

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**  
**Curso de Biomedicina**

**Amanda Pequeno Nunes**

**Endometriose peritoneal: Resposta imunológica envolvida  
e um possível tratamento**

**São Paulo**

**2022**

**Amanda Pequeno Nunes**

**Endometriose peritoneal: Resposta imunológica envolvida  
e um possível tratamento**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Mauro Fantini Nogueira Martins, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo**

**2022**

**Amanda Pequeno Nunes**

**Endometriose peritoneal: Resposta imunológica envolvida  
e um possível tratamento**

**São Paulo, 2022**

---

**Prof. Dr. Mauro Fantini Nogueira Martins**

---

**Professor Examinador**

**São Paulo**

**2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani**

Nunes, Amanda Pequeno

Endometriose peritoneal: resposta imunológica envolvida e um possível tratamento / Amanda Pequeno Nunes. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.

29 p.

Orientação de Mauro Fantini Nogueira Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Células matadoras naturais 2. Endometriose 3. Interleucina-8  
4. Metformina 5. Patogênese homeopática 6. Sistema imunitário I. Martins,  
Mauro Fantini Nogueira II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 618.1

À minha família

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por me dar forças, coragem e saúde para enfrentar os desafios da vida

Agradeço aos meus pais, por todo apoio e carinho durante a minha jornada. Ao meu pai, Sérgio Verissimo Nunes, por sempre me proporcionar um ensino de qualidade, sem ele com certeza eu não estaria aqui. À minha mãe, Dirce Ana Pequeno Nunes, por todo o seu amor e atenção, obrigada mãe, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Serei eternamente grata a vocês. Eu amo vocês, com todo o meu coração.

A toda a minha família, principalmente à minha madrinha, Ana Ataíde Pequeno. A vocês todo o meu amor.

Ao meu namorado Rubens Álvares Marques Borges, por sempre estar do meu lado, fica aqui minha gratidão pela ajuda e por todo apoio, principalmente nos momentos finais desse trabalho. A você todo o meu amor e carinho.

Agradeço aos meus avós, Altamira Dos Santos Pequeno, José Pequeno Sobrinho, Mercedes Verissimo Nunes e Rosalvo Nunes e à Belinha que já viraram estrelinhas, mas sei que estarão sempre comigo, me abençoando. Meu amor sempre será eterno por vocês.

Agradeço a todos os professores da Universidade São Camilo, por tanto conhecimento.

Agradeço ao meu orientador Prof. Mauro Fantini Nogueira Martins, por me orientar com tanta atenção e paciência, gratidão por todo conhecimento e por ter me apresentado a imunologia.

A todos os profissionais de saúde do meu estágio, principalmente à Dra. Juliana, Thalyta e ao Dr. Gil, por todo o conhecimento durante esses dois últimos semestres e por todo apoio. A vocês, toda a minha admiração.

Por fim, quero agradecer a todos meus amigos e a todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

“A alegria evita mil males e prolonga a vida.”

William Shakespeare

## RESUMO

A endometriose é uma doença inflamatória crônica que afeta mulheres em idade reprodutiva. Essa doença é caracterizada pelo desenvolvimento e crescimento de tecido endometrial em localizações ectópicas, a causa exata da endometriose ainda é desconhecida, porém, existem várias teorias para delinear sua causa, a mais conhecida é a teoria da menstruação retrógrada. O objetivo desta revisão bibliográfica foi verificar possíveis alterações do sistema imunológico que contribuem para o desenvolvimento da endometriose e para a proliferação das células endometriais na região peritoneal. Para a seleção dos artigos foram utilizadas ferramentas de busca Lilacs, Scielo e Pubmed, a partir do ano de 1989 até o ano de 2022. Após revisão da literatura foi observado aumento dos níveis de interleucina 8 (IL-8) no ambiente peritoneal, e isso sugere que esta citocina atua diretamente na proliferação das células endometrióticas e contribui para um ambiente peritoneal inflamatório junto com a ciclooxigenase 2 (COX-2). O estrogênio tem função importante no crescimento dos focos endometrióticos, por ser uma doença dependente de estrogênio, atuando no tecido endometrial eutópico e ectópico. Alguns fatores imunológicos também contribuem para o desenvolvimento e sobrevivência dessas células em regiões fora do útero, como a diminuição da quimiotaxia e citotoxicidade das células Natural Killer (Células NK). A endometriose é uma doença que ainda não possui tratamento, pensando nisso, pesquisadores estão estudando o uso da metformina como alternativa para o tratamento da endometriose, segundo os cientistas, essa droga demonstrou ter efeitos antiinflamatórios, antiproliferativos e antiestrogênicos. Portanto, IL-8, COX-2, estrogênio e células NK, são importantes na patogênese da endometriose e mais estudos são necessários para beneficiar mulheres que sofrem dessa doença.

**Palavras-chave:** endometriose; sistema imune e endometriose; patogênese; papel da interleucina 8; metformina; células NK

## ABSTRACT

Endometriosis is a chronic inflammatory disease that affects women in reproductive age. This disease is characterized by the development and growth of endometrial tissue in ectopic locations. The exact cause of endometriosis is still unknown, however, there are several theories to outline its cause, the best known is the theory of retrograde menstruation. The objective of this bibliographic review was to verify possible changes in the immune system that contribute to the development of endometriosis and the proliferation of endometrial cells in the peritoneal region. For the selection of the articles, Lilacs, Scielo and Pubmed search tools were used, from 1989 to 2022. After a literature review, an increase in the levels of interleukin 8 (IL-8) was observed in the peritoneal environment, and this suggests that this cytokine acts directly on the proliferation of endometriotic cells and contributes to an inflammatory peritoneal environment along with cyclooxygenase 2 (COX-2). Estrogen has an important role in the growth of endometriotic foci, because it is an estrogen-dependent disease, acting on eutopic and ectopic endometrial tissue. Some immunological factors also contribute to the development and survival of these cells in regions outside the uterus, such as decreased chemotaxis and cytotoxicity of Natural Killer cells. Endometriosis is a disease that does not have a treatment yet, due to this reason, researchers are studying the use of metformin as an alternative for the treatment of endometriosis, according to scientists, this drug has shown to have anti-inflammatory, antiproliferative and antiestrogenic effects. Therefore, IL-8, COX-2, estrogen and NK cells are important in the pathogenesis of endometriosis and more studies are needed to benefit women that are suffering from this disease.

**Keywords:** endometriosis; immune system and endometriosis; pathogenesis; role of interleukin 8; metformin; NK cells

## LISTA DE ABREVIATURAS

AMPK: proteína cinase ativada

COX-2: ciclooxigenase-2

ELISA: ensaio imunoenzimático

ER: receptores para estrogênio

ESCs: células estromais endometrióticas humanas

HLA-G: antígeno leucocitário humano

IL-1: interleucina 1

IL-1-beta: interleucina 1-beta

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

IL-10: interleucina 10

MEC: matriz extracelular

MMP-2: metaloproteinase 2

MMP-9: metaloproteinase 9

NK: células natural killer

PGE2: prostaglandina E2

VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVO .....	13
3. METODOLOGIA .....	14
4. DESENVOLVIMENTO .....	15
5. TRATAMENTOS .....	21
6. CONCLUSÃO .....	24

### REFERÊNCIAS

## 1. INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença inflamatória caracterizada pelo desenvolvimento e crescimento de estroma e glândulas endometriais em localizações ectópicas, principalmente nos ovários, peritônio pélvico e septo retovaginal. É uma afecção dependente de estrogênio associados a dor pélvica, dismenorreia, dispareunia e infertilidade. Outros sintomas podem ser observados como fadiga, disquezia, problemas gastrointestinais, distensão abdominal e náusea (BURNEY; GIUDICE, 2012). Além disso, é uma enfermidade dolorosa com um impacto significativo na saúde, qualidade de vida e função reprodutiva da mulher portadora (ARAFAH; RASHID; AKHTAR, 2021).

Por essa razão o diagnóstico precoce é extremamente importante para evitar complicações. Porém geralmente é tardio, em torno dos quarenta anos de idade ou quando a mulher deseja engravidar, principalmente pela presença de sintomas inespecíficos que podem fazer com que a endometriose seja confundida com outra doença, ou como sintomas associados à menstruação. Também existe uma falta de conscientização e escassez de ginecologistas especializados na doença (ZONDERVAN; BECKER; MISSMER, 2020).

Os sintomas afetam mulheres em diversos aspectos como a vida social, emocional, fertilidade e o trabalho, além dos elevados custos para a realização de exames, cirurgias e internações (TORRES et al., 2021).

É uma das doenças mais comuns durante a vida reprodutiva da mulher. Estima-se uma taxa de prevalência em torno de 6 - 10 %. Em mulheres inférteis e com dores pélvicas crônicas, estes valores podem chegar a índices altos como 35 - 50 % (BURNEY; GIUDICE, 2012).

A patogênese exata da endometriose não é totalmente entendida, existem várias teorias para delinear sua causa. A primeira delas é denominada teoria da metaplasia celômica, segundo a qual ocorreria transformação de mesotélio em tecido endometrial, proposta por Meyer em 1919 (PODGAEC, 2006). As outras existentes são teoria dos restos embrionários, teoria da metástase e teoria da origem das células-tronco (ARAFAH; RASHID; AKHTAR, 2021).

A mais conhecida sobre o desenvolvimento da endometriose é a teoria da menstruação retrógrada, que foi proposta por Sampson na década de 1920. De

acordo com essa teoria, o endométrio eutópico é expelido através das tubas uterinas para a cavidade peritoneal durante a menstruação (ARAFAH; RASHID; AKHTAR, 2021). O implante dessas células endometriais ocorre pela influência de ambiente hormonal favorável e de fatores imunológicos que não conseguem eliminar essas células de regiões extrauterinas, o que permitirá o implante e o desenvolvimento dessas células na cavidade peritoneal, contribuindo para a origem do foco endometriótico (PODGAEC, 2006).

Uma resposta imunológica alterada na região peritoneal parece ser importante para a proliferação desses focos endometrióticos. O crescimento de implantes endometriais leva ao recrutamento de grande quantidade e diversidade de células do sistema imune, ocorrendo uma intensa inflamação com aumento de citocinas, fatores de crescimento e angiogênese. Tanto que um estudo demonstrou que existe uma diminuição da ação citotóxica de algumas células no endométrio autólogo (BERKKANOGLU; ARICI, 2003).

Por isso essa patogênese tem a necessidade de esclarecimento, e a partir de todo esse entendimento será possível melhorar as formas de diagnóstico e tratamento (TORRES et al., 2021). O estudo das disfunções imunológicas relacionadas à endometriose auxilia no entendimento do seu papel na patogênese da doença, podendo contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o futuro (RICCIO et al., 2018).

## **2. OBJETIVO**

Realizar levantamento bibliográfico em base de dados e artigos científicos, com ênfase na teoria da menstruação retrógrada, patogenia, resposta imunológica envolvida e um possível tratamento futuro. Verificar possíveis alterações do sistema imunológico que contribuem para o desenvolvimento da endometriose e para a proliferação das células endometriais na região peritoneal.

### 3. METODOLOGIA

Para a seleção dos artigos foram utilizadas as ferramentas de busca Lilacs, Scielo e Pubmed e foram analisados artigos que tenham sido publicados a partir do ano de 1989 até o ano de 2022, nos idiomas inglês e português, utilizando as seguintes palavras-chave; endometriose; sistema imune e endometriose; patogênese; papel da interleucina 8; metformina; células NK

**Keywords:** endometriosis; immune system and endometriosis; pathogenesis; role of interleukin 8; metformin; NK cells

#### 4. DESENVOLVIMENTO

Nos últimos anos, a influência do sistema imunológico no desenvolvimento da endometriose vem ganhando grande atenção dos pesquisadores. De acordo com um estudo de 2020, realizado na Universidade Federal do Triângulo Mineiro, estão cada vez mais fortes os indícios de que interações endócrino-imunológicas estão associadas ao início e progressão da doença. Neste estudo foram revisados 100 artigos publicados entre 1921 e 2020 e reiterou-se a necessidade de reconhecimento do impacto das células imunológicas na investigação e no manejo da endometriose (CRISPIM *et al.*, 2020). Além das células, as citocinas estão sendo muito estudadas devido aos seus envolvimento em vários processos inflamatórios e patológicos, principalmente na fisiologia ovariana e endometrial. Existem alterações extremamente importantes na concentração de interleucinas como interleucina 10 (IL-10), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8), fatores de crescimento ou moléculas de adesão no líquido peritoneal e sangue periférico de pacientes que sofrem de endometriose (TROJNAR *et al.*, 2022). De acordo com Sikora *et al.* (2016), a IL-8 tem um importante papel em distúrbios relacionados ao endométrio, como na patogênese da endometriose, pois ela participa de processos importantes como na adesão, invasão, implantação e proliferação das células endometriais ectópicas. A IL-8 é uma citocina CXC pró-inflamatória, ela é produzida por fagócitos e células mesenquimais expostas a estímulos inflamatórios e promove quimiotaxia e degranulação de neutrófilos. Esta citocina também é quimiotática para células endoteliais com papel importante na angiogênese (MATSUSHIMA; YANG; OPPENHEIM, 2022).

Os dados de Sikora *et al.* (2016) são suportados por propostas mais antigas, como a de Arici *et al.* (1998), que demonstraram que a IL-8 é produzida no endométrio humano e pode estimular diretamente a proliferação de células endometriais. Os resultados demonstraram claramente efeito proliferativo direto de IL-8 nas células do estroma endometrial conforme avaliado pelo aumento da captação de timidina tritiada e demonstraram também que a proliferação das células endometriais foram diminuídas com uso de anticorpo neutralizante anti-IL-8 humano para eliminar um possível efeito autócrino da IL-8. A concentração

de mRNA de IL-8 no endométrio muda conforme o ciclo menstrual, sugerindo que os hormônios esteróides femininos podem atuar diretamente na regulação da expressão da IL-8. A proliferação do endométrio é dependente do hormônio estrógeno e durante a fase proliferativa precoce e intermediária e na fase lútea a expressão de IL-8 foi significativamente maior do que no meio do ciclo (ARICI *et al.*, 1998). Devido à alta concentração da interleucina no local, ela pode modular o recrutamento oportuno de células imunes, especialmente neutrófilos e linfócitos para o endométrio. O endométrio eutópico e ectópico é uma fonte importante de IL-8, Gazvani *et al.* (1998) e colaboradores compararam a expressão e concentração de IL-8 em pacientes com endometriose e sem endometriose e foi demonstrado que há aumento de níveis séricos de IL-8 no ambiente peritoneal e sangue periférico de pacientes portadoras. Todo esse conceito é extremamente importante pois a concentração sérica de IL-8 pode ser uma ferramenta valiosa para o diagnóstico diferencial para a endometriose e dependendo do nível da interleucina pode-se correlacionar com gravidade da doença, tamanho e número de lesões (SIKORA *et al.*, 2016).

Devido ao aumento dos níveis séricos desta citocina nas situações de endometriose ectópica, pode ser que ela participe de todos os processos até o desenvolvimento da lesão endometriótica, sendo a causa da endometriose e da progressão da inflamação crônica.

Pizzo *et al.* (2002) descobriram que o fluido peritoneal de mulheres portadoras de endometriose contém níveis anormalmente elevados de citocinas, incluindo os agentes pró-inflamatórios como IL-1, IL-8 e TNF-alfa. Essas citocinas produzidas por neutrófilos e macrófagos ativados, contribuem para um microambiente peritoneal inflamatório que promove o estabelecimento de doença ectópica. Além disso, a produção de citocinas pró-inflamatórias associada ao estrogênio também induz o recrutamento de neutrófilos e macrófagos peritoneais para o local ectópico (AKOUM *et al.*, 2001). A IL-8 também possui fator angiogênico, que é fundamental para iniciação e progressão de doenças angioproliferativas (SCHWARTZ *et al.*, 2001). A IL-8 pode estar envolvida no desenvolvimento do tumor ovariano que também é uma doença estrogênio dependente, segundo um estudo realizado por Yoneda *et al.* (1998), que detectaram alta expressão de mRNA de IL-8 em carcinomas

ovarianos em estágio avançado em camundongos nus NCR-nu/nu fêmeas e o estudo associou a expressão de IL-8 com o crescimento rápido e sobrevivência do tumor ovariano e pode ser que isso aconteça na endometriose também.

Para haver a implantação e o crescimento das células endometrióticas em localização ectópica, as células precisam estabelecer interações célula-célula ou matriz extracelular com o peritônio, isso é mediado pela família integrina de receptores de superfície celular (SIKORA *et al.*, 2016). A própria adesão pode aumentar a expressão de IL-8 contribuindo para a inflamação na cavidade peritoneal. Essa hipótese foi proposta por Velasco e Arici. (1999) e colaboradores, que realizaram o seguinte experimento: Amostras de tecido endometrial foram obtidas de mulheres com endometriose submetidas a laparoscopia ou histerectomia. As células estromais endometrióticas humanas (ESCs) foram plaqueadas em placas de cultura contendo integrinas e isso resultou na regulação positiva da expressão de mRNA de IL-8, confirmando que a secreção de IL-8 na adesão é um evento dependente de integrina.

Foi observado aumento de mRNA de IL-8 nas células que foram plaqueadas com substratos de matriz extracelular (MEC) como a fibronectina e colágeno IV, ou seja, devido ao aumento da expressão de IL-8, as integrinas também são aumentadas conseqüentemente, contribuindo no recrutamento de células do sistema imune causando inflamação na cavidade peritoneal e a IL-8 acaba desempenhando papel na patogênese da endometriose.

Como a endometriose é uma doença inflamatória, devido aos altos níveis de citocinas pró-inflamatórias no microambiente peritoneal, entender o mecanismo da inflamação é importante.

A inflamação é uma reação complexa do sistema imunológico inato e adquirido nos tecidos vasculares que envolve o acúmulo e ativação de leucócitos e proteínas plasmáticas em um local de infecção, exposição a alguma toxina ou lesão celular. Os sinais marcantes da inflamação são edema (tumor), vermelhidão (rubor), calor, dor e perda da função da área inflamada. As citocinas desempenham papel importante na resposta inflamatória. A IL-1, IL-8 e o TNF-alfa estão entre as citocinas mais importantes envolvidas no processo. Essas citocinas são liberadas por macrófagos ativados e induzem o aparecimento de moléculas de adesão no endotélio vascular, às quais neutrófilos, monócitos e

linfócitos se aderem antes de saírem dos vasos. Outras citocinas, como a IL-6 e o Interferon-gama, exercem efeitos adicionais como o aumento da quimiotaxia para leucócitos e aumento da fagocitose (BENJAMINI; COICO; SUNSHINE, 2002).

Embora a inflamação tenha função protetora no controle de infecções e na promoção do reparo tecidual, ela também pode promover lesão no tecido podendo causar doenças. Algumas vezes é difícil ou impossível remover as causas da inflamação, resultando assim na inflamação crônica, que ocorre em situações de infecções crônicas ou ativação prolongada da resposta imune (BENJAMINI; COICO; SUNSHINE, 2002). Como acontece na endometriose, que é uma enfermidade inflamatória benigna crônica.

Também foi demonstrado que a IL-8 desempenha papel na invasão de células endometriais ectópicas, aumentando a atividade da metaloproteinase e potencializando a protease dependente de integrina (MULAYIM *et al.*, 2004). A IL-8 pode desempenhar função no crescimento e manutenção do tecido endometrial ectópico, pois ela acaba estimulando monócitos e granulócitos em sua migração e na secreção de fatores de crescimento e citocinas, promovendo a proliferação da doença, além disso, os fatores de crescimento, podem ativar apoptose mediada por Fas de células imunes, protegendo assim, as células endometriais de um possível ataque de linfócitos T e escapar da vigilância imunológica na cavidade peritoneal (KAYISLI; GUZELOGLU-KAYISLI; ARICI, 2004).

Apesar das muitas evidências da participação da IL-8 no processo da endometriose ectópica, essa citocina não é o único participante imunológico a ter um papel importante. Enzimas ligadas ao processo inflamatório também já foram estudadas e serão abordadas nos parágrafos a seguir, tendo como foco a Ciclooxigenase-2 (COX-2).

A COX-2 é uma enzima regulada positivamente em resposta a diversos estímulos pró-inflamatórios e patogênicos, a produção da COX-2 depende da fase hormonal durante o ciclo menstrual e aumenta o nível de Prostaglandina E2 (PGE2). De acordo com um estudo realizado por Wu *et al.* (2005), a expressão de COX-2 é maior em mulheres portadoras de endometriose comparadas com controles saudáveis. Isso explica a possível sobrevivência, migração e invasão

das células endometriais e a estimulação da produção de PGE2. Os resultados indicam que a elevação da expressão de COX-2 em tecidos endometrióticos pode ser resultado da elevação da sensibilidade a citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1-beta (IL-1-beta), que está presente no líquido peritoneal de pacientes que possuem a doença. Essa regulação distinta do gene COX-2 pela IL-1-beta pode desempenhar papel crítico em processos fisiopatológicos, como na formação da endometriose. Além disso, foi demonstrado que a COX-2 foi expressa em células estromais endometrióticas ectópicas e conseqüentemente a produção de PGE2 foi significativamente aumentada em comparação com o endométrio normal.

Até o momento, muitos estudos citados neste trabalho tiveram como foco as citocinas e enzimas atuando no processo fisiopatológico da endometriose, mas o crescimento das células endometrióticas fora da cavidade uterina não depende só das citocinas, também é necessário o estrogênio, um hormônio esteroide sexual feminino produzido principalmente pelos ovários.

A endometriose é considerada uma doença dependente de estrogênio como o câncer de mama, câncer de endométrio, adenomiose e leiomiomas, todas essas doenças dependem de um ambiente estrogênico para crescer, esses tumores, tanto malignos quanto benignos e os focos endometrióticos, possuem receptores para estrogênio (ER) (KITAWAKI *et al.*,2002).

Os padrões de expressão dos receptores esteroides foram estudados e Jones *et al.* (1995) afirmaram que a expressão do receptor de estrogênio no endométrio ectópico aumentou da fase proliferativa para fase secretora tardia do ciclo menstrual. Além dos ER, também tem a presença da aromatase, uma enzima que catalisa a conversão de andrógenos em estrogênio, fazendo com que a produção desse hormônio feminino fique aumentada no local, estimulando o crescimento das lesões.

Takahashi, Nagata e Kitao. (1989) mediram os níveis de estradiol no sangue menstrual de pacientes com endometriose e adenomiose e os níveis de estradiol nessas pacientes foram significativamente maiores comparadas com pacientes com ciclos menstruais normais, sugerindo assim que há produção local de estrogênio.

Como vimos anteriormente sobre a elevação da expressão da COX-2 nos focos endometrióticos, a via COX-2/PGE2 também aumenta a produção de estrogênio no local, estimulando a síntese da aromatase. Esse estudo foi realizado por Noble *et al.* (1997) e colaboradores onde demonstraram que a PGE2 estimulou, *in vitro*, a atividade da aromatase em células estromais derivadas da endometriose em 19 a 44 vezes, afirmando que ela pode ser um grande estimulador. A síntese de estrogênio induzido pela aromatase leva assim ao crescimento dos implantes endometrióticos. Como o estrogênio é responsável pelo espessamento do endométrio, camada interna do útero, todo esse processo ocorre naturalmente durante o ciclo menstrual e quando a endometriose está instalada, o estrogênio também acaba estimulando o crescimento desse tecido fora da cavidade uterina (KITAWAKI *et al.*, 2002). Esses achados apoiam o fato de que a endometriose é uma doença estrogênio-dependente.

Esses trabalhos citados até o momento foram realizados há mais de vinte anos, porém, há trabalhos mais recentes que trazem novas descobertas sobre o tema. Um deles mostra que as células natural killer (células NK) possuem capacidade limitada de eliminar células endometriais na cavidade peritoneal (IZUMI *et al.*, 2018). As células NK são definidas como células citotóxicas e são capazes de reconhecer e fagocitar uma variedade de células neoplásicas e células infectadas por vírus, sendo responsáveis pela vigilância inata contra infecções virais e câncer (SCIEZYNSKA *et al.*, 2019).

Um estudo recente realizado por Ushiwaka *et al.* (2022) comparou a quimiotaxia de células imunocompetentes, como as células NK, macrófagos e células T em líquido peritoneal obtido por laparoscopia de mulheres com e sem endometriose. Foram selecionadas 27 mulheres com endometriose em vários estágios (estágio I, N=8., estágio II, N= 3., estágio III, N= 9., estágio IV, N= 7) e 13 mulheres sem endometriose. Os achados indicaram que a quimiotaxia de células NK peritoneais é significativamente diminuída em mulheres com endometriose. Por outro lado, a quimiotaxia de macrófagos e células T peritoneais não diminuiu e não houve diferença em comparação das mulheres sem endometriose.

Considera-se que a quimiotaxia diminuída de células NK diminui a chance dessas células entrarem em contato com os antígenos-alvo das células endometrióticas na cavidade peritoneal, reduzindo a capacidade de processamento do antígeno. Foi analisada também a quimiotaxia de células NK durante a fase menstrual (amostras obtidas por laparoscopia de mulheres menstruadas durante a cirurgia) e os resultados foram diminuídos tanto em mulheres com e sem endometriose, mas foi significativamente menor em mulheres com a doença. Este foi o primeiro artigo experimental que revelou a quimiotaxia reduzida das células NK na endometriose.

A citotoxicidade das células NK também é prejudicada em pacientes com endometriose, por haver aumento da ativação de receptores inibitórios. O antígeno leucocitário humano G (HLA-G) é expresso em células endometrióticas, esse estudo foi realizado por Rached *et al.* (2019) onde foi observado os níveis da expressão de HLA-G em endométrio ectópico e eutópico por ensaio imunoenzimático (ELISA). Esses antígenos reagem com receptores inibitórios específicos, que são expressos nas células NK para prevenir danos de tecidos saudáveis, isso também acontece na maioria dos tumores.

O HLA-G desempenha um papel fundamental na indução da tolerância imunológica, representando importante mecanismo de escape das células tumorais e inibindo a função das células NK citotóxicas (SIVORI *et al.*, 2019). Esses achados sugerem que o HLA-G provavelmente está envolvido na fisiopatologia da endometriose, favorecendo a ocorrência de uma resposta defeituosa das células NK, contribuindo para a progressão da doença (SCIEZYNSKA *et al.*, 2019).

Com a diminuição da quimiotaxia e da citotoxicidade das células NK, as células endometrióticas sobrevivem fora da cavidade uterina, escapando da vigilância imunológica, causando a patogênese da endometriose. Esses achados citados acima podem ser úteis para um próximo passo de pesquisa, por exemplo para a identificação de novos alvos terapêuticos.

## **5. TRATAMENTOS:**

Ainda não existe um tratamento efetivamente curativo para a endometriose, no entanto, existem alguns fármacos que visam controlar os sintomas e interromper a progressão das lesões endometrióticas. As terapias farmacológicas recomendadas incluem analgésicos, inibidores da aromatase, progestinas, contraceptivos hormonais e moduladores seletivos dos receptores de progesterona. Essas terapias médicas possuem limitações devido aos seus efeitos colaterais, custo, concepção tardia, tempo de tratamento limitado e alta taxa de recorrência após descontinuação, conseqüentemente, novas pesquisas são necessárias para um possível tratamento da patologia (TROJNAR *et al.*, 2022).

Pesquisadores do Reino Unido estão estudando o uso da metformina como uma alternativa para o tratamento da endometriose. Segundo os cientistas, essa droga demonstrou ter efeitos antiinflamatórios, antiproliferativos e antiestrogênicos no tecido endometriótico e pode melhorar a taxa de gravidez de mulheres com infertilidade associada à endometriose (TROJNAR *et al.*, 2022).

A metformina é um sensibilizador de insulina amplamente utilizado para o tratamento da diabetes mellitus do tipo 2 (DM2). Ela possui efeitos pleiotrópicos que são exercidos por meio da ativação da proteína cinase (AMPK) que é o principal regulador da homeostase da energia celular. A metformina é uma biguanida oral, que inibe a neoglicogênese no fígado, e como consequência, diminui os níveis de glicose no sangue (STOCHINO-LOI *et al.*, 2021).

Um estudo publicado em 2007 avaliou os efeitos da metformina na resposta inflamatória, produção de estradiol e proliferação das células endometrióticas. O estudo *in vitro* demonstrou que as células endometrióticas produziram IL-1-Beta, esta interleucina induz a secreção de IL-8 que promove o aumento da doença nas mulheres portadoras de endometriose. A metformina suprimiu a produção de IL-1-Beta e conseqüentemente a inibição da IL-8 e interrompeu a proliferação de células estromais endometrióticas humanas (ESCs). Os ensaios em laboratório revelaram que a metformina também inibe a atividade da aromatase, enzima que converte os hormônios masculinos em estrógeno no ovário e nas células de gorduras, diminuindo assim o crescimento e proliferação de células endometriais (TAKEMURA *et al.*, 2007).

A partir de Takemura *et al.* (2007), muitos estudos abordaram o papel da metformina na endometriose e chegaram a resultados promissores. Zhou *et al.* (2015), por exemplo, demonstrou que a metformina pode inibir a PGE2, suprimindo assim a ação de CYP19A1, gene que codifica a aromatase, e reduz a sua atividade em células estromais endometrióticas humanas (ESCs). As ESCs foram cultivadas *in vitro* com metformina, PGE2 e inibidores da AMPK ativada por adenosina monofosfato (AMP). A reação da cadeia da polimerase (PCR) revelou aumento de 4 a 5 vezes do mRNA de CYP19A1 induzida pela PGE2 em ESCs. Porém, quando foi adicionado a metformina houve redução de 30%, já as ESCs que foram tratadas com metformina, PGE2 e inibidor da AMPK tiveram redução de 30% da atividade da aromatase.

Um estudo clínico realizado por Aal e Foda (2012) e colaboradores sobre a metformina e endometriose, demonstrou que, o grupo de mulheres com endometriose tratadas com a metformina apresentou redução da dismenorréia, diminuição da dor pélvica e dispareunia, além disso, a taxa de gravidez após 6 meses de tratamento com metformina foi significativamente maior. Também foi analisado os níveis séricos de IL-6, IL-8 e VEGF usando kits de ELISA e a terapia com a metformina em pacientes com a doença resultou em uma redução significativa dessas citocinas após 6 meses de terapia.

Todos esses resultados sugerem que a metformina tem grande potencial terapêutico como droga antiendometriótica, por possuir efeito antiinflamatório devido a ativação da via AMPK e seu efeito antiestrogênico por inibir a CYP19A1, diminuindo assim a atividade da aromatase. A metformina pode ser um tratamento não hormonal que faltava para as pacientes com endometriose.

## 6. CONCLUSÃO

A endometriose é uma doença dependente de estrogênio que acomete muitas mulheres em idade reprodutiva, é uma doença complexa que depende de fatores imunológicos, inflamatórios e hormonais. A IL-8, COX-2 e o estrogênio são importantes no processo de desenvolvimento da endometriose e acabam contribuindo na proliferação das células endometriais na região peritoneal e na inflamação local. Além disso, a citotoxicidade e a quimiotaxia das células NK encontram-se diminuídas na cavidade peritoneal em mulheres com endometriose. Uma resposta imune prejudicada e presença da menstruação retrógrada frequente, pode levar as células endometriais a escapar da vigilância imunológica.

Não há um tratamento específico para endometriose, porém, a metformina têm se mostrado um possível tratamento futuro por ter efeitos antiinflamatórios, antiproliferativos e antiestrogênicos nas pacientes portadoras da doença. Esse medicamento é uma alternativa promissora para tratar endometriose, no entanto, mais pesquisas são necessárias.

A compreensão da patogênese da endometriose torna-se importante para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, preventivas e novas formas de diagnóstico. As citocinas precisam ser mais estudadas, principalmente a IL-8, pois poucos artigos recentes foram publicados, mas claramente as citocinas possuem papel importante no desenvolvimento da endometriose e mais estudos são necessários para beneficiar as mulheres que sofrem desta doença.

## REFERÊNCIAS:

AAL, Ibrahim; FODA, Ashraf. Metformin as a new therapy for endometriosis, its effects on both clinical picture and cytokines profile. **Middle East Fertility Society Journal**, Mansoura University, Egypt, v. 17, p. 262-267, dec. 2012.

ARAFAH, Maria; RASHID, Sameera; AKHTAR, Mohammed. Endometriosis: A Comprehensive Review. **Advances in Anatomic Pathology**, King Saud University, v. 28(1), p. 30-43, jan. 2021. PMID: 33044230.

ARICI, Aydin; SELI, Emre; SENTURK, Levent; GUTIERREZ, Linda; ORAL, Engin; TAYLOR, Hugh. Interleukin-8 in the Human Endometrium. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, U.S.A, v. 83, p. 1783–1787, May 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jcem.83.5.4754>. Acesso em: 1 abr. 2022.

ARICI, Aydin; SELI, Emre; ZEYNELOGLU, Hulusi; SENTURK, Levent; ORAL, Engin; OLIVE, David. Interleukin-8 Induces Proliferation of Endometrial Stromal Cells: a Potential Autocrine Growth Factor. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, U.S.A, v. 83, p. 1201–1205, 1 apr. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jcem.83.4.4743>. Acesso em: 29 mar. 2022.

AKOUM, A; LAWSON, C; MCCOLL, S; VILLENEUVE, M. Ectopic endometrial cells express high concentrations of interleukin (IL)-8 in vivo regardless of the menstrual cycle phase and respond to estradiol by up-regulating IL-1-induced IL-8 expression in vitro. **Molecular Human Reproduction**, Canada, v. 7(9), p. 859-66, Sept 2001. PMID: 11517293.

BENJAMINI, Eli; COICO, RICHARD; SUNSHINE, GEOFFREY. *Imunologia*. 4. ed. Rio de Janeiro, RJ: **Guanabara Koogan S.A.**, 2002.

BERKKANOGLU, Murat; ARICI, Aydin. Immunology and Endometriosis. **American Journal of Reproductive Immunology**, Yale University School of Medicine, New Haven, USA, v. 50(1), p. 48-59, jul. 2003. PMID: 14506928.

BURNEY, Richard O.; GIUDICE, Linda C. Pathogenesis and Pathophysiology of Endometriosis. **Fertil Steril**, Department of Obstetrics and Gynecology, Madigan Healthcare System, Tacoma, Washington, USA., v. 98(3), p. 511-519, set. 2012. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3836682/pdf/nihms395589.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2021.

CRISPIM, Paula; JAMMAL, Millena; MURTA, Eddie; NOMELINI, Rosekeila. Endometriosis: What is the Influence of Immune Cells? **Immunol Invest**, University of Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brazil, v. 50(4), p. 372-388, 15 may 2020.

GAZVANI, M; CHRISTMAS, S; QUENBY, S; KIRWAN, J; JOHNSON, P; KINGSLAND, C. Peritoneal fluid concentrations of interleukin-8 in women with endometriosis: relationship to stage of disease. **Human Reproduction**, v. 13, p. 1957–1961, 1 jul. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/humrep/13.7.1957>. Acesso em: 17 mar. 2022

IZUMI, Gentaro; KOGA, Kaori; TAKAMURA, Masashi; MAKABE, Tomoko; SATAKE, Erina; TAKEUCHI, Arisa; TAGUCHI, Ayumi; URATA, Yoko; FUJII, Tomoyuki; OSUGA, Yutaka. Involvement of immune cells in the pathogenesis of endometriosis. **J Obstet Gynaecol Res**, Japan, v. 44(2), p. 191-198, 5 jan. 2018. PMID: 29316073

JONES, R; BULMER, J; SEARLE, R. Immunohistochemical characterization of proliferation, estrogen receptor and progesterone receptor expression in endometriosis: comparison of eutopic and ectopic endometrium with normal cycling endometrium. **Human Reproduction**, UK, v. 10, p. 3272–3279, 1 dec. 1995. PMID: 8822457.

KAYISLI, U; GUZELOGLU-KAYISLI, O; ARICI, A. Endocrine–Immune Interactions in Human Endometrium. **Ann New York Academy of Sciences**, U.S.A, v. 1034(1), p. 50-63, dec. 2004. PMID: 15731299.

KITAWAKI, J; KADO, N; ISHIHARA, H; KOSHIBA, H; KITAOKA, Y; HONJO, H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, Japan, v. 83(1-5), p. 149-155, dec. 2002. PMID: 12650711.

MATSUSHIMA, Kouji; YANG, De; OPPENHEIM, Joost. Interleukin-8: An evolving chemokine. **Cytokine**, [s. l.], v. 153, n. 155828, 2 mar. 2022. PMID: 35247648

MULAYIM, Naciye; SAVLU, Asim; GUZELOGLU-KAYISLI, Ozlem; KAYISLI, Umit; ARICI, Aydin. Regulation of endometrial stromal cell matrix metalloproteinase activity and invasiveness by interleukin-8. **Fertil Steril**, U.S.A, v. 81, p. 904-11, mar 2004. PMID: 15019828.

NOBLE, L; TAKAYAMA, K; ZEITOUN, K; PUTMAN, J; JOHNS, D; HINSHELWOOD, M; AGARWAL, V; ZHAO, Y; CARR, B; BULUN, S. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, U.S.A, v. 82(2), p. 600-6, feb 1997. PMID: 9024261.

PIZZO, Alfonsa; SALMERI, Francesca; ARDITA, Francesca; SOFO, Vincenza; TRIPEPI, Maria; MARSICO, Silvano. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. **Gynecologic Obstetric Investigation**, University of Messina, Italy, v. 54(2), p. 82-7, 2002. PMID: 12566749.

PODGAEC, Sergio. **Padrões de resposta imune em pacientes com endometriose**. 2006. 78 p. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, USP, 2006. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5139/tde-31102006-105026/publico/sergiopodgaec.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2021.

RACHED, Marici; COELHO, Verônica; MARIN, Maria; PINCERATO, Kátia; FUJITA, André; KALIL, Jorge; ABRÃO, Maurício. HLA-G is upregulated in advanced endometriosis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 235, p. 36-41, Apr 2019.

RICCIO, Luiza da Gama; SANTULLI, Pietro; MARCELLIN, Louis; ABRÃO, Maurício; BATTEUX, Frederic; CHAPRON, Charles. Immunology of endometriosis. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology**, Elsevier, v. 50, p. 39-49, jul. 2018.

SCHWARTZ, Benjamin; HONG, Guiying; MORRISON, Bei; WU, Weihua; BAUDHUIN, Linnea; XIAO, Yi-Jin; MOK, Samuel; XU, Yan. Lysophospholipids Increase Interleukin-8 Expression in Ovarian Cancer Cells. **Gynecologic Oncology**, Boston, Massachusetts, v. 81, p. 291-300, 27 mar. 2001

SCIEZYNSKA, Aneta; KOMOROWSKI, Michal; SOSZYNSKA, Marta; MALEJCZYK, Jacek. NK Cells as Potential Targets for Immunotherapy in Endometriosis. **Journal of clinical medicine**, Poland, v. 8(9), p. 1468, 14 set. 2019

SIKORA, justyna; SMYCZ-KUBAŃSKA, Marta; MIELCZAREK-PALACZ, Aleksandra; KONDERA-ANASZ, Zdzisława. Abnormal peritoneal regulation of chemokine

Activation. The role of IL-8 in pathogenesis of endometriosis. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 77(4), ed. e12622, p. 1-8, 21 nov. 2016.

SIVORI, Simona; VACCA, Paola; ZOTTO, Genny; MUNARI, Enrico; MINGARI, Maria; MORETTA, Lorenzo. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. **Cellular & molecular immunology**, v. 16(5), p. 430-441, May 2019. PMID: 30778167

STOCHINO-LOI, Emanuela; MAJOR, Attila; GILLON, Tessa; AYOUBI, Jean; FEKI, Anis; JOLINIÈRE, Jean. Metformin, the Rise of a New Medical Therapy for Endometriosis? A Systematic Review of the Literature. **Frontiers in medicine**, France, v. 8, 11 may 2021. PMID: 34046415.

TORRES, Juliana; ARAÚJO, Joabe; VIEIRA, Julia; SOUZA, Cristiele; PASSOS, Ionara; ROCHA, Lindalva. Endometriose, dificuldades no diagnóstico precoce e a infertilidade feminina: Uma Revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. 1-8, 21 maio 2021.

TAKAHASHI, T; NAGATA, H; KITAO, M. Clinical usefulness of determination of estradiol level in the menstrual blood for patients with endometriosis. **Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi**, v. 41(11), p. 1849-50, nov 1989. PMID: 2592808

TAKEMURA, Yuri; OSUGA, Yutaka; YOSHINO, Osamu; HASEGAWA, Akiko; HIRATA, Tetsuya; HIROTA, Yasushi; NOSE, Emi; MORIMOTO, Chieko; HARADA, Miyuki; KOGA, Kaori; TAJIMA, Toshiki; YANO, Tetsu; TAKETANI, Yuji. Metformin Suppresses Interleukin (IL)-1 $\beta$ -Induced IL-8 Production, Aromatase Activation, and Proliferation of Endometriotic Stromal Cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Japan, v. 92, p. 3213–3218, 1 ago. 2007.

TROJNAR, Zaneta; DŁUSKI, Dominik; OPOKA, Magdalena; RUSZAŁA, Monika; GORZELAK, Bożena. Metformin as a Potential Treatment Option for Endometriosis. **Cancers (Basel)**, Poland, v. 14(3), p. 577, 24 jan. 2022. PMID: 35158846.

USHIWAKA, Takashi; YAMAMOTO, Shinpei; YOSHII, Chika; HASHIMOTO, Shoko; TSUZUKI, Tamami; TANIGUCHI, Kayo; IZUMIYA, Chiaki; KOBAYASHI, Hiroaki;

MAEDA, Nagamasa. Peritoneal natural killer cell chemotaxis is decreased in women with pelvic endometriosis. **Am J Reprod Immunol**, Japan, 22 abr. 2022. PMID: 35452561

VELASCO, Juan; ARICI, Aydin. Interleukin-8 expression in endometrial stromal cells is regulated by integrin-dependent cell adhesion. **Molecular Human Reproduction**, U.S.A, v. 5(12), p. 1135–1140, dec 1999. PMID: 10587368.

WU, Meng; WANG, Chu; LIN, Chen; CHEN, Lei; CHANG, Wen; TSAI, Shaw. Distinct Regulation of Cyclooxygenase-2 by Interleukin-1 $\beta$  in Normal and Endometriotic Stromal Cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, china, v. 90, p. 286–295, 1 jan. 2005.

YONEDA, Junya; KUNIYASU, Hiroki; CRISPENS, Marta; PRICE, Janet; BUCANA, Corazon; FIDLER, Isaiah. Expression of Angiogenesis Related Genes and Progression of Human Ovarian Carcinomas in Nude Mice. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 90(6), p. 447-54, mar 1998. PMID: 9521169

ZHOU, Yan; XU, Jia; ZENG, Cheng; LI, Xin; ZHOU, Ying; QI, Yu; XUE, Qing. Metformin Suppresses Prostaglandin E2-Induced Cytochrome P450 Aromatase Gene Expression and Activity via Stimulation of AMP-Activated Protein Kinase in Human Endometriotic Stromal Cells. **Reproductive Sciences**, v. 22(9), p. 1162-70, Sep 2015. PMID: 26058395