

# BIOMARCADORES PARA O DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRIOSE

## BIOMARCATORS FOR THE DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

ARTHUR KHALIL ASSIS TUM<sup>1\*</sup>, ALINE GARCIA FELIZARI<sup>1</sup>, CAIO HENRIQUE SANTANA<sup>1</sup>, BERNARDO CARNEIRO DE SOUSA GUIMARÃES<sup>1</sup>, GUSTAVO HENRIQUE SILVA SIDRIM<sup>1</sup>, JUAN MENDES CANGUSSU<sup>1</sup>, JOSÉ HELVÉRCIO KALIL DE SOUZA<sup>2</sup>

1. Acadêmicos do 4º período do curso de Medicina da Faculdade de Minas - BH; 2. Ginecologista, Graduado em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Mestre e Doutor pela UFMG, Docente da disciplina de Saúde da mulher do curso de medicina da UFOP, Professor titular da disciplina de ginecologia e obstetrícia do curso de medicina da FAMINAS-BH e UNIVAQO.

\* Faculdade de Minas (FAMINASBH) - Avenida Cristiano Machado, 12001, Vila Cloris, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. CEP: 31744007 [jhkalil@mail.com.br](mailto:jhkalil@mail.com.br)

Recebido em 14/03/2019. Aceito para publicação em 22/04/2019

### RESUMO

Para diagnóstico da endometriose, atualmente, é utilizado a laparoscopia (diagnóstico padrão ouro). Porém esse é caracterizado como um procedimento invasivo, e dessa forma, buscamos, a partir de revisão bibliográfica, a viabilidade de utilização de biomarcadores, com ênfase em proteínas e fatores genéticos para o diagnóstico de endometriose.

**PALAVRAS-CHAVE:** Endometriose, biomarcadores, diagnóstico.

### ABSTRACT

For diagnosis of endometriosis, laparoscopy is currently used (gold standard diagnosis). However, this is characterized as an invasive procedure. Thus, we seek, from a bibliographic review, the feasibility of using biomarkers, with emphasis on proteins and genetic factors for the diagnosis of endometriosis.

**KEYWORDS:** Endometriosis; biomarkers, diagnosis.

## 1. INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença crônica que se define pela presença de tecido endometrial (estroma e glândulas) fora da cavidade uterina e incide em 10% das mulheres entre 25 a 40 anos de idade. Acomete em até 50% mulheres inférteis e possui sua maior frequência em nulíparas. Em pacientes assintomáticas pode incidir de 6% até 43%<sup>1</sup>.

Apesar de poder ocorrer em qualquer localização, a presença de tecido ectópico é mais frequente ao nível da pelve. Três tipos de endometriose devem ser considerados, aos quais se atribui mecanismos fisiopatológicos diferentes: endometriose peritoneal (teoria da transplantação), endometriose ovárica (teoria da metaplasia celômica) e endometriose profunda (teoria da metaplasia mulleriana).<sup>1,2</sup>

Não há cura para a endometriose. As opções de tratamento incluem tratamento expectante, terapia farmacológica (hormonal) e cirurgia. Como diagnóstico padrão ouro, temos a laparoscopia com exame

histológico de lesões excisadas. Exceto se a doença for visível na vagina ou em outra área<sup>3,4</sup>.

Em diferentes centros envolvidos com o estudo da endometriose, várias substâncias foram testadas no sentido de se identificar algum método de avaliação laboratorial que permitisse o diagnóstico e o seguimento do tratamento das pacientes, sem ter de recorrer a videolaparoscopia<sup>5</sup>. Apesar de menstruação retrograda ser verificada em cerca de 90% das mulheres, endometriose só aparece em 10% delas, isso porque existem condições necessárias para o aparecimento como predisposição genética, dependência de estrógenos e resistência à progesterona, além de eventos associados à inflamação<sup>4</sup>. Dessa forma é possível citar como exemplos alguns tipos de proteínas e fatores genéticos como possíveis biomarcadores.

## 2. METODOLOGIA

O estudo será de revisão da literatura, construída por meio de busca na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), utilização de livros bases, bem como, sites oficiais governamentais e outros acadêmicos: SCIELO, Ministério da Saúde (MS) e Organização Mundial de Saúde (OMS).

A busca eletrônica inicial identificou 100 artigos todos na língua inglesa na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), os quais foram encontrados por meio da utilização dos descritores: Endometriose, biomarcadores, diagnóstico. Com subsequente utilização de filtros para critérios de busca; Texto completo disponível a partir do período de 2012 e Aspecto clínico: Diagnóstico e Prognóstico. Após leitura dos títulos, e por, mesmo com o filtro de disponibilidade, alguns artigos serem privados, foram selecionados 20 para leitura e análise completa.

## 3. DESENVOLVIMENTO

### CA-125

Em teoria, os níveis de CA-125 (glicoproteína) são maiores em mulheres com endometriose, na maioria

dos estudos relatados há especificidade maior que 80% e sensibilidade menor que 50%<sup>4</sup>. Elevados níveis podem ser explicados pela maior produção dessa glicoproteína por tecido endometrial, o que fora observado *in vitro*<sup>6</sup>.

Em uma coorte recente, apresentando infertilidade, a elevação de CA-125 durante a menstruação foi mais pronunciada em mulheres com endometriose, com um aumento de 83% no nível de CA-125, mostrando 93% de sensibilidade e 92% de especificidade para o diagnóstico do distúrbio.<sup>7</sup> As elevações podem ser perceptíveis apenas quando analisadas endometrioses moderadas ou intensas e durante o período menstrual<sup>4</sup>.

### Leptina

Foi cogitada por regular o processo de esteroidogênese nas gônadas, na ovulação e na transformação decidual do endométrio. Pode-se supor que as diferenças nos níveis de leptina dependem do estágio da doença. Um nível mais alto de leptina no líquido peritoneal foi observado nos estágios I e II, e não nos estágios III e IV da endometriose. Além disso, a relação leptina / interleucina-8 foi menor em pacientes com endometriose ovariana do que na endometriose peritoneal.<sup>8</sup> Em outro estudo, dentro do grupo controle, houve concentrações mais baixas de leptina para as mulheres com cistos ovarianos benignos em comparação com as mulheres saudáveis<sup>9</sup>.

### Glicodeína

A glicodelina foi cogitada por ser uma proteína derivada do endométrio com efeitos angiogênicos, imunossupressores e contraceptivos conhecidos, poderia contribuir para o desenvolvimento de endometriose e infertilidade relacionada à endometriose. Além disso, a glicodelina não é produzida apenas no epitélio glandular do endométrio secretor, mas também é eliminado de lesões endometrióticas para o líquido peritoneal e soro. Níveis aumentados de glicoproteína plasmática foram observados em pacientes com endometriose<sup>10</sup>.

Nas amostras de soro, as concentrações de glicodelina A foram estatisticamente significativamente aumentadas para os pacientes com endometriose ovariana versus todo o grupo controle. No líquido peritoneal, as concentrações de glicodelina-A, IL-6 e IL-8 aumentaram de forma estatisticamente significativa.<sup>9</sup> Em alguns estudos mostraram que ao aumentar a dosagem de Glicodelina-A (2,07 ng / ml para 18 ng / ml) a especificidade do exame caiu de 0,79 para 0,44. Em outros nota-se que as concentrações de glicodelina não se alteraram em mulheres com endometriose na fase folicular, fase folicular ou lútea, ou quando a fase do ciclo não foi especificada. Não há um valor clínico no uso de glicodelina-A para o diagnóstico da endometriose<sup>11</sup>.

### VEGF

Foi analisado por ser o fator de crescimento endotelial vascular. Sua utilidade como biomarcador

para endometriose demonstra não ser clara, pois alguns estudos mostram níveis sanguíneos elevados em pacientes com endometriose, enquanto outros estudos não registram uma diferença significativa. O acompanhamento de pacientes com endometriose avançada mostrou níveis reduzidos de VEGF-A após a excisão laparoscópica das lesões. Em outro estudo, o tratamento com danazol em pacientes com endometriose resultou em aumento da concentração de VEGF no plasma. Apesar desses resultados, um estudo recente propondo um painel de biomarcadores incluiu o VEGF para detectar endometriose mínima/leve com 80% de sensibilidade<sup>12</sup>.

### Interleucinas

As concentrações em fluido peritoneal de interleucinas em mulheres com endometriose excedem aquelas em controles normais e que os níveis de interleucinas estão correlacionados ao volume de implantes de endometriose. Isso se explica pelo fato de que a endometriose estimula a secreção de citocinas que recrutam e ativam macrófagos, sendo estes fatores ocasionantes para angiogênese contribuindo para a patogênese da endometriose, proliferação de tecidos endometriais ectópicos. Logo, angiogênese e inflamação são processos cruciais no desenvolvimento da endometriose na cavidade peritoneal<sup>13</sup>.

A expressão endometrial de mRNA de IL-8 foi significativamente maior, enquanto a de PDGF-A foi significativamente menor, em contraste. Todos os estudos analisados por Borrelli, G M; Abrão, M S; Mechsner, S. também encontraram maior expressão de CXCL8 nas células endometriais entre os pacientes com endometriose em comparação com os controles<sup>14</sup>.

As concentrações de IL-6 e IL-10 também foram significativamente maiores nos pacientes com endometriose do que nos controles. Especificamente, níveis significativamente mais altos de IL-6 e IL-10 foram encontrados em moderada a severa, mas não em endometriose mínima a leve em comparação aos controles<sup>15</sup>.

Em outro estudo, pacientes com endometriose (74 casos). A IL-6 sérica foi capaz de diagnosticar a endometriose com 89,5% de sensibilidade e 82,5% de especificidade, mas a sensibilidade e especificidade com presença de fibras nervosas na camada funcional do endométrio foram de 92% e 80 % respectivamente. Quando duas modalidades diagnósticas foram combinadas, a sensibilidade e a especificidade foram elevadas para 100 e 92,5%, respectivamente<sup>15</sup>.

### Fibras nervosas

Dois estudos foram analisados sobre fibras nervosas da camada funcional, sendo que apresentam opiniões contrárias. Em um foi observado que no endométrio foram identificadas em 15 (22%) biópsias em geral, incluindo 9/47 (19%) casos com endometriose peritoneal confirmada histologicamente e 6/21 (29% dos casos) sem endometriose. Assim, chegou-se à conclusão que a avaliação das fibras nervosas da

camada funcional do endométrio realizada usando técnicas imunohistoquímica padrão em amostras de biópsia de rotina não se mostrou sensível nem específica para o diagnóstico de endometriose<sup>16</sup>. Logo, apenas sua combinação poderia ter efeito.

Estudos independentes iniciais envolvendo detecção imuno-histoquímica do marcador PGP9.5 para fibras nervosas no endométrio mostraram-se altamente sensíveis (95% e 98%) e específicos (100% e 83%) para a identificação de endometriose<sup>17</sup>.

### Proteínas do citoesqueleto

As proteínas do citoesqueleto demonstraram desempenhar um papel importante em muitas funções celulares. A presença da proteína caldesmon no endométrio de pacientes com e sem endometriose permitiu diagnósticos com 95% de sensibilidade (especificidade 100%) e 100% de sensibilidade (especificidade 100%) para a doença e para endometriose mínima a leve na fase proliferativa do ciclo menstrual, respectivamente. Na fase secretora, a endometriose mínima a leve foi detectada com sensibilidade de 90% e especificidade de 93,3%. Logo, a fase do ciclo menstrual não alterou a expressão de *CALDI* em nenhum dos tecidos analisados. Uma explicação é o fato de que outras doenças endometriais não foram excluídas<sup>18</sup>.

Já outro estudo com 79 participantes na fase do ciclo folicular ou lútea, avaliou a expressão de CK19 na endometriose pélvica e não demonstrou diferenças significativas na expressão de CK19 entre os grupos (Kuessel 2014). Esta observação fornece poucos dados para tirar conclusões sobre o papel diagnóstico deste biomarcador sanguíneo na endometriose<sup>11</sup>.

### Fatores genéticos

Os micro-RNAs (miRNAs,) no sangue periférico têm sido sugeridos como potenciais biomarcadores de endometriose. Os níveis plasmáticos reduzidos de miR-17-5p, miR-20a e miR-22 e níveis plasmáticos elevados de miR-16, miR-191 e miR-195 foram encontrados em mulheres com endometriose em comparação com mulheres sem endometriose. Um estudo de avaliação dos níveis séricos de miRNA verificaram um aumento de miR-199 e miR-122 e uma redução de miR-145, miR-141, miR-542-3p, e miR-9 em pacientes com endometriose em comparação com controles. As famílias de miRNA miR-9 e miR-34 foram desreguladas no tecido do endométrio secretor de mulheres com vs sem endometriose, e 50 miRNAs foram confirmados como diferencialmente expressos em endométrio eutópico vs. ectópico em ovários com endometriose<sup>21,22</sup>.

Seis miRNA poderiam distinguir amostras de endometriose do grupo controle com alta confiança: miR-199a, miR-122, miR-145, miR-141, miR-542-3p e miR-9, sendo que os níveis de expressão relativa de miR-199a e miR-122 foram maiores nas amostras de pacientes com endometriose do que naqueles em controles negativos, enquanto miR-14, miR-141, miR-

542-3p e miR-9 foram menores nas amostras de pacientes com endometriose do que nos controles negativos<sup>19</sup>.

O MiR-9 também é desregulado no câncer de ovário endometriode, com o qual a endometriose está associada. Embora reforçada pelo rigor de incluir apenas a presença documentada cirurgicamente ou a ausência de endometriose em estágio avançado, o estudo é limitado pela inclusão do endométrio de controle de mulheres com leiomiomas intramurais coexistentes que poderiam confundir as diferenças de miRNA específicas da endometriose. Este grupo comparou ainda a expressão de miRNA em mulheres com endometriose leve e grave e encontrou aumento da expressão endometrial de miR-21 e DICER no estágio mais avançado da doença. Até o momento, a utilidade dos miRNAs como biomarcadores para a endometriose não foi especificamente testada<sup>21,23</sup>.

Em um estudo, a análise de mRNA do endométrio eutópico não mostrou genes expressos diferencialmente em mulheres com endometriose quando comparados com controles, independentemente do estágio de endometriose ou da fase cíclica<sup>22</sup>.

Outro fator genético é um marcador de apoptose, Anexina, que tem sido relatado como um biomarcador endometrial semi-invasivo promissor para o diagnóstico de endometriose mínima a leve. De fato, alterações na regulação de apoptose em endométrio eutópico e ectópico de mulheres com endometriose poderiam contribuir para a sobrevivência das células endometriais na cavidade peritoneal e o desenvolvimento da endometriose<sup>10</sup>.

## DISCUSSÃO

Pelos dados apresentados, é possível perceber divergência entre estudos de mesmo foco. Atualmente, não são aceitos biomarcadores para substituição da laparoscopia, pois assim como afirma Vodolazkaia *et al.* (2013)<sup>10</sup> os estudos que deram resultados positivos possivelmente incluem um número limitado de pacientes ou até mesmo os números sofrem interferência dependendo da fase do ciclo. Também é necessário pontuar que a elevação ou diminuição de alguns marcadores pode não estar relacionado apenas com a Endometriose.

Ao se analisar o CA-125 temos que só há alterações em casos de endometriose moderadas ou intensas e durante o período menstrual, sendo que nesses casos a paciente já haveria expressado sintomatologia mais avançada da doença. É preciso destacar também que a elevação desse marcador não é exclusividade da Endometriose, mas também, de câncer de ovário.

Já a análise de proteínas do citoesqueleto, glicodeína e leptina foi possível perceber que nenhuma consegue diagnosticar a doença em todos seus níveis de complexidade, além de haver estudos divergentes em relação a seu potencial. Porém se considerado a análise conjunta de proteínas do citoesqueleto, as quais foram ditas reconhecer endometriose mínima a leve

com sensibilidade de 90% e especificidade de 93,3%, com CA-125 que reconhece os níveis moderados e intensos, pode-se obter um espectro mais amplo para o diagnóstico envolvendo todas as fases da doença. Caldesmon apresentou ser um possível biomarcador, porém a falta de mais estudos que comprovem foi relatada.

Os estudos de fatores genéticos se mostraram interessantes alternativas, como o micro-RNA, porém apresenta o mesmo empecilho de outros potenciais marcadores, a falta de especificidade para a doença. Se analisarmos em conjunto com CA-125 e as proteínas relatadas será possível, também, um maior espectro da doença. Porém a partir disso é possível levantar dois questionamentos quanto associação desses biomarcadores: Exclusividade para a doença, custo para a paciente.

Não é interessante associar vários fatores, sendo que nenhum deles é alterado apenas para a Endometriose, pois assim a dúvida ainda poderia existir. E, também, a associação geraria um custo mais alto para a paciente uma vez que a Laparoscopia é apenas um exame e que apenas com ele o diagnóstico é certeza. Apesar de análises genéticas apresentarem um bom futuro para achados clínicos, elas por si só apresentam custo elevado, associados a outro exame elevaria ainda mais.

#### 4. CONCLUSÃO

É possível perceber que até agora nenhum biomarcador nem um painel de biomarcadores foi validado como um teste não invasivo para endometriose. E, principalmente, a Laparoscopia apesar de invasiva, continua sendo o melhor método para diagnóstico.

Análises genéticas poderão no futuro ser mais específicas que a Laparoscopia, porém hoje ainda temos pouco estudo sobre tal fator. Além de o custo ser maior.

#### REFERÊNCIAS

- [1] Tobias-Machado M, Di Giuseppe R, Barbosa CP, Borrelli M & Wroclawski ER. Endometriose vesical: aspectos diagnósticos e terapêuticos. Revista da Associação Médica Brasileira, 2001; 47(1), 37-40.
- [2] Andrade AG, Nogueira B, Reis J, Faustino F & Veríssimo C. Tratamento cirúrgico da endometriose profunda: série de 16 casos. Acta Obstétrica e Ginecológica Portuguesa 2016; 10(1), 15-20.
- [3] Johnson NP, Hummelshoj L, World Endometriosis Society Montpellier Consortium. Consensus on current management of endometriosis. Hum Reprod. 2013;28(6):1552-1568.
- [4] Berek & Novak, Tratado de Ginecologia, 15ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2014.
- [5] Abrão MS<sup>1</sup>, Podgac S, Filho BM, Ramos LO, Pinotti JA, de Oliveira RM. O uso de marcadores bioquímicos no diagnóstico da endometriose pélvica. Hum Reprod. 1997 Nov; 12 (11): 2523-7
- [6] McKinnon B, Mueller MD, Nirgianakis K, *et al.* Comparison of ovarian cancer markers in endometriosis favours HE4 over CA125. Mol Med Rep 2015; 12(4):5179-5184.
- [7] Toor K, Wessels JM, Agarwal SK, *et al.* Clinical markers of endometriosis: Have we been too quick to judge? Med Hypotheses 2014; 82(4):493-501.
- [8] Chmaj-Wierzchowska K, Kampioni M, Wilczak M, *et al.* Novel markers in the diagnostics of endometriomas: Urocortin, ghrelin, and leptin or leukocytes, fibrinogen, and CA-125? Taiwan J Obstet Gynecol 2015; 54(2):126-30.
- [9] Kocbek V, Vouk K, Bersinger NA, *et al.* Panels of Cytokines and Other Secretory Proteins as Potential Biomarkers of Ovarian Endometriosis. J Mol Diagn 2015; 17(3):325-34
- [10] Fassbender A, Vodolazkaia A, Saunders P, *et al.* Biomarkers of endometriosis. Fertil Steril 2013;99(4):1135-45
- [11] Nisenblat V, Bossuyt PMM, Shaikh R, *et al.* Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. Cochrane Database Syst Rev 2016; (5):CD012179.
- [12] Fassbender A, Burney RO, O DF, *et al.* Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. Biomed Res Int. 2015;2015:130854.
- [13] Ryan IP, Tseng JF, Schriock ED, *et al.* Interleukin-8 concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. Fertility and Sterility 1995; 63(4): 929-932.
- [14] Wickiewicz D, Chrobak A, Gmyrek GB, *et al.* Diagnostic accuracy of interleukin-6 levels in peritoneal fluid for detection of endometriosis. Archives of Gynecology and Obstetrics 2013; 288,(4); 805-814.
- [15] Elgafor El Sharkwy IA. Combination of non-invasive and semi-invasive tests for diagnosis of minimal to mild endometriosis. Archives of Gynecology and Obstetrics 2013; 288,(4); 793-797.
- [16] Leslie C, Ma T, McElhinney B, *et al.* Is the Detection of Endometrial Nerve Fibers Useful in the Diagnosis of Endometriosis?. Int J Gynecol Pathol 2013;32(2):149-55.
- [17] Burney RO. Biomarker development in endometriosis. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 2014;244:75-81.
- [18] Meola J, Hidalgo GS, Silva JCR, *et al.* New Insights for Diagnosing Endometriosis. Biology of Reproduction 2013; 88(5):122,1-8.
- [19] Wang WT, Zhao YN, Han BW, *et al.* Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2013; 98(1):281-9.
- [20] Fassbender A, Burney RO, Dorien F. O, *et al.* Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. BioMed Research International 2015.
- [21] Carrarelli P, Rocha ALL, Belmonte G, *et al.* Increased expression of antimüllerian hormone and its receptor in endometriosis. Fertility and Sterility 2014; 101(5):1353-8.
- [22] Fassbender A, Verbeeck N, Bornigen D, *et al.* Combined mRNA microarray and proteomic analysis of eutopic endometrium of women with and without endometriosis. Human Reproduction 2012; 27(7):2020-9.
- [23] Nagymanyoki Z, Mutter GL, Hornick JL, *et al.* ARID1A is a useful marker of malignancy in peritoneal washings for endometrial carcinoma. Cancer Cytopathology 2015; 123(4):253-7.