Influência do uso de contraceptivo hormonal sobre o perfil inflamatório do peritônio com endometriose

Paula Medina Poeta Fermino[1*], Anna Paula Piovezan Ph.D[2], Rodrigo Dias Nunes M.D, M.Sc[3].

[1]Acadêmica de Medicina, Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Palhoça, Santa Catarina (SC), Brasil. Endereço Eletrônico: paulampf@icloud.com

[2]Farmacêutica e Professora titular do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNISUL, Palhoça, SC, Brasil. Endereço Eletrônico: anna.piovezam@unisul.br

[3]Médico Ginecologista e Obstetra e Coordenador do Curso de Medicina da UNISUL, Palhoça, SC, Brasil. Endereço Eletrônico: rodrigo.dias.nunes@hotmail.com

*Autor correspondente:

Paula Medina Poeta Fermino

Contato: +55 48 99909-6369

E-mail: paulampf@icloud.com

Universidade do Sul de Santa Catarina

Avenida Pedra Branca, 25, Pedra Branca, Palhoça, SC, 88137-270

Resumo

A endometriose advém da implantação anormal de tecido endometrial fora da cavidade uterina e apresenta etiologia incerta. Cursa, principalmente, com sintomas álgicos e infertilidade e a primeira escolha para o controle da dor são os contraceptivos hormonais, embora sua ação não esteja bem estabelecida na literatura. O presente estudo analisou a influência do uso de contraceptivo hormonal (CH) no perfil inflamatório do peritônio com endometriose. Delineado como transversal com análise laboratorial, ocorreu em hospitais terciários no sul do Brasil, com coleta de amostras de 65 pacientes, sendo 42 com endometriose (26 sem CH e 16 com CH) e 23 sem. Foi realizado entrevista com questionário para informações clínico-demográficas, coletado lavado peritoneal e biópsia do peritônio. As amostras foram analisadas no laboratório de neurociências para verificar a concentração de IL-10, realizando método ELISA, as médias obtidas foram analisadas por ANOVA. As amostras de lavado peritoneal com endometriose evidenciaram maior concentração de IL-10 que o grupo controle ($p \leq 0,05$) e obteve-se significância estatística para redução de IL-10 no lavado peritoneal de pacientes com endometriose em uso de CH (8,1 ± 7,4 pg/mL), comparado às mulheres com endometriose sem uso de CH (17,9 ± 10,5 pg/mL). Considerando o estadiamento da doença, observou-se maior nível de IL-10 ($p \leq 0,05$) tanto nos estágios iniciais (12,1 ± 10,5 pg/mL), quanto nos avançados (15,4 ± 9,7 pg/mL), em relação ao controle (1,7 ± 1,8 pg/mL); sendo significativamente maior na endometriose avançada. Esse estudo contribui para preencher lacunas acerca da real influência do uso de CH no peritônio acometido por endometriose e do comportamento do perfil inflamatório em grau mínimo e leve. Bem como, reforça as hipóteses de maior concentração de IL-10 nos estágios moderados e severos.

Palavras-chaves: endometriose, peritônio, citocinas, IL-10, anticoncepcionais.

Abstract

Endometriosis results from the abnormal implantation of endometrial tissue outside the uterine cavity and has an uncertain etiology. It mainly occurs with pain and infertility, the first choice for pain control is hormonal contraceptives (HC), although their action is not well established in the literature. The present study analyzed the influence of the use of HC on the inflammatory profile of the peritoneum of patients with endometriosis. This was a cross-sectional study with laboratory analysis. The study took place in tertiary hospitals in southern Brazil, with sample collection from 65 patients, 42 with endometriosis (26 without HC and 16 with HC) and 23 without endometriosis. An interview was conducted with a questionnaire for clinical-demographic information, peritoneal lavage and biopsy of the peritoneum were collected. The samples were analyzed at the neuroscience laboratory to quantify the concentration of IL-10 (using ELISA's method), the averages obtained were analyzed by ANOVA. The samples of peritoneal lavage with endometriosis showed a higher concentration of IL-10 than the control group ($p \leq 0.05$) and statistical significance was obtained for the reduction of IL-10 in the peritoneal lavage of patients with endometriosis using HC (8.1 ± 7.4 pg/mL), compared to women with endometriosis without using HC (17.9 ± 10.5 pg/mL). Considering the stage of the disease, a higher level of IL-10 ($p \leq 0.05$) was observed both in the initial stages (12.1 ± 10.5 pg/mL) and in the advanced stages (15.4 ± 9.7 pg/mL), in relation to the control (1.7 ± 1.8 pg/mL); being significantly higher in advanced endometriosis. This study contributes to fill gaps about the real influence of HC use in peritoneum affected by endometriosis and the behavior of inflammatory system in peritoneum's profile in mild and minimal degree. Therefore, it reinforces the hypotheses of a higher concentration of IL-10 in moderate and severe stages.

Keywords: endometriosis, peritoneum, cytokines, IL-10, contraceptives.

1. Introdução

A endometriose consiste em uma doença crônica benigna, que decorre da implantação anormal de tecido endometrial fora da cavidade uterina, sendo o peritônio o principal sítio. Acomete cerca de 6,1 a 10,0% das mulheres em idade reprodutiva, prevalência possivelmente subestimada, devido à sintomatologia inespecífica ou ausente[1-3]. O diagnóstico definitivo requer confirmação laparoscópica, que possibilita sua classificação em estágios de evolução, segundo critérios definidos pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM)[4-7].

A literatura evidencia a dor pélvica (86,2%), a dispareunia (29,5%) e a infertilidade (11,6%) como os fatores clínicos mais importantes da endometriose[2,8,9,30]. Possivelmente, a intensidade da dor não se relaciona diretamente à extensão da lesão, mas sim ao processo inflamatório desenfreado no meio[10-13]. Ao buscar sua etiologia, a teoria mais aceita consiste na menstruação retrógrada, que embora seja um fenômeno prevalente (76,0 a 90,0%), apenas 10,0% dessas mulheres cursam com alteração na eliminação desse material refluído e sua consequente implantação e evolução ao processo inflamatório crônico[14-16].

Ao analisar o perfil inflamatório no peritônio acometido pela doença, verifica-se perda da homeostase, uma vez que há aumento tanto de citocinas pró-inflamatórias quanto anti-inflamatórias. A característica de resistência à progesterona da endometriose pode ser atribuída a esse descontrole[16-19]. Diversos estudos buscam identificar as citocinas envolvidas na doença e a Interleucina-10 (IL-10) se destaca como uma das principais citocinas anti-inflamatórias associadas à manutenção e crescimento do endométrio ectópico[26,30]. Acredita-se que o possível aumento no nível de IL-10 tanto sérico quanto no fluído peritoneal corrobore com o desequilíbrio do sistema imunológico e prejudique a capacidade celular peritoneal de realizar apoptose das lesões endometrióticas; assim, favorecendo a progressão das lesões[11,27,34]. Todavia, as concentrações de IL-10 em pacientes com endometriose ainda divergem na literatura e não estão bem estabelecidas[19,27].

A importância clínica e social da endometriose pode ser ilustrada pelos prejuízos à qualidade de vida dessas pacientes[15]. Por caracterizar-se como dor neuropática, sua sintomatologia acarreta danos à saúde mental, como depressão e ansiedade[21]. A primeira linha de escolha para o controle álgico e melhora na qualidade de vida consiste no uso de contraceptivo hormonal[7,22]. Acredita-se, que a progesterona seja eficaz para restabelecer a homeostase do sistema imunológico e realizar apoptose das células de endométrio ectópico[7,23,35].

Diante da elevada prevalência de endometriose e dos prejuízos causados a essas mulheres em idade reprodutiva, a literatura ressalta a importância de esclarecer os fenômenos envolvidos na doença, bem como a necessidade de novos estudos que investiguem o comportamento inflamatório em grupos heterogêneos e sob influência hormonal[24,16,20,25]. Dessa forma, este estudo analisou a influência do uso de contraceptivo hormonal sobre o perfil inflamatório do peritônio com endometriose.

2. Materiais e Métodos

Trata-se de um estudo transversal, com delineamento exploratório para teste de hipótese, que utilizou amostras de tecidos humanos seguida de avaliação laboratorial. As amostras foram obtidas do lavado peritoneal e biópsia do peritônio de pacientes submetidas ao tratamento laparoscópico de endometriose peritoneal e de pacientes sem a doença que realizaram laqueadura tubária. A coleta ocorreu em hospitais terciários da rede pública e privada da região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, de agosto de 2019 a janeiro de 2020.

Este estudo contempla entrevistas e coleta de amostras provenientes do peritônio de 65 pacientes submetidas à cirurgia ginecológica. Dessas, 42 correspondem a pacientes com endometriose [26 sem uso de contraceptivo hormonal (CH) e 16 em uso de CH] e 23 sem doença (15 sem uso de CH e 8 em uso de CH). A amostra prevista era de 16 paciente por grupo, esse cálculo amostral foi embasado no estudo de Malutan et al. (2015)[11]. Assumiu-se como parâmetros para um teste bicaudal o nível de significância de 5%, poder do teste de 80%, desvio padrão de 1,14 e diferença considerada relevante a ser detectada igual a 0,8 pg/mL de IL-10. A fórmula empregada para o cálculo da amostra foi a equação n/grupo = 2[(Zα/2 + Zβ) X d/delta]2, utilizando o programa OpenEpi® versão 3.01 para um teste de hipótese para comparação de médias, para determinar os níveis da citocina IL-10 no peritônio.

Foram incluídas mulheres na menacme, com idade ≥18 anos e que aceitaram participar deste estudo, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O critério de exclusão foi o uso de qualquer classe de anti-inflamatório no período de até sete dias antes do procedimento cirúrgico.

Após assentimento, com assinatura do TCLE durante o pré-operatório, as pacientes elegíveis responderam questionário que avaliou critérios clínico-demográficos. Durante o procedimento cirúrgico, imediatamente após adentrar à cavidade peritoneal, foi injetado

5,0mL de soro fisiológico a 0,9% no fundo de saco de Douglas e aspirado 1,5mL para armazenamento em tubos plásticos identificados. Após inspeção da cavidade peritoneal, nas pacientes com endometriose visualizada, foram realizadas biópsias na lesão endometriótica. No grupo controle, a biópsia derivou do peritônio saudável em fundo de saco posterior. Ao término de cada procedimento as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Neurociências Experimental (LANEX), localizado na Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) unidade Pedra Branca, para conservação em Ultrafreezer a -80˚C até o momento da análise.

Como forma de reduzir viés na coleta das amostras, os médicos selecionados para a obtenção de tecidos de peritônio com endometriose são certificados pela Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) e constituem o corpo clínico das instituições envolvidas. A técnica utilizada para coleta foi padronizada e seguida de acordo com um roteiro previamente descrito.

Para determinação dos níveis de IL-10, as amostras de fluido peritoneal armazenadas a -80ºC foram descongeladas e um volume de 100 µL foi utilizado para mensurar a concentração dessa citocina. As análises das concentrações desse marcador foram realizadas por ELISA, Kits Duo Set (R&D Systems), de acordo com as instruções do fabricante. Os valores obtidos foram estimados pela interpolação dos dados com uma curva padrão utilizando um ensaio colorimétrico, mensurado a 450 nm (correção com comprimento de onda de 540 nm) em um espectrofotômetro. Os valores obtidos estão expressos em picogramas por mililitro (pg/mL).

Quanto as variáveis deste estudo, as dependentes são: concentração de IL-10 no fluído e no tecido peritoneal (em pg/mg de proteína). As independentes são: idade (anos), cor de pele (branca ou não branca), paridade (número de gestações), fase do ciclo menstrual (proliferativa/secretora), estadiamento da endometriose (mínima/leve e moderada/severa), uso de método contraceptivo hormonal (sim/não) e dor (dor pélvica, dismenorreia, dispareunia profunda, disúria e disquezia), avaliada em escores médios dos valores obtidos a partir da Escala Visual Analógica (EVA, valor máximo 10, sendo 0= nenhuma dor e 10= grau de dor máxima); esta escala é validada e amplamente utilizada no Brasil.

Os dados obtidos foram inseridos em um banco de dados no software SPSS versão 18.0. Na análise descritiva as variáveis foram expressas em frequências, médias e medianas. Na análise bivariada as variáveis foram categorizadas e aplicou-se os testes qui-quadrado e exato de Fischer. Também utilizou-se o software GraphPad Prism versão 6.0® (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). As variáveis independentes foram apresentadas de maneira

descritiva, por intermédio de tabelas de distribuição de frequência. As variáveis dependentes foram representadas em gráficos para as médias ± desvio padrão (SD). O valor de p foi considerado estatisticamente significante quando ≤ 0,05 e o intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

Para comparação das médias de IL-10 entre os grupos, os dados foram primeiramente submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, por apresentarem distribuição normal, foram analisados por ANOVA seguida de Bonferroni.

Quanto aos aspectos éticos da pesquisa, esse foi aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa (CEP) da UNISUL sob parecer consubstanciado CAAE 16719219.9.0000.5369. Os pesquisadores declaram não haver conflitos de interesse.

3. Resultados

Foram coletadas amostras peritoneais de 65 pacientes, sendo 42 com endometriose e 23 sem. Entre as mulheres com endometriose, 26 não utilizavam contraceptivo hormonal (CH) e 16 o utilizavam. Considerando estas em uso de CH, 62,5% utilizavam-no com a finalidade de controle da dor. Para tal objetivo, sete (70,0%) utilizavam Dienogeste, duas (20,0%) usavam sistema intrauterino liberador de Levonogestrel e uma (10,0%) fazia uso de acetato de medroxiprogesterona intramuscular. Entre as pacientes sem endometriose, 15 não utilizavam CH e oito utilizavam. Quanto ao estadiamento da doença, segundo os critérios da ASRM, considerando as 42 pacientes com endometriose, 33 (78,6%) apresentaram classificação mínima ou leve e nove (21,4%) moderada ou severa.

A partir da descrição das características demográficas e clínicas contidas na Tabela 1, observou-se média de idade de 37,7 ± 7,55 anos para as pacientes em estudo. Destacaram-se os valores médios de dismenorreia e dispareunia profunda, quantificadas de acordo com a EVA. A dismenorreia entre as pacientes com endometriose que não faziam uso de CH apresentou média de 6,65 ± 3,03 pontos e média de 5,88 ± 2,91 pontos para as que faziam uso. Entre o grupo controle, aquelas que não utilizavam CH a média foi de 3,13 ± 3,46 pontos e para as que utilizavam 1,25 ± 2,31 pontos. Em relação à dispareunia profunda, os valores médios entre as pacientes com endometriose foram de 4,27 ± 3,32 pontos para as que não usavam CH e de 3,94 ± 3,71 pontos para as que utilizavam. Enquanto o grupo controle apresentou valor médio de 1,4 ± 2,23 pontos para as que não utilizavam CH e 0,50 ± 1,41 pontos para as que utilizavam.

Ao categorizar as variáveis e analisá-las de acordo com a presença ou não de endometriose, quatro características clínicas obtiveram significância estatística (Tabela 2). A história pregressa de parto vaginal e/ou cesariana indicou maior chance de ocorrer em mulheres que não possuem endometriose ($p = 0,003$ e $p = 0,036$, respectivamente). Destacaram-se, também, as características álgicas, visto que a chance de escore elevado de dismenorreia (EVA ≥ 6) está 16,90 vezes mais relacionado à endometriose ($p < 0,001$). Assim como o escore elevado de dispareunia profunda (EVA ≥ 6), que apresenta 6,32 vezes mais chance de ocorrer em mulheres com a doença ($p = 0,001$).

Não se obteve resultados com significância estatística ao analisar essas mesmas variáveis categorizadas entre pacientes que utilizavam ou não CH (Tabela 3).

Considerando os achados laboratoriais para a análise da influência do uso de CH sobre os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10, como pode ser visto na Figura 1, observou-se aumento estatisticamente significante no lavado peritoneal das pacientes com endometriose em relação ao grupo sem endometriose, tanto nas mulheres que faziam uso de CH (sem endometriose: 1,2 ± 1,2 pg/mL; com endometriose 8,1 ± 7,4 pg/mL) quanto nas que não faziam uso do mesmo (sem endometriose: 1,9 ± 2,2 pg/mL; com endometriose: 17,9 ± 10,5 pg/mL). Ao comparar as mulheres pertencentes ao grupo com endometriose, observou-se redução dos níveis desta citocina nas mulheres que faziam uso de CH (8,1 ± 7,4 pg/mL) em relação às que não faziam uso (17,9 ± 10,5 pg/mL). Por último, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos níveis desta citocina entre mulheres com ou sem endometriose, nem quanto ao uso de CH a partir das amostras de biópsias de peritônio (Figura 2).

A análise da influência do grau de endometriose sobre as concentrações de IL-10 mostrou diferença estatisticamente significante nos dois tipos de amostras avaliados. Ainda na Figura 1, tanto no estadiamento mínimo/leve (12,1 ± 10,5 pg/mL) quanto no moderado/severo (15,4 ± 9,7 pg/mL) houve aumento de IL-10 em relação ao grupo sem endometriose (1,7 ± 1,8 pg/mL), sem, contudo, haver diferença nos valores médios desta citocina entre o grupo de estadiamento mínimo/leve e o grupo de estadiamento moderado/severo. Já com relação às amostras de biópsias de peritônio (Figura 2), observou-se aumento estatisticamente significante apenas entre o grupo sem endometriose (-0,04 ± 0,5 pg/mL) em relação ao grupo de estadiamento mais avançado da doença (moderado/severo: 4,5 ± 4,4 pg/mL).

Finalmente, em relação à análise da influência do ciclo menstrual (fase proliferativa e secretora) sobre o nível de IL-10, nas amostras de lavado, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as mulheres do grupo com endometriose (fase

proliferativa: 12,8 ± 8,6 pg/mL; fase secretora: 15,5 ± 11,9 pg/mL) em relação ao grupo sem endometriose (fase proliferativa: 0,8 ± 0,3 pg/mL; fase secretora: 2,4 ± 2,2 pg/mL), bem como não foram observadas diferenças entre as fases do ciclo menstrual dentro dos grupos. Considerando as amostras de biópsia peritoneal, também não se obteve diferenças com significância estatística nem entre o grupo com endometriose (fase proliferativa: 1,2 ± 2,7 pg/mL e fase secretora: 0,7 ± 1,4 pg/mL) em relação ao grupo sem doença (fase proliferativa: 1,2 ± 2,1 pg/mL e fase secretora: 0,3 ± 0,6 pg/mL), nem para as fases do ciclo dentro dos grupos.

Tabela 1. Descrição das características demográficas e clínicas das 65 pacientes em estudo e de seus respectivos grupos: pacientes com endometriose sem uso de contraceptivo hormonal (CH) e em uso de CH e pacientes sem endometriose sem uso de CH e com uso.

Variáveis	Total	Com endometriose		Sem endometriose	
		Sem CH	Com CH	Sem CH	Com CH
	n (%) média ± DP	n (%) média ± DP	n (%) média ± DP	n (%) média ± DP	n (%) média ± DP
Idade (anos) (n=65)	37,7 ± 7,55	36,2 ± 5,07	35,4 ± 8,05	44,4 ± 8,34	34,5 ± 4,81
Cor de pele (n=65)					
Branca	60 (92,3)	25 (96,2)	15 (93,8)	12 (80,0)	8 (100,0)
Não branca	5 (7,7)	1 (3,8)	1 (6,3)	3 (20,0)	0 (0,0)
Partos (n=65)					
Não	55 (84,6)	24 (92,3)	16 (100,0)	8 (53,3)	7 (87,5)
Sim	10 (15,4)	2 (7,7)	0 (0,0)	7 (46,7)	1 (12,5)
Cesariana (n=65)					
Não	42 (64,6)	21 (80,8)	10 (62,5)	7 (46,7)	4 (50,0)
Sim	23 (35,4)	5 (19,2)	6 (37,5)	8 (53,3)	4 (50,0)
Aborto (n=65)					
Não	55 (84,6)	21 (80,8)	14 (87,5)	12 (80,0)	8 (100,0)
Sim	10 (15,4)	5 (19,2)	2 (12,5)	3 (20,0)	0 (0,0)
Dismenorreia (EVA)	4,9 ± 3,56	6,65 ± 3,03	5,88 ± 2,91	3,13 ± 3,46	1,25 ± 2,31
Dispareunia (EVA)	3,06 ± 3,33	4,27 ± 3,32	3,94 ± 3,71	1,4 ± 2,23	0,50 ± 1,41
Infertilidade (n=65)					
Não	45 (69,3)	9 (34,7)	14 (87,5)	14 (93,3)	8 (100,0)
Sim	20 (30,7)	17 (65,3)	2 (12,5)	1 (6,7)	0 (0,0)
Categoria (n=42)					
Mínima - Leve	33 (78,6)	20 (76,9)	13 (81,2)	-	-
Moderada - Severa	9 (21,4)	6 (23,1)	3 (18,8)	-	-

CH: Contraceptivo Hormonal; EVA: Escala Visual Analógica

Tabela 2. Análise categorizada das características demográficas e clínicas entre as pacientes com e sem endometriose, n=65.

Variáveis	Endometriose			Valor de p	OR (IC95%)
	Sim n (%)	Não n (%)	Total n (%)		
Idade (anos)					
18-35	23 (74,2)	8 (25,8)	31 (47,7)	0,123	0,44 (0,15-1,26)
≥ 36	19 (55,9)	15 (44,1)	34 (52,3)		
Cor de pele					
Branca	40 (66,7)	20 (33,3)	60 (92,3)	0,337	0,33 (0,05-2,15)
Não branca	2 (40,0)	3 (60,0)	5 (7,7)		
Parto vaginal					
Não	40 (72,7)	15 (27,3)	55 (84,6)	0,003	0,09 (0,01-0,49)
Sim	2 (20,0)	8 (80,0)	10 (15,4)		
Cesariana					
Não	31 (73,8)	11 (26,2)	42 (64,6)	0,036	0,32 (0,11-0,94)
Sim	11 (47,8)	12 (52,2)	23 (35,4)		
Aborto					
Não	35 (63,6)	20 (36,4)	55 (84,6)	1,000	1,33 (0,31-5,74)
Sim	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (15,4)		
Fase do ciclo					
Proliferativo	12 (63,2)	7 (36,8)	19 (47,5)	0,494	1,86 (0,47-7,34)
Secretor	16 (76,2)	5 (23,8)	21 (52,5)		
Dor pélvica (EVA)					
0-5	34 (61,8)	21 (38,2)	55 (84,6)	0,474	2,47 (0,47-12,76)
6-10	8 (80,0)	2 (20,0)	10 (15,4)		
Dismenorreia (EVA)					
0-5	3 (18,8)	13 (81,3)	16 (24,6)	<0,001	16,90 (4,02-70,95)
6-10	39 (79,6)	10 (20,4)	49 (75,4)		
Dispareunia (EVA)					
0-5	13 (43,3)	17 (56,7)	30 (46,2)	0,001	6,32 (2,02-19,71)
6-10	29 (82,9)	6 (17,1)	35 (53,8)		
Disquezia (EVA)					
0-5	35 (61,4)	22 (38,6)	57 (87,7)	0,242	4,40 (0,50-38,23)
6-10	7 (87,5)	1 (12,5)	8 (12,3)		
Disúria (EVA)					
0-5	38 (62,3)	23 (37,7)	61 (93,8)	0,288	0,62 (0,51-0,75)
6-10	4 (100,0)	0 (0,0)	4 (6,2)		

EVA: Escala Visual Analógica

Tabela 3. Análise categorizada das características demográficas e clínicas entre as pacientes com e sem uso de contraceptivo hormonal, n=65.

Variável	Contracepção hormonal			Valor de p	OR (IC95%)
	Sim n (%)	Não n (%)	Total n (%)		
Idade (anos)					
18-35	14 (45,2)	17 (54,8)	31 (47,7)	0,189	0,50 (0,18-1,40)
≥ 36	10 (29,4)	24 (70,6)	34 (52,3)		
Cor de pele					
Branca	23 (38,3)	37 (61,7)	60 (92,3)	0,644	0,40 (0,04-3,82)
Não branca	1 (20,0)	4 (80,0)	5 (7,7)		
Parto vaginal					
Não	23 (41,8)	32 (58,2)	55 (84,6)	0,078	0,15 (0,01-1,30)
Sim	1 (10,0)	9 (90,0)	10 (15,4)		
Cesariana					
Não	14 (33,3)	28 (66,7)	42 (64,6)	0,418	1,53 (0,54-4,37)
Sim	10 (15,4)	13 (56,5)	23 (35,4)		
Aborto					
Não	22 (40,0)	33 (60,0)	55 (84,6)	0,301	0,37 (0,07-1,93)
Sim	2 (20,0)	8 (80,0)	10 (15,4)		
Fase do ciclo					
Proliferativo	2 (10,5)	17 (89,5)	19 (47,5)	0,241	3,40 (0,59-19,45)
Secretor	6 (28,6)	15 (71,4)	21 (52,5)		
Dor pélvica (EVA)					
0-5	21 (38,2)	34 (61,8)	55 (84,6)	0,733	0,69 (0,16-2,98)
6-10	3 (30,0)	7 (70,0)	10 (15,4)		
Dismenorreia (EVA)					
0-5	7 (43,8)	9 (56,3)	16 (24,6)	0,515	0,68 (0,21-2,15)
6-10	17 (34,7)	32 (65,3)	49 (75,4)		
Dispareunia (EVA)					
0-5	13 (43,3)	17 (56,7)	30 (46,2)	0,321	0,59 (0,21-1,65)
6-10	11 (31,4)	24 (68,6)	35 (53,8)		
Disquezia (EVA)					
0-5	21 (36,8)	36 (63,2)	57 (87,7)	1,000	1,02 (0,22-4,74)
6-10	3 (37,5)	5 (62,5)	8 (12,3)		
Disúria (EVA)					
0-5	23 (37,7)	38 (62,3)	61 (93,8)	1,000	0,55 (0,05-5,61)
6-10	1 (25,0)	3 (75,0)	4 (6,2)		

EVA: Escala Visual Analógica

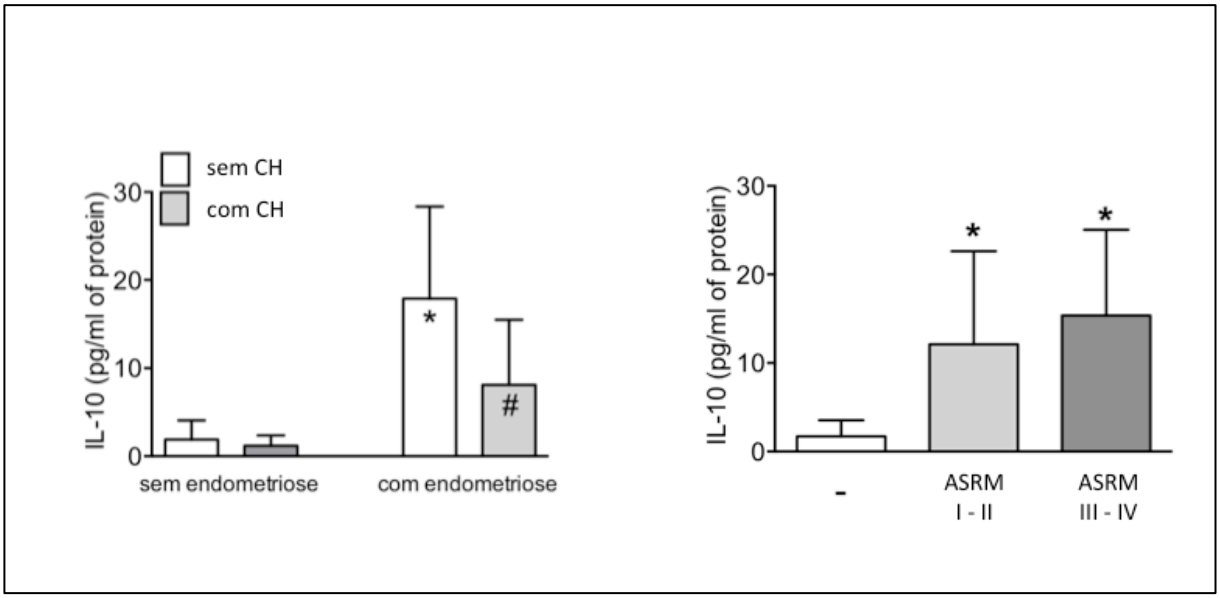

Figura 1: Influência do uso de contraceptivo hormonal (CH) (Painel A) ou do grau de endometriose (Painel B) sobre os níveis de IL-10 no lavado peritoneal de mulheres com ou sem endometriose. Os resultados são apresentados como média ± S.D. (n= 7 a 11). ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni. $p \leq 0,05$

Painel A: (*) diferença estatisticamente significante entre os grupos sem endometriose e com endometriose sem uso de CH. (#) diferença estatisticamente significante entre os grupos com endometriose com e sem CH.

Painel B: (*) diferença estatisticamente significante entre os grupos endometriose em estadiamentos iniciais (ASRM I e II) e avançados (ASRM III e IV) em relação ao grupo sem endometriose.

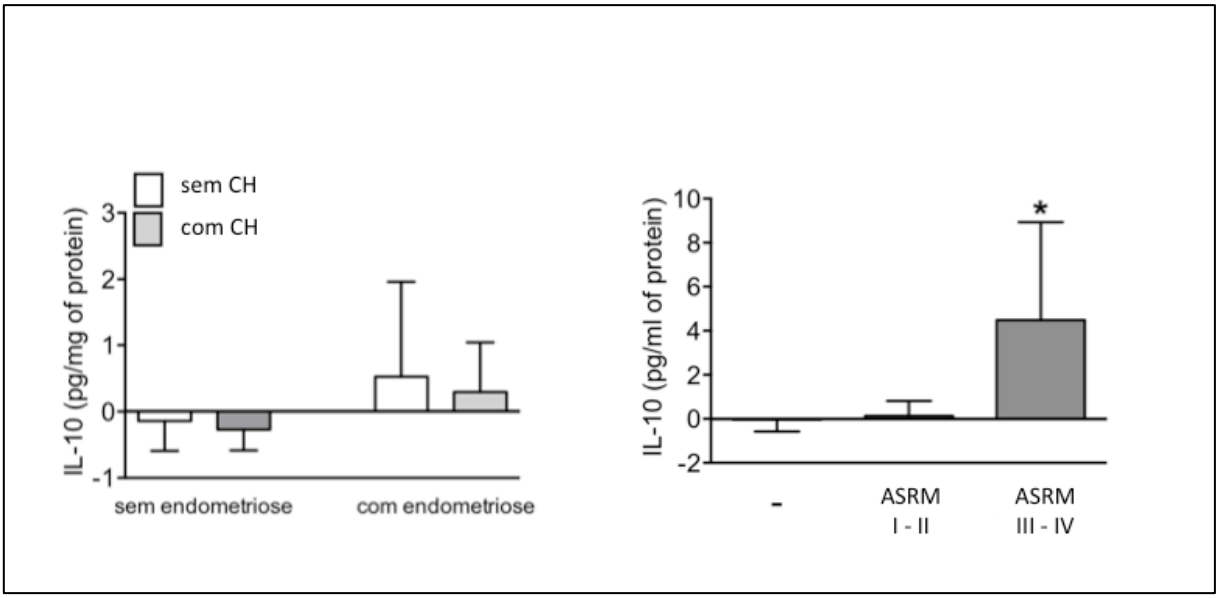

Figura 2: Influência do uso de contraceptivo hormonal (Painel A) ou do grau de endometriose (Painel B) sobre os níveis de IL-10 no tecido peritoneal de mulheres com ou sem endometriose. Os resultados são apresentados como média ± S.D. (n= 7 a 11). ANOVA de duas vias seguida de Bonferroni. $p \leq 0,05$

Painel A: Sem diferença estatística entre os grupos.

Painel B: (*) diferença estatisticamente significante entre o grupo com endometriose em estadiamento avançado (ASRM III e IV) em relação aos grupos sem endometriose e endometriose em estadiamento inicial.

4. Discussão

Considerando as características demográficas e clínicas da presente amostra, obteve-se perfil que corrobora com o previsto na literatura[19,25]. Encontrou-se diferenças estatisticamente significantes para paridade entre os grupos com e sem endometriose: aquelas sem a doença apresentaram mais chance de possuir pelo menos um parto vaginal ou cesáreo. Obteve-se relevância estatística também para presença de dismenorreia e dispareunia profunda, que se mostraram mais intensa entre as mulheres com endometriose. Consoante a estudos prévios, essas características obstétrico-ginecológicas estão frequentemente destacadas como os principais fatores clínicos observados entre as pacientes com endometriose[30-31].

Constatou-se influência no uso de CH sobre o perfil inflamatório do peritônio de pacientes com endometriose, visto a concentração reduzida de IL-10 no lavado peritoneal dessas pacientes. Acredita-se que pela primeira vez na literatura essa ação foi investigada e traz resultado significativamente promissor para o uso do CH como promotor da redução da principal citocina associada ao descontrole da doença. O único estudo encontrado que sugere indiretamente esse efeito dos CH como redutores do quadro inflamatório no peritônio com endometriose pertence a Margatho et al. (2020)[29], que realizaram dosagem sanguínea do biomarcador CD23 seis e 24 meses após inserção de sistema intrauterino liberador de Levonogestrel ou de implante de etonogestrel. O grupo obteve redução dos valores dosados, o que corrobora com o resultado desse estudo, visto que o CD23 consiste em um marcador que possivelmente reflete a resposta inflamatória associada aos implantes endometrióticos.

O uso de terapia hormonal para o controle álgico da doença é amplamente utilizado na prática clínica e possui resultados positivos bem estabelecido na literatura[29,31-33]. Tal uso foi ratificado na população desse estudo, uma vez que 62,5% utilizavam CH visando o controle da dor. No entanto, estudos recentes ampliam o uso desses métodos hormonais, com destaque aos progestágenos isolados, para redução de lesões endometrióticas e do volume de endometriomas[31-32]. Barra et al. (2020)[31] obtiveram regressão significativa no volume de lesões por endometriose em retossigmóide: $4,0 \pm 2,1$ cm^3 para $3,1 \pm 1,2$ cm^3 em 12 meses ($p < 0,001$). Vignali et al. (2020)[32], observaram êxito na redução do volume de endometriomas: 76,1% em 12 meses ($p < 0,001$). Ambos utilizaram ultrassonografia transvaginal para quantificação. A fim de agregar esses já importantes benefícios dos contraceptivos hormonais às mulheres com endometriose, destaca-se a possível ação de seu uso para reduzir o intenso processo inflamatório no lavado peritoneal dessas pacientes.

Considerando a concentração de IL-10, também no fluído peritoneal, entre amostras com e sem endometriose, observou-se níveis significativamente maiores dessa interleucina nas pacientes com endometriose, de forma mais importante entre as que não utilizavam CH. Recentes estudos, com métodos semelhantes e comparando peritônios com e sem endometriose, também obtiveram maior concentração de IL-10 no lavado peritoneal do grupo com doença[19,28,34]. Volpato et al. (2018)[25] e Jiang et al. (2019)[27], mesmo sem obterem resultados com significância estatística para IL-10, destacaram a importância de mais investigações, diante da relevância dessa citocina na patogênese da endometriose[27].

Bellelis et al. (2019)[19], em estudo caso-controle com 24 mulheres com endometriose e 32 pertencentes ao grupo controle, sem endometriose, apresentaram resultados semelhantes aos do presente estudo, com destaque aos níveis aumentados de IL-10 no líquido peritoneal de pacientes com endometriose ($p = 0,025$) e sem detecção suficiente de IL-10 nas amostras de tecido endometrial desse mesmo grupo comparado ao controle. Dessa forma, esses autores sugerem que o aumento da resposta anti-inflamatória no peritônio corresponde a uma tentativa do sistema imunológico em controlar o intenso processo inflamatório proveniente das lesões endometrióticas. Essa hipótese também foi aventada por Nanda et al. (2020)[28].

Outro diferencial do presente estudo consiste no predomínio de mulheres com endometriose em estágios iniciais (78,6%), visto o frequente relato de predomínio de amostras em estágios avançados e o interesse por identificar o comportamento do processo inflamatório desenfreado em amostras de estadiamento mínimo e leve[19,26]. Uma vez que a associação entre o estágio da endometriose e a concentração de IL-10, mostra-se incerta na literatura[26,30,34]. Considerando esses diferentes estadiamentos, obteve-se concentração de IL-10, no lavado peritoneal, significativamente elevada tanto no estadiamento I e II quanto no III e IV, sendo maior nos estágios avançados, porém sem significância estatística ao comparar com o grupo em estágios iniciais. Acredita-se que resultado semelhante foi apresentado apenas por Sikora et al. (2018)[34]: amostras em estágio I e II com 16,33 (15,56 – 17,94) pg/mL IL-10 e estágio III e IV com 23,54 (18,52 – 26,21) pg/mL IL-10. E, certamente, contribui para reforçar a lacuna existente acerca do comportamento do perfil inflamatório no peritônio em grau mínimo e leve. Assim como, reforça as hipóteses de maior concentração de IL-10 nos estágios moderados e severos.

O estudo experimental de Suen et al. (2019)[26] e o caso-controle de Gueuvoghlanian-Silva et al. (2020)[30] sugerem que a IL-10 apresenta potencial para o desenvolvimento, manutenção e aumento dos focos de endometriose. Já que atribuem a essa citocina anti-inflamatória a perda da capacidade de apoptose do endométrio refluído, a sinalização para

migração de mais células endometriais e o estímulo à angiogênese; esses mecanismos, consequentemente, acarretam na maior secreção de IL-10, devido ao aumento no número de células responsáveis por sua secreção[26]. Suen et al. (2019)[26] encontraram nas amostras de tecido endometrial em estágios III e IV aumento de células responsáveis pela secreção de IL-10, como macrófagos e células Th17.

Consoante os resultados e os estudos citados, sugere-se, também, a associação da IL-10 com o possível descontrole da inflamação e consequente manutenção do endométrio ectópico, que, por conseguinte, leva a cascata de eventos responsáveis pelo estado de inflamação crônica e total perda na homeostase do sistema imunológico. Portanto, o uso de CH pode contribuir para frear essa cascata inflamatória e, consequentemente, evitar que as lesões não progridam para os estágios avançados e as irreversíveis distorções na anatomia pélvica.

4.1. Limitações

Sabe-se da característica hormônio-dependente da endometriose e de discussões que envolvem a fase do ciclo menstrual e o perfil inflamatório no peritônio, todavia, não se obteve valores significativos associados à fase do ciclo menstrual e à concentração de IL-10[10,19]. Esse resultado pode decorrer do número heterogêneo entre amostras em fase proliferativa e secretora, mas, certamente, serve como base para cálculos amostrais.

5. Conclusão

Embora o mecanismo da doença permaneça incerto[19,26], esse estudo contribui com resultados inéditos à literatura, com destaque à importância do diagnóstico precoce e ao uso dos contraceptivos hormonais. Com significância estatística, as concentrações reduzidas de IL-10 no lavado peritoneal de pacientes com endometriose em uso de CH em relação às que não utilizavam métodos hormonais sugerem sua influência sobre o peritônio acometido por lesões endometrióticas, possivelmente, como promotores da redução do processo inflamatório presente no peritônio com endometriose.

Agradecimentos

Agradeço, especialmente, à Dra. Lia Karina Volpato por sua expertise ao auxiliar na elaboração do presente estudo, bem como aos médicos ginecologistas e obstetras que participaram ativamente na coleta das amostras: Dr. Heitor Munaretto e Dr. Ricardo Nascimento. Agradeço, também, à equipe do LANEX pelo auxílio fundamental à análise laboratorial das amostras deste estudo.

Referências

1. Bulun SE. Endometriosis Mechanisms of Disease. N Engl J Med. 2009; 360:268-79. https://doi.org/10.1056/NEJMra0804690.

2. Fuldeore MJ, Soliman AM. Prevalence and Symptomatic Burden of Diagnosed Endometriosis in the United States: National Estimates from a Cross-Sectional Survey of 59,411 Women. Gynecol and Obstet Invest. 2017; 82(5):453-61. https://doi.org/10.1159/000452660.

3. Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, Singh SS, Thomas R, Tayade C. Pathophysiology and Immune Dysfunction in Endometriosis. Biomed Res Int. 2015; 2015:1-12. https://doi.org/10.1155/2015/795976.

4. Hickey M, Ballard K, Farquhar C. Endometriosis. BMJ. 2014; 348:g1752. https://doi.org/10.1136/bmj.g1752.

5. Johnson NP, Hummelshoj L, Adamson GD, Keckstein J, Taylor HS, Abrao MS, et al. World Endometriosis Society Sao Paulo Consortium. World Endometriosis Society consensus on the classification of endometriosis. Hum Reprod. 2017; 32(2):315-24. https://doi.org/10.1093/humrep/dew293.

6. Audebert A, Petousis S, Margioula-Siarkou C, Ravanos K, Prapas N, Prapas Y. Anatomic distribution of endometriosis: A reappraisal based on series of 1101 patients. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018; 230:36-40. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.09.001.

7. Barra F, Grandi G, Tantari M, Scala C, Facchinetti F, Ferrero S. A comprehensive review of hormonal and biological therapies for endometriosis: latest developments. Expert Opin Biol Ther. 2019; 19(4):343-60. https://doi.org/10.1080/14712598.2019.1581761.

8. Andres MP, Borrelli GM, Abrão MS. Endometriosis classification according to pain symptoms: can the ASRM classification be improved? Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018; 51:111-8. https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.06.003.

9. Burney, RO, Giudice, LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril. 2012; 98(3):511-9. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.06.029.

10. Riccio LDGC, Santulli P, Marcellin L, Abrão MS, Batteux F, Chapron C. Immunology of endometriosis. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018; 50:39-49. https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.01.010.

11. Malutan AM, Drugan T, Ciortea R, Mocan-Hognogi RF, Bucuri C, Rada MP, et al. Serum anti-inflamatory cytokines for the evaluation of inflammatory status in endometriosis. J Res Med Sci. 2015; 20(7):668-74. https://doi.org/10.4103/1735-1995.166215.

12. Börner C, Scheerer C, Buschow R, Chiantera V, Sehouli J, Mechsner S. Pain Mechanisms in Peritoneal Diseases Might Be Partially Regulated by Estrogen. Reprod Sci. 2017; 25(3):424-34. https://doi.org/10.1177/1933719117715126.

13. Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. Effect of progestogens and combined oral contraceptives on nerve fibers in peritoneal endometriosis. Fertil Steril. 2009;92(4):1234-9. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.1774.

14. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. Obstet Gynecol. 1984;64(2):151-4.

15. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001; 96(1):21-34. https://doi.org/10.1016/s0301-2115(00)00405-x.

16. Patel BG, Rudnicki M, Yu J, Shu Y, Taylor RN. Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions. Acta Obstet Gynecol Scand. 2017; 96(6):623-32. https://doi.org/10.1111/aogs.13156.

17. Ahn SH, Singh V, Tayade C. Biomarkers in endometriosis: challenges and opportunities. Fertil Steril. 2017; 107(3):523-32. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.01.009.

18. Mancini F, Milardi D, Carfagna P, Grande G, Miranda V, De Cicco Nardone A, et al. Low-dose SKA Progesterone and Interleukin-10 modulate the inflammatory pathway in endometriotic cell lines. Int Immunopharmacol. 2018; 55:223-230. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.12.008.

19. Bellelis P, Barbeiro DF, Gueuvoghlanian-Silva BY, Kalil J, Abrão MS, Podgaec S. Interleukin-15 and Interleukin-7 are the major cytokines to maintain endometriosis. Gynecol Obstet Invest. 2019; 84(5):435-44. https://doi.org/10.1159/000496607.

20. Paula R Jr, Oliani AH, Vaz-Oliani DC, D'Ávila SC, Oliani SM, Gil CD. The intricate role of mast cell proteases and the annexin A1-FPR1 system in abdominal wall endometriosis. J Mol Histol. 2015; 46(1):33-43. https://doi.org/10.1007/s10735-014-9595-y

21. Gallagher JS, DiVasta AD, Vitonis AF, Sarda V, Laufer MR, Missmer SA. The Impact of Endometriosis on Quality of Life in Adolescents. J Adolesc Health. 2018; 63:766-72. https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2018.06.027.

22. Vercellini P, Buggio L, Berlanda N, Barbara G, Somigliana E, Bosari S. Estrogen-progestins and progestins for the management of endometriosis. Fertil Steril. 2016; 106(7):1552-71. http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.10.022

23. Barra F, Scala C, Ferrero S. Current understanding on pharmacokinetics, clinical efficacy and safety of progestins for treating pain associated to endometriosis. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2018; 14(4):399-415. https://doi.org/10.1080/17425255.2018.1461840.

24. Schoep ME, Nieboer TE, van der Zanden M, Braat DDM, Nap AW. The impact of menstrual symptoms on everyday life: a survey among 42,879 women. Am J Obstet Gynecol. 2019; 220(6):569.e1-569.e7. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.02.048.

25. Volpato LK, Horewicz VV, Bobinski F, Martins DF, Piovezan AP. Annexin A1, FPR2/ALX, and inflammatory cytokine expression in peritoneal endometriosis. J Reprod Immunol. 2018; 129:30-5. https://doi.org/10.1016/j.jri.2018.08.002.

26. Suen JL, Chang Y, Shiu YS, Hsu CY, Sharma P, Chiu CC. IL-10 from plasmacytoid dendritic cells promotes angiogenesis in the early stage of endometriosis. J Pathol. 2019; 249(4):485-97. https://doi.org/10.1002/path.5339.

27. Jiang J, Jiang Z, Xue M. Serum and peritoneal fluid levels of interleukin-6 and interleukin-37 as biomarkers for endometriosis. Gynecol Endocrinol. 2019; 35(7):571-5. https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1554034.

28. Nanda A, K T, Banerjee P, Dutta M, Wangdi T, Sharma P. Cytokines, Angiogenesis, and Extracellular Matrix Degradation are Augmented by Oxidative Stress in Endometriosis. Ann Lab Med. 2020; 40(5):390-7. https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.5.390.

29. Margatho D, Carvalho NM, Bahamondes L. Endometriosis-associated pain scores and biomarkers in users of the etonogestrel-releasing subdermal implant or the 52-mg levonorgestrel-releasing intrauterine system for up to 24 months. Eur J Contracept Reprod Health Care. 2020; 25(2):133-140. https://doi.org/10.1080/13625187.2020.1725461.

30. Gueuvoghlanian-Silva BY, Hernandes C, Correia RP, Podgaec S. Deep Infiltrating Endometriosis and Activation and Memory Surface Markers and Cytokine Expression in Isolated Treg Cells. Reprod Sci. 2020; 27(2):599-610. https://doi.org/10.1007/s43032-019-00060-1.

31. Barra F, Scala C, Maggiore ULR, Ferrero S. Long-Term Administration of Dienogest for the Treatment of Pain and Intestinal Symptoms in Patients with Rectosigmoid Endometriosis. J Clin Med. 2020; 9(1):154. https://doi.org/10.3390/jcm9010154.

32. Vignali M, Belloni GM, Pietropaolo G, Di Prun AB, Barbera V, Angioni S, et al. Effect of Dienogest therapy on the size of the endometrioma. Gynecol Endocrinol. 2020; 1-5. https://doi.org/10.1080/09513590.2020.1725965.

33. Cho B, Roh JW, Park J, Jeong K, Kim TH, Kim YS, et al. Safety and Effectiveness of Dienogest (Visanne®) for Treatment of Endometriosis: A Large Prospective Cohort Study. Reprod Sci. 2020; 27(3):905-15. https://doi.org/10.1007/s43032-019-00094-5.

34. Sikora J, Smycz-Kubańska M, Mielczarek-Palacz A, Bednarek I, Kondera-Anasz Z. The involvement of multifunctional TGF-β and related cytokines in pathogenesis of endometriosis. Immunol Lett. 2018; 201:31-7. https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.10.011.

35. Grandi G, Mueller MD, Papadia A, et al. Inflammation influences steroid hormone receptors targeted by progestins in endometrial stromal cells from women with endometriosis. J Reprod Immunol. 2016;117:30-8. https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.06.004.