes não portadoras de endometriose e com prole constituída, variaram entre 26 e 40 anos, com mediana de 34 anos e média de 33,14 anos, com desvio-padrão de 5,21 anos. No grupo E (grupo de estudo), entre as pacientes portadoras de endometriose peritoneal mínima e leve, variou entre 25 e 39 anos, com mediana de 33 anos e média de 32,33 anos, apresentando desvio-padrão de 4,43 anos. Embora a mediana, a média aritmética, o desvio-padrão e a variância tenham sido superiores no grupo controle, não houve diferença

significante entre os dois grupos estudados ($p>0,05$) para este experimento, conforme demonstram a Tabela 1 e o Quadro 1.

Tabela 1 – Medidas descritivas da **idade** (anos), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	26	25
Valor máximo	40	39
Mediana	34	33
Média	33,14	32,33
95% IC	[30,13-36,15]	[29,88-34,79]
Desvio-padrão	5,21	4,43
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico 0,65 (t=0,45)		

Quadro 1 – Distribuição da **idade** (anos), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)



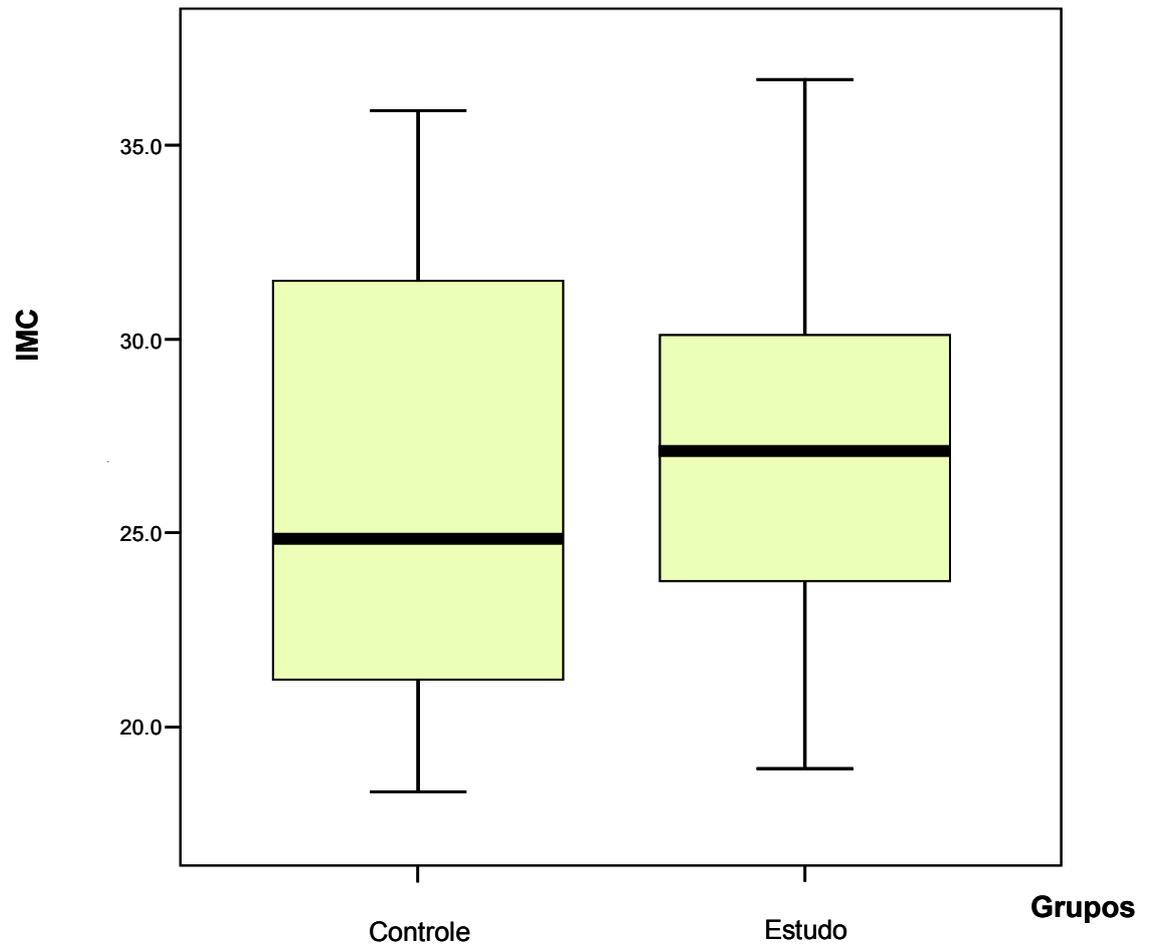
Em relação aos achados de **índice de massa corporal**, foram estudados os resultados, conforme os experimentos realizados entre os grupos de não portadoras (grupo C) e de portadoras de endometriose peritoneal mínima e leve (grupo E), de acordo com o apresentado a seguir.

O grupo C (controle), de não portadoras de endometriose peritoneal, obteve índice de massa corporal que variou entre 18,3 e 35,9 kg/m², com mediana de 24,85 e média de 26,08 kg/m², com desvio-padrão de 5,65. O grupo E (estudo), composto por portadoras de endometriose mínima e leve variou entre 18,9 e 36,7 kg/m², com mediana de 27,10 e média de 26,98 kg/m², com desvio-padrão de 4,78. Embora a variância e a mediana do grupo controle foram visivelmente superiores ao do grupo de estudo, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados, conforme demonstra a Tabela 2 e o Quadro 2.

Tabela 2 – Medidas descritivas do **índice de massa corporal** (kg/m^2), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	18,3	18,9
Valor máximo	35,9	36,7
Mediana	24,85	27,10
Média	26,08	26,98
95% IC	[22,82-29,34]	[24,33-29,63]
Desvio-padrão	5,65	4,78
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico 0,64 (t=0,46)		

Quadro 2 – Distribuição do **índice de massa corporal** (kg/m^2), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)



Quanto à **fase do ciclo menstrual**, o grupo C (grupo controle), composto por não portadoras de endometriose peritoneal, 9 mulheres estavam em período proliferativo, enquanto 5 estavam em período secretor do ciclo menstrual. No grupo E (grupo de estudo), obtivemos 10 pacientes na fase proliferativa do ciclo menstrual e 5 pacientes na fase secretora, na ocasião da realização do procedimento videolaparoscópico. Não houve diferença significativa entre os grupos estudados, como demonstra a Tabela 3.

Tabela 3 – Freqüência de mulheres quanto à **fase do ciclo menstrual**, segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Fase do ciclo	Grupos	
	controle	estudo
Proliferativa	9	10
Secretora	5	5
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico 0,8928 (Z=0,13)		

Em relação à **origem étnica** das pacientes estudadas, também não houve diferença significativa entre os grupos C (grupo controle), composto por 11 mulheres de cor predominantemente branca e 3 predominantemente negras, não portadoras de endometriose peritoneal. Por outro lado, o grupo E (grupo de estudo) era formado por 12 pacientes de raça predominantemente branca e 3 predominantemente negras, portadoras de endometriose peritoneal mínima ou leve, como demonstra a Tabela 4.

Tabela 4 – Freqüência de mulheres quanto à **origem étnica** predominante, segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Origem étnica	Grupos	
	controle	estudo
Branca	11	12
Negra	3	3
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico 0,9244 (Z=0,09)		

Na comparação entre os grupos estudados quanto ao **hábito de fumar**, o grupo C (grupo controle), era composto por 4 mulheres tabagistas e 10 não tabagistas, não portadoras de endometriose peritoneal. O grupo E (grupo de estudo), de portadoras de endometriose peritoneal mínima ou leve, 4 eram fumantes enquanto que 11 não tinham o hábito de fumar, na época de realização do estudo. Este resultado também não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados, como é observado na Tabela 5.

Tabela 5 – Freqüência de mulheres quanto a freqüência do tabagismo, segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Tabagismo	Grupos	
	controle	estudo
Não	10	11
Sim	4	4
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico 0,8759 (Z=0,16)		

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva geral dos dados obtidos em relação às dosagens de citocinas no soro e no líquido peritoneal, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Descrição geral das dosagens de **leptina, interleucina-6 e fator de necrose tumoral-alfa** (pg/ml) no soro e no líquido peritoneal, segundo os grupos controle (grupo C) e de estudo (grupo E)

Observação	Grupo	Leptina soro	Leptina liq.perit	IL-6 soro	IL-6 liq.perit	TNF- α soro	TNF- α liq.perit
1	controle	29,16	44,94	6,82	392,34	17,53	20,56
2	controle	16,28	10,61	7,02	18,56	18,61	20,34
3	controle	10,24	4,19	6,16	10,30	20,34	20,34
4	controle	24,19	18,43	8,56	371,02	18,61	21,42
5	controle	36,56	36,84	8,34	13,98	18,83	18,39
6	controle	29,91	48,55	5,72	215,34	18,83	23,15
7	controle	80,73	78,98	11,16	40,08	21,43	21,21
8	controle	51,87	11,55	9,86	25,08	21,86	21,42
9	controle	32,25	24,10	6,16	48,56	19,69	19,91
10	controle	20,12	27,14	84,88	0	25,97	20,77
11	controle	40,19	34,08	8,34	27,46	19,47	24,24
12	controle	11,41	9,53	18,34	23,34	19,47	23,37
13	controle	32,95	31,73	8,34	55,08	21,21	26,40
14	controle	11,13	12,11	6,82	45,96	17,96	28,13
15	estudo	106,30	59,23	7,24	40,80	20,34	22,07
16	estudo	100,63	77,73	6,60	162,72	18,18	33,33
17	estudo	45,93	44,43	8,12	121,62	23,37	34,85
18	estudo	88,92	62,32	0	23,34	19,47	19,47
19	estudo	7,89	32,16	5,50	110,54	18,61	25,54
20	estudo	76,84	40,03	6,82	59,86	18,39	29,99
21	estudo	13,61	23,30	17,46	47,70	18,83	21,64
22	estudo	42,37	40,63	638,48	664,36	93,99	2398,80
23	estudo	27,80	45,46	12,68	113,36	21,86	27,70
24	estudo	58,29	57,96	6,60	28,12	19,47	24,67
25	estudo	52,58	53,19	0	322,32	21,86	25,75
26	estudo	45,18	43,12	8,76	288,40	19,26	24,02
27	estudo	46,49	34,64	30,08	17,04	22,94	23,59
28	estudo	28,64	40,73	20,52	690,02	21,21	29,86
29	estudo	10,94	17,26	7,68	66,82	19,26	255,44

A fim de adequar a distribuição normal ou simétrica dos dados, em algumas variáveis, foi necessário retirar uma ou duas

observações discrepantes e utilizar uma transformação, uma vez que alguns dados relativos às variáveis de estudo, apresentaram observações discrepantes e com alta variabilidade, de acordo com o apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Resumo das observações discrepantes excluídas da análise estatística e da transformação utilizada, segundo a variável de estudo

Variável	Observações excluídas	Transformação utilizada
Leptina soro	-	logarítmica
Leptina líq.perit.	1 (7)	-
IL-6 soro	-	-
IL-6 líq.perit.	-	-
TNF- α soro	2 (10/22)	logarítmica
TNF- α líq.perit.	2 (22/29)	logarítmica

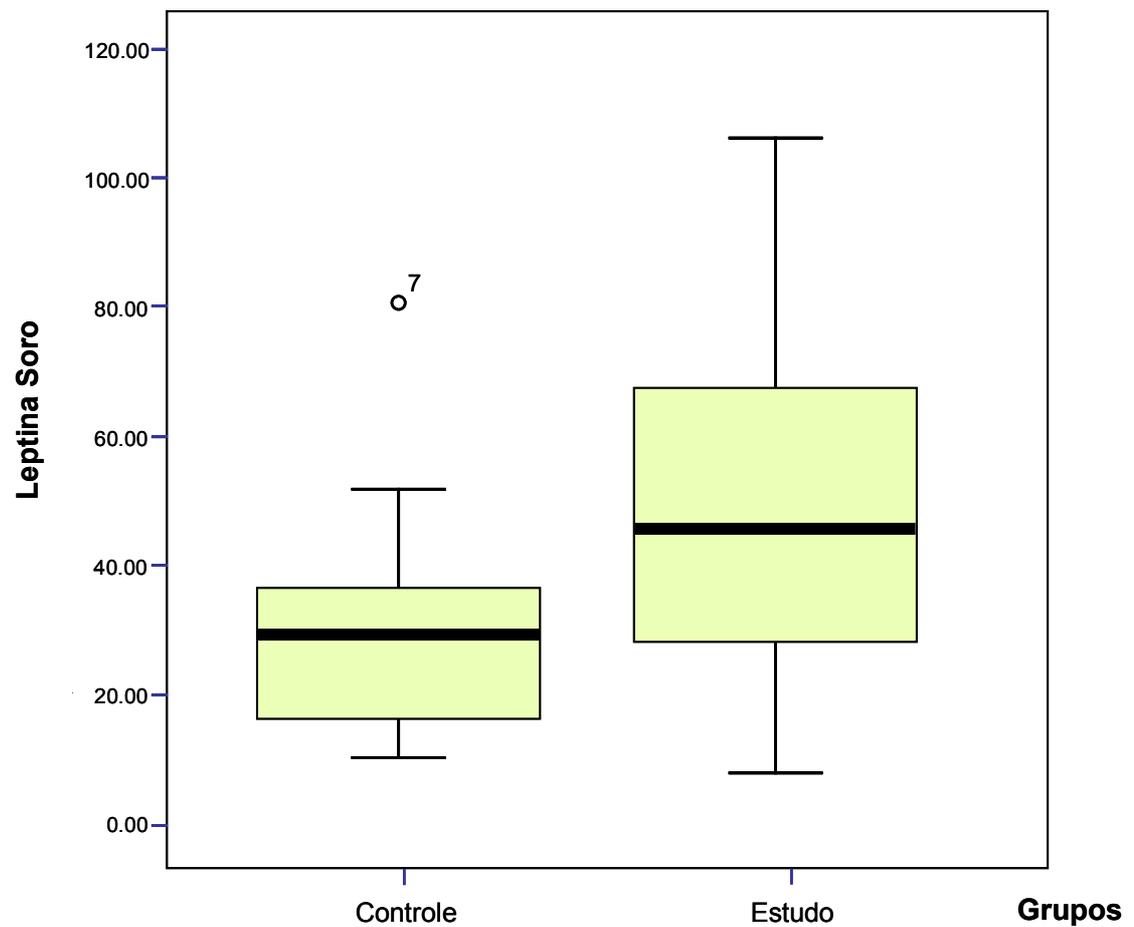
Na comparação entre os grupos de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), estudados quanto às dosagens de **leptina no soro**, não houve diferença significativa, quando utilizado o teste t de Student para a comparação de duas médias, sem a necessidade de eliminação de observações discrepantes e após a transformação logarítmica, embora seja possível observar valores superiores para a leptina no grupo de estudo, como observado na Tabela 8 e no Quadro 3

Tabela 8 – Medidas descritivas das dosagens de **leptina no soro** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	10,24	7,89
Valor máximo	80,73	106,30
Mediana	29,53	45,93
Variância	355,49	980,41
Média	30,49	50,16
95% IC	[19,61-41,38]	[32,82-67,50]
Desvio-padrão	18,85	31,31
Número de casos	14	15

Resultado do teste estatístico $p=0,0809$

Quadro 3 – Distribuição das dosagens de **leptina no soro** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)



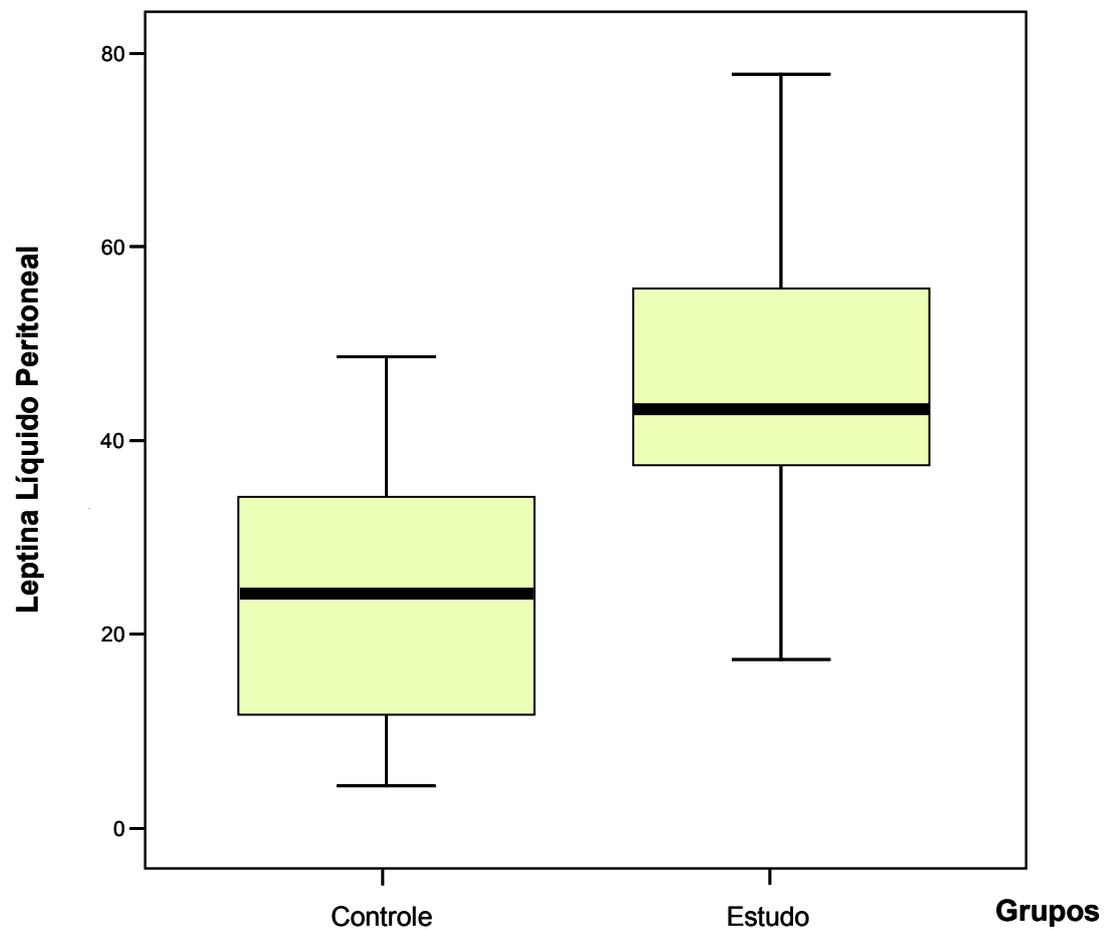
Quando comparamos as dosagens de **leptina no líquido peritoneal** entre os grupos de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), encontramos diferenças estatisticamente significantes, quando utilizado o teste t para a comparação de duas médias. Com a eliminação de uma observação discrepante no grupo C (grupo controle), encontramos valores superiores nas dosagens de leptina no líquido peritoneal das pacientes do grupo de estudo, como observado na Tabela 9 e no Quadro 4.

Tabela 9 – Medidas descritivas das dosagens de **leptina no líquido peritoneal** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	4,19	17,26
Valor máximo	48,55	77,73
Mediana	24,10	43,12
Variância	207,12	241,92
Média	24,14	44,81
95% IC	[15,44-32,84]	[36,20-53,43]
Desvio-padrão	14,39	15,55
Número de casos	13	15

Resultado do teste estatístico p=0.0129

Quadro 4 – Distribuição das dosagens de **leptina no líquido peritoneal** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)



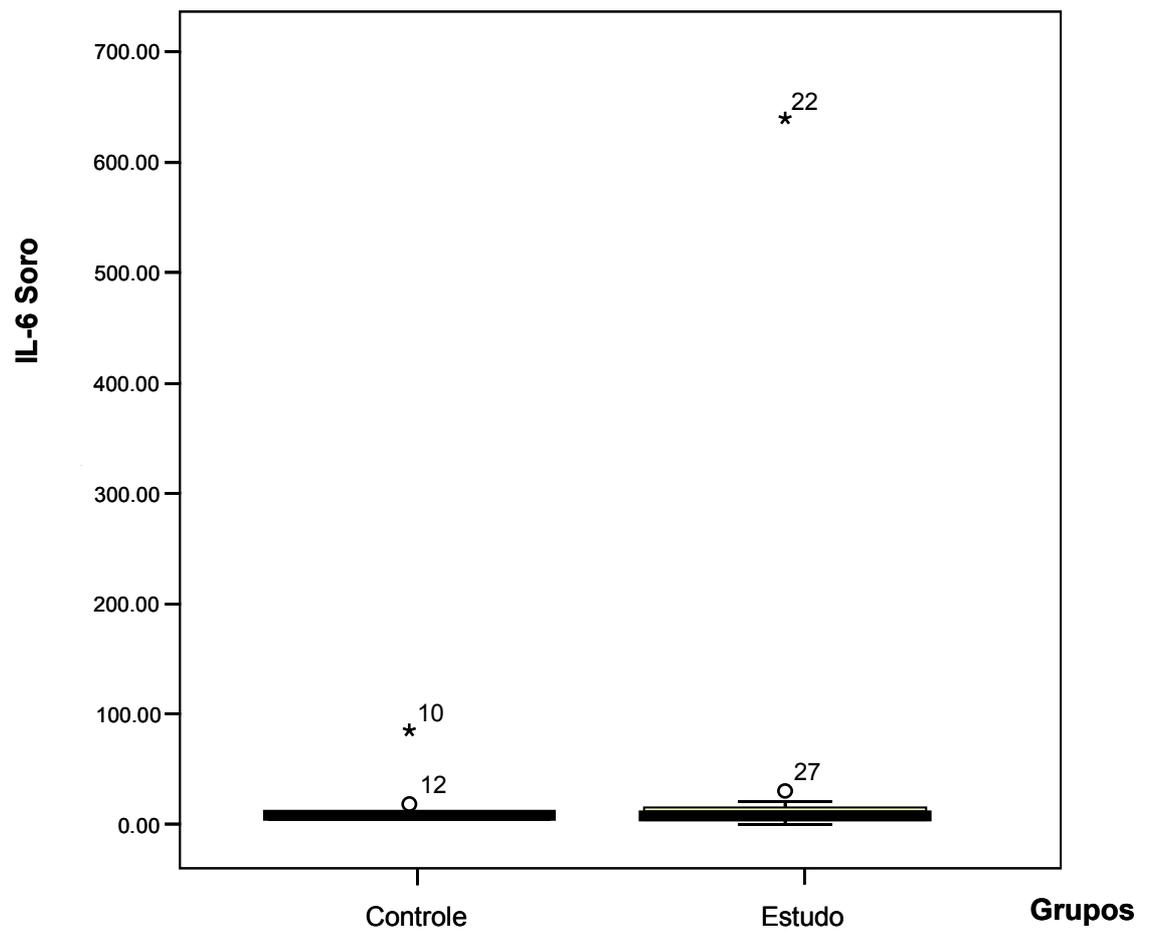
Para a comparação entre as dosagens de **interleucina-6 no soro** entre os grupos C (grupo controle), de pacientes não portadoras de endometriose e o grupo E (grupo de estudo), de portadoras de endometriose mínima e leve, não encontramos diferenças estatisticamente significantes. Uma vez que os dados apresentaram observações discrepantes e com alta variabilidade, foi utilizado o teste de Wilcoxon, não paramétrico. Os resumos da comparação entre os grupos estão descritos na Tabela 10 e no Quadro 5.

Tabela 10 – Medidas descritivas das dosagens de **interleucina-6 no soro** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	5,72	0
Valor máximo	84,88	638,48
Mediana	8,34	7,68
Variância	425,92	26.404,65
Média	14,03	51,76
95% IC	[2,12-25,95]	[-38,21-141,75]
Desvio-padrão	20,63	162,49
Número de casos	14	15

Resultado do teste estatístico p=0.4569

Quadro 5 – Distribuição das dosagens de **interleucina-6 no soro** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)

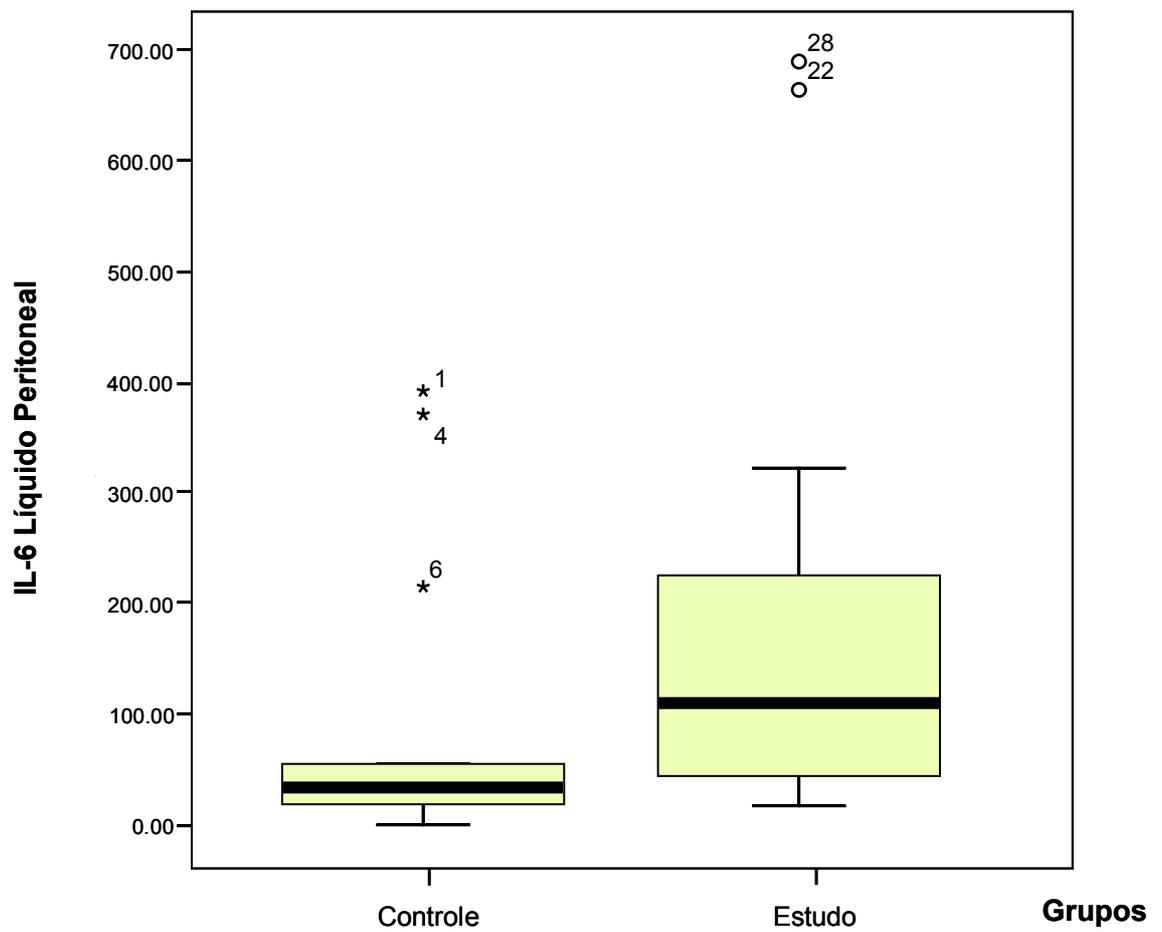


Da mesma forma, a comparação entre as dosagens de **interleucina-6 no líquido peritoneal** entre os grupos C (grupo controle), de pacientes não portadoras de endometriose e o grupo E (grupo de estudo), de portadoras de endometriose mínima e leve, não encontramos diferenças estatisticamente significantes. Os dados também apresentaram observações discrepantes e com alta variabilidade, sendo necessária a utilização do teste de Wilcoxon, não paramétrico. Os resumos da comparação entre os grupos estão descritos na Tabela 11 e no Quadro 6.

Tabela 11 – Medidas descritivas das dosagens de **interleucina-6 no líquido peritoneal** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	0	17,04
Valor máximo	392,34	690,02
Mediana	27,46	110,54
Variância	17.793,21	48.412,52
Média	91,93	183,80
95% IC	[14,91-168,95]	[61,95-305,64]
Desvio-padrão	133,39	220,02
Número de casos	14	15
Resultado do teste estatístico p=0.0650		

Quadro 6 – Distribuição das dosagens de **interleucina-6 no líquido peritoneal** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)

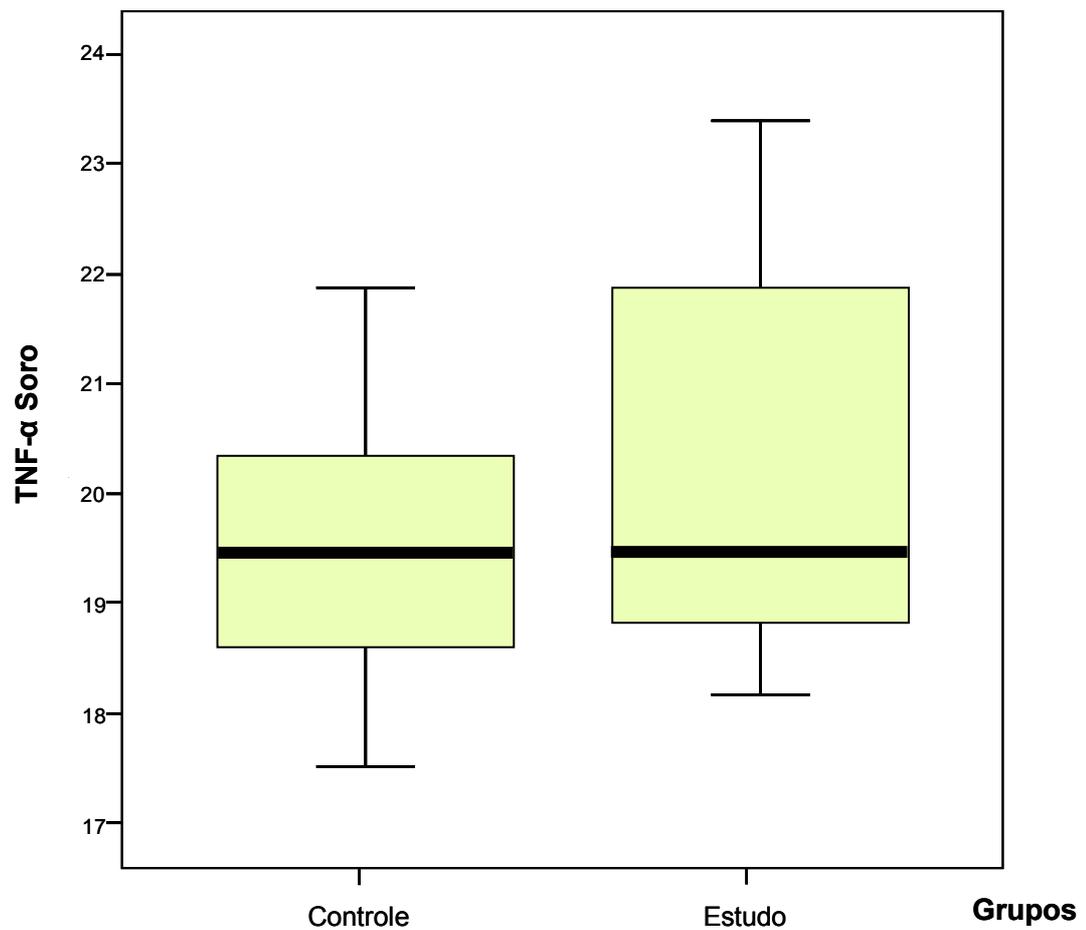


Quando comparamos os grupos C (grupo controle), de pacientes não portadoras de endometriose e o grupo E (grupo de estudo), de portadoras de endometriose mínima e leve, não encontramos diferenças estatisticamente significantes em relação às dosagens de **fator de necrose tumoral alfa no soro** das pacientes estudadas, com resultados bastante semelhantes em ambos os grupos. Foi utilizado o teste t de Student para a comparação de duas médias, com a necessidade de eliminação de observações discrepantes de número 10 (grupo controle) e da observação de número 22 (grupo de estudo), além da transformação logarítmica, como observado na Tabela 12 e Quadro 7.

Tabela 12 – Medidas descritivas das dosagens de **fator de necrose tumoral alfa no soro** (pg/ml), segundo o grupo controle (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	17,53	18,18
Valor máximo	21,86	23,37
Mediana	19,47	19,47
Variância	1,80	2,97
Média	19,53	20,22
95% IC	[18,71-20,34]	[19,22-21,21]
Desvio-padrão	1,34	1,72
Número de casos	13	14
Resultado do teste estatístico p=0.4500		

Quadro 7 – Distribuição das dosagens de **fator de necrose tumoral alfa no soro** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)

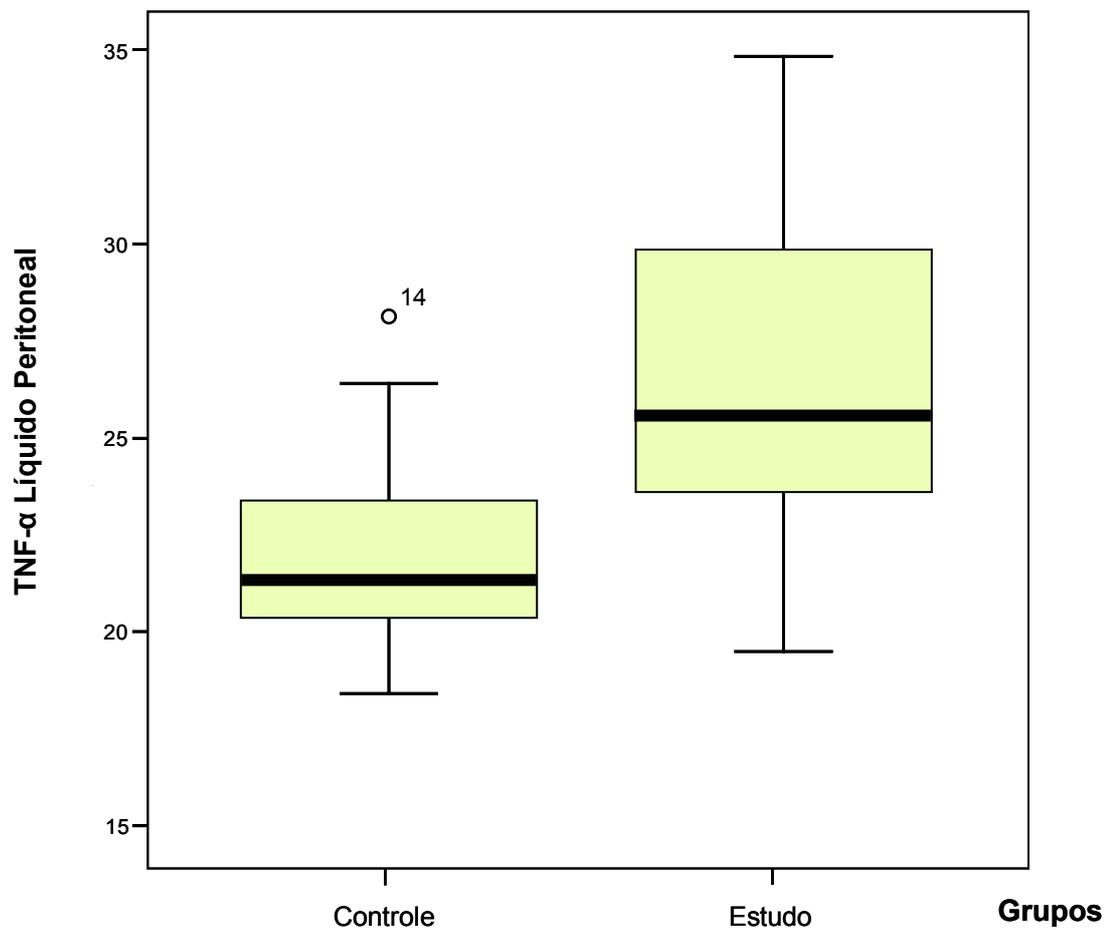


Na comparação entre os grupos C (grupo controle) e o grupo E (grupo de estudo), encontramos diferenças estatisticamente significantes em relação às dosagens de **fator de necrose tumoral alfa no líquido peritoneal** das pacientes estudadas. Foi utilizado o teste t de Student para a comparação de duas médias, com a necessidade de eliminação das observações discrepantes de números 22 e 29 (grupo de estudo), além da transformação logarítmica, com valores significativamente maiores no grupo de estudo, como observado na Tabela 13 e no Quadro 8.

Tabela 13 – Medidas descritivas das dosagens de **fator de necrose tumoral alfa no líquido peritoneal** (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E), e respectivo resultado estatístico

Medida descritiva	Grupos	
	controle	estudo
Valor mínimo	18,39	19,47
Valor máximo	28,13	34,85
Mediana	21,42	25,75
Variância	7,13	21,09
Média	22,12	26,34
95% IC	[20,58-23,66]	[23,57-29,12]
Desvio-padrão	2,67	4,59
Número de casos	14	13
Resultado do teste estatístico p=0,0029		

Quadro 8 – Distribuição das dosagens de **fator de necrose tumoral alfa** no líquido peritoneal (pg/ml), segundo o grupo de não portadoras de endometriose (grupo C) e portadoras de endometriose mínima e leve (grupo E)





Discussão



5. *Discussão*

5.1 Considerações gerais

Nesta pesquisa, foram estudadas somente as pacientes portadoras de endometriose mínima ou leve, segundo a classificação atualizada da *American Society for Reproductive Medicine – ASRM*⁷⁰. Entretanto, foi necessário que o grupo de estudo fosse composto por pacientes portadoras de endometriose com sintomas de dor pélvica crônica ou em investigação de esterilidade conjugal, embora apresentem

na literatura diferentes taxas de prevalência da patologia em questão, quando analisadas separadamente¹⁴.

Segundo a literatura, as pacientes portadoras de dor pélvica crônica recebem diagnóstico de endometriose em 5 a 50% dos casos, ao passo que, pacientes assintomáticas submetidas a ligadura tubária apresentam cerca de 2 a 18% deste diagnóstico^{14,15}.

Epidemiologistas apontam o estudo de coorte como o método ideal para o estudo da prevalência da endometriose, embora demandem maior necessidade de tempo, e, na impossibilidade deste, recomendam os estudos caso-controle¹⁴. Este último sofre críticas, oriundas da presença de um amplo espectro de sintomas e achados patológicos na endometriose, não havendo seleção de controles plenamente satisfatórios¹⁴. O grupo controle deve ser composto de uma amostra representativa da população geral, que tenha indicação de realização de videolaparoscopia, considerado como o método “padrão-ouro” para a obtenção de biópsias peritoneais que confirmem o diagnóstico de endometriose por meio do exame histológico^{14,71}.

As pacientes que desejam esterilização cirúrgica, ainda que pautada em critérios éticos, obedecem ao requisito de indicação da videolaparoscopia. Estas pacientes são consideradas como grupo controle na maioria dos estudos sobre endometriose, mesmo sendo grandes multíparas, na maioria dos casos. Em nosso estudo, foram excluídas duas pacientes do grupo controle, submetidas à ligadura

tubária, por terem apresentado lesões compatíveis com endometriose, confirmadas ao exame histológico. Portanto, encontramos frequência de endometriose em 11,1% das pacientes submetidas à ligadura tubária, dado inferior ao da literatura, de 18 a 22%¹⁶.

Embora tivéssemos realizado o procedimento de ligadura tubária em cinco pacientes na fase secretora do ciclo menstrual, todas as pacientes nestas condições foram submetidas à dosagem laboratorial pré-operatória da fração beta da gonadotrofina humana (β hCG). Este procedimento se faz necessário para evitar a realização da cirurgia em pacientes com gravidez precoce, dada a dificuldade de agendamento da totalidade destas pacientes na fase folicular do ciclo menstrual.

D'Hooghe (1997) acredita que as dificuldades no progresso da pesquisa da endometriose se devem à metodologia utilizada. Devido a considerações práticas e éticas, esse autor considera a utilização de modelos animais com babuínos como ideal, uma vez que os experimentos invasivos não devem ser utilizados em humanos⁷².

Zondervan *et al.* (2002) consideram que a relativa alta prevalência da endometriose mínima e leve em mulheres assintomáticas pode representar um processo fisiológico normal, e que o grupo de estudo seja limitado a mulheres com doença severa ou no mínimo, sintomática⁷³.

A crescente prevalência da endometriose mínima e leve apontada em estudos nos últimos 15 anos tem sido severamente criticada com a determinação de lesões denominadas como “sutis” ou

“microscópicas”^{74,75}. O cirurgião remove as lesões suspeitas de endometriose que podem ou não ser confirmadas pelo exame histológico, ou ainda ser surpreendido pelo diagnóstico anátomo-patológico quando tal anormalidade não fora suspeitada em biópsias de aparente peritônio normal⁷⁴.

A possibilidade de diagnóstico da endometriose microscópica dependeria da resolução óptica do instrumento utilizado e dos critérios visuais utilizados no julgamento do peritônio “normal”, ainda pouco estabelecidos^{74,75}. Em estudos sistemáticos, a prevalência de endometriose microscópica em babuínos é baixa, não concordante com os dados apresentados em humanos^{75,76}. Em nosso estudo, não foram realizadas biópsias aleatórias na tentativa de diagnosticar a presença de endometriose microscópica.

Vários estudos avaliaram a correlação dos achados videolaparoscópicos com o resultado da análise histológica dos espécimes biopsiados, determinando uma acurácia entre 78 e 84% para o diagnóstico de endometriose^{71,77,78}. Tais resultados são semelhantes aos encontrados em nosso estudo, onde 3 casos foram excluídos dentre 18 pacientes sem confirmação histológica.

O número de 29 pacientes remanescentes foi superior ao número mínimo da amostra obtido pela análise estatística, de 22 pacientes. No entanto, com o tamanho da amostra obtida, não foi possível a subdivisão em grupos quanto aos sintomas (dor pélvica ou esterilidade

conjugal), estadiamento da doença, característica das lesões ou fase do ciclo menstrual.

No presente estudo, optamos por avaliar a determinação da leptina, no diagnóstico laboratorial da endometriose mínima e leve, pela ampla disponibilidade da realização deste exame em laboratórios de análises clínicas, atualmente utilizada com a finalidade de avaliação pré-operatória em cirurgia bariátrica. Estudos apontam o aumento da concentração da leptina no líquido peritoneal de pacientes com diagnóstico de endometriose^{62,65,79}. No entanto, evidências do aumento da concentração da leptina no soro de pacientes portadoras de endometriose ainda são controversas^{79,80}.

A decisão pela determinação da interleucina-6 (IL-6) no presente estudo se deve ao maior número de evidências apontadas na literatura para o aumento desta citocina no líquido peritoneal de pacientes com endometriose^{48-50,81}. No entanto, são poucas as evidências do aumento da concentração de interleucina no soro de pacientes com endometriose^{50,82}.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) tem papel central na resposta inflamatória, como fator desencadeador da cascata de liberação de substâncias no líquido peritoneal, associadas à presença da endometriose, sendo possível a sua detecção precoce em estadios iniciais^{46,50}.

5.2 Discussão dos resultados

Comparamos os resultados das variáveis de controle obtidos no presente estudo em relação aos demais estudos que tiveram tais dados apresentados na literatura. Em relação à idade, observamos que nossos dados foram semelhantes aos demais apresentados em estudos semelhantes, com médias de 29,5 a 33 anos^{50,65,79,80}.

Quando consideramos os resultados de índice de massa corporal, o estudo de Bedaiwy *et al.* (2002) apresentou valores da ordem de 26 kg/m², semelhantes aos obtidos no presente estudo⁵⁰. Nos demais estudos que disponibilizaram tais dados, foram encontrados valores entre 21,5 a 22,9 kg/m² de índice de massa corporal^{65,79,80}. Tal discrepância poderia ser determinada pelo local de realização dos estudos, uma vez que há diferenças de hábitos alimentares entre populações das Américas em relação à cultura alimentar mediterrânea quanto ao consumo de calorias.

Em relação à fase do ciclo menstrual, Mahutte *et al.* (2003) encontraram valores superiores para a leptina no líquido peritoneal na fase secretora do ciclo menstrual em relação à fase proliferativa⁶⁵. Kyama *et al.* (2006) também observaram valores mais elevados do TNF- α no peritônio e no endométrio na fase menstrual do ciclo⁸¹. Embora tivéssemos obtido mais amostras da fase proliferativa, ambos os grupos de estudo e de controle tiveram número de pacientes estatisticamente

semelhantes, não tendo havido possibilidade de erro de seleção de pacientes por este motivo.

Considerando nossa preferência pela realização da videolaparoscopia no período folicular do ciclo menstrual, a fim de evitar a realização do procedimento no período precoce da gravidez, já esperávamos maior número de pacientes nessa fase do ciclo. No entanto, alguns procedimentos foram realizados na fase secretora do ciclo, resguardando o cuidado da exclusão de uma gravidez incipiente por meio do exame negativo da fração beta da gonadotrofina coriônica humana (β -hCG), previamente realizado no dia da internação. Isto se fez necessário com o objetivo de evitar transtorno às pacientes que necessitavam imperiosamente de contracepção eficaz ou de diagnóstico etiológico para a esterilidade conjugal ou dor pélvica.

Foram considerados os dados de origem étnica, de acordo com a predominância da cor da pele observada na entrevista de admissão das pacientes. Apesar de não haver diferenças estatísticas entre os grupos estudados, não obtivemos dados de comparação com demais estudos na literatura em relação a esta variável de controle. Dados apontam aumento de prevalência da endometriose em pacientes de cor branca, embora os estudos não apresentem consistência epidemiológica¹⁴. Em nosso meio, dada a grande heterogeneidade étnica da população brasileira, não consideramos relevantes tais achados na possibilidade de erro de seleção das pacientes.

Embora os dados epidemiológicos apontem diminuição da prevalência da endometriose em mulheres que fumam, os estudos são inconsistentes¹⁴. Em nosso estudo, não houve diferenças entre os grupos estudados em relação ao hábito de fumar. Embora tal dado não se encontre disponível nos demais estudos apresentados sobre endometriose e citocinas na literatura, consideramos necessária a introdução desta variável de controle com a finalidade de evitar erro de seleção das pacientes.

Até o presente momento, não encontramos na literatura estudos sobre a determinação da leptina no soro e no líquido peritoneal de pacientes com diagnóstico de endometriose mínima ou leve, comparadas ao grupo controle de pacientes submetidas à ligadura tubária.

No presente estudo, encontramos valores superiores de leptina no soro das pacientes do grupo controle quando comparamos à amostra de Matarese *et al.* (2000), de apenas 7 casos, composto também por pacientes que não apresentavam endometriose e portadoras de esterilidade conjugal e malformações müllerianas⁷⁹. Tal diferença poderia ter ocorrido pelo pequeno número de casos daquele estudo, além da distinta formação de seu grupo controle.

Viganò *et al.* (2002) não encontraram resultados estatisticamente significantes que possibilitassem a utilização da leptina no soro, como método laboratorial para o diagnóstico da endometriose⁸⁰.

Estes autores encontraram valores rigorosamente iguais de leptina sérica quando compararam 20 pacientes com endometriose mínima ou leve a 25 pacientes-controle, portadoras de miomas, esterilidade conjugal, dor pélvica e cistos ovarianos⁸⁰.

Em outro estudo no qual pacientes inférteis ou portadoras de endometriose foram comparadas a pacientes com diagnóstico de síndrome dos ovários policísticos, não foram encontradas diferenças significantes quanto às dosagens de leptina sérica⁶⁶. Porém, há relato na literatura de que a leptina também se encontra elevada em pacientes portadoras de síndrome de ovários policísticos⁶². Embora tendo utilizado grupo controle com pacientes submetidas à ligadura tubária, da mesma forma não encontramos diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de estudo e controle no presente estudo. Supomos que a determinação da leptina no soro não seja tão sensível e específica ao observado no líquido peritoneal de pacientes portadoras de endometriose.

No líquido peritoneal, encontramos valores da leptina significativamente superiores aos do grupo controle, da mesma forma que em estudos disponíveis na literatura com metodologia semelhante^{65,79}. Mahutte *et al.* (2003) compararam 36 pacientes portadoras de endometriose mínima e leve a 18 controles submetidos à ligadura tubária⁶⁵. Da mesma forma, não foram encontradas diferenças significantes quanto às dosagens de leptina no líquido peritoneal quando foram comparadas pacientes inférteis ou portadoras de endometriose a

pacientes com diagnóstico de síndrome dos ovários policísticos⁶⁶. Há possibilidade de que as pacientes portadoras de ovários policísticos também apresentem concentrações elevadas de leptina no líquido peritoneal, não configurando adequado grupo controle.

Quando comparamos as dosagens de interleucina-6 no soro de pacientes portadoras de endometriose mínima ou leve a controles, não encontramos diferença estatisticamente significativa. Mesmo utilizando transformação logarítmica dos resultados, houve observações discrepantes e com alta variabilidade. Tal resultado contraria os demais estudos disponíveis na literatura.

Bedaiwy *et al.* (2002) encontraram valores de interleucina-6 no soro de 20 pacientes com diagnóstico de endometriose, sem distinção de estadiamento, significativamente superiores aos do grupo controle⁵⁰. Outro estudo demonstrou valores elevados de interleucina-6 sérica em pacientes portadoras de endometriose quando comparados a valores de referência⁸². Em recente estudo de revisão, Bedaiwy e Falcone (2004) confirmaram a possibilidade da utilização da interleucina-6 como método diagnóstico da endometriose, com sensibilidade de 90% e especificidade de 67% em estádios iniciais⁸³.

Da mesma forma, na comparação entre as dosagens de interleucina-6 no líquido peritoneal entre as pacientes portadoras de endometriose mínima e leve e as pacientes submetidas à ligadura tubária, não encontramos diferenças estatisticamente significantes. Os dados

encontrados no presente estudo também apresentaram observações discrepantes e com alta variabilidade, discordantes da literatura.

Nosso estudo teve resultados concordantes com a pesquisa de Gómez-Torres *et al.* (2002), realizado com metodologia semelhante para a determinação de interleucina-6 no líquido peritoneal⁸⁴. Estes autores não observaram diferenças significantes entre as dosagens de interleucina-6 no líquido peritoneal de pacientes com endometriose mínima ou leve quando comparadas com pacientes submetidas à ligadura tubária⁸⁴.

No entanto, outros estudos não foram concordantes com nossos resultados^{48,49,85,86}. Embora apresentassem pequenas diferenças na composição dos respectivos grupos-controle, foram observadas dosagens significativamente superiores de interleucina-6 no líquido peritoneal dos grupos de estudo^{48,49,85}. Khan *et al.* (2002) compararam 20 pacientes portadoras de endometriose mínima ou leve a 20 pacientes com as mesmas indicações de videolaparoscopia, onde foram classificadas como livres de endometriose⁴⁸. Iwabe *et al.* (2002) compararam 53 pacientes portadoras de diversos estádios de endometriose, classificadas quanto aos tipos de lesão encontradas, a 40 pacientes livres de endometriose⁴⁹. Estes autores encontraram correlação positiva entre os níveis de interleucina-6 no líquido peritoneal e a presença de lesões vermelhas de endometriose⁴⁹. Cheong *et al.* (2002) correlacionaram a presença de aderências pélvicas com a concentração das citocinas no

líquido peritoneal e também houve correlação positiva da dosagem de IL-6 com o diagnóstico de endometriose⁸⁶.

Supomos que as discrepâncias observadas quanto às dosagens de interleucina-6 (IL-6) no soro e no líquido peritoneal entre o presente estudo e os demais publicados na literatura, se devem à limitada especificidade do método e à seleção de grupos controle distintos.

Não encontramos diferenças estatisticamente significantes, em relação às dosagens de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), no soro das pacientes estudadas, quando comparamos com o grupo controle, dados discordantes da literatura. No entanto, Pizzo *et al.* (2002) obtiveram dosagens de TNF- α no soro de 26 portadoras de endometriose significativamente superiores a 5 pacientes do grupo controle, portadoras de infertilidade não imunológica⁴⁶. Bedaiwy *et al.* (2002) encontraram valores de TNF- α no soro de 21 pacientes com diagnóstico de endometriose, sem distinção de estadiamento, significativamente superiores aos do grupo controle, composto por 20 pacientes submetidas à ligadura ou reanastomose tubária⁵⁰. No mesmo estudo, os autores não observaram diferenças nas dosagens das citocinas entre as fases do ciclo menstrual⁵⁰. Supomos que os resultados conflitantes entre nosso estudo e os dados presentes na literatura podem ser decorrentes da fase do ciclo menstrual em que as coletas dos espécimes foram realizadas.

No líquido peritoneal das pacientes estudadas, encontramos diferenças estatisticamente significantes, em relação às dosagens de TNF- α , concordante com a maioria dos dados encontrados na literatura. Pizzo *et al.* (2002) obtiveram dosagens de TNF- α em 26 portadoras de endometriose significativamente superiores a 5 pacientes do grupo controle, portadoras de infertilidade não imunológica⁴⁶. Iwabe *et al.* (2002) também observaram diferenças significantes nas dosagens de TNF- α no líquido peritoneal, quando compararam 53 pacientes portadoras de diversos estádios de endometriose, classificadas quanto aos tipos de lesão encontradas, a 40 pacientes livres de endometriose⁴⁹. Da mesma forma, Bedaiwy *et al.* (2002) encontraram valores de TNF- α no líquido peritoneal de 20 pacientes com diagnóstico de endometriose, sem distinção de estadiamento, significativamente superiores aos do grupo controle⁵⁰. Em estudo de revisão sistemática, Bedaiwy e Falcone (2004) encontraram sensibilidade de 100% e especificidade de 89% no diagnóstico de endometriose, quando dosado o TNF- α no líquido peritoneal⁸³. Consideramos que tais resultados se devem à maior biodisponibilidade do TNF- α quando dosado no líquido peritoneal de pacientes portadoras de endometriose.

Por outro lado, Cheong *et al.* (2002) não encontraram valores significativamente superiores de TNF- α no líquido peritoneal em pacientes portadoras de endometriose, mas somente em pacientes portadoras de aderências pélvicas, quando comparadas ao grupo

controle⁸⁶. Tais discrepâncias nos resultados também podem ocorrer pela grande heterogeneidade na apresentação clínica das lesões endometrióticas.

Consideramos que a determinação das citocinas avaliadas no soro das pacientes portadoras de endometriose não apresenta a mesma biodisponibilidade observada no líquido peritoneal. A possível presença de enzimas proteolíticas poderia reduzir a concentração destas citocinas no soro das pacientes estudadas. No líquido peritoneal, supomos que a concentração de citocinas seria menos influenciada pela presença de proteases.

Embasado em nosso estudo, e, após análise comparativa com a literatura, chegamos às conclusões apresentadas a seguir.

Conclusões



6. Conclusões

1. No líquido peritoneal, há evidências da possibilidade da utilização da leptina e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no diagnóstico da endometriose mínima ou leve.

2. No líquido peritoneal, a dosagem da interleucina-6 (IL-6) não se mostrou útil no diagnóstico da endometriose mínima ou leve, na amostra avaliada.

3. No soro, não se observaram evidências da possibilidade da utilização da leptina, da interleucina-6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no diagnóstico da endometriose mínima ou leve, na amostra avaliada.



Referências Bibliográficas



7. Referências Bibliográficas

1. Abrão MS, Dias Jr JA, Podgaec S. Histórico e aspectos epidemiológicos da endometriose: Uma doença prevalente e de conhecimento antigo. In: Abrão MS editor. Endometriose: Uma visão contemporânea. Rio de Janeiro, Revinter, 2000, p. 1-11.
2. Buyalos RP, Agarwal SK. Endometriosis-associated infertility. Curr Opin Obstet Gynecol 2000; 12:377-81.

3. Sampson JA. Heterotopic or misplaced endometrial tissue. *Am J Obstet Gynecol* 1925; 10:649-64.
4. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927; 14:422-69.
5. Roddick JW, Conkey G, Jacobs EJ. The hormonal response of endometrium in endometriotic implants and its relationship to simptomatology. *Am J Obstet Gynecol* 1960; 79:1173-80.
6. Novak ER, Wodruff JD. *Gynecologic and Obstetric Pathology*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1967, p. 451-74.
7. Houston DE. Evidence for the risk of pelvic endometriosis by age, race and socioeconomic status. *Epidemiol Rev* 1984; 6:167-91.
8. Gazvani R, Templeton A. New considerations for the pathogenesis of endometriosis. *Int J Gynecol Obstet* 2002; 76:117-26.
9. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997; 24:235-58.

10. Witz CA, Schenken RS. Pathogenesis. Semin Reprod Endocrinol 1997; 15:199-208.
11. Child TJ, Tan SL. Endometriosis: aetiology, pathogenesis and treatment. Drugs 2001; 61:1735-50.
12. Wheller JM. Epidemiology of endometriosis-associated infertility. J Reprod Med 1989; 34:41-6.
13. Rothman KJ, Greenland S. Modern Epidemiology, 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1998.
14. Missmer SA, Cramer DW. The epidemiology of endometriosis. Obstet Gynecol Clin North Am 2003; 30:1-19.
15. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. Ann N Y Acad Sci 2002; 955:11-22.
16. Moen MH, Schei B. Epidemiology of endometriosis in a Norwegian county. Acta Obstet Gynecol Scand 1997; 76:559-62.

17. Matorras R, Rodríguez F, Pijoan JI, Ramón O, Gutiérrez de Terán G, Rodríguez-Escudero F. Epidemiology of endometriosis in infertile woman. *Fertil Steril* 1995; 63:64-8.
18. Halis G, Arici A. Endometriosis and inflammation in infertility. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034:300-15.
19. Mahmood TA, Templeton A. The impact of treatment on the natural history of endometriosis. *Hum Reprod* 1990; 5:965-70.
20. Bischoff F, Simpson JL. Genetic basis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034:284-99.
21. Simpson JL, Bischoff F, Kamat A, Buster JE, Carson SA. Genetics of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2003; 30:21-40.
22. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain. *Hum Reprod* 2001; 16:2668-71.
23. Koninckx PR, Meuleman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991; 55:759-65.

24. Murphy AA. Clinical aspects of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955:1-10.
25. Viscomi FA, Dias R, de Luca L, Ihlenfeld MFK. Correlação entre os aspectos laparoscópicos e os achados histológicos das lesões endometrióticas peritoneais. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2002; 24:93-9.
26. Viscomi FA, Dias R, de Luca L, Franco MF, Ihlenfeld MFK. Correlação dos aspectos laparoscópicos com as alterações histológicas glandulares das lesões endometrióticas peritoneais. *Rev Assoc Med Bras* 2004; 50:344-8.
27. Jansen RPS, Russel P. Nonpigmented endometriosis: Clinical, laparoscopic and pathologic definition. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:1154-8.
28. Redwine DB. The distribution of endometriosis in the pelvis by age groups and fertility. *Fertil Steril* 1987; 47:173-7.
29. Donnez J, Van Langendonck. Typical and subtle atypical presentations of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16:431-7.

30. Nisolle M, Casanas-Roux F, Anaf V, Mine JM, Donnez J. Morphometric study of the stromal vascularization in the peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 1993; 59:684-8.
31. Arruda MS, Petta CA, Abrão MS, Benetti-Pinto CL. Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women. *Hum Reprod* 2003; 18:756-9.
32. Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D, Farquhar C. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; (4):CD001398.
33. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986; 67:335-8.
34. Steele RW, Dmowski WP, Marmer DJ. Immunologic aspects of human endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1984; 6:33-6.
35. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer cell activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 1991; 56:45-51.

36. Kruitwagen RF, Poels LG, Willemsen WN, De Ronde IJ, Jap PH, Rolland R. Endometrial epithelial cells in peritoneal fluid during the early follicular phase. *Fertil Steril* 1991; 55:297-303.
37. Sanfilippo JS, Wakim NG, Schickler KN, Yussman MA. Endometriosis in association with uterine anomaly. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:39-43.
38. Bergqvist A, Ljungberg O, Myhre E. Human endometrium and endometriotic tissue obtained simultaneously: a comparative histologic study. *Int J Gynecol Pathol* 1984; 3:135-9.
39. Redwine DB. Was Sampson wrong? *Fertil Steril* 2002; 78:686-93.
40. Rosenfeld DL, Lecher BD. Endometriosis in a patient with Rokitanski-Küster-Hauser syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139:105-7.
41. Melicow MM, Pachter MR. Endometrial carcinoma of the prostatic utricle (uterus masculinus). *Cancer* 1967; 20:1715-22.

42. Weed JC, Arguembourg PC. Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol* 1980; 23:885-93.
43. D'Hooghe TM, Bambra CS, Isahakia M, Koninckx PR. Evolution of spontaneous endometriosis in the baboon over 12 month period. *Fertil Steril* 1992; 409-412.
44. Dmowski WP. Immunological aspects of endometriosis. *Int J Gynecol Obstet* 1995; 50(Suppl.):3-10.
45. Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49:285-96.
46. Pizzo A, Salmeri FM, Ardita FV, Sofo V, Tripepi M, Marsico S. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 54:82-7.
47. Bedaiwy MA, Falcone T. Peritoneal fluid environment in endometriosis – Clinicopathological implications. *Minerva Ginecol* 2003; 55:333-45.
48. Khan KN, Masuzaki H, Fujishita A, Hamasaki T, Kitajima M, Hasuo A, Miyamura Y, Ishimaru T. Association of interleukin-6 and estradiol with

- hepatocyte growth factor in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81:764-71.
49. Iwabe T, Harada T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53(Suppl.1):19-25.
50. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002; 17:426-31.
51. Barcz E, Rósewska ES, Kaminski P, Demkow U, Bobrowska K, Marianowski L. Angiogenic activity and IL-8 concentrations in peritoneal fluid and sera in endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; 79:229-35.
52. Arici A. Local cytokines in endometrial tissue: the role of interleukin-8 in the pathogenesis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955:101-9.
53. Calhaz-Jorge C, Costa AP, Santos MC, Palma-Carlos ML. Peritoneal fluid concentrations of interleukin-8 in patients with endometriosis depend on the severity of the disorder and are higher in the luteal phase. *Hum Reprod* 2003; 18:593-7.

54. Kayisli UA, Mahutte NG, Arici A. Uterine chemokines in reproductive physiology and pathology. *Am J Reprod Immunol* 2002; 47:213-21.
55. Lebovic DI; Chao VA, Taylor RN. Peritoneal macrophages induce RANTES (regulated on activation, normal-T cell expressed and secreted) chemokine gene transcription in endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1397-401.
56. Galinelli A, Chiossi G, Giannella L, Marsella T, Genazzani AD, Volpe A. Different concentrations of interleukins in the peritoneal fluid of women with endometriosis: relationships with lymphocyte subsets. *Gynecol Endocrinol* 2004; 18:144-51.
57. Arici A, Matalliotakis I, Gourmenou A, Koumantakis G, Vassiliadis S, Selam B, Mahutte NG. Increased levels of interleukin-15 in the peritoneal fluid of women with endometriosis: inverse correlation with stage and depth of invasion. *Hum Reprod* 2003; 18:429-32.
58. Zhang X, Lin J, Qian Y, Deng L. Decreased levels of interleukin-18 in peritoneal fluid but not in serum of patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2004; 81:1229-34.

59. Nogueira AP, Abrão MS. Endometriose: As hipóteses etiopatogênicas atuais. In: Abrão MS editor. Endometriose: Uma visão contemporânea. Rio de Janeiro, Revinter, 2000, p. 13-26.
60. Gagné D, Pagé M, Robitaille G, Hugo P, Gosselin D. Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 2003; 18:1674-80.
61. Huang HF, Hong LH, Tan Y, Sheng JZ. Matrix metalloproteinase 2 is associated with changes in steroid hormones in the sera and peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2004; 81:1235-9.
62. Sabogal JC, Munoz L. Leptin in obstetrics and gynecology: a review. *Obstet Gynecol Surv* 2001; 56:225-30.
63. La Cava A, Alviggi C, Matarese G. Unraveling the multiple roles of leptin in inflammation and autoimmunity. *J Mol Med* 2004; 82:4-11.
64. Tanaka T, Utsonomiya T, Bai T, Nakajima S, Umesaki N. Leptin inhibits decidualization and enhances cell viability of normal human endometrial stromal cells. *Int J Mol Med* 2003; 12:95-8.

65. Mahutte NG, Matalliotakis IM, Gourmenou AG, Vassiliadis S, Koumantakis GE, Arici A. Inverse correlation between peritoneal fluid leptin concentrations and the extent of endometriosis. *Hum Reprod* 2003; 18:1205-9.
66. Gogacz M, Polak G, Jackowicki J, Kotarski J. Peritoneal fluid leptin concentration in infertile patients. *J Reprod Immunol* 2001; 51:1598-65.
67. Freitas FM. Estudo de proteínas do fluido peritoneal pela técnica de eletroforese em mulheres inférteis com endometriose. Botucatu, 1998. 56p. Tese (Doutorado em Ginecologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.
68. Halis G, Arici A. Endometriosis and inflammation in infertility. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034:300-15.
69. D'Hooghe TM, Mihalyi AM, Simsa P, Kyama CK, Peeraer K, De Loecker P et al. Why we need a noninvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis with a high sensitivity. *Gynecol Obstet Invest* 2006; 62:136-8.
70. American Society for Reproductive Medicine. Revised ASRM classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997; 67(5):817-21.

71. Walter AJ, Hentz JG, Magtibay PM, Cornella JL, Magrina JF. Endometriosis: Correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184:1407-13.
72. D'Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 68:613-25.
73. Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy SH. What makes a good case-control study? Design issues for complex traits such as endometriosis. *Hum Reprod* 2002; 17:1415-23.
74. Redwine DB. "Invisible" microscopic endometriosis: A review. *Gynecol Obstet Invest* 2003; 55:63-7.
75. Koninckx PR. Biases in the endometriosis literature illustrated by 20 years of endometriosis research in Leuven. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 81:259-71.
76. D'Hooghe TM, Bambra CS, De Jonge I, Machai PN, Korir R, Koninckx PR. A serial section study of visually normal posterior pelvic peritoneum from baboons (*Papio cynoncephalus*, *Papio anubis*) with

- and without spontaneous minimal endometriosis. *Fertil Steril* 1995; 38:49-52.
77. Schollmeyer T, Pandit K, Schmutzler A, Mettler L. Correlation of endoscopic interpretation of endometriosis with histological verification. *Clin Exp Obst Gynecol* 2004; 31:107-9.
78. Wood C, Kuhn R, Tsaltas J. Laparoscopic diagnosis of endometriosis. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 2002; 42:377-81.
79. Matarese G, Alviggi C, Sanna V, Howard JK, Lord GM, Caravetta C et al. Increased leptin levels in serum and peritoneal fluid of patients with pelvic endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2483-7.
80. Viganò P., Somigliana E, Matrone R, Dubini A, Barron C, Vignali M et al. Serum leptin concentrations in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metabol* 2002; 87:1085-7.
81. Kyama CM, Overbergh L, Debrock S, Valckx D, Van der 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. *Fertil Steril* 2006; 85:1667-75.

82. Markowska J, Kowalska M, Gogacz M, Lubin J, Markowski M, Kaminska J. Cytokines and endometriosis. *Clin Exp Obst Gynecol* 2004; 31:269-70.
83. Bedaiwy MA, Falcone T. Laboratory testing for endometriosis. *Clin Chim Acta* 2004; 340:41-56.
84. Gómez-Torres MJ, Ación P, Campos A, Velasco I. Embryotoxicity of peritoneal fluid in women with endometriosis. Its relation with cytokines and lymphocyte populations. *Hum Reprod* 2002; 17:777-81.
85. Sokolov DI, Solodovnikova NG, Pavlov OV, Niauri DA, Volkov NN, Selkov SA. Study of cytokine profile and angiogenic potential of peritoneal fluid in patients with external genital endometriosis. *Bull Exp Biol Med* 2005; 140:541-4.
86. Cheong YC, Shelton JB, Laird SM, Richmond M, Kudesia G, Li TC et al. IL-1, IL-6 and TNF- α concentrations in the peritoneal fluid of women with pelvic adhesions. *Hum Reprod* 2002; 17:69-75.



Alexos



Anexo I – Solicitação para Realização de Ligadura Tubária

unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO PARA REALIZAÇÃO DE
LIGADURA TUBÁRIA

Nome: _____ Idade: _____
 Identidade n.º: _____ Órgão Expedidor: _____
 Estado Civil: Solteira [] Casada [] União estável []
 Número de filhos vivos: [] Sexo dos filhos: M [] F []
 Nome do cônjuge: _____ Idade: _____
 Identidade n.º: _____ Órgão Expedidor: _____
 Endereço: _____
 Telefone: _____

Nós, acima identificados e adiante assinados, por livre e espontânea vontade e por entendermos ser o mais certo e conveniente para nossos interesses como marido e mulher, declaramos que o Dr. _____ informou-nos sobre a INTERVENÇÃO DE LIGADURA TUBÁRIA, esclarecendo-nos que:

1. A **LIGADURA TUBÁRIA** consiste basicamente na **INTERRUPÇÃO DAS TROMPAS**, para impedir uma nova gravidez.
2. Embora, a ligadura tubária seja o método mais eficaz de planejamento familiar da mulher, **sua eficácia NÃO é de 100%**. Existe uma porcentagem de falha de 0,41%, ou seja, 4 casos em 1.000 pacientes submetidas a este procedimento.
3. Temos conhecimento que este procedimento é virtualmente **IRREVERSÍVEL** e que, se nos arrependermos, as chances de gravidez serão pequenas, mesmo após cirurgia.
4. Esta técnica necessita de anestesia, cujo risco será avaliado por consulta médica, estando cientes das suas possíveis complicações, especialmente em mulheres que fumam, tenham doenças do coração ou dos pulmões, sejam obesas ou tenham tido complicações em outras anestésias anteriores.
5. Como em toda cirurgia, existe um risco de complicações possíveis:
 - hemorragias, lesões de órgãos internos, dificuldade de cicatrização, infecções, anemia, trombose.
6. Existem outros métodos de contracepção temporários, que me foram oferecidos:
 - Métodos de barreira (“camisinha” masculina e feminina);
 - Anticoncepção hormonal (pílula anticoncepcional, injeções, adesivos, anel vaginal, implantes);
 - Dispositivos Intra-Uterinos (DIU com cobre ou com hormônio);
 - Métodos naturais (“tabelinha”, muco cervical e temperatura basal).

ENTENDEMOS as explicações que me foram prestadas em linguagem clara e simples, esclarecendo-nos todas as dúvidas que nos ocorreram. Também entendemos que, a qualquer momento e sem necessidade de dar nenhuma explicação poderemos revogar o consentimento que agora prestamos. Assim, **DECLARAMOS** agora que estamos satisfeitos com as informações recebidas e que compreendemos o alcance e riscos do tratamento programado.

Por tal razão e nestas condições, **CONSENTIMOS** que se realize a **INTERVENÇÃO DE LIGADURA TUBÁRIA** proposta. Reservamo-nos expressamente o direito de revogar a qualquer momento este consentimento antes que o procedimento objeto deste documento se realize.

Botucatu, _____ de _____ de _____.

 Paciente ou Representante Legal

 Cônjuge

Testemunha

Testemunha

Anexo II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Grupo C**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA****FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA

REALIZAÇÃO DE VIDEOLAPAROSCOPIA

Grupo Controle

Nome: _____ **Idade:** _____
Registro Hospitalar: _____ **Telefone:** _____

Eu, acima qualificada como paciente e abaixo assinada, DECLARO, em atendimento ao estabelecido pelo item II-11 da Resolução nº 196/96 que disciplina pesquisa envolvendo seres humanos, que recebi do médico Dr. Mauro Ihlenfeld, CREMESP 103.940, explicações completas e pormenorizadas a respeito da natureza, objetivos e métodos de sua pesquisa, bem como dos riscos que a mesma possa me acarretar. Portanto, ENTENDO que:

- A pesquisa tem como objetivo avaliar o uso de exames laboratoriais para diagnóstico da endometriose em fases iniciais podendo evitar a necessidade de cirurgia.
- Será realizada visualização minuciosa dos órgãos internos para verificação da presença de endometriose, durante a cirurgia de ligadura tubária.
- Durante a cirurgia será necessária a coleta de pequeno fragmento para exame e a coleta do líquido existente no abdome para a realização de exames laboratoriais, para certeza diagnóstica.
- A ligadura tubária, conforme solicitação anexa, será realizada de acordo com técnica que permite realizar a cirurgia por meio de pequenas incisões de 0,5 a 1 cm, o que permite menor permanência hospitalar e a realização de atividades físicas em 7 a 10 dias.
- No entanto, existem riscos inerentes a qualquer cirurgia, como infecção, hemorragias e lesões de estruturas internas, o que poderá acarretar na conversão à técnica convencional e maior período de internação.
- Como alternativa à videolaparoscopia, é possível a realização da cirurgia convencional, com incisão de 5 cm, porém não permite a visualização minuciosa de todo abdome.
- Nome e endereço ou qualquer outra forma de identificação da paciente não aparecerão em nenhum tipo de publicação, nem serão revelados aos profissionais de saúde.

Assim, DECLARO agora que estou satisfeita com a informação recebida e eu entendi as explicações que me foram prestadas em linguagem clara e simples, estando a equipe à disposição para esclarecer outras dúvidas que surgirem durante a realização da pesquisa.

Entendo que poderei revogar o consentimento que agora presto, sem qualquer penalização. Por tal razão e nestas condições **CONSINTO** que se realize a **VIDEOLAPAROSCOPIA** e o **PROTOCOLO DE PESQUISA** proposto.

Botucatu, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Médico

Assinatura da paciente

Anexo III – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Grupo E



unesp **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU
 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA
 REALIZAÇÃO DE VIDEOLAPAROSCOPIA

Grupo de Estudo

Nome: _____ **Idade:** _____
Registro Hospitalar: _____ **Telefone:** _____

Eu, acima qualificada como paciente e abaixo assinada, DECLARO, em atendimento ao estabelecido pelo item II-11 da Resolução nº 196/96 que disciplina pesquisa envolvendo seres humanos, que recebi do médico Dr. Mauro Ihlenfeld, CREMESP 103.940, explicações completas e pormenorizadas a respeito da natureza, objetivos e métodos de sua pesquisa, bem como dos riscos que a mesma possa me acarretar. Portanto, ENTENDO que:

- A pesquisa tem como objetivo avaliar a utilização de exames laboratoriais para diagnóstico da endometriose em fases iniciais podendo evitar a necessidade de realização de videolaparoscopia para o diagnóstico desta doença em outras pacientes com dor ou infertilidade conjugal.
- Será realizada visualização minuciosa dos órgãos internos para verificação da presença de endometriose, durante a cirurgia proposta, de videolaparoscopia.
- Durante a cirurgia será necessária a coleta de pequeno fragmento e a coleta do líquido existente no abdome para a realização de exames laboratoriais, para certeza diagnóstica.
- A videolaparoscopia consiste em uma técnica que permite a visualização direta dos órgãos internos e realizar o diagnóstico de minúsculos focos de endometriose, por meio de pequenas incisões de 0,5 a 1 cm, o que permite menor permanência hospitalar e a realização de atividades físicas em 7 a 10 dias.
- No entanto, por ser um procedimento cirúrgico, existem riscos inerentes a qualquer cirurgia, como infecção, hemorragias e lesões de estruturas internas, o que poderá acarretar na conversão à técnica convencional e maior período de internação.
- Como alternativa à videolaparoscopia, é possível a realização da cirurgia convencional, com incisão de 5 cm, porém não permite a visualização minuciosa dos órgãos internos e o diagnóstico de pequenos focos de endometriose.

- Nome e endereço ou qualquer outra forma de identificação da paciente não aparecerão em nenhum tipo de publicação, nem serão revelados aos profissionais de saúde.

Assim, DECLARO agora que estou satisfeita com a informação recebida e eu entendi as explicações que me foram prestadas em linguagem clara e simples, estando a equipe à disposição para esclarecer outras dúvidas que surgirem durante a realização da pesquisa.

Entendo que poderei revogar o consentimento que agora presto, sem qualquer penalização. Por tal razão e nestas condições **CONSINTO** que se realize a **VIDEOLAPAROSCOPIA** e o **PROTOCOLO DE PESQUISA** proposto.

Botucatu, ____ de _____ de ____.

Assinatura do Médico

Assinatura da paciente

Anexo IV – Protocolo de Atendimento



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

CORRELAÇÃO DOS ASPECTOS VIDEOLAPAROSCÓPICOS,
HISTOPATOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS NA ENDOMETRIOSE
PERITONEAL MÍNIMA E LEVE

Protocolo de Atendimento

Nome: _____ Idade: _____

Registro: _____ Peso: _____ Altura: _____

Paridade: G ____ P ____ A ____ C ____ DUM: _____ Raça: _____

Tempo de infertilidade: _____

Quadro Clínico

Anamnese: _____

Exame físico e ginecológico: _____

Ultra-sonografia transvaginal: _____

Videolaparoscopia

Tipos de lesão: _____

Localização: _____

Estadiamento ASRM: _____ Pontuação _____

Biópsias: [] Fossa ovariana [] Esp. vésico-uterino [] Fundo de saco posterior

Anátomo-Patológico: _____

Dosagem Laboratorial

	Soro	Líquido peritoneal
Leptina		
IL-6		
TNF- α		

Anexo V – Estadiamento das lesões de endometriose - ASRM



**American Society for Reproductive Medicine
Revised Classification of Endometriosis.**

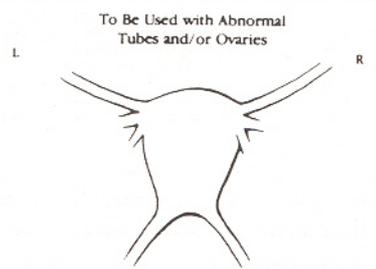
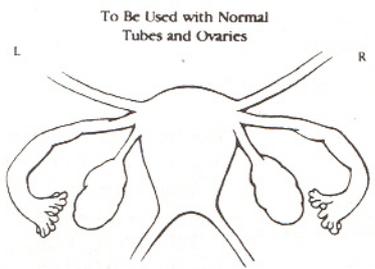
Patient's Name _____ Date _____
 Stage I (Minimal) - 1-5 Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Stage II (Mild) - 6-15 Recommended Treatment _____
 Stage III (Moderate) - 16-40
 Stage IV (Severe) - >40
 Total _____ Prognosis _____

PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	<1cm	1-3cm	>3cm
	Superficial	1	2	4
	Deep	2	4	6
OVARY	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION	Partial	4		40
	Complete			
OVARY	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	TUBE	R Filmy	1	2
Dense	4	8	16	
L Filmy	1	2	4	
Dense	4	8	16	

*If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.
 Denote appearance of superficial implant types as red (R), red, red-pink, flame-like, vesicular blobs, clear vesicles, white (W), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown, or black (B) black, hemosiderin deposits, blue]. Denote percent of total described as R____%, W____% and B____%. Total should equal 100%.

Additional Endometriosis: _____

 Associated Pathology: _____





Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-8143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde em 30 de
abril de 1997

Botucatu, 07 de março de 2.005

OF.23/2005-CEP

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Rogério Dias
Departamento de Ginecologia e Obstetria da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Prof. Rogério

De ordem da Senhora Coordenadora deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa "Correlação dos aspectos videolaparoscópicos, histopatológicos na endometriose peritoneal mínima e leve associada à infertilidade", de autoria de Mauro Fernando Kürten Ihlenfeld, orientado por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 07 de março de 2.005.

Situação do Projeto: **APROVADO**

Atenciosamente,


Alberto Santos Capellupi
Secretário do CEP

Anexo VII – Justificativa de alteração no título do projeto de pesquisa

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA
Seção de Pós-Graduação

Fis.
Proc.
Rub.

BOTUCATU, SP - RUBIÃO JÚNIOR - CEP 18.618-970 - PABX (0xx14) 3811-6022

JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa "Correlação dos aspectos videolaparoscópicos, histopatológicos na endometriose peritoneal mínima e leve associada à infertilidade", aprovado pelo CEP em 07/03/2005, teve seu título alterado para "Determinação de citocinas no diagnóstico laboratorial da endometriose peritoneal mínima e leve", sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Tese de Doutorado.

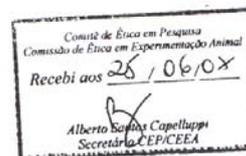
Botucatu, 25 de junho de 2007.

Nome/Assinatura do(a) aluno(a) *Mauro Fernando Kürten Ihlenfeld*
Mauro Fernando Kürten Ihlenfeld.

Nome/Assinatura do(a) orientador (a) *Prof. Adj. Rogério Dias*
Prof. Adj. Rogério Dias

Programa de Pós Graduação em **Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia - FMB**

OBS.: Preencher formulário em 2 vias e protocolar no respectivo CEP



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)