

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Medicina : Ciências Médicas

**Concentração de imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM)
e de interleucinas (IL-1 β , IL-10 e IF- γ)
em pacientes com endometriose**

Andréa Cintra Facin

Orientador : Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos

Dissertação de Mestrado

2006

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Medicina : Ciências Médicas

**Concentração de imunoglobulinas (IgA, IgG e IgM)
e de interleucinas (IL-1 β , IL-10 e IF- γ)
em pacientes com endometriose**

Andréa Cintra Facin

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

Orientador : Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos

Dissertação de Mestrado

2006

F141c Facin, Andréa Cintra

Concentração de imunoglobinas (IgA, IgG e IgM) e de interleucinas (IL-1 β , IL-10 e IF- γ) em pacientes com endometriose / Andréa Cintra Facin ; orient. Eduardo Pandolfi Passos. – 2006.

88 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Imunidade hormonal 2. Imunidade celular 3. Endometriose 4. Imunoglobulinas 5. Interleucinas 6. Imunologia 7. Infertilidade feminina I. Passos, Eduardo Pandolfi II. Título.

NLM: WP 390

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

DEDICO ESTE TRABALHO

Aos meus pais, Audo e Iris, exemplos de firmeza, integridade e perseverança, por terem me estimulado desde muito pequena na busca do conhecimento.

À minha irmã, Flávia, cuja chegada determinou a minha escolha profissional e cuja presença em nossas vidas é uma fonte inesgotável de alegria, positividade e força para viver.

Ao Fernando, meu esposo e meu porto seguro, por me fazer feliz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho e, de forma especial :

- ao Prof. Dr. Eduardo Pandolfi Passos, orientador deste trabalho e criador da linha de pesquisa em endometriose no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por ter acreditado em meu trabalho e me incentivado desde o início da minha especialização ;
- ao Prof. Dr. Adriano Brandelli, co-orientador deste trabalho, pelo apoio e sugestões no estudo da reprodução humana ;
- ao Prof. Dr. Fernando Freitas, pelas oportunidades ;
- ao Prof. Dr. Jarbas Oliveira, pela disponibilidade e orientação nas dosagens laboratoriais ;
- à Dra. Cristina Cunha Comiran, pelo eficiente auxílio na coleta dos dados ;
- à Bioquímica Sandra Dettoni, pelas dosagens laboratoriais realizadas ;
- ao Dr. Ricardo Palma Dias, pelo empenho no momento das coletas de líquido peritoneal e soro das pacientes ;
- à estatística Daniela Benzano, pela análise estatística dos dados ;
- ao Dr. Cristiano Caetano Salazar, pela amizade, disponibilidade, compreensão e estímulo constantes ;
- à Dra. Simone Chaves Fagundes pela amizade, solidariedade e exemplo profissional ;
- aos médicos residentes do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo auxílio na coleta dos dados ;
- Ao FIPE do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cujo auxílio financeiro permitiu a compra dos kits utilizados nas dosagens laboratoriais deste estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
INTRODUÇÃO	10
Considerações gerais sobre a endometriose	13
Patogênese da endometriose	16
A função imunológica e a endometriose	20
Alterações na imunidade humoral associadas à endometriose	21
Alterações na imunidade celular associadas à endometriose	22
OBJETIVOS	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ARTIGO EM INGLÊS	40
ARTIGO EM PORTUGUÊS	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ASRM :	Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva
Células NK :	Células matadoras naturais
Células Th1 :	Células T auxiliares do tipo Th1
Células Th2 :	Células T auxiliares do tipo Th2
ELISA :	Análise imunológica ligada a enzimas
HCPA :	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Ig :	Imunoglobulina
IF :	Interferon
IL :	Interleucina
LP :	Líquido peritonial
MCP-1 :	Proteína 1 quimiotática para monócitos
MCSF :	Fator estimulador das colônias de macrófagos
S :	Soro
TGF- β :	Fator de transformação do crescimento β
TNF- α :	Fator de necrose tumoral α
VEGF :	Fator de crescimento vascular endotelial

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Concentrações de IgA, IgG, IgM, IL-1 β , IL-10 e IF- γ no soro e no líquido peritoneal	56
TABELA 2 - Tipos e níveis de dor	57

RESUMO

Com o objetivo de avaliar as imunidades humoral e celular de pacientes com endometriose, analisamos as concentrações das Imunoglobulinas (A, G e M) e das Interleucinas (1β , 10 e $IF\gamma$) no soro e no líquido peritoneal. Também analisamos a sua associação com a presença de infertilidade, o nível de dor apresentado e a extensão da endometriose.

Foram coletadas amostras de soro e líquido peritoneal de 43 pacientes submetidas a laparoscopia, que foram divididas em 4 grupos : 20 pacientes inférteis com endometriose, 9 pacientes inférteis sem endometriose, 4 pacientes férteis com endometriose e 10 pacientes férteis sem endometriose. As concentrações de $IL-1\beta$, $IL-10$ e $IF\gamma$ foram determinadas pela método de ELISA e as concentrações de IgA, IgG e IgM foram feitas pela técnica de imunodifusão radial.

Nas pacientes com endometriose, as concentrações de IgA no soro e do líquido peritoneal foram maiores nas pacientes inférteis do que nas férteis. A IgG estava mais elevada nas pacientes sem endometriose do que nas pacientes com endometriose, todas inférteis. Os níveis de interleucina 10 no líquido peritoneal de pacientes com endometriose foram mais elevados nas pacientes inférteis do que nas férteis e Interferon γ apresentou concentrações mais baixas no soro e no líquido peritoneal de pacientes inférteis sem endometriose. Não houve diferenças significativas entre os grupos para as concentrações de IgM e $IL-1\beta$, bem como nas correlações entre os níveis de citocinas e imunoglobulinas entre os diferentes grupos com os graus de endometriose e os níveis de dor nessas pacientes.

INTRODUÇÃO

A endometriose é definida como o implante de estroma e glândulas endometriais fora da cavidade e da musculatura uterinas. É uma das patologias ginecológicas mais comuns, bem como indicação freqüente de cirurgia em mulheres em idade reprodutiva. Sua patogênese e sua associação com dor pélvica e infertilidade, embora extensamente investigadas, permanecem pouco compreendidas.

Os primeiros estudos sobre a endometriose já focalizavam o interesse na origem da lesão endometriótica e, ao longo dos últimos 70 anos, pelo menos 12 teorias foram propostas com o objetivo de explicar a sua patogênese (ORAL et al. 1996; WITZ 1999). A teoria mais aceita é a da menstruação retrógrada, proposta por Sampson (SAMPSON et al. 1940), na qual debris de tecido endometrial refluem através das trompas para a cavidade peritoneal durante a período menstrual, onde irão se implantar e dar origem às lesões endometrióticas. Vários investigadores têm demonstrado que a menstruação retrógrada é um fenômeno bastante comum em pacientes com trompas pérvias, sendo encontrada em até 90% das pacientes submetidas à laparoscopia próximo ao período menstrual (HALME et al. 1984 ; LIU et al. 1986). No entanto, somente 10 a 15% das mulheres desenvolvem endometriose, sugerindo que o implante dos focos seja decorrente de uma falha no sistema imunológico responsável pela limpeza destas células da cavidade peritoneal (DMOWSKI et al. 1981).

Mulheres com endometriose apresentam alterações tanto na imunidade celular como humoral (ORAL et al. 1997). O número de macrófagos no líquido peritoneal

destas mulheres é maior, assim como a concentração de citocinas secretadas por estes macrófagos, tanto pró-inflamatórias, como a interleucina 1 beta (IL-1 β), quanto inibidoras da atividade inflamatória, como a interleucina 10 (IL-10) e o interferon gama (IF- γ) (KORRAM et al. 1993; KLEIN et al. 1994; GARCIA-VELASCO et al. 1999 ; WU & HO 2003). Também encontra-se ativada a resposta imunológica dos linfócitos B, com reflexo na síntese de imunoglobulinas A, G e M (IgA, IgG e IgM) e que pode ser observada no sangue periférico e, mais intensamente, no líquido peritonial (GLEICHER et al. 1987 ; TAYLOR et al. 1991 ; GLEICHER 1994).

A associação de endometriose com infertilidade é bem conhecida. A prevalência de infertilidade na população geral é de 15% mas alcança 30 a 40% em pacientes com endometriose (STRATHY et al. 1982). Os mecanismos que levam à infertilidade estão bastante claros nos casos de endometriose severa, onde ocorre importante distorção da anatomia pélvica. No entanto, o achado clínico mais freqüente é o de pacientes inférteis com endometriose mínima, leve ou moderada e com pouca ou nenhuma alteração anatômica (BURNS et al. 1999). Além da infertilidade, a endometriose também é causa freqüente de dor pélvica, na forma de dismenorréia, dispareunia e dor lombar ou retal. Assim como acontece com a infertilidade, a dor relacionada com a endometriose não está relacionada com os achados laparoscópicos, sendo que algumas pacientes com lesões extensas e aderências pélvicas são completamente assintomáticas (MUSE 1988).

No presente estudo , avaliamos os níveis sérico (S) e no líquido peritonial (LP) das imunoglobulinas A, G e M e também das interleucinas 1 beta (IL-1 β) e 10 (IL-10) e do interferon gama (IF- γ) de pacientes férteis e inférteis, com e sem endometriose, que foram submetidas à laparoscopia. Também objetivou-se correlacionar essas

dosagens com a presença de infertilidade, o nível de dor referido pela paciente e o estadiamento da endometriose.

REVISÃO DA LITERATURA

Considerações gerais sobre a endometriose

A endometriose foi descrita pela primeira vez na literatura médica em 1860, por Rokitanski (MUSE 1988). Em 1921, Sampson publicou o primeiro de uma série de estudos sobre a endometriose, sugerindo que os focos de endometriose na superfície peritoneal pélvica tinham origem na endometriose ovariana e, em 1927, introduziu o termo endometriose e as bases da sua teoria da menstruação retrógrada na gênese da doença (SAMPSON 1927).

Pode-se definir endometriose como a presença de tecido glandular e estroma endometriais funcionantes fora do útero. A sua localização mais freqüente é nos ovários, seguida pelos fundo-de-saco uterinos anterior e posterior, ligamentos úterossacros, superfície posterior do útero e do ligamento largo e outras áreas do peritônio pélvico. Também podem ocorrer implantes no colo uterino, nos fundos-de-saco vaginais, na bexiga, nos ureteres, no intestino e em cicatrizes cirúrgicas. Muito raramente, a endometriose pode ser encontrada distante da pelve, como nos pulmões, cérebro e rins (OLIVE et al. 1993). O tamanho das lesões varia desde achados microscópicos até massas volumosas que podem invadir os órgãos adjacentes e provocar a formação de aderências extensas.

A endometriose é uma patologia encontrada quase que exclusivamente em mulheres no menacme, sendo rara antes da menarca e também após a menopausa. A idade média descrita no primeiro diagnóstico de endometriose é de 25 a 29 anos (MUSE 1988). A maioria dos casos diagnosticados em meninas abaixo dos 17 anos

está associada a alterações anatômicas (cervicais ou vaginais) que causam obstrução ao fluxo menstrual (OLIVE et al. 1993).

A prevalência exata da endometriose na população geral é difícil de ser determinada, uma vez que o seu diagnóstico definitivo requer a visualização direta da cavidade peritoneal, através de laparoscopia ou laparotomia. Com isso, a prevalência observada pode variar de acordo com a indicação e o tipo de procedimento, bem como com a técnica e a experiência do cirurgião . Em pacientes submetidas à laparoscopia, ela está presente em aproximadamente 25% (de 4,5 a 82 %) das pacientes com dor pélvica, em 20 % (de 2,1 a 78 %) das pacientes inférteis e em 4 % (de 0,7 a 43 %) das pacientes que foram à ligadura a tubária (STRATHY et al. 1982 ; SANGI-HAGHPEYKAR et al. 1995 ; ESKENAZI et al. 1997). Em uma revisão das laparoscopias realizadas no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a endometriose foi o achado mais freqüente em pacientes com dor pélvica (56,1 %) e o segundo diagnóstico nas pacientes com infertilidade (28,3 %) (PALMA DIAS et al. 1995).

Com relação aos fatores de risco para o desenvolvimento da endometriose, sabe-se que a endometriose é mais freqüente naquelas pacientes com uma maior exposição à menstruação, ou seja, naquelas pacientes com ciclos menstruais mais curtos, maior duração do fluxo menstrual e menor paridade. Também sabe-se que a endometriose é menos comum em mulheres com alguns hábitos pessoais associados a níveis séricos mais baixos de estrógenos (como exercícios físicos regulares e tabagismo) e nas pacientes que fazem uso prolongado de contraceptivos orais de baixa dosagem . Já as pacientes com endometriose costumam possuir maior gordura corporal periférica, compatível com a idéia de que a manutenção e a atividade da

doença dependem de níveis séricos mais elevados de estrógenos (MUSE 1988 ; ESKENAZI et al. 1997) .

Também parece existir uma predisposição genética ao desenvolvimento da endometriose, uma vez que o seu achado é sete vezes mais comum em pacientes com mães ou irmãs com endometriose do que na população geral (KONINCKX et al. 1999). Os estudos que correlacionam a presença de endometriose nas diferentes raças não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de pacientes (OLIVE et al. 1993).

O diagnóstico de endometriose deve sempre ser suspeitado em pacientes em idade reprodutiva com queixas de dor pélvica ou infertilidade. A maioria das pacientes apresenta dismenorréia secundária, dispareunia ou até mesmo dor pélvica e sacral constantes. A dor pode ter uma localização anatômica específica quando a endometriose é encontrada em sítios não usuais, fora da pelve. O sangramento uterino disfuncional também é um achado comum em pacientes com endometriose. Muitas pacientes, no entanto, são completamente assintomáticas ou apresentam a infertilidade como único sintoma e a extensão da doença tem pouca ou nenhuma correlação com a severidade dos sintomas. Portanto, podemos encontrar pacientes com lesões pélvicas extensas e que não apresentam dor , bem como pacientes com pequenos focos de endometriose, trompas pérvias e anatomia pélvica preservada que são inférteis (PASSOS et al. 2001).

Patogênese da endometriose

A patogênese exata da endometriose ainda é desconhecida e várias teorias têm surgido para explicar o seu desenvolvimento. Destas, três são as mais aceitas : a da implantação de tecido endometrial, a da metaplasia celômica e a da transformação de restos embrionários (PASSOS et al. 2000 ; VINATIER et al. 2001).

Teoria da implantação

A teoria da implantação, conhecida com teoria de Sampson, propõe que, durante o período menstrual, debris de tecido endometrial passam através das trompas de falópio para a cavidade endometrial, onde irão se implantar e proliferar, dando origem aos implantes de endometriose (SAMPSON 1927).

Vários estudos usando a laparoscopia têm demonstrado que a menstruação retrógrada é um achado muito comum em pacientes com trompas pérvias. Halme e colaboradores (HALME et al. 1984) observaram a presença de sangue endometrial em 90 % das pacientes submetidas a laparoscopia no período menstrual, enquanto Liu e Hitchcock (LIU et al. 1986) encontraram o mesmo fenômeno em 76 % das pacientes. Outros autores também confirmaram a passagem de células endometriais através das trompas para a cavidade peritoneal após a histeroscopia (NAGEL et al. 1984 ; EGARTER et al. 1996).

A viabilidade das células endometriais descamadas e a sua capacidade de implantar fora da cavidade endometrial foi comprovada em dois estudos clássicos. Keetel e Stein, em 1951, cultivaram células endometriais obtidas do sangue menstrual, demonstrando a sua viabilidade (KEETEL et al. 1951). Já Ridley e Edwards viram que o tecido endometrial coletado do sangue endometrial poderia se fixar e proliferar em

locais ectópicos (RIDLEY et al. 1958). No seu estudo, o sangue menstrual era coletado no segundo dia do ciclo de pacientes que seriam submetidas à cirurgia. O material era então injetado no tecido gorduroso subcutâneo da parede abdominal e as pacientes foram submetidas à laparotomia 90 a 180 dias após o implante. O local da injeção foi retirado para estudo histológico e a maioria das pacientes apresentava estroma e glândulas endometriais viáveis no local.

Modelos experimentais de endometriose em animais também reforçam a idéia de que o endométrio menstrual é capaz de proliferar na cavidade peritoneal . Te Linde e Scott fizeram um experimento onde invertiam o útero, desviando o fluxo menstrual para a cavidade pélvica (TE LINDE et al. 1950). De dez macacas, cinco desenvolveram aderências pélvicas extensas e achados microscópicos de endometriose. Da mesma forma, D'Hooghe e colaboradores injetaram endométrio menstrual no retroperitônio de quatro macacas babuínas. Todas desenvolveram endometriose e três delas tiveram aumento dos implantes após 12 meses de observação (D'HOOGHE et al. 1995).

Em humanos, muitos estudos observacionais apoiam o modelo de implantação para a origem da endometriose peritoneal. Pacientes com malformações müllerianas e obstrução do fluxo menstrual através da vagina têm uma maior prevalência de endometriose (OLIVE et al. 1987 ; D'HOOGHE et al. 2002). A distribuição das lesões endometrióticas também justifica a teoria de Sampson - os implantes de endometriose são mais freqüentes naquelas áreas da pelve onde ocorre o refluxo de sangue menstrual (JENKINS et al. 1986).

Teoria da metaplasia celômica

A teoria da metaplasia celômica sugere que a endometriose se origina da metaplasia das células mesoteliais que recobrem o peritônio pélvico e os ovários, partindo do pressuposto que estas células, sob determinados estímulos, teriam a capacidade de se diferenciar em células endometriais (WITZ 2002). Esta teoria explicaria a ocorrência de endometriose em qualquer parte da cavidade abdominal, bem como da cavidade torácica.

No entanto, várias questões surgem quando se considera que a endometriose tenha origem na metaplasia celômica. A primeira seria que a endometriose poderia ocorrer na ausência de endométrio, ou seja, nas pacientes com malformações congênitas que não possuem útero. Embora existam estudos demonstrando a ocorrência de endometriose nessas mulheres, com as chamadas agenesias müllerianas, elas invariavelmente possuem resquícios de trompas de falópio e algumas vezes cornos uterinos rudimentares que poderiam ser fontes de tecido endometrial. Segunda, se o mesotélio peritoneal é capaz de sofrer metaplasia, a endometriose também poderia ocorrer em homens. Mesmo existindo casos descritos de endometriose em homens, todos envolvem pacientes com câncer metastático de próstata e em tratamento com altas doses de estrógenos, representando a hiperplasia dos restos de células endometriais no utrículo prostático e não a metaplasia celômica (SCHRODT 1980). Terceira, a metaplasia celômica deveria ocorrer em todos os locais onde existem tecidos derivados do epitélio celômico. E, ainda que existam evidências embriológicas de que o epitélio celômico recobre tanto a cavidade abdominal como a torácica, a endometriose é rara no tórax. Por último, se a metaplasia celômica é semelhante às metaplasias em outros locais, a frequência da endometriose deveria aumentar com o avanço da idade. E este não é comportamento

clínico da endometriose, que se torna pouco freqüente após cessarem os ciclos menstruais. Os casos de endometriose observados em pacientes na pós-menopausa estão associados à estimulação de focos de endometriose pré-existentes por terapia de reposição estrogênica ou produção estrogênica endógena (VINATIER et al. 1999).

Teoria da transformação de restos embrionários

A teoria da transformação de restos embrionários defende a idéia de que em áreas adjacentes aos ductos de Müller podem existir duplicações rudimentares com células de origem mülleriana que, na presença de um estímulo específico, podem ser ativadas dando origem a células endometriais funcionantes.

Esta teoria explicaria os raros casos de endometriose em homens, mas não os casos de endometriose na cavidade torácica, cujos focos respeitam a distribuição anatômica da vascularização pulmonar e não a das cristas urogenitais. Da mesma forma, a endometriose deveria se manifestar imediatamente após a menarca, quando se inicia a estimulação hormonal e não na quarta década de vida, quando ocorre a sua maior incidência (HANEY 1997).

No entanto, nenhuma das teorias propostas até hoje explica a instalação e o desenvolvimento da endometriose, bem como das suas complicações mais freqüentes, que são a dor pélvica e a infertilidade (ASRM 2004) . Uma vez que a menstruação retrógrada ocorre na maioria das mulheres com trompas pérvias, porque somente algumas desenvolvem endometriose ? Porque algumas mulheres apresentam apenas lesões mínimas de endometriose ? Como e porque a endometriose progride para uma doença agressiva e invasiva em outras mulheres? Mesmo em estágios iniciais da doença, onde não há distorção anatômica da pelve, porque a endometriose pode causar dor debilitante e infertilidade ?

Vários autores acreditam que as respostas para estas questões podem ser encontradas na alteração da função das células do sistema imunológico e sua interação com o endométrio eutópico e as lesões endometrióticas. Diversos métodos de estudo têm sido utilizados para determinar o papel das células do sistema imunológico na patogênese da endometriose : a análise das células e das citocinas no líquido peritoneal (LP), o exame da função dos linfócitos e das células matadoras naturais (NK) no sangue periférico e, também, a comparação das células do sistema imunológico e dos fatores de crescimento encontrados no endométrio eutópico e nas lesões endometrióticas de mulheres com e sem endometriose (VINATIER et al. 1996, ANTSIFEROVA et al. 2005).

A função imunológica e a endometriose

Várias alterações na função imunológica, tanto a nível sistêmico quanto peritoneal, têm sido observadas em pacientes com endometriose, sugerindo que o sistema imunológico possa estar associado com a instalação e o desenvolvimento da endometriose. Nas duas últimas décadas, vários estudos associaram a endometriose com alterações na imunidade humoral e na imunidade celular. As células envolvidas são linfócitos B, linfócitos T, granulócitos, monócitos, macrófagos e células NK. Os fatores solúveis incluem citocinas, proteínas da fase aguda da resposta inflamatória, complemento e imunoglobulinas. No entanto, ainda não está claro se as alterações imunológicas precedem a endometriose ou são induzidas pela doença. As alterações na imunidade humoral e celular têm sido observadas em mulheres e em macacas rhesus com endometriose, assim como em animais de laboratório cuja endometriose

foi induzida experimentalmente. Mulheres com endometriose apresentam uma maior atividade dos macrófagos e da resposta humoral, e uma diminuição na imunidade celular e na atividade das células T e das células NK (DMOWSKI 1995; LEBOVIC et al. 2001).

Alterações na imunidade humoral associadas à endometriose

Diversos estudos têm demonstrado alterações na atividade dos linfócitos B e uma maior incidência de auto-anticorpos em mulheres com endometriose. Os aspectos mais estudados foram a demonstração de imunoglobulinas e fatores do complemento no endométrio e nos implantes endometrióticos e as concentrações de anticorpos anti-endométrio não específicos no soro e no fluido peritonial como marcadores da doença.

Em 1980, Starseva detectou um aumento na atividade dos linfócitos B em mulheres com endometriose e adenomiose (DMOWSKI 1995). No mesmo ano, Weed e Arquembourg sugeriram que as proteínas liberadas após a fagocitose do endométrio ectópico poderiam ser reconhecidas como um antígeno exógeno, induzindo uma resposta auto-imune que resultaria em infertilidade. No seu estudo eles demonstraram que mulheres com endometriose apresentam maiores depósitos do fator do complemento 3 (C3) e da imunoglobulina G (IgG) no endométrio, com uma redução nos níveis séricos totais de complemento (WEED et al. 1980). Dois anos após, Mathur e col. identificaram auto-anticorpos IgA e IgG contra o endométrio e o tecido ovariano no soro e nas secreções cervical e vaginal de mulheres com endometriose (MATHUR 1982). No entanto, um outro estudo do mesmo grupo encontrou

concentrações menores de anticorpos para antígenos endometriais tanto em pacientes férteis (grupo controle) como em pacientes com endometriose e sugeriram que este seja um mecanismo associado à limpeza dos debrís menstruais do trato reprodutivo (DMOWSKI & BRAUN 2004).

Além dos anticorpos contra células endometriais, auto-anticorpos das classes IgA, IgG e IgM contra fosfolípidios (particularmente fosfatidilserina), histonas e polinucleotídeos também foram demonstrados (CONFINO 1990). Uma maior frequência desses auto-anticorpos também tem sido observada em pacientes com doenças auto-imunes, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES), e em pacientes com falha reprodutiva, ou seja, infertilidade e abortamentos de repetição. Essa maior produção de auto-anticorpos sugere uma ativação policlonal das células B, que também ocorre em doenças auto-imunes. O tratamento da endometriose com danazol ou com análogos do GnRH, suprime a produção de auto-anticorpos (KENNEDY et al. 1990). Estudos mais recentes, entretanto, questionam a significância desses auto-anticorpos e inclusive demonstram diferentes graus de correlação entre a severidade da endometriose e a presença dos auto-anticorpos, variando de uma relação positiva ou negativa até a ausência de associação (NOTHNICK 2001 ; BERKKANGLU & ARICI 2003).

Alterações na imunidade celular associadas à endometriose

Uma menor resposta imunológica celular poderia permitir que as células endometriais deslocadas fossem capazes de se implantar em locais fora da cavidade uterina. Além das alterações na imunidade humoral, mudanças na imunidade mediada

por células também são observadas tanto em macacas como em mulheres com endometriose. Entretanto, essas mudanças parecem ser funcionais, não interferindo na resposta imunológica geral e podendo envolver diferentes células do sistema imunológico. O número total de linfócitos e a percentagem dos diferentes grupos de células do sistema imunológico no sangue periférico parecem não estar modificados em pacientes com endometriose. A interação entre as células do sistema imunológico e as células endometriais é que parece estar significativamente alterada (GLEICHER et al. 1984).

Em mulheres e em macacas rhesus sem endometriose os linfócitos do sangue periférico reconhecem os antígenos e as células endometriais e proliferam, tanto in vivo como in vitro . Dmowski e col. e Steele e col. demonstraram que esse mecanismo está diminuído na endometriose, sugerindo que exista uma menor resposta aos antígenos endometriais nesses casos (DMOWSKI et al. 1981 ; STEELE et al. 1984). Da mesma forma, em mulheres com endometriose, o efeito citotóxico dos linfócitos do sangue periférico contra células endometriais autólogas marcadas está diminuído e apresenta correlação com a severidade da doença (DMOWSKI et al. 1994). Esses achados foram confirmados por Viganò e col. (VIGANO et al. 1991) Oosterlynck e col., sendo que estes demonstraram que o efeito citotóxico parece ser mediado pelas células NK (OOSTERLYNCK et al. 1991b) . Outros autores demonstraram dados discordantes, ou seja, não encontraram alterações significativas nos linfócitos do sangue periférico em mulheres com endometriose (HILL et al 1988 ; GLEICHER et al 1984). Da mesma forma, a interpretação dos dados obtidos em estudos com linfócitos do sangue periférico deve ser feita com cautela, uma vez que a atividade biológica dos linfócitos periféricos pode não refletir a atividade biológica dos linfócitos de tecidos específicos (DUDLEY 1992).

A diminuição do efeito citotóxico das células NK contra as células endometriais também pode ser potencializada pela maior resistência dessas células à destruição, demonstrando que, além das células NK, as células endometriais também estão alteradas na endometriose (JONES et al. 1998). As células NK são grandes linfócitos granulares que destroem células carreadoras de moléculas-alvo e células marcadas por anticorpos, assim como células tumorais. Tanto as células NK peritoniais como as do sangue periférico de pacientes com endometriose apresentam menor citotoxicidade ao tecido endometrial autólogo e heterólogo (OOSTERLYNCK et al. 1991; WILSON et al. 1994), e a citotoxicidade das células NK peritoniais tem se mostrado menor nos casos de doença mais severa (HO et al. 1995). A diminuição da citotoxicidade das células NK, portanto, permite que o endométrio que reflui para a cavidade peritoneal ali se instale. Embora esteja claro que a citotoxicidade das células NK seja menor nas mulheres com endometriose, os dados em relação à percentagem ou ao número dessas células ainda são discordantes. Estudos individuais sugerem que o número ou a percentagem das células NK em pacientes com a doença esteja menor (HSU et al. 1997a), maior (HILL et al. 1988) ou sem alterações (OOSTERLYNCK et al. 1991). Já em pacientes com endometriose que recebem tratamento com análogos do GnRH, observam-se aumentos progressivos tanto no número (HSU et al. 1997a) quanto na atividade das células NK (GARZETTI et al. 1996), que podem dever-se a um efeito direto do análogo do GnRH ou serem uma consequência dos níveis diminuídos de estradiol sérico.

Como a diminuição da atividade das células NK *in vitro* é observada na presença de soro ou de líquido peritoneal de mulheres com endometriose, supõe-se que fatores solúveis possam controlar a atividade das células NK (KANZAKI et al. 1992; OOSTERLYNCK et al. 1992). Tanto o soro como o líquido peritoneal são ricos em

fatores secretados por monocitos/macrófagos e é possível que a atividade das células NK na endometriose seja por eles regulada.

O sistema monócito/macrófago tem um papel central na manutenção da imunidade celular. Os macrófagos são o tipo celular mais abundante na cavidade peritoneal. Estas células têm origem na medula óssea, circulam como monócitos e então migram para várias cavidades, onde, após ativados, funcionam como fagócitos. Na cavidade peritoneal, os macrófagos removem células, como espermatozóides e células endometriais, apresentando os antígenos para as células T. Além da atividade de fagocitose, os macrófagos peritoneais também secretam várias substâncias solúveis, como citocinas, prostaglandinas, fatores de crescimento, proteínas do sistema do complemento e enzimas proteolíticas. Essas substâncias são conhecidas como moduladoras da atividade de células imunes e não-imunes e constituem-se num dos aspectos mais estudados na fisiopatologia da endometriose (HILL 1997).

Em mulheres com endometriose, os monócitos do sangue periférico e os macrófagos peritoneais estão alterados. Zeller e col. verificaram que a percentagem de monócitos periféricos em mulheres com endometriose não difere das mulheres sem a doença, mas esses monócitos têm uma maior atividade em mulheres com a doença (ZELLER et al. 1987). Haney e col. foram os primeiros a relatar um aumento nos macrófagos peritoneais em mulheres inférteis com endometriose (HANEY et al. 1981). Estudos subseqüentes do líquido peritoneal de mulheres com endometriose confirmaram maiores : número total, concentração e atividade dos macrófagos (HALME et al. 1982; HALME et al. 1987; DUNSELMAN et al.1988). Esses macrófagos ativados na cavidade peritoneal são potentes produtores de citocinas e fatores de crescimento, que podem contribuir para a sobrevivência e o crescimento das células endometriais ectópicas (VINATIER et al. 1996 ; FAKIH et al. 1987 ;HALME 1989

;RANA et al. 1996; VINATIER et al. 1996 ; HARADA et al. 2001 ; SIDELL N et al. 2002).

As citocinas e os fatores de crescimento são proteínas ou glicoproteínas produzidas por leucócitos ou outras células e secretadas para o ambiente extracelular . Essas moléculas podem ter efeito nas próprias células que as produziram (atividade autócrina) ou células vizinhas (atividade parácrina). Elas também são mediadoras da comunicação entre as células do sistema imune . As citocinas podem ter efeitos proliferativos, cistostáticos, de diferenciação ou de quimioatração. Várias citocinas já foram analisadas no líquido peritoneal e mostraram estar associadas à patogênese da endometriose. Estas citocinas incluem : IL-1 , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 , IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18 interferon- γ (IF- γ), fator de necrose tumoral (TNF)- α , proteína-1 quimiotática para monócitos (MCP-1), fator estimulador das colônias de macrófagos (MCSF), fator de transformação do crescimento (TGF)- β e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (VINATIER et al. 2000 ; BEDAIWY et al. 2002 ; WU & HO 2003, ZHANG et al. 2004, KOGA et al. 2005).

Halme e col observaram uma maior secreção de fator de crescimento macrófago-derivado pelos macrófagos peritoneais de pacientes com endometriose quando comparadas com pacientes sem alterações na anatomia pélvica ou com aderências pélvicas (HALME 1988). Da mesma forma, pacientes com endometriose apresentam uma maior concentração de IL-1 e TNF- α no líquido peritoneal quando comparadas com pacientes férteis (FAKIH et al. 1987 ; HALME 1989 ; RANA et al. 1996). Os macrófagos são a maior fonte de IL-1 e TNF- α . Essas citocinas são pró-inflamatórias e têm ações semelhantes em vários tipos de células do sistema imune. O TNF- α estimula os macrófagos a produzirem outras citocinas, como a IL-1, a IL-6 e

mais TNF- α . A IL-1 também age sobre os monócitos , estimulando a produção de mais IL-1 e IL-6 (BALKWILL 2001).

A concentração de citocinas no sangue periférico também tem sido estudada em pacientes com endometriose. Braun e col. demonstraram que os monócitos do sangue periférico de pacientes com endometriose têm uma maior produção basal e estimulada de TNF- α , IL-6 e IL-8, mas não de IL-10, quando comparadas com pacientes-controle férteis (BRAUN et al. 1996).

Os produtos de secreção dos linfócitos T também têm sido implicados na patogênese da endometriose. Após serem ativadas, as células T auxiliares podem se diferenciar em dois grupos de células distintos e que produzem citocinas com funções antagônicas. As células T auxiliares do tipo 1 (Th 1) produzem citocinas como a IL-2, o interferon- γ e a IL-12, os principais mediadores da imunidade celular. As células T auxiliares do tipo 2 (Th 2) produzem a IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, envolvidas na diferenciação dos linfócitos B (HILL 1997) . Em contraste com as citocinas Th-1 derivadas, as interleucinas IL-4, IL-10 e IL-13 estão envolvidas na supressão da imunidade celular (BRAUN et al. 1996 ; LEVINSON 1998).

Hsu e col. (HSU et al. 1997b) examinaram a expressão da IL-2, do IF- γ , da IL-4 e da IL-10 no líquido peritoneal e no sangue periférico e encontraram níveis elevados de IL-4 no LP e no S de pacientes com endometriose. A concentração de IL-4 foi similar à encontrada no LP de pacientes com aderências pélvicas. A concentração de IL-10 estava elevada no LP mas diminuída no S de pacientes com endometriose. Em contraste, as citocinas Th-1 derivadas, IL-2 e IF- γ estavam diminuídas no LP de pacientes com endometriose. O mesmo se observou nas pacientes com aderências pélvicas.

Ho e col. (HO et al. 1997b) também encontraram níveis aumentados de IL-10 no LP de pacientes com endometriose em estágios iniciais, quando comparadas com pacientes com endometriose severa e com pacientes sem a doença. Esses autores sugerem que níveis elevados de citocinas Th-2 provocam uma diminuição no número de células Th-1 no líquido peritoneal. Entretanto, outros autores não encontraram diferenças na concentração de IL-10 no LP (MCLAREN et al. 1997).

Vários autores demonstraram níveis diminuídos de interferon- γ no líquido peritoneal de pacientes com endometriose, o que pode estar associado com a menor atividade das células NK nessas pacientes (HO et al. 1996 , HSU 1997 , WU 1998). Outros estudos, entretanto, não demonstraram alteração nas concentrações de interferon- γ no líquido peritoneal desses casos (KHORRAM et al. 1993, KEENAN et al. 1994).

Os resultados dos estudos que analisam a atividade das citocinas em pacientes com endometriose freqüentemente são discordantes, podendo refletir o uso de metodologias muito diferentes nas análises, bem como o uso de grupos-controle muito heterogêneos de um estudo para outro (MARTINEZ et al. 1997).

Estudos acerca do papel específico de cada citocina, assim como experimentos clínicos em modelos animais poderão aumentar o nosso conhecimento sobre a patogênese da endometriose, bem como orientar o desenvolvimento de novas terapias para essa doença.

OBJETIVOS

Os objetivos desse estudo foram :

1 - Avaliar as imunidades humoral e celular em pacientes com endometriose através da análise dos níveis séricos (S) e no líquido peritoneal (LP) das imunoglobulinas A, G e M e também das interleucinas 1- β e 10 e do interferon γ .

2 - Avaliar a correlação dessas dosagens com a presença de infertilidade, o nível de dor referido pela paciente e o estadiamento da endometriose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Society for Reproductive Medicine. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine : Endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 2004 ; 82 (Suppl 1) : S40-45.
2. Antsiferova YS, Sotnikova NY, Posiseeva LV, Shor AL. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2005 ; 84 : 1705-11.
3. Balkwill F. Cytokines and cytokine receptors. In : *Immunology* - Roit - Brostoff - Male. London : Harcourt Publishers Limited 2001 . P. 119-29.
4. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers : a prospective controlled trial . *Hum Reprod* 2002 ; 17 (2) : 426-31.
5. Berkkanglu M & Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Repr Immunol* 2003 ; 50: 48-59.
6. Braun DP, Gebel H, House R, Rana N, Dmowski NP. Spontaneous and induced synthesis of cytokines by peripheral blood monocytes in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1996 ; 65 : 1125-29.
7. Burns WN and Schenken RS. Pathophysiology of endometriosis-associated infertility. *Clin Obstet Gynecol* 1999 ; 42 (3) : 586-610.
8. Confino E, Harlow L, Gleicher N. Peritoneal fluid and serum autoantibody levels in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1990 ; 53 (2) : 242-45.

9. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, De Jonge I, Lauweryns JM, Koninckx PR . Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (Papio cynocephalus and Papio anubis). Am J Obstet Gynecol 1995 ; 173 : 125-34.
10. D'Hooghe TM and Debrock S. Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and in baboons. Hum Reprod Update 2002 ; 8 (1) : 84-88.
11. Dmowski WP, Steele RW , Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1981 ; 141 : 377-83.
12. Dmowski WP, Gebel HM, Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. Acta Obstet Gynecol Scand 1994 ; 73 (Suppl. 159) : 7-14.
13. Dmowski WP. Immunological aspects of endometriosis. Int J Gynecol Obstet 1995 ; 50 (Suppl. 1) : S3-S10.
14. Dmowski WP & Braun DP. Immunology of endometriosis. Best Pract Res 2004 ; 18 : 245-63.
15. Dudley DJ. The immune system in health and disease. Clin Obstet Gynecol 1992 ; 6 : 393-416.
16. Dunselman GAJ, Hendrix MGR, Bouckaert PXJ, Evers JLH. Functional aspects of peritoneal macrophages in endometriosis of women. J Reprod Fertil 1988 ; 82 : 707-10.
17. Egarter C, Krestan C, Kurz C. Abdominal dissemination of malignant cells with hysteroscopy. Gynecol Oncol 1996 ; 63 : 143-44.
18. Eskenazi B and Warner ML. Epidemiology of endometriosis. Obstet Gynecol Clin 1997 ; 24 (2) : 235-58.
19. Fakh H, Baggett B, Holtz G, Tsang K-Y, Lee JC, Willianson HO. Interleukin-1 : possible role in the infertility associated endometriosis. Fertil Steril 1987 ; 47 : 213-7.

20. Garcia-Velasco JA and Arici A . Chemokines and human reproduction. *Fertil Steril* 1999 ; 71 (6) : 983-93.
21. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M et al. Natural cytotoxicity and GnRH agonist administration in advanced endometriosis : positive modulation on natural killer activity. *Obstet Gynecol* 1996 ; 88 : 234-40.
22. Gleicher N, Dmowski WP, Siegel I et al. Lymphocyte subsets in endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984 ; 63 : 463-66.
23. Gleicher N, El-Roeiy A, Confino E, Friberg J. Is endometriosis na autoimmune disease ? *Obstet Gynecol* 1987 ; 70 (1) : 115-22.
24. Gleicher N . The role of humoral immunity in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994 ; 73 Supp 159 : 15-17.
25. Halme J, Becker S, Hammond MG, Raj S. Pelvic macrophages in normal and infertile women : the role of patent tubes. *Am J Obstet Gynecol* 1982 ; 142 : 890-5.
26. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984 ; 64 : 151-54.
27. Halme J, Becker S, Haskill S. Altered maturation and function of peritoneal macrophages : possible role in the pathogenesis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1987 ; 156 : 783-9.
28. Halme J, White C, Kauma S, Estes J, Haskill S. Peritoneal macrophages from patients with endometriosis release growth factor activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metabol* 1988 ; 66 : 1044-49.
29. Halme J. Release of tumor necrosis factor- α by human peritoneal macrophages in vivo and in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 1989 ; 161 : 1718-25.
30. Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 1981 ; 35 : 696-8.

31. Haney AF. Endometriosis. In : Lobo RA, Mishell DRJ, eds. *Mishell's textbook of infertility, contraception and reproductive endocrinology*. Massachusetts : Blackwell Science, 1997 : 652-74.
32. Harada T, Iwabe T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001 ; 76 (1) : 1-10.
33. Hill JA, Faris HM, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1988 ; 50 : 216-22.
34. Hill JA. Immunology and endometriosis. Fact, artifact or epiphenomenon ? *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997 ; 24 : 291-306.
35. Ho HN, Chao KH, Chen HF, Wu MY, Yang YS, Lee TY. Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25+CD3+ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis. *Hum Reprod* 1995 ; 10 : 2671-5.
36. Ho HN, Wu MY, Chao KH, Chen CD, Chen SU, Yang YS. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 2528-33.
37. Hsu C, Lin Y, Wang S, Huang K. Immunomodulation in women with endometriosis receiving GnRH agonist. *Obstet Gynecol* 1997 ; 89 : 993-8.
38. Hsu CC, Yang BC, Wu MH, Huang KE. Enhanced interleukin-4 expression in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1997 ; 67 : 1059-64.
39. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis : pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986 ; 67 : 335-38.
40. Jones RK, Bulmer JN, Searle RF. Phenotypic and functional studies of leukocytes in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998 ; 4 (5) : 702-9.
41. Kanzaki H, Sheng-Wang HS, Kariya M, Mori T. Suppression of natural killer cell activity by sera from patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1992 ; 167 : 257-61.

42. Keetel WC and Stein RJ. The viability off the cast-off menstrual endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1951 ; 61 : 440-42.
43. Khorram O, Taylor RN, Ryan IP, Schall TJ, Landers DV. Peritoneal fluid concentrations of the cytokine RANTES correlate with the severity of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993 ; 169 (6) :1545-49.
44. Klein NA, Pérgola GM, Tekmal RR, Montoya IA, Dey TD, Schenken RS. Cytokine regulation of cellular proliferation in endometriosis. *Ann N Y Acad Sc* 1994 ;734 : 322-332.
45. Koga K , Osuga Y , Yoshino O et al. Elevated interleukin-16 levels in the peritoneal fluid of women with endometriosis may be a mechanism for inflammatory reactions associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2005 ; 83 : 878-82.
46. Koninckx PR, Kennedy SH, Barlow DH. Pathogenesis of endometriosis : the role of the peritoneal fluid. *Gynecol Obstet Invest* 1999 ; 47 (suppl 1) : 23-33.
47. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 1 : 1-8.
48. Levinson, Warren. *Imunologia* . In : *Microbiologia médica e imunologia* - Warren Levinson & Ernest Javetz. Porto Alegre : Artes Médicas, 1998. P. 239-86.
49. Liu DTY and Hitchcock A . Endometriosis : its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol* 1986 ; 93 : 859-62.
50. Martinez-Roman S, Balasch J, Creus M et al. Immunological factors in endometriosis-associated reproductive failure : studies in fertile and infertile women with and without endometriosis. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 1794-99.
51. Mathur S, Peress MR, Williamson HO et al. Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin Exp Immunol* 1982 ; 50 : 259-66.

52. McLaren J, Dealtry G, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK. Decreased levels of the potent regulator of monocyte/macrophage activation, interleukin-13, in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 1307-10.
53. Muse K . Clinical manifestations and classification of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 1988 ; 31 (4) : 813-22.
54. Nagel T, Kopher R, Tagatz D et al. Tubal reflux of endometrial tissue during hysteroscopy. In : Siegler AM, Lindemann HJ, eds. *Hysteroscopy : Principles and Practice*. Philadelphia, PA : Lippincott, 1984.
55. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001 ; 76 (2) : 223-31.
56. Olive, DL and Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol* 1987 ; 69 : 412-15.
57. Olive DL and Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993 ; 328 (24) : 1759-69.
58. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium . *Fertil Steril* 1991 ; 56 (1) : 45-51.
59. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M et al . The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1992 ; 58 : 290-95.
60. Oral E, Olive DL and Arici A . The peritoneal environment in endometriosis. *Hum Reprod Update* 1996 ; 2 (5) : 385-98.
61. Oral E and Arici A . Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin* 1997 ; 24 (2) : 220-34.

62. Palma Dias R, Brugnara L, Brugnara L et al. Indicações e achados diagnósticos em laparoscopias ginecológicas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. FAMED-UFRGS, Rev ATM 1995 ; 1 : 11-16.
63. Passos EP, Freitas FM, Cunha Filho JSL, Facin AC, Souza CAB, Salazar CC. Endometriose. Rev HCPA e FAMED-UFRGS 2000 ; 20 (2) :150-60.
64. Passos EP, Freitas FM, Cunha Filho JSL, Facin AC. Endometriose. Freitas, FM; Menke, CH ; Rivoire, W; Passos, EP. Rotinas em Ginecologia. Porto Alegre : Artes Médicas, 2001. P.102-9.
65. Rana N, Gebel H, Braun DP, Rotman C, House R, Dmowski WP. Basal and stimulated secretion of cytokines by peritoneal macrophages in women with endometriosis. Fertil Steril 1996 ; 65 : 925-30.
66. Ridley JH and Edwards IK. Experimental endometriosis in the human. Am J Obstet Gynecol 1958 ; 76 : 783-90.
67. Sampson J. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol 1927 ; 422-69.
68. Sampson JA and Albany NY . The development of the implantation theory for the origin of peritoneal endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1940 ; 40 : 549-57.
69. Sangi-Haghpeykar H and Poindexter AN. Epidemiology of endometriosis among parous women. Obstet Gynecol 1995 ; 85 (6) : 983-992.
70. Schrodt GR, Alcorn MO, Ibanez J. Endometriosis of the male urinary system : a case report . J Urol 1980 ; 124 : 722-23.
71. Sidel N, Han SW, Parthasarathy S. Regulation and modulation of abnormal immune responses in endometriosis. Ann N Y Acad Sci 2002 ; 955 : 159-73.
72. Steele RW, Dmowski WP, Mormer DJ . Immunologic aspects of human endometriosis. Am J Reprod Immunol 1984 ; 6 : 33-6.

73. Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton JL. Endometriosis and infertility : a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil Steril* 1982 ; 38 (6) : 667-72.
74. Taylor PV, Maloney MD, Campbell JM et al. Autoreactivity in women with endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1991 ; 98 : 680-84.
75. Te Linde RW and Scott RB. Experimental endometriosis . *Am J Obstet Gynecol* 1950 ; 60 : 1147-73.
76. Vigano P, Vercellini, Di Blasio AM, Colombo A, Candiani GB, Vignali M. Deficient antiendometrium lymphocyte-mediated cytotoxicity in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1991 : 56 ; 894-9.
77. Vinatier D, Dufour P, Oosterlynck D. Immunological aspects of endometriosis. *Hum Reprod Update* 1996 ; 2 (5) : 371-84
78. Vinatier D, Dufour P, Leroy JL. Mécanismes de l'endométriose. *Rev Prat* 1999 ; 49 (3) : 254-57.
79. Vinatier D, Cosson M, Dufour P. Is endometriosis an endometrial disease ? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000 ; 91 : 113-25..
80. Vinatier D, Orazi G, Cosson P, Dufour P. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001 ; 96 (1) : 21-34.
81. Weed JC and Arquembourg PC. Endometriosis : can it produce an autoimmune response resulting in infertility ? *Clin Obstet Gynecol* 1980 ; 23 : 885-93.
82. Wilson TJ, Hertzog PJ, Angus D, Munnery L, Wood EC, Kola I. Decreased natural killer cell activity in endometriosis patients : relationship to disease pathogenesis. *Fertil Steril* 1994 ; 62 : 1086-8.
83. Witz CA . Current concepts in the pathogenesis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 1999 ; 42 (3) : 566-85.

84. Witz CA. Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002 ; 53 (1) : 52-62.
85. Wu M-Y, Ho H-N. The role of cytokines en endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 49 : 285-96.
86. Zhang X, Lin J , Qian Y , Deng L. Decreased levels of interleukin-18 in peritoneal fluid but not in serum of patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2004 ; 81 : 1229-34.
87. Zeller JM, Henig I, Radwanska E, Dmowski WP. Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987 ; 13 : 78-82.

Artigos

Artigo em Inglês

CONCENTRATION OF IMMUNOGLOBULINS (IgA, IgG and IgM) AND INTERLEUKINS (IL-1 β , IL-10 and IF- γ) IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS

Andréa Cintra Facin¹, Eduardo Pandolfi Passos², Adriano Brandelli³

ABSTRACT

Introduction: hyperactivated macrophages in the peritoneal fluid can contribute to the pathogenesis of infertility through secretion of growth factors and cytokines. The activity of B-lymphocytes is also increased, with increased synthesis of immunoglobulins. The objectives of this study were to determine the immunoglobulin (A, G and M) and interleukin (1 β , 10 and IF γ) levels in serum (S) and peritoneal fluid (PF) and to analyze their association with infertility, pain levels and severity of endometriosis.

Materials and methods: we collected samples of S and PF from 43 patients undergoing laparoscopy. The concentrations of IL-1 β , IL-10 and IF- γ were analyzed by the ELISA method and concentrations of IgA, IgG and IgM were determined by the radial immunodiffusion technique. Patients were divided into 4 groups: Group I - 20 infertile patients with endometriosis, group II - 9 infertile patients without endometriosis, group III - 4 fertile patients with endometriosis and group IV - 10 fertile patients without endometriosis. Endometriosis was classified according to the American Society for Reproductive Medicine (ASRM) and pain level was measured through its interference in the patient's daily activities. The Kruskal-Wallis test was used for statistical analysis.

Results: concentrations of IgA in PF and S were higher in infertile patients with endometriosis than in fertile patients with endometriosis. IgG was higher in infertile patients without endometriosis than in infertile patients with endometriosis. In patients with endometriosis, levels of interleukin 10 in PF were higher in infertile patients than in fertile patients and IF- γ showed lower concentrations in S and PF in infertile patients without endometriosis. Concentrations of IgM and IL-1 β did not present significant differences between groups. We did not find significant differences in the correlation between cytokine and immunoglobulin levels with endometriosis degree and pain level in patients from the different groups.

Conclusions: higher concentrations of IgA in PF and S from infertile patients with endometriosis suggest activation of the immune system that could contribute to infertility in such cases. Concentrations of IF- γ in S and PF are lower in infertile patients without endometriosis, suggesting its consumption during the formation of pelvic adhesions. Higher concentrations of IL-10 in PF from infertile patients with endometriosis suggest that this pro-inflammatory cytokine could contribute to changes in the peritoneal environment leading to infertility in such cases.

1- Section of Human Reproduction, Hospital de Clínicas de Porto Alegre-Porto Alegre(RS)-Brasil

2- Department of Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-Porto Alegre(RS)-Brasil

3- Department of Food Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-Porto Alegre(RS)-Brasil

Correspondence should be addressed to Andréa Cintra Facin, Padre Chagas 66/703, 90570-080, Porto Alegre, Brazil

INTRODUCTION

Endometriosis is defined as the presence of functioning glandular tissue and endometrial stroma outside the uterine cavity. It is a quite common gynecologic pathology found in at least 10% of women of reproductive age and is associated with often incapacitating symptoms such as pelvic pain and infertility (1). Several theories have been presented to explain the pathogenesis of endometriosis, with Sampson (2) proposing the most currently accepted explanation, stating that endometrial cells and fragments that desquamate during the menstrual period reflux from the tubes into the peritoneal cavity where they implant, grow and produce endometriotic lesions. Though retrograde menstruation is a quite common phenomenon in patients with patent tubes, not all develop endometriosis (3,4,5,6). At the moment, it is still uncertain why endometrial cells implant themselves outside the uterine cavity only in some women and cause endometriosis. In the past 20 years, several studies have demonstrated that the immunological system plays an important role in the pathogenesis of endometriosis and an altered immunological response has been proposed to explain why only certain women develop endometriosis (7,8,9).

The association between endometriosis and infertility can be easily explained in cases of severe endometriosis where there is a major distortion in pelvic anatomy. However, the most frequent clinical finding is that of infertile patients with minimal, mild or moderate endometriosis featuring little or no anatomical change (10). Several mechanisms have been suggested to explain the etiology of infertility in such patients, from changes in the peritoneal microenvironment where the gametes meet (11) to the association with ovulatory dysfunctions (12,13).

Another symptom that is commonly associated with endometriosis and does not correlate to laparoscopic findings is pelvic pain, and some patients with extensive lesions and pelvic adhesions are completely asymptomatic (14,15).

Women with endometriosis present changes in cellular and humoral immunity (16,17). The number of macrophage and its activity are increased in the peritoneal fluid of these women. By secreting cytokines, macrophages can induce cell proliferation, such as fibroblasts and endothelial cells, which are involved in inflammatory response, tissue repair and neovascularization (18,19,20). Interleukin 1- β (IL-1 β), a pro-inflammatory interleukin, as well as interleukin 10 (IL-10) and gamma-interferon (IF- γ), which inhibit inflammatory activity, present high concentrations in the peritoneal fluid of patients with endometriosis (21,22,23,24). The immune response of B-lymphocytes is also activated, with increased synthesis of immunoglobulins A, G and M (IgA, IgG and IgM), which can be seen in the peripheral blood and, more intensively, in the peritoneal fluid (25,26,27,28).

With the intention of assessing the humoral and cellular immunity in patients with endometriosis both in the peritoneal environment and at a systemic level, we analyzed the concentrations of immunoglobulins A, G and M (IgA, IgG and IgM), as well as interleukins 1 beta (IL 1- β), 10 (IL-10) and gamma-interferon (IF- γ) in serum (S) and peritoneal fluid (PF). We also correlated these dosages to the presence of infertility, the level of pain reported by the patient and the endometriosis staging.

MATERIAL AND METHODS

Patients

The study included 50 patients undergoing laparoscopy: 38 who underwent diagnostic laparoscopy for investigating infertility (n=32) or pelvic pain (n=6) and 12 undergoing laparoscopy for tubal ligation for contraceptive purposes at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) from January to December 1998. Patients were divided into four groups according to the laparoscopic findings: group I, 20 infertile patients with endometriosis; group II, 9 infertile patients without endometriosis; group III, 4 fertile patients with endometriosis; and group IV, 10 fertile patients without endometriosis – which formed the control group.

Infertility was defined as the absence of pregnancy following one year of unprotected sexual intercourse. No patient had used hormonal medication during the 3 month period preceding laparoscopy or presented uterine malformations or pelvic tumors. All laparoscopies were performed during the early follicular phase following the menstrual period. The study was approved by the Research Ethics Committee of the HCPA's Research and Post-Graduation Group and an informed consent form was obtained from all patients.

Each patient completed a questionnaire about her menstrual and reproductive life, as well as the characteristics of pelvic pain. Chronic pelvic pain was classified as dysmenorrhea, pelvic pain unrelated to the menstrual cycle and dyspareunia, all of them graded as: (1) absence of pain; (2) mild pain with no need for analgesia and little interference with daily activities; (3) moderate pain with requirement for analgesia and interference in the patient's daily activities; or (4) severe pain which prevented the patient

from performing her daily activities, requiring the use of strong analgesics and rest at home (15).

Endometriosis was classified based on laparoscopic findings and according to the revised criteria of the *American Society for Reproductive Medicine (r-ASRM)*(29).

Sample collection and processing

Patients underwent laparoscopy under general anesthesia. Initially a puncture was performed in the umbilical region to introduce CO₂ and create a pneumoperitoneum. Then, a trocar with a 10 mm diameter was inserted in order to pass the endoscopic optic, and a second auxiliary puncture was performed using a 5 mm trocar through which a needle for aspirating the peritoneal fluid was passed. The peritoneal fluid was aspirated from the anterior and posterior culs-de-sac before any pelvic manipulation took place.

Blood was collected by peripheral venous puncture immediately before anesthetic induction for laparoscopy.

The samples were then placed in sterile tubes and centrifuged at 400g for 10 minutes. The supernatant was removed and frozen at -70°C until analysis. Those patients whose samples were contaminated with blood from the abdominal puncture sites were excluded from the study.

Dosages of interleukins and immunoglobulins

Concentrations of IL-1 β , IL-10 and IF- γ were measured using the ELISA technique (enzyme-linked immunosorbent assay) (R&D Systems, Abingdon, United Kingdom) at the

Laboratory of the Porto Alegre Pathology Institute. Kits' sensitivity was $<8\text{pg/ml}$ for IF- γ , $<0.1\text{pg/ml}$ for IL-1 β and <3.9 for IL-10.

Concentrations of IgA, IgG and IgM were determined by radial immunodiffusion technique at the Laboratory of Human Fertility and Sterility from the Biochemical Department at Universidade Federal do Rio Grande do Sul using Turbiquant kits (Dade Behring, Marburg, Germany) and dilutions as recommended by the manufacturer.

Statistical analysis

Since concentrations of immunoglobulins and interleukins did not present normal distribution, data were analyzed using non-parametric tests and results are shown as medians. Differences between groups were analyzed with the multiple comparison Kruskal-Wallis test , using SPSS v12.0 software. A p value < 0.05 was considered significant.

RESULTS

Peritoneal fluid and serum were collected from 43 (86%) of 50 patients undergoing laparoscopy. In four cases there was no peritoneal fluid and in three cases the fluid had been contaminated by blood from the abdominal puncture site.

There was no statistically significant difference between groups concerning age (table 1).

The values for immunoglobulins A, G and M, interleukins 1 β and 10 and interferon γ in the different groups are also in table 1.

Concentrations of immunoglobulin A in the peritoneal fluid and serum were higher in infertile patients with endometriosis (group I = 70.8 and 147.0) than in fertile patients with endometriosis (group II = 33.0 and 50.4).

Immunoglobulin G showed higher levels in infertile patients without endometriosis (group II = 2100.0) than in infertile patients with endometriosis (group I = 1090) in the serum and peritoneal fluid (group II = 1490 and group I = 518.0).

Levels of immunoglobulin M did not show statistically significant differences between groups, either in serum ($p = 0.143$) or in peritoneal fluid ($p = 0.959$).

Concentrations of interleukin 1 β showed no statistically significant difference between groups, either in serum ($p = 0.914$) or in peritoneal fluid ($p = 0.157$).

Among patients with endometriosis, the concentrations of interleukin 10 in the peritoneal fluid were higher in infertile patients (group I = 26.7) than in fertile patients (group III = 5.2). When assessing the concentrations of interleukin 10 in the serum, there was no statistically significant difference between groups ($p = 0.211$).

Interferon gamma presented lower levels in serum and peritoneal fluid from infertile patients without endometriosis (group II = 4.2 and 4.0, respectively).

We found no statistically significant difference when correlating the levels of immunoglobulins and cytokines to the degree of endometriosis and pain levels as reported by the patients from the different groups (data in table 2).

DISCUSSION

Despite being extensively investigated, endometriosis remains as one pathology whose etiology and pathophysiology have not been completely understood. Though the reflux of endometrial cells into the pelvic cavity during the menstrual period occurs in a majority of women, only some present endometriosis, suggesting that changes in the immunological system could allow the installation and development of endometriosis. Over the past two decades many studies have shown changes in humoral and cellular immunity of patients with endometriosis that are not restricted to the peritoneal environment, and which can be seen in the peripheral blood as well.

In 1980, Weed and Arquembourg (30) proposed the hypothesis that the ectopic endometrium could be recognized as a strange antigen to the body inducing an autoimmune response that could explain the reproductive failure in these patients. These authors were the first to demonstrate the deposit of IgG and complement factors in the endometrium, with a decrease in total complement levels in patients with endometriosis. Two years later, Mathur et al. (31) identified auto-antibodies IgA and IgG against endometrium and ovarian tissue in serum and cervical and vaginal secretions from women with endometriosis.

As for the total immunoglobulin concentrations in serum and peritoneum of endometriosis patients, some authors have demonstrated higher levels (32,33), while others found lower levels (25) or even no difference at all (34). The real significance of this findings is difficult to determine if we consider the heterogeneity of the population used as controls in the different studies : infertile patients without endometriosis and also men and women defined as healthy, mostly blood donors, and patients without previous laparoscopic exclusion of endometriosis. Unlike these mentioned studies, in our study all

the patients and the control groups were submitted to laparoscopy, establishing four different patient groups : infertile with and without and fertile with and without endometriosis. For this reason, our findings sometimes disagree with the literature.

IgA is the main immunoglobulin in body secretions, including genital secretions. The higher concentration of IgA in patients with endometriosis suggests activation of B cells, which in turn are stimulated by the higher concentration of T cells (more specifically T-helpers). The higher production of antibodies in these patients could interfere in the interaction between oocytes and spermatozoa as well as in the early stages of embryonic implantation, which could explain the association between endometriosis and infertility and early fetal loss. Our group had already found higher IgA and lower IgG levels in both serum and peritoneal fluid from infertile patients with endometriosis (35). In this study, IgA concentrations in the peritoneal fluid and serum from infertile patients with endometriosis were higher than in fertile patients without endometriosis. These data agree with that of Badawy et al. (33), in spite of that they used endometrial cells cultures and compared only infertile patients with endometriosis and a control group, with infertile patients without endometriosis. Other studies that analysed IgA levels found no differences between patients with and without endometriosis (25,27,32,34).

IgG is the prevailing antibody in the secondary immune response and can activate the complement system. The IgG total concentrations in our study were lower both in serum and in peritoneal fluid in infertile patients with endometriosis when compared with infertile patients without endometriosis. These findings are not in agreement with those from Taylor et al. (27), who analysed only serum samples and observed higher concentrations of total IgG in patients with endometriosis and suggested that the higher production of several types of antibodies in patients with endometriosis is compatible with the state of polyclonal activation of B lymphocytes that can also be found in autoimmune

diseases. However, the group of patients with endometriosis in this study is very heterogeneous, including fertile and infertile patients, and patients that have received or were receiving danazol at the moment of the sample collection. Moreover, the control group in this study is poorly characterized, including patients defined as normal, not pregnant, yet were not submitted to laparoscopy to exclude endometriosis. Likewise, Badawy et al. (33), studying infertile patients with endometriosis and infertile patients without endometriosis that undergone diagnostic laparoscopy, found higher IgG levels in the peritoneal cells culture as much as in the peripheral blood cells culture. Like in our study, Confino et al. (25) found lower levels of total IgG in the peritoneal fluid from patients with endometriosis. In contrast, levels of specific IgG auto-antibodies were higher in the peritoneal fluid from patients with endometriosis. At the same way, the study group of patients in this study is settled by fertile patients and infertile patients with endometriosis and the control group is poorly defined, with fertile patients that were submitted to laparoscopy for tubal ligation in whom the diagnostic of endometriosis was not excluded.

IgM acts as a receptor for surface antigens in B cells and is the main immunoglobulin produced in primary immune response with the capability of activating the complement system as well. We did not find significant differences in IgM levels when comparing the different groups, data that are in agreement with those found by Confino et al. (25) and Badawy et al. (34). Gleicher et al. (32), however, found higher IgM levels in patients with endometriosis, but they analysed only the patient serum, and the control group comprised men and women, blood donors that had not undergone laparoscopy to exclude endometriosis. This study also demonstrated an association between higher production of immunoglobulins with positivity for antilupus-coagulase antibodies in patients with endometriosis. The same authors had already observed changes in immunoglobulin

production in patients with recurrent pregnancy loss and the diagnosis of systemic lupus erythematosus (36).

In relation to cellular immunity, Haney et al (37) in 1981 were the first authors to describe an increase in peritoneal macrophages in infertile patients with endometriosis. Subsequent studies on the peritoneal fluid of patients with this disease confirmed the increased number, concentration and activation of macrophages (38). Macrophages are the predominant cell type in the peritoneal fluid, and are responsible for removing foreign and/or dead cells from the peritoneal cavity. Hyperactivated macrophages in the peritoneal fluid can contribute to the pathogenesis of endometriosis through the secretion of growth factors, angiogenic substances and pro-inflammatory cytokines.

Interleukin 1 (IL-1) has a central role in the regulation of inflammatory activity and immunological response. There are two types of IL-1, the IL-1 α and the IL-1 β , which are coded by different genes and have different amino acid sequences, but bind to the same receptors and have identical biological activities. The IL-1 is produced by the macrophages and induces the synthesis of prostaglandins, the proliferation of T lymphocytes and the production of immunoglobulins by B lymphocytes (39). The higher concentration of IL-1 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis could stimulate fibroblast proliferation and collagen deposits, which would explain the formation of peritoneal adhesions in these patients. However, results of studies analyzing the IL-1 concentration in the peritoneal fluid have been inconsistent. We found no correlation in our analysis between the IL-1 β concentrations in serum and peritoneal fluid and the diagnosis of endometriosis. Our findings are in agreement with those of Keenan et al. (40), that found similar IL-1 β levels when compared peritoneal fluid of patients with and without endometriosis. These authors also studied the IL-1 β secretion by cultured macrophages and found higher IL-1 β

concentrations in patients with endometriosis, which shows a raised macrophage activity in these patients. In the same way, Hill and Anderson (41) ; and Bedaiwy et al. (23) did not find any difference in the concentrations of IL-1 in the peritoneal fluid when compared patients with endometriosis, patients with unexplained infertility and fertile patients. Unlike these, Fakhri et al. (42), when analyzing peritoneal fluids of patients with endometriosis and patients that would go through to tubal ligation, found higher IL-1 concentrations in patients with endometriosis, as well as an elevated IL-1 by cultured macrophages in these patients. Nevertheless, these authors used a bioassay system (proliferation bioassay EL-4) that can be more sensitive and less specific than the radioimmunoassay and ELISA techniques and should explain these differences.

An imbalance in T-helper activity has also been implied in the pathogenesis of endometriosis. Following their activation, T-helpers differentiate into two subtypes that produce cytokines with antagonistic actions. Type I T-helpers (Th1) produce cytokines such as interferon γ , which is a major mediator in cellular immunity. Type II lymphocytes (Th2) produce cytokines such as interleukin 10, which inhibits cellular immunity. Several authors have described higher levels of Th2 cytokines and lower levels of Th1 cytokines in patients with endometriosis (43).

Interleukin 10 is produced by macrophages and Th2 lymphocytes and can act stimulating as well as inhibiting the immunologic system. It stimulates the differentiation and growing of B cells, but inhibits the activity of Th1 lymphocytes, with a subsequent decrease in the synthesis of interferon- γ . Punnonen et al. (44) and Ho et al. (45) found higher levels of IL-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis when compared with patients without the disease. In our study, we found higher levels of IL-10 in the peritoneal fluid of infertile patients with endometriosis than in fertile patients with

endometriosis, suggesting that this cytokine could be involved in the creation of a toxic or hostile peritoneal environment for spermatozoa and embryos, which causes the well known association between endometriosis and infertility.

Interferon γ is produced mainly by Th1 lymphocytes and is one of the most potent inducers of phagocytic activity of macrophages, natural killer cells and neutrophils. Ho et al. (46), Hsu et al. (47) and Wu et al. (48) described decreased concentrations of IF- γ in the peritoneal fluid of patients with endometriosis and suggested that it promotes lower phagocytic activity in the peritoneal cavity of these patients, which could facilitate the implantation and proliferation of the endometrial cells that reflux through the tubes. However, Khorram et al. (49) and Keenan et al. (50) found no difference in concentrations of IF- γ in the peritoneal fluid of patients with and without endometriosis. Our results demonstrated similar concentrations of IF- γ in patients with endometriosis (both fertile and infertile) and in fertile patients without endometriosis. Nevertheless, the concentrations of IF- γ in the serum and peritoneal fluid of infertile patients without endometriosis are lower, suggesting that a higher consumption of this cytokine could occur during the formation of pelvic adhesions in these cases.

We also assessed the type and degree of pain presented by the patients in the different groups. It is known that there is little or no correlation between the extension of disease and the intensity or characteristic of pain as described by the patient. At one extreme we can find women with severe endometriosis and little or no pain and, at the other, women with minimal endometriosis and significant pain. Our results confirm those from the majority of previous studies (51,52); that is, no correlation between endometriosis staging and the frequency and intensity of the pain it produces.

BIBLIOGRAPHY

1. Olive DL and Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993; 328 (24): 1759-69
2. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927; 14: 422-69.
3. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 151-54.
4. Liu DTY and Hitchcock A. Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 93: 859-62.
5. Burns WN and Schenken RS. Pathophysiology of endometriosis-associated infertility. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 53 (2): 242-45.
6. D'Hooghe TM and Debrock S. Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and in baboons. *Hum Reprod Update* 2002; 8 (1): 84-8.
7. Dmowski WP, Steele RW and Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 15: 377-83.
8. Braun DP and Dmowski WP. Endometriosis: abnormal endometrium and dysfunctional immune response. *Curr Op Obstet Gynecol* 1998; 10: 365-9.
9. Vinatier D, Dufour P, Oosterlinck D. Immunological aspects of endometriosis. *Hum Reprod Update* 1996; 2 (5): 371-84.
10. Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton JL. Endometriosis and infertility: a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil Steril* 1982; 38 (6) :667-72.
11. Passos EP. Efeito do fluido peritoneal de patients inférteis com endometriose e inférteis de causa desconhecida na reação acrossômica de espermatozóides capacitados (Tese de Doutorado). São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 1996, 85f.

12. Rodrigues de Lima G, Freitas V, Zamith R. Aspectos endócrinos da endometriose. In : Rodrigues de Lima & Baracat EC. Ginecologia Endócrina. Atheneu, São Paulo, 1995, cap.23.
13. Cunha Filho JS, Gross JL, Lemos et al. Prolactin and growth hormone secretion after thyrotropin-releasing hormone infusion and dopaminergic (DA2) blockade in infertile patients with minimal/mild endometriosis. Hum Reprod 2002; 17 (4): 960-5.
14. Muse K. Clinical manifestations and classification of endometriosis. Clin Obstet Gynecol 1988; 31 (4): 813-22.
15. Dmowski WP, Leiswicz R, Rana N, Pepping RN, Noursalehi M. Changing trends in the diagnosis of endometriosis: a comparative study of women with pelvic endometriosis presenting with chronic pelvic pain or infertility. Fertil Steril 1997; 67 (2): 238-43.
16. Halme J, Becker S, Haskill S. Altered maturation and function of peritoneal macrophages: possible role in the pathogenesis of endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1987; 156: 783-9.
17. Oral E and Arici A. Pathogenesis of endometriosis. Obstet Gynecol Clin 1997; 24 (2): 220-34.
18. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. Fertil Steril 2001; 1: 1-8.
19. Dmowski WP. Immunological aspects of endometriosis. Int J Gynecol Obstet 1995; 50 (Suppl. 1): S3 - S10.
20. Antsiferova YS, Sotnikova NY, Posiseera LV, Shor AL. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. Fertil Steril 2005 ; 84 : 1705-11.
21. Garcia-Velasco JA and Arici A. Chemokines and human reproduction. Fertl Steril 1999; 71 (6): 983-93.

22. Klein NA, Pégola GM, Tekmal RR, Montoya IA, Dey TD, Schenken RS. Cytokine regulation of cellular proliferation in endometriosis. *Ann N Y Acad Sc* 1994; 734: 322-332.
23. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002; 17 (2); 426-31.
24. Berkkanoglu M & Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50 : 48-59.
25. Confino E, Harlow L, Gleicher N. Peritoneal fluid and serum autoantibody levels in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1990 ; 53 (2) : 242-45.
26. Gleicher n. The role of humoral immunity in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994 ; 73 Supp 159 : 15-17.
27. Taylor PV, Maloney MD, Campbell JM, Skerrow SM, Nip NM, Parmar R, Tate G. Autoreactivity in women with endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 680-84.
28. Dmowski WP & Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res* 2004 ; 18 : 245-63.
29. American Society for Reproductive Medicine . Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis :1996. *Fertil Steril* 1997; 67, 817-21.
30. Weed JC and Arquembourg PC. Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol* 1980; 23 : 885-92.
31. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001; 76 (2): 223-31.
32. Gleicher N, El-Roeiy A, Confino E, Friberg J. Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet Gynecol* 1987; 70 (1): 115-22.
33. Badawy SZA, Cuenca V, Kaufman L, Stitzel A, Thompson M. The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1989; 51 (5), 770-73.

34. Badawy SZA, Cuenca V, Stitzel A, Jacobs RDB, Tomar RH. Autoimmune phenomena in infertile patients with endometriosis. *Obst Gynecol* 1984; 63: 271-75.
35. Facin AC, Passos EP, Freitas FM, Brandelli A, Salazar CC. Peritoneal fluid and serum concentrations of IgA, IgG and IgM in endometriotic patients and their relationship with infertility. *Hum Rep* 2000; 15 (abstract book): 39-40.
36. Gleicher N, Friberg J. IgM gammopathy and the lupus anticoagulant syndrome in habitual aborters. *JAMA* 1985: 253; 3278-
37. Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 1981; 35: 696-98.
- 38 Wu M-Y & Ho H-N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 49 : 285-96.
39. Balkwill F. Cytokines and cytokine receptors. In : *Immunology - Roit – Brostoff – Male*. London : Harcourt Publishers Limited 2001 . P . 119-29.
40. Keenan JA, Chen TT, Chadwell NL, Torry DS, Caudle MR. IL-1 β , TNF- α and IL-2 in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis. *Am J Rep Immunol* 1995; 34: 381-85.
41. Hill JA, Anderson DJ. Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 861-4.
42. Fakh H, Baggett B, Holtz G, Tsang K-Y, Lee JC, Willianson HO. Interleukin-1: a possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1987; 47 (2): 213-17.
43. Wu M-Y, Ho H-N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 49 : 285-96.

44. Witz CA. Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53 (suppl 1): 52-62.
45. Punnonen J, Teisala K, Ranta H, Bennett B, Punnonen R. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996 ; 174 (5) :1522-26.
46. Ho H-N, Wu M-Y, Chao K-H, Chen C-D, Chen S-U, Yang Y-S. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997; 12 (11): 2528-33.
47. Ho H-N, Wu M-Y, Chao K-H et al. Decrease in interferon gamma production and impairment of T-lymphocyte proliferation in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175 (5): 1236-41.
48. Hsu C-C, Yang B-C, Wu M-H, Huang K-E. Enhanced interleukin-4 expression in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 67 (6): 1059-64.
49. Wu M-H, Yang B-C, Hsu C-C, Lee Y-C, Huang K-E. The expression of soluble intercellular adhesion molecule-1 in endometriosis. *Fertil Steril* 1998; 70: 1139-42.
50. Khorran O, Taylor RN, Ryan IP, Schall TJ, Landers DV. Peritoneal fluid concentrations of the cytokine RANTES correlate with the severity of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1545-49.
51. Keenan JA, Chen TT, Chadwell NL, Torry DS, Caudle MR. Interferon-gamma (IFN- γ) and interleukin-6 (IL-6) in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 1994; 32: 180-83.
52. Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O et al. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertil Steril* 1996; 65: 299-304.

53. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain. Hum Reprod 2001; 16 (12): 2668-71.

Table 1.**Concentrations of IgA, IgG, IgM, IL-1 β , IL-10 and IF γ in serum and peritoneal fluid (median)**

	Infertile with endometriosis (n=20)	Infertile without endometriosis (n=9)	Fertile with endometriosis (n=4)	Fertile without endometriosis (n=10)	Kruskal-Wallis Test P
Age	32.2 \pm 4.9	31.7 \pm 5.2	36.7 \pm 4.0	32.8 \pm 4.4	0,34
<u>Serum</u>					
Immunoglobulins (mg/dl)					
IgA	147 (116.75-182.5)	55.4 (41.7-73.9)	57.8 (36.33-73.4)	165 (114.25-252)	<0.001
IgG	1090 (888.25-1237.5)	2100 (1650-2595)	2490 (1485-3240)	1070 (875.75-1267.5)	<0.001
IgM	96.3 (73.28-131.75)	81.3 (63.65-150.5)	61.4 (49.53-72.98)	96.9 (86.93-121.25)	0.143
Interleukins (pg/ml)					
IL-1 β	4.3 (3.73-5.45)	4.2 (4-5.4)	4.1 (4.03-11.18)	4.2 (4.08-5.48)	0.914
IL-10	6.8 (5.55-9.75)	6.8 (5.65-16.1)	8.5 (3.53-21.5)	13 (6.28-25.5)	0.211
IF- γ	9.2 (5.85-11.43)	4.2 (4-5.4)	11.9 (11.08-14.53)	10.5 (5.75-16.5)	0.001
<u>Peritoneal fluid</u>					
Immunoglobulins(mg/dl)					
IgA	70.8 (47.5-90.7)	33 (29-36.95)	33 (29.25-44.48)	66 (41.15-147.5)	0.001
IgG	518.0 (390-592)	1490 (1245-1615)	1330 (999-1377.5)	507 (225.5-770.5)	<0.001
IgM	22.7 (17-50,5)	29.3 (16,5-36,45)	19.6 (17,55-159,05)	23.6 (18,4-163,05)	0.959
Interleukins(pg/ml)					
IL-1 β	4.9 (4.13-6.48)	4 (3.85-5.15)	5.6 (5.5-6.55)	3.9 (3.7-6.3)	0.157
IL-10	26.7 (7.03-57.3)	6.2 (5.95-7.95)	5.2 (4.63-5.88)	6.5 (5.78-15.6)	0.007
IF- γ	11.2 (8.63-16.6)	4 (3.85-5.15)	11.6 (10.6-11.93)	14 (10.75-16.28)	<0.001

Table 2**Type and level of pain in the different groups**

	Group I	Group II	Group III	Group IV	P Value*
Pelvic pain	0 (0 to 1)	0 (0 to 1)	2 (1.25 to 2.75)	0 (0 to 0)	0.006
Dysmenorrhea	1 (0 to 2)	0 (0 to 0.5)	2 (1.25 to 2.75)	0 (0 to 1.25)	0.166
Dyspareunia	0 (0 to 1)	1 (0 to 1.5)	1 (0 to 2.75)	0 (0 to 0)	0.286

Artigo em Português

CONCENTRAÇÕES DE IMUNOGLOBULINAS (IgA, IgG e IgM) E INTERLEUCINAS (IL-1 β , IL-10 e IF- γ) EM PACIENTES COM ENDOMETRIOSE

Andréa Cintra Facin¹, Eduardo Pandolfi Passos², Adriano Brandelli³

RESUMO

Introdução : os macrófagos hiperativados no líquido peritoneal podem contribuir para a patogênese da infertilidade através da secreção de fatores de crescimento e citocinas. A atividade dos linfócitos B também encontra-se aumentada, com elevação da síntese de imunoglobulinas. Os objetivos desse estudo foram determinar os níveis séricos (S) e no líquido peritoneal (LP) das imunoglobulinas (A,G e M) e interleucinas (1 β ,10 e IF γ) e analisar sua associação com a infertilidade, o nível de dor e a severidade da endometriose.

Materiais e métodos : foram coletadas amostras de S e LP de 43 pacientes submetidas à laparoscopia. As concentrações de IL-1 β , IL-10 e IF- γ foram analisadas pelo método ELISA e as concentrações de IgA, IgG e IgM foram determinadas pela técnica de imunodifusão radial. As pacientes foram divididas em 4 grupos : Grupo I -20 pacientes inférteis com endometriose, grupo II - 9 pacientes inférteis sem endometriose, grupo III - 4 pacientes férteis com endometriose e grupo IV - 10 pacientes férteis sem endometriose. A endometriose foi estadiada segundo a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva e o nível de dor através da sua interferência nas atividades diárias da paciente. Na análise estatística foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

Resultados : em todas as pacientes com endometriose, as concentrações de IgA no LP e no S foram mais elevadas nas pacientes inférteis do que nas férteis. A IgG estava mais elevada nas pacientes sem endometriose do que nas pacientes com endometriose, todas inférteis. Nas pacientes com endometriose, os níveis de interleucina 10 no LP foram mais elevados nas pacientes inférteis do que nas férteis e o IF- γ apresentou concentrações mais baixas no S e no LP das pacientes inférteis sem endometriose. As concentrações de IgM e IL-1 β não mostraram diferenças significativas entre os grupos. Também não encontrou-se diferenças significativas na correlação entre os níveis de citocinas e imunoglobulinas entre os diferentes grupos com os graus de endometriose e os níveis de dor nessas pacientes.

Conclusões : as concentrações mais elevadas de IgA no LP e S de pacientes inférteis com endometriose sugerem uma ativação do sistema imune que pode contribuir para a infertilidade nesses casos. As concentrações de IF- γ no S e no LP são menores em pacientes inférteis sem endometriose, sugerindo seu consumo na formação de aderências pélvicas. As maiores concentrações de IL-10 no LP das pacientes com endometriose inférteis evidencia que esta citocina pró-inflamatória pode contribuir para a alteração do ambiente peritoneal que leva à infertilidade nesses casos.

1- Médica do Setor de Reprodução Humana do Hospital de Clínicas de Porto Alegre- Porto Alegre(RS)-Brasil

2- Professor Adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS-Porto Alegre(RS)-Brasil

3- Professor Adjunto do Departamento de Ciência de Alimentos da Faculdade de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS-Porto Alegre(RS)-Brasil

INTRODUÇÃO

A endometriose é definida como a presença de tecido glandular e estroma endometrial funcionando fora da cavidade uterina. É uma patologia ginecológica bastante comum, encontrada em pelo menos 10% das mulheres em idade reprodutiva e associada a sintomas muitas vezes incapacitantes de dor pélvica e infertilidade (1). Várias teorias têm sido propostas para explicar a patogênese da endometriose e a mais aceita até hoje é a proposta por Sampson (2), em que células endometriais e fragmentos descamados durante o período menstrual refluem das trompas para a cavidade peritoneal onde se implantam, proliferam e dão origem às lesões endometrióticas. Embora a menstruação retrógrada seja um fenômeno bastante comum em pacientes com trompas pérvias, nem todas desenvolvem endometriose (3,4,5,6). Até hoje, permanece incerto porque somente em algumas mulheres as células endometriais implantam fora da cavidade uterina, dando origem à endometriose. Nos últimos 20 anos, vários estudos têm demonstrado que o sistema imunológico tem um papel importante na patogênese da endometriose e uma resposta imunológica alterada tem sido proposta para explicar porque somente algumas mulheres desenvolvem endometriose (7,8,9).

A associação de endometriose com infertilidade é facilmente explicável nos casos de endometriose severa, onde há importante distorção da anatomia pélvica. No entanto, o achado clínico mais freqüente é o de pacientes inférteis com endometriose mínima, leve ou moderada e com pouca ou nenhuma alteração anatômica (10). Vários mecanismos têm sido sugeridos para explicar a etiologia da infertilidade nessas pacientes, desde alterações no microambiente peritoneal onde ocorre o encontro dos gametas (11) até a associação com disfunções ovulatórias (12,13).

Outro sintoma comumente associado à endometriose e que não guarda correlação com os achados laparoscópicos é a dor pélvica, sendo que algumas pacientes com lesões extensas e aderências pélvicas são completamente assintomáticas (14,15).

Mulheres com endometriose apresentam alterações na imunidade celular e na imunidade humoral (16,17). Estão elevados tanto o número quanto a atividade dos macrófagos no líquido peritoneal destas mulheres. Através da secreção de citocinas, os macrófagos podem induzir a proliferação de células, como fibroblastos e células endoteliais, que estão envolvidas na resposta inflamatória, na reparação tecidual e na neovascularização (18,19,20). A interleucina 1- β (IL-1 β), uma interleucina pró-inflamatória; e a interleucina 10 (IL-10) e o interferon gama (IF- γ), que inibem a atividade inflamatória, têm suas concentrações elevadas no líquido peritoneal de pacientes com endometriose (21,22,23,24). A resposta imunológica dos linfócitos B também encontra-se ativada, com elevação na síntese das imunoglobulinas A, G e M (IgA, IgG e IgM), que pode ser observada no sangue periférico e, mais intensamente, no líquido peritoneal (25,26,27,28).

Com o objetivo de avaliar as imunidades humoral e celular em pacientes com endometriose, tanto no ambiente peritoneal como a nível sistêmico, analisamos as concentrações das imunoglobulinas A,G e M (IgA, IgG e IgM) e também das interleucinas 1 beta (IL 1- β) , 10 (IL-10) e do interferon gama (IF- γ) no soro (S) e no líquido peritoneal (LP). Também correlacionamos essas dosagens com a presença de infertilidade, o nível de dor referido pela paciente e o estadiamento da endometriose.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes

Foram incluídas no estudo 50 pacientes submetidas a laparoscopia : 38 pacientes que realizaram laparoscopia diagnóstica para investigação de infertilidade (n=32) ou dor pélvica (n=6) e 12 pacientes que foram submetidas à laparoscopia para ligadura tubária com finalidade contraceptiva no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), no período de Janeiro a Dezembro de 1998. As pacientes foram divididas em quatro grupos, de acordo com os achados laparoscópicos : grupo I , com 20 pacientes inférteis com endometriose; grupo II , com 9 pacientes inférteis sem endometriose; grupo III , com 4 pacientes férteis com endometriose e grupo IV , com 10 pacientes férteis sem endometriose - que formavam o grupo-controle.

A infertilidade foi definida como a ausência de gestação após um ano de relações sexuais sem proteção. Nenhuma das pacientes tinha usado medicações hormonais nos 3 meses prévios à laparoscopia, nem possuía malformações uterinas ou tumores pélvicos. Todas as laparoscopias foram realizadas na fase folicular precoce, após o período menstrual. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA e foi obtido um termo de consentimento pós-informação de todas as pacientes.

Cada paciente respondeu a um questionário com dados sobre sua história menstrual e reprodutiva, assim como as características da dor pélvica. A dor pélvica crônica foi classificada como dismenorréia, dor pélvica sem relação com o ciclo menstrual e dispareunia, todas graduadas em : (1) ausência de dor ; (2) dor leve, quando não houvesse necessidade de analgesia e com pouca interferência nas atividades diárias da paciente ; (3) dor moderada, quando fosse necessária analgesia e houvesse interferência

importante nas atividades diárias da paciente; ou (4) severa, se a paciente ficasse impossibilitada de realizar suas atividades diárias, necessitando o uso de analgésicos potentes e repouso domiciliar (15).

A endometriose foi classificada de acordo com os achados laparoscópicos, segundo os critérios revisados da *American Society for Reproductive Medicine* (r-ASRM)(29).

Coleta e processamento das amostras

As pacientes foram submetidas a laparoscopia sob anestesia geral. Inicialmente era realizada uma punção na região umbilical para introdução do CO₂ e formação do pneumoperitônio. Após, introduzia-se o trocarte para a passagem da óptica endoscópica de 10mm de diâmetro e realizava-se a segunda punção, auxiliar, com trocarte de 5 mm, através do qual passava-se a agulha para a aspiração do líquido peritoneal. O líquido peritoneal foi aspirado dos fundos-de-saco anterior e posterior antes de qualquer manipulação pélvica.

O sangue foi coletado por punção venosa periférica imediatamente antes da indução anestésica para a laparoscopia.

As amostras foram então colocadas em tubos estéreis e centrifugadas a 400g por 10 minutos. Os sobrenadantes foram removidos e congelados a -70°C até a análise. As pacientes cujas amostras foram contaminadas com sangue dos locais de punção abdominal foram excluídas do estudo.

Dosagens de interleucinas e imunoglobulinas

As concentrações de IL-1 β , IL-10 e IF- γ foram medidas através da técnica de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)(R&D Systems, Abingdon, United Kingdom)

no Laboratório do Instituto de Patologia de Porto Alegre. A sensibilidade dos kits era $<8\text{pg/ml}$ para o IF- γ , $<0,1\text{pg/ml}$ para a IL-1 β e $<3,9$ para a IL-10.

As concentrações de IgA, IgG e IgM foram determinadas pela técnica de imunodifusão radial no Laboratório de Fertilidade e Esterilidade Humana do Departamento de Bioquímica no Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com o uso de kits Turbiquant (Dade Behring, Marburg, Germany) e usando as diluições indicadas pelo fabricante.

Análise estatística

Como as concentrações de imunoglobulinas e interleucinas não apresentaram distribuição normal, os dados foram analisados com o uso de testes não-paramétricos e os resultados são apresentados em medianas e amplitude entre quartis. As diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste de comparações múltiplas de Kruskal-Wallis, com o programa SPSS v12.0. Foi considerado significativo um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram colhidos fluido peritonial e soro de 43 (86%) das 50 pacientes submetidas à laparoscopia. Em quatro casos não havia líquido peritonial e em três casos o líquido foi contaminado por sangue do local de punção abdominal.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação à idade (tabela 1).

Os valores de imunoglobulinas A, G e M; interleucinas 1 β e 10 e interferon γ nos diferentes grupos também encontram-se na tabela 1.

As concentrações de imunoglobulina A no líquido peritonial e no soro foram mais elevadas nas pacientes inférteis com endometriose (grupo I=70,8 e 147,0) do que nas pacientes inférteis sem endometriose (grupo II=33,0 e 55,4).

A imunoglobulina G mostrou níveis mais elevados nas pacientes inférteis sem endometriose (grupo II=2100,0) do que nas pacientes inférteis com endometriose (grupo I=1090) no soro e no líquido peritonial (grupo II=1490 e grupo I=518,0).

Os níveis de imunoglobulina M não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, tanto no soro ($p=0,143$) como no líquido peritonial ($p=0,959$).

As concentrações de interleucina 1 β não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, tanto no soro ($p=0,914$) quanto no líquido peritonial ($p=0,157$).

Nas pacientes com endometriose, as concentrações de interleucina 10 no líquido peritonial foram mais elevadas nas pacientes inférteis (grupo I=26,7) do que nas pacientes férteis (grupo III=5,2). Avaliando-se as concentrações de interleucina 10 no soro, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,211$).

O interferon gama apresentou níveis mais baixos no soro e no líquido peritoneal das pacientes inférteis sem endometriose (grupo II= 4,2 e 4,0, respectivamente).

Não encontramos diferenças estatisticamente significativas quando correlacionamos os níveis de imunoglobulinas e citocinas entre os diferentes grupos com os graus de endometriose e os níveis de dor referidos pelas pacientes (dados na tabela 2).

DISCUSSÃO

A endometriose, apesar de extensamente investigada, permanece sendo uma patologia cujas etiologia e fisiopatologia ainda não foram completamente elucidadas. Embora o refluxo de células endometriais para a cavidade pélvica no período menstrual aconteça na maioria das mulheres, somente algumas apresentam endometriose, sugerindo que modificações no sistema imunológico permitam a instalação e o desenvolvimento da endometriose. Nas últimas duas décadas, muitos estudos têm demonstrado alterações nas imunidades humoral e celular de pacientes com endometriose que não se restringem ao ambiente peritonal, podendo ser observadas também no sangue periférico.

Weed e Arquembourg (30), em 1980, levantaram a hipótese que o endométrio ectópico poderia ser reconhecido como um antígeno estranho ao organismo, induzindo uma resposta auto-imune que poderia explicar a falha reprodutiva nessas pacientes. Esses autores foram os primeiros a demonstrar a deposição IgG e fatores do complemento no endométrio, com uma redução nos níveis totais de complemento circulante em pacientes com endometriose. Dois anos após, Mathur e col. (31) identificaram auto-anticorpos IgA e IgG contra o endométrio e o tecido ovariano no soro e nas secreções cervical e vaginal de mulheres com endometriose .

Com relação às concentrações séricas e peritoniais de imunoglobulinas totais em pacientes com endometriose, alguns autores mostraram níveis mais elevados (32,33), outros níveis diminuídos (25) e outros, ainda, não demonstraram diferenças (34).O valor dos achados de todos esses estudos é difícil de interpretar, em função da heterogeneidade dos grupos de pacientes que foram usados como controle : pacientes inférteis sem endometriose ou até mesmo homens e mulheres definidos como saudáveis,

na maioria dos casos doadores de sangue e pacientes que não foram submetidas a laparoscopia para excluir a presença de endometriose. Diversamente dos estudos citados, em nosso estudo todas as pacientes e os controles foram submetidos a laparoscopia, definindo quatro diferentes grupos de pacientes : inférteis com e sem endometriose e férteis com e sem endometriose. Por essa razão, nossos achados algumas vezes não concordam com os da literatura.

A IgA é a principal imunoglobulina presente nas secreções corporais, entre elas a genital. A maior concentração de IgA em pacientes com endometriose sugere ativação das células B, que por sua vez são estimuladas pela maior concentração de células T (mais especificamente T- auxiliares). A maior produção de anticorpos pode interferir na interação entre oócitos e espermatozóides, impedindo a fertilização, bem como prejudicar os estágios iniciais da implantação embrionária, explicando a associação da endometriose com a infertilidade e a perda fetal precoce nas pacientes com a doença. Nosso grupo já havia encontrado níveis mais elevados de IgA e mais baixos de IgG tanto no soro como no líquido peritonal de pacientes inférteis com endometriose (35). Nesse estudo, as concentrações de IgA no líquido peritonal e no soro das pacientes inférteis com endometriose foram mais elevadas do que nas pacientes férteis sem endometriose. Esses dados concordam com os de Badawy e col (33) que, no entanto, usaram culturas de células endometriais e compararam somente pacientes inférteis com endometriose com um grupo controle, de pacientes inférteis sem endometriose. Já outros autores, que também avaliaram os níveis de IgA, não encontraram diferenças entre pacientes com e sem endometriose (25,27,32,34).

A IgG é o anticorpo predominante na resposta imune secundária e pode ativar o sistema do complemento. As concentrações de IgG total em nosso estudo mostraram-se menores tanto no soro como no líquido peritonal das pacientes inférteis com

endometriose quando comparadas com as pacientes inférteis sem endometriose. Esses achados não concordam com os de Taylor e col. (27) , que analisaram somente o soro e observaram maiores concentrações de IgG total em pacientes com endometriose, sugerindo que a maior produção de vários tipos de anticorpos em pacientes com endometriose seja compatível com um estado de ativação policlonal dos linfócitos B que também pode ser encontrado em doenças auto-imunes. Entretanto, o grupo de pacientes com endometriose nesse estudo é bastante heterogêneo, incluindo pacientes férteis e inférteis, e pacientes que haviam usado ou que estavam em uso de danazol no momento da coleta. O grupo controle nesse estudo também é pouco caracterizado, incluindo pacientes descritas como normais, não grávidas, mas que não foram submetidas a laparoscopia para exclusão de endometriose. Da mesma forma, Badawy e col (33), estudando pacientes inférteis com endometriose e pacientes inférteis sem endometriose que foram submetidas a laparoscopia diagnóstica, observaram níveis mais elevados de IgG tanto na cultura de células peritoniais como na cultura de células do sangue periférico de pacientes com endometriose. Já Confino e col (25) encontraram, como em nosso estudo, níveis menores de IgG total no líquido peritoneal de pacientes com endometriose. Em contraste, os níveis de auto-anticorpos IgG específicos estavam mais elevados no líquido peritoneal de pacientes com endometriose . Nesse estudo, o grupo de pacientes em estudo também é composto por pacientes férteis e inférteis com endometriose e o grupo controle é pouco caracterizado, com pacientes férteis que foram submetidas a laparoscopia para ligadura tubária e cuja presença da endometriose não foi descartada.

A IgM age como receptor para antígenos na superfície das células B e é a principal imunoglobulina produzida na resposta imune primária, também sendo capaz de ativar o sistema do complemento. Não encontramos diferenças significativas nos níveis de IgM quando comparamos os vários grupos, dados que concordam com os de Confino e col.

(25) e Badawy e col.(34). Entretanto, Gleicher e col. (32) encontraram níveis mais elevados de IgM em pacientes com endometriose. Aqui, fica difícil extrapolar os achados, uma vez que foi analisado somente o soro das pacientes e o grupo utilizado como controle era constituído por homens e mulheres doadores de sangue, onde o diagnóstico de endometriose também não foi excluído. Esse estudo também demonstrou, em pacientes com endometriose, uma associação da maior produção de imunoglobulinas com a positividade para anticorpos antilupus-coagulase. Os mesmos autores já haviam observado alterações na produção de imunoglobulinas em pacientes com abortamentos de repetição e com diagnóstico de lupus eritematoso sistêmico (36).

Com relação à imunidade celular, Haney e col (37), em 1981, foram os primeiros a descrever um aumento nos macrófagos peritoniais em pacientes inférteis com endometriose. Estudos subseqüentes do líquido peritonal de pacientes com essa patologia confirmaram o aumento do número, da concentração e da ativação dos macrófagos (38). Os macrófagos são o tipo celular predominante no líquido peritonal, sendo responsáveis pela remoção de células estranhas e/ou mortas da cavidade peritonal. Os macrófagos hiperativados no líquido peritonal podem contribuir para a patogênese da endometriose através da secreção de fatores de crescimento, substâncias angiogênicas e citocinas pró-inflamatórias.

A interleucina 1 (IL-1) tem um papel central na regulação da atividade inflamatória e da resposta imunológica. Existem dois tipos de IL-1, a IL-1 α e a IL-1 β , que são codificadas por genes diferentes e têm seqüências de aminoácidos diferentes, mas ligam-se aos mesmos receptores e têm atividades biológicas iguais . A IL-1 é produzida pelos macrófagos e induz a síntese de prostaglandinas, a proliferação dos linfócitos-T e a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos-B (39) . A maior concentração da IL-1 no líquido peritonal de pacientes com endometriose poderia estimular a proliferação de

fibroblastos e a deposição de colágeno, o que explicaria a formação de aderências peritoniais nessas pacientes. Entretanto, os resultados dos estudos que analisaram a concentração da IL-1 no líquido peritonal têm sido discordantes. Em nossa análise, não encontramos correlação entre as concentrações de IL-1 β no soro e no líquido peritonal e o diagnóstico de endometriose. Os nossos achados concordam com os de Keenan e col. (40), que observaram níveis semelhantes de IL-1 β quando compararam os líquidos peritoniais de pacientes com e sem endometriose. Esses autores também estudaram a produção de IL-1 β pelos macrófagos colocados em meio de cultura e encontraram níveis significativamente mais elevados de IL-1 β em pacientes com endometriose, o que reflete uma maior atividade dos macrófagos nessas pacientes. Da mesma forma, Hill e Anderson (41); e Bedaiwy e col. (23) não encontraram diferenças nas concentrações de IL-1 no líquido peritonal quando compararam pacientes com endometriose, pacientes com infertilidade de causa desconhecida e pacientes férteis. Já Fakhri e col. (42), comparando líquidos peritoniais de pacientes com endometriose e pacientes que seriam submetidas a ligadura tubária, encontraram concentrações maiores de IL-1 em pacientes com endometriose, bem como uma maior secreção de IL-1 pelos macrófagos dessas pacientes. No entanto, esses autores utilizaram uma metodologia diferente, ou seja, um sistema de bioensaio (ensaio de proliferação EL-4) que pode ser mais sensível e menos específico que as técnicas de radioimunoensaio e de ELISA e que pode explicar as diferenças encontradas.

Um desequilíbrio na atividade dos linfócitos-T auxiliares também tem sido implicado na patogênese da endometriose. Após a sua ativação, os linfócitos T-auxiliares se diferenciam em dois subtipos diferentes que produzem citocinas com atividades antagônicas. Os linfócitos-T auxiliares tipo 1 (Th1) produzem citocinas como interferon γ ,

que é um dos principais mediadores da imunidade celular. Já os linfócitos tipo 2 (Th2) produzem citocinas como a interleucina 10, que inibem a imunidade celular. Vários autores têm descrito níveis maiores de citocinas Th2 e menores de citocinas Th1 em pacientes com endometriose (43).

A interleucina 10 é produzida pelos linfócitos Th2 e atua inibindo a atividade dos linfócitos Th1, com conseqüente diminuição na síntese de interferon- γ . Punnonen e col. (44) e Ho e col. (45) encontraram níveis mais elevados de IL-10 no líquido peritoneal de pacientes com endometriose quando comparadas com pacientes sem a doença. Em nosso estudo, encontramos níveis mais elevados de IL-10 no líquido peritoneal das pacientes inférteis com endometriose do que nas pacientes férteis com endometriose, sugerindo que esta citocina possa estar envolvida na criação de um ambiente peritoneal tóxico ou hostil para os espermatozoides e embriões, o que determina a já conhecida associação de endometriose com infertilidade.

O interferon γ é produzido principalmente pelas linfócitos Th1 e é um dos mais potentes indutores da atividade fagocítica dos macrófagos, células matadoras naturais e neutrófilos. Ho e col (46), Hsu e col. (47) e Wu e col. (48) descreveram concentrações diminuídas de IF- γ no líquido peritoneal de pacientes com endometriose e levantaram a hipótese de que, com isso, há uma menor atividade fagocítica na cavidade peritoneal dessas pacientes que poderia facilitar o implante e a proliferação das células endometriais que refluem através das trompas. Khorram e col (49) e Keenan e col (50), no entanto, não encontraram diferenças nas concentrações de IF- γ no líquido peritoneal de pacientes com e sem endometriose. Nossos resultados demonstraram concentrações semelhantes de IF- γ nas pacientes com endometriose (férteis e inférteis) e nas pacientes férteis sem endometriose. Todavia, as concentrações de IF- γ no soro e no líquido peritoneal de

pacientes inférteis sem endometriose são menores, sugerindo que possa ocorrer um consumo maior dessa citocina na formação de aderências pélvicas nesses casos.

Também avaliamos, nos diversos grupos, o tipo e o grau da dor que as pacientes apresentavam. Sabe-se que há pouca ou nenhuma correlação entre a extensão da doença e a intensidade ou a característica da dor referida pela paciente. De um lado podemos encontrar mulheres com endometriose severa e pouca ou nenhuma dor e , do outro, mulheres com endometriose mínima e dor importante. Nossos resultados confirmam aqueles da maioria dos estudos prévios (51,52), ou seja, de que não existe correlação entre o estágio da endometriose e a frequência e a severidade da dor que ela provoca.

BIBLIOGRAFIA

1. Olive DL and Schwartz LB. Endometriosis. N Engl J Med 1993 ; 328 (24) : 1759-69
2. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol 1927 ; 14 : 422-69.
3. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. Obstet Gynecol 1984; 64 : 151-54.
4. Liu DTY and Hitchcock A. Endometriosis : its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal pathology. Br J Obstet Gynaecol 1986 ; 93 : 859-62.
5. Burns WN and Schenken RS. Pathophysiology of endometriosis-associated infertility. Clin Obstet Gynecol 1999 ; 53 (2) : 242-45.
6. D'Hooghe TM and Debrock S. Endometriosis, retrograde menstruation and peritoneal inflammation in women and in baboons. Hum Reprod Update 2002 ; 8 (1): 84-8.
7. Dmowski WP, Steele RW and Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1981 ; 15 : 377-83.
8. Braun DP and Dmowski WP. Endometriosis : abnormal endometrium and dysfunctional immune response. Curr Op Obstet Gynecol 1998 ; 10 : 365-9.
9. Vinatier D, Dufour P, Oosterlinck D. Immunological aspects of endometriosis. Hum Reprod Update 1996 ; 2 (5) : 371-84.
10. Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton JL. Endometriosis and infertility : a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. Fertil Steril 1982 ; 38 (6) :667-72.
11. Passos EP. Efeito do fluido peritoneal de pacientes inférteis com endometriose e inférteis de causa desconhecida na reação acrossômica de espermatozóides capacitados (Tese de Doutorado). São Paulo : Universidade Federal de São Paulo, 1996, 85f.

12. Rodrigues de Lima G, Freitas V, Zamith R. Aspectos endócrinos da endometriose. In : Rodrigues de Lima & Baracat EC. Ginecologia Endócrina. Atheneu, São Paulo, 1995, cap.23.
13. Cunha Filho JS, Gross JL, Lemos et al. Prolactin and growth hormone secretion after thyrotropin-releasing hormone infusion and dopaminergic (DA2) blockade in infertile patients with minimal/mild endometriosis. Hum Reprod 2002 ; 17 (4) : 960-5.
14. Muse K. Clinical manifestations and classification of endometriosis. Clin Obstet Gynecol 1988 ; 31 (4) : 813-22.
15. Dmowski WP, Leiswicz R, Rana N, Pepping RN, Noursalehi M. Changing trends in the diagnosis of endometriosis : a comparative study of women with pelvic endometriosis presenting with chronic pelvic pain or infertility. Fertil Steril 1997 ; 67 (2) : 238-43.
16. Halme J, Becker S, Haskill S. Altered maturation and function of peritoneal macrophages : possible role in the pathogenesis of endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1987 ; 156 : 783-9.
17. Oral E and Arici A. Pathogenesis of endometriosis. Obstet Gynecol Clin 1997 ; 24 (2): 220-34.
18. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. Fertil Steril 2001 ; 1 : 1-8.
19. Dmowski WP. Immunological aspects of endometriosis. Int J Gynecol Obstet 1995 ; 50 (Suppl. 1) : S3 - S10.
20. Antsiferova YS, Sotnikova NY, Posiseera LV, Shor AL. Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. Fertil Steril 2005 ; 84 : 1705-11.
21. Garcia-Velasco JA and Arici A. Chemokines and human reproduction. Fertl Steril 1999 ; 71 (6) : 983-93.

22. Klein NA, PÉrgola GM, Tekmal RR, Montoya IA, Dey TD, Schenken RS. Cytokine regulation of cellular proliferation in endometriosis. *Ann N Y Acad Sc* 1994 ; 734 : 322-332.
23. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers : a prospective controlled trial . *Hum Reprod* 2002 ; 17 (2) ; 426-31.
24. Berkkanoglu M & Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 50 : 48-59.
25. Confino E, Harlow L, Gleicher N. Peritoneal fluid and serum autoantibody levels in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1990 ; 53 (2) : 242-45.
26. Gleicher n. The role fo humoral immunity in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994 ; 73 Supp 159 : 15-17.
27. Taylor PV, Maloney MD, Campbell JM, Skerrow SM, Nip NM, Parmar R, Tate G. Autoreactivity in women with endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1991 ; 98 : 680-84.
28. Dmowski WP & Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res* 2004 ; 18 : 245-63.
29. American Society for Reproductive Medicine . Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis :1996 . *Fertil Steril* 1997 ; 67, 817-21.
30. Weed JC and Arquembourg PC. Endometriosis : can it produce an autoimmune response resulting in infertility ? *Clin Obstet Gynecol* 1980 ; 23 : 885-92.
31. Nothnick WB. Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001 ; 76 (2) : 223-31.
32. Gleicher N, El-Roeiy A, Confino E, Friberg J. Is endometriosis an autoimmune disease ? *Obstet Gynecol* 1987 ; 70 (1) : 115-22.

33. Badawy SZA, Cuenca V, Kaufman L, Stitzel A, Thompson M. The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1989 ; 51 (5), 770-73.
34. Badawy SZA, Cuenca V, Stitzel A, Jacobs RDB, Tomar RH. Autoimmune phenomena in infertile patients with endometriosis. *Obst Gynecol* 1984 ; 63 : 271-75.
35. Facin AC, Passos EP, Freitas FM, Brandelli A, Salazar CC. Peritoneal fluid and serum concentrations of IgA, IgG and IgM in endometriotic patients and their relationship with infertility. *Hum Rep* 2000 ; 15 (abstract book) : 39-40.
36. Gleicher N, Friberg J. IgM gammopathy and the lupus anticoagulant syndrome in habitual aborters. *JAMA* 1985 : 253 ; 3278-
37. Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertil Steril* 1981 ; 35 : 696-98.
38. Wu M-Y & Ho H-N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 49 : 285-96.
39. Balkwill F. Cytokines and cytokine receptors. In : *Immunology – Roit – Brostoff – Male*. London : Harcourt Publishers Limited 2001 . P . 119-29.
40. Keenan JA, Chen TT, Chadwell NL, Torry DS, Caudle MR. IL-1 β , TNF- α and IL-2 in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis. *Am J Rep Immunol* 1995 ; 34 : 381-85.
41. Hill JA, Anderson DJ. Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1989 ; 161 : 861-4. 37.
42. Fakh H, Baggett B, Holtz G, Tsang K-Y, Lee JC, Williamson HO. Interleukin-1 : a possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1987 ; 47 (2) : 213-17.

43. Wu M-Y, Ho H-N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003 ; 49 : 285-96.
44. Witz CA. Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002 ; 53 (suppl 1) : 52-62.
45. Punnonen J, Teisala K, Ranta H, Bennett B, Punnonen R. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996 ; 174 (5) :1522-26.
46. Ho H-N, Wu M-Y, Chao K-H, Chen C-D, Chen S-U, Yang Y-S. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997 ; 12 (11) : 2528-33.
47. Ho H-N, Wu M-Y, Chao K-H et al. Decrease in interferon gamma production and impairment of T-lymphocyte proliferation in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996 ; 175 (5) : 1236-41.
48. Hsu C-C, Yang B-C, Wu M-H, Huang K-E. Enhanced interleukin-4 expression in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 67 (6) : 1059-64.
49. Wu M-H, Yang B-C, Hsu C-C, Lee Y-C, Huang K-E. The expression of soluble intercellular adhesion molecule-1 in endometriosis. *Fertil Steril* 1998 ; 70 : 1139-42.
50. Khorran O, Taylor RN, Ryan IP, Schall TJ, Landers DV. Peritoneal fluid concentrations of the cytokine RANTES correlate with the severity of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993 ; 169 : 1545-49.
51. Keenan JA, Chen TT, Chadwell NL, Torry DS, Caudle MR. Interferon-gamma (IFN- γ) and interleukin-6 (IL-6) in peritoneal fluid and macrophage-conditioned media of women with endometriosis . *Am J Reprod Immunol* 1994 ; 32 : 180-83.
52. Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O et al. Endometriosis and pelvic pain : relation to disease stage and localization. *Fertil Steril* 1996 ; 65 : 299-304.

53. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain. Hum Reprod 2001 ; 16 (12) : 2668-71.

Tabela 1.Concentrações de IgA, IgG, IgM, IL-1 β , IL-10 e IF γ no soro e no líquido peritoneal (mediana)

	Inférteis com endometriose (n=20)	Inférteis sem endometriose (n=9)	Férteis com endometriose (n=4)	Férteis sem endometriose (n=10)	Teste de Kruskal-Wallis P
Idade	32,2 \pm 4,9	31,7 \pm 5,2	36,7 \pm 4,0	32,8 \pm 4,4	0,34
<u>Soro</u>					
Imunoglobulinas (mg/dl)					
IgA	147 (116,75-182,5)	55,4 (41,7-73,9)	57,8 (36,33-73,4)	165 (114,25-252)	<0,001
IgG	1090 (888,25-1237,5)	2100 (1650-2595)	2490 (1485-3240)	1070 (875,75-1267,5)	<0,001
IgM	96,3 (73,28-131,75)	81,3 (63,65-150,5)	61,4 (49,53-72,98)	96,9 (86,93-121,25)	0,143
Interleucinas (pg/ml)					
IL-1 β	4,3 (3,73-5,45)	4,2 (4-5,4)	4,1 (4,03-11,18)	4,2 (4,08-5,48)	0,914
IL-10	6,8 (5,55-9,75)	6,8 (5,65-16,1)	8,5 (3,53-21,5)	13 (6,28-25,5)	0,211
IF- γ	9,2 (5,85-11,43)	4,2 (4-5,4)	11,9 (11,08-14,53)	10,5 (5,75-16,5)	0,001
<u>Líquido peritoneal</u>					
Imunoglobulinas(mg/dl)					
IgA	70,8 (47,5-90,7)	33 (29-36,95)	33 (29,25-44,48)	66 (41,15-147,5)	0,001
IgG	518,0 (390-592)	1490 (1245-1615)	1330 (999-1377,5)	507 (225,5-770,5)	<0,001
IgM	22,7 (17-50,5)	29,3 (16,5-36,45)	19,6 (17,55-159,05)	23,6 (18,4-163,05)	0,959
Interleucinas(pg/ml)					
IL-1 β	4,9 (4,13-6,48)	4 (3,85-5,15)	5,6 (5,5-6,55)	3,9 (3,7-6,3)	0,157
IL-10	26,7 (7,03-57,3)	6,2 (5,95-7,95)	5,2 (4,63-5,88)	6,5 (5,78-15,6)	0,007
IF- γ	11,2 (8,63-16,6)	4 (3,85-5,15)	11,6 (10,6-11,93)	14 (10,75-16,28)	<0,001

Tabela 2

Tipos e níveis de dor nos diferentes grupos

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Valor de P*
Dor pélvica	0 (0 a 1)	0 (0 a 1)	2 (1,25 a 2,75)	0 (0 a 0)	0,006
Dismenorréia	1 (0 a 2)	0 (0 a 0,5)	2 (1,25 a 2,75)	0 (0 a 1,25)	0,166
Dispareunia	0 (0 a 1)	1 (0 a 1,5)	1 (0 a 2,75)	0 (0 a 0)	0,286

Considerações Finais

- Encontramos maiores concentrações de Imunoglobulina A no líquido peritoneal e no soro das pacientes inférteis com endometriose. A maior produção de anticorpos nessas pacientes pode interferir na interação entre oócitos e espermatozóides, impedindo a fertilização. Os estágios iniciais da implantação embrionária no endométrio também podem estar prejudicados, explicando a associação da endometriose com a infertilidade e a perda fetal precoce.
- As concentrações de Imunoglobulina G em nosso estudo mostraram-se menores tanto no soro como no líquido peritoneal das pacientes inférteis com endometriose quando comparadas com as pacientes inférteis sem endometriose. A IgG é o anticorpo predominante na resposta imune secundária e pode ativar o sistema do complemento. A menor concentração de IgG nas pacientes inférteis com endometriose sugere uma falha no sistema imune que pode explicar a instalação e a progressão da doença.
- Nas pacientes com endometriose, encontramos níveis mais elevados de Interleucina 10 no líquido peritoneal das pacientes inférteis do que nas pacientes férteis, sugerindo que essa citocina possa estar envolvida na criação de um ambiente peritoneal hostil para espermatozóides e oócitos, determinando a já conhecida associação de endometriose e infertilidade.
- Nas pacientes inférteis sem endometriose, as concentrações de Interferon γ no soro e no líquido peritoneal são menores, o que pode estar associado a um maior consumo dessa citocina pró-inflamatória na formação de aderências pélvicas nessas pacientes.
- As concentrações de Imunoglobulina M e Interleucina 1- β não mostraram diferenças significativas entre os grupos.
- Também não encontramos diferenças significativas na correlação entre os níveis de citocinas e imunoglobulinas entre os diferentes grupos com os graus de endometriose e os níveis de dor nessas pacientes.