

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Avaliação do nível sérico de prolactina e CA 125 como marcadores diagnósticos de endometriose.

Aluno: João Paolo Bilibio

Orientador: João Sabino da Cunha Filho

Dissertação de Mestrado

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Avaliação do nível sérico de prolactina e CA 125 como marcadores diagnósticos de endometriose.

Aluno: João Paolo Bilibio

Orientador: João Sabino da Cunha Filho

Dissertação de Mestrado

2010

Sumário

Agradecimentos	6
Lista de abreviaturas	7
Resumo.....	8
Introdução.....	10
Revisão da literatura	12
Endometriose e seus sintomas	12
Prolactina e reprodução humana	12
Prolactina e endometriose associada à infertilidade.....	13
CA 125 e endometriose	15
Marcadores de endometriose	16
Utilização de métodos diagnósticos	18
Justificativa.....	20
Objetivo.....	21
Referências	22
Artigo	25
Evaluation of serum prolactin and CA-125 levels as biomarkers for diagnosis of endometriosis.....	25
Abstract	26
Introduction	28
Materials and methods.....	30
Results	32
Discussion	41
References	45
Considerações gerais.....	47
Perspectivas	48

Anexos	49
Anexo 1: Instrumento de coleta de dados.....	50
Anexo 2: Classificação da endometriose segundo a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva das pacientes:	51

Dedico este trabalho a
meu pai,
minha mãe e
minha irmã
que trilham o meu caminho.

Agradecimentos

Não há dúvidas que um trabalho não é realizado por apenas uma pessoa, muitas pessoas direta ou indiretamente contribuíram e tiveram um papel fundamental até a conclusão deste trabalho, em particular:

- Professor João Sabino L. da Cunha-Filho não apenas pela sua orientação nesta dissertação de mestrado, mas por sua orientação, ajuda e aconselhamentos que me ajudaram seja profissionalmente, seja na vida pessoal.
- A todo o nosso grupo de pesquisa, todos de alguma maneira fazem parte deste resultado: Gustavo Peretti Rodini, Carlos Augusto Bastos de Souza, Carolina Giordani Andreoli, Vanessa Krebs Genro, Carla Regina Schmitz, Juliana Zanrosso Caran, Tatiana Ferreira Michelin, os bolsistas Ana Cláudia Martins Magno, Camila Scheffel, Rita Chapon, Cristian Rafael Sloczinski, Camila Greggianin e em especial para a Bolsista Emily de Conto por ter diretamente contribuído neste trabalho.
- Laboratório do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre Terapia Gênica em especial para Úrsula Matte.
- Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
- Aos residentes e do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- A equipe de Oncologia Genital do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelos ensinamentos e apoio sempre prestados.
- Agradecimento especial pelo constante apoio de Pânila Longhi Lorenzoni e do amigo Gustavo Peretti Rodini.

Lista de abreviaturas

EDT – endometriose

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay* (teste de imunoabsorbância ligado a enzima)

FIV – fertilização in vitro

FSH – *follicle-stimulating hormone* (hormônio folículo-estimulante)

IL- interleucina

IMC – índice de massa corpórea

LH- Luteinizing Hormone (hormônio luteinizante)

PCR – *polymerase chain reaction* (reação em cadeia da polimerase)

PRL – prolactina

ROC - *receiver operator characteristic*

Resumo

Existe um atraso no diagnóstico de endometriose de cerca de 8 anos, provavelmente devido ao fato de seu diagnóstico ser cirúrgico e seus sintomas inespecíficos e com vários graus de intensidade. Devido a isso a procura por marcadores de endometriose é de interesse de todos os ginecologistas. Já foi demonstrado que a prolactina está aumentada neste grupo de pacientes. O objetivo deste estudo é avaliar a prolactina e o CA 125 com marcadores no diagnóstico de endometriose.

Conduzimos ao longo desta dissertação um estudo transversal com um total de 97 pacientes divididas em dois grupos: 1- Grupo de estudo: pacientes sintomáticas com endometriose (sintomas de infertilidade ou dor), 2- Grupo controle: grupo de pacientes assintomática sem endometriose (pacientes que realizaram laparoscopia para ligadura tubária). Foram coletados amostra de plasma em ciclos menstruais anteriores a cirurgia durante a fase secretora do ciclo menstrual sendo dosado a prolactina (pou de 3 amostras) e o CA 125.

Encontramos que a prolactina está aumentada no grupo de pacientes com endometriose, seja em pacientes inférteis, pacientes com dor, estágios I e II ou estágios III e IV. Comparando os dois marcadores, a prolactina (sensibilidade de 21% e especificidade de 99%) e Ca 125 (sensibilidade de 27% e especificidade de 97%) apresentam sensibilidade e especificidade semelhantes ($P=0.58$). Quando utilizamos estes dois marcadores juntos a sensibilidade foi de 44% e especificidade de 99%. Quando utilizamos, com escolha através da curva ROC, os dois melhores pontos de corte para prolactina e Ca 125 com os seguintes critérios: melhor sensibilidade para uma especificidade maior que 90% endometriose (para prolactina de 14.8 ng/ml e para o CA 125 de 19.8 U/I), obtivemos uma sensibilidade de 77% e especificidade 88% com os dois marcadores juntos.

A prolactina é um marcador sérico semelhante ao CA 125 para diagnóstico de endometriose, e estes dois marcadores usados isoladamente possuem baixa sensibilidade. Entretanto, o uso destes dois marcadores juntos especialmente usando pontos de corte mais

adequados para endometriose (para prolactina de 14.8 ng/ml e para o CA 125 de 19.8 U/I) apresentam sensibilidade (77%) e especificidade (88%) aceitáveis.

Palavras chave: Endometriose, Infertilidade, Prolactina, CA 125, Marcadores séricos,
Diagnóstico não invasivo

Introdução

As duas maiores manifestações clínicas de endometriose são dor e infertilidade. A endometriose acomete mulheres em idade reprodutiva sendo a sua prevalência estimada de 2 a 18%, e destas, 30 a 50% apresentarão infertilidade (Olive and Schwartz 1993; Koninckx 1994; Missmer and Cramer 2003). A classificação corrente mais aceita da endometriose é da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (1997) a qual nosso estudo usou como base.

Após muitos anos de investigação, o real mecanismo pelo qual a endometriose causa infertilidade ainda não é realmente conhecido. Quando existem distorções anatômicas resultando em obstrução tubária devido à endometriose sabemos qual mecanismo está causando a infertilidade. Entretanto, quando pacientes com endometriose mínima e leve, que não possuem alterações tubárias (anatômicas) é desconhecido o mecanismo pelo qual estas pacientes têm subfertilidade.

Além disso, as pacientes que possuem dor pélvica devido à endometriose, após a avaliação cirúrgica seja ela laparoscópica ou convencional onde se evidenciam grandes alterações anatômicas com muitos focos de endometriose fica claro o papel da doença no mecanismo da dor. Entretanto, também nos casos de dor, muitos trabalhos demonstraram que o grau de endometriose não está relacionado com o nível dor, e pacientes com mínimos focos de endometriose podem ter graus de dor muito elevados (Fedele, Bianchi et al. 1992; Vercellini, Trespidi et al. 1996).

O papel da prolactina na endometriose associada à infertilidade vem sendo estudada há vários anos, inclusive por nosso grupo de pesquisa. Encontramos em estudos anteriores que este grupo de mulheres tem secreção e controle da prolactina alterada (Cunha-Filho, Gross et al. 2001; Cunha-Filho, Gross et al. 2002), assim como anormalidades da fase lútea evidenciada pela disfunção na secreção de esteróides ovarianos (estrogênio e progesterona) e concentração

folicular de fatores de crescimento modulada de forma anômala (Cunha-Filho, Gross et al. 2003).

Os níveis de CA 125 estão correlacionas tanto pela presença quanto a extensão da endometriose. A especificidade do CA 125 como marcador de endometriose é cerca de 80% demonstrado em vários estudos, entretanto a sensibilidade de 20-50% impõe limitações ao seu uso como teste clínico para diagnóstico de endometriose (Mol, Bayram et al. 1998).

A procura de um marcador sérico para a endometriose continua sendo feita por vários pesquisadores, sendo que, apesar das limitações do CA 125, este ainda é o principal marcador da doença. Devido ao aumento da prolactina em pacientes com endometriose, resolvemos avaliar se este hormônio poderia servir como um marcador para a doença comparando com o melhor marcador atual para esta doença o CA 125.

Revisão da literatura

Endometriose e seus sintomas

Não está clara a real relação entre a endometriose e seus sintomas (dor pélvica e infertilidade), principalmente porque com frequência a atual classificação da endometriose não corresponde com os sintomas.

Em pacientes que vão à avaliação laparoscópica devido à infertilidade, cerca de 20-50% apresentam endometriose, demonstrando a sua forte associação. Apesar desta aparente associação, o motivo pelo qual pacientes com endometriose sem alterações tubárias tem dificuldades de gestar ainda não está claro. De outro lado, existem pacientes férteis, que apresentam endometriose e nunca tiveram nenhum sintoma. A presença de endometriose com evidência de distorção da anatomia resultando em obstrução tubária e a alteração da mobilidade uterina e tubária bem como processos que prejudiquem a passagem do embrião claramente interferem na fertilidade, todavia isso ocorre em apenas ao redor de 30-50% dos casos (Olive and Schwartz 1993; Missmer and Cramer 2003).

Prolactina e reprodução humana

A prolactina, hormônio produzido pela hipófise anterior, apresenta a particularidade de que a sua liberação está sobre o controle inibitório da dopamina, que atua por ação dos receptores do tipo D2 nos lactotrofos. A dopamina alcança a adeno-hipófise do hipotálamo através do sistema porta-hipofisário, sendo assim, qualquer disruptura desta comunicação ou distúrbio teste sinal resultará em hiperprolactinemia (Imura 1985).

Nas mulheres a prolactina está elevada ao nascimento e decresce a baixos níveis durante a primeira semana de vida. Retorna novamente a se elevar durante a puberdade juntamente com

o FSH e LH, mas mais modestamente. O estrogênio estimula a secreção de prolactina, o que pode explicar o aumento da prolactina na puberdade. Além disso, ocorre aumento da prolactina devido a muitas situações clínicas como febre, exercícios, estresse, cirurgia e devido a alguns medicamentos. O maior estímulo e aumento da prolactina ocorrem na gestação e durante a amamentação (Tyson, Hwang et al. 1972; Karasek, Pawlikowski et al. 2006).

Seu papel na reprodução ainda não está totalmente claro. Foi constatado que baixos níveis de prolactina estimulam o ovário enquanto altos níveis inibem a produção de progesterona pelas células da granulosa (McNatty, Sawers et al. 1974). Além disso, um nível de progesterona elevado provoca anovulação devido à inibição da pulsatilidade do LH interferindo na função hipotalâmica através do bloqueio dos receptores estrogênicos. A sua ação no ovário pode ser devido à diminuição da afinidade do receptor do LH no corpo lúteo, causando uma diminuição da produção e secreção de progesterona resultando não somente em anovulação, mas também numa fase lútea curta com maturação folicular e do corpo lúteo inadequados (Cunha-Filho, Gross et al. 2001).

Entretanto, apesar destes conhecimentos sobre a sua atuação no ovário, seus mecanismos ainda não estão totalmente claros, pois a sensibilidade ovariana a prolactina parece ser extremamente variável, onde pequenos níveis de elevação podem causar sintomas como amenorréia, como em contrapartida outros níveis mais elevados em outro grupo de pacientes podem, simplesmente, não causar sintomas.

Prolactina e endometriose associada à infertilidade

A investigação do papel da prolactina na infertilidade associada à endometriose vem sendo estudada por muitos autores. Já foi evidenciado que pacientes com endometriose possuem aumento da prolactina. Alguns investigadores acreditam que a hiperprolactinemia é uma provável causa de endometriose associada à infertilidade principalmente naquelas pacientes com

endometriose sem alterações anatômicas importantes (Muse, Wilson et al. 1982; Gregoriou, Bakas et al. 1999; Cunha-Filho, Gross et al. 2001; Lima, Moura et al. 2006).

Vários estudos fizeram a medida sérica de prolactina em pacientes com e sem endometriose, sendo que vários destes reportaram um significativo aumento do nível de prolactina em pacientes com endometriose e apontando a hiperprolactinemia como uma das possíveis causas de infertilidade (Muse, Wilson et al. 1982). Um destes estudos documentou que o nível de prolactina aumentava de acordo com o grau de endometriose (12,5, 16,5 19,5 e 28,5 ng/ml em pacientes com estágios I, II, III e IV respectivamente (Gregoriou, Bakas et al. 1999)).

Baixos níveis de prolactina estimulam o ovário enquanto altos níveis produzem anovulação, por causa disto, a pulsatilidade do LH é alterada interferindo com a função hipotalâmica através do bloqueio de receptores estrogênicos. As pacientes inférteis com endometriose exibem uma hiperprolactinemia latente sendo mais evidente em pacientes inférteis que não conseguem engravidar mesmo após vários esquemas terapêuticos (Wang, Gorpudolo et al. 2009).

Estudos in-vitro com implantes endometriais demonstraram que existe a produção de prolactina através destes implantes onde foi notada também uma correlação significativa entre a secreção dos implantes endometriais de prolactina com o estágio de endometriose (Mingyuan, Yu et al. 2000). Existe também uma alteração na expressão nos receptores de prolactina nos implantes endometriais demonstrando que há uma alteração na regulação e expressão destes receptores entre tecidos endometriais normais e implantes de endometriose (Martinez, Leyva et al. 2002).

Todavia, alguns estudos não demonstraram essa associação de aumento da prolactina em pacientes com endometriose (Matalliotakis, Panidis et al. 1996; Machida, Taga et al. 1997), portanto esta questão ainda não possui uma resposta definitiva, mas apesar destas conclusões

contrárias a maioria dos estudos avaliados sugere esta associação (Wang, Gorpudolo et al. 2009).

A prolactina pode estar implicada na fisiopatologia da endometriose principalmente através de seu fator angiogênico. Prolactina é um potente indutor angiogênico, ela exerce seu efeito pró-angiogênico através de receptores em vaso sanguíneos (Reese, Binart et al. 2000). O uso de agonista dopaminérgico causou redução de implantes endometriais sugerindo que a redução da prolactina atua pelo menos como uma mecanismo paralelo na angiogênese destes implantes endometriais (Novella-Maestre, Carda et al. 2009).

CA 125 e endometriose

Os níveis de Ca 125 sabidamente estão aumentados em pacientes com endometriose, e muito relacionados com a extensão da doença. Uma grande revisão sistemática realizada há 10 anos comprovou o aumento deste marcador na endometriose, sendo o marcador mais estudado para este fim. Entretanto, ele está elevado principalmente nos estágios III e IV de endometriose e encontrado em menor nível nos estágios iniciais (I e II), sendo estes últimos o grupo de paciente em que mais se deseja um bom marcador, pois em estágios avançados o exame físico e exames de imagem podem estar alterados facilitando o diagnóstico sem a necessidade de um marcador. Esta mesma revisão sistemática concluiu que devido a seus baixos níveis de sensibilidade do Ca 125, em torno de 20 A 50 %; apesar de uma especificidade ao redor de 80 %, seu uso como um teste de rastreio para endometriose não é indicado (Mol, Bayram et al. 1998).

Portanto, apesar de estar elevado em pacientes com endometriose, quando comparado com a laparoscopia a medida do CA 125 não tem valor diagnóstico, principalmente porque no grupo de pacientes de endometriose mínima e leve que mais necessitam de um marcador para indicar ou contra-indicar uma cirurgia laparoscopia é o grupo que possui a menor sensibilidade deste exame.

Estudos posteriores continuam afirmando os resultados de que o CA 125 está elevado principalmente em estágios mais elevados de endometriose (Maiorana, Cicerone et al. 2007) e confirmando o seu aumento em pacientes com endometrioma apresentando uma sensibilidade de 79% neste subgrupo quando comparado com o grupo sem endometriose (44%) utilizando um ponto de corte de 30 U/I (Kitawaki, Ishihara et al. 2005). Além disso, existe uma variação do nível do CA 125 durante o ciclo menstrual, sendo que o melhor momento com maior sensibilidade para diagnóstico de endometriose seria a dosagem durante a secreção do ciclo menstrual (Mihalyi, Gevaert et al.).

Marcadores de endometriose

Quando o ginecologista encontra em seu consultório uma paciente com queixas de infertilidade, dor pélvica cíclica, dispareunia, com exame físico alterado, ecografia com presença de cistos endometrióticos ou presença de focos de endometriose, fica muito claro que esta paciente tem um benefício de realizar uma videolaparoscopia para excisão dos focos de endometriose (alto valor preditivo pré-teste). Entretanto, quando os sintomas são mais amenos, com queixas mais brandas o momento de indicar um procedimento cirúrgico para diagnosticar e tratar a endometriose fica mais difícil para o médico assistente. Devido a isto há uma procura por um marcador sérico de endometriose através do qual se possa evitar cirurgias desnecessárias, bem como evitar o atraso diagnóstico das pacientes com endometriose que chega ao redor de oito anos após o começo dos sintomas (Zondervan, Yudkin et al. 1999; Ballard, Lowton et al. 2006). Muitos marcadores vêm sendo estudados baseado no fato de que a endometriose produz alterações inflamatórias e hormonais seja local ou sistemicamente, como o CA 19-9 (Kurdoglu, Gursoy et al. 2009; Park, Kim et al. 2009), IL6 (Shimoya, Moriyama et al. 2000; Bedaiwy, Falcone et al. 2002), IL8 (Pizzo, Salmeri et al. 2002; Glitz, Souza et al. 2009), IL12 (Fairbanks, Abrao et al. 2009), follistatin (Florio, Reis et al. 2009), urocortina (Florio, Reis et al. 2007), anti-corpo anti-cardiolipina (Abrao, Podgaec et al. 1997), marcadores tumorais

(Abrao, Podgaec et al. 1999), vascular endothelial growth factor (VEGF) (Pupo-Nogueira, de Oliveira et al. 2007) e painéis de marcadores (Mihalyi, Gevaert et al.; Gagne, Rivard et al. 2003; Somigliana, Vigano et al. 2004; Martinez, Garrido et al. 2007; Agic, Djalali et al. 2008; Seeber, Sammel et al. 2008) entre outros..

Devido à dificuldade de um único marcador ter uma sensibilidade adequada, estudos recentes vêm utilizando a busca de um painel de marcadores para este fim. O CA 125 continua sendo o marcador mais utilizado nestes painéis, sendo que as análises de sua sensibilidade vêm de acordo os dados antigos mostrando a sua baixa sensibilidade (27%) (Somigliana, Vigano et al. 2004) até uma sensibilidade de 47,2 % em estágios III e IV (Martinez, Garrido et al. 2007).

Bedaiwy et al. (Bedaiwy, Falcone et al. 2002) após a análise de vários marcadores encontraram a IL-6 e com alta sensibilidade (90%) e com uma razoável especificidade (67%) para o diagnóstico de endometriose, entretanto o *cutoff* empregado foi de 2 pg/ml, valor abaixo do *cutoff* usual . Martinez et al. (Martinez, Garrido et al. 2007) utilizaram a associação de IL-6 com o Ca 125 com *cutoffs* usuais (25,75 pg/ml e 35 IU/ L respectivamente) e encontraram uma sensibilidade de 75% e especificidade de 83.3% com os dois marcadores associados demonstrando a importância do uso de um *cutoffs* adequados para a prática clínica.

Já Somigliana et al. (Somigliana, Vigano et al. 2004) utilizaram três marcadores, o CA 125, CA 19.9 e a IL-6, e encontraram uma sensibilidade de 42% com especificidade de 71%. Seeber et al. (Seeber, Sammel et al. 2008) utilizaram vários marcadores: interleucina-6, fator de necrose tumoral -alpha, macrophage migration inhibitory factor, macrophage chemotactic protein-1, interferon-gamma, leptina e CA-125 e suas análises utilizando diferentes marcadores encontrou uma sensibilidade de 49% até 100% dependendo do tipo e quantidade de marcadores utilizados.

Mais recentemente Mihalyi et al. (Mihalyi, Gevaert et al.) fez uma análise utilizando seis marcadores: interleukin (IL)-6, IL-8, tumour necrosis factor-alpha, high-sensitivity C-

reactive protein, CA-125 e CA-19-9 encontrando sensibilidade de 17% até 96,8 % dependendo dos marcadores utilizados bem como a fase do ciclo menstrual em que foram coletados.

Outro marcador que vem sendo estudado é a urocortina (Florio, Reis et al. 2007; Florio, Bruni et al. 2008). Ela é um peptídeo de 40 aminoácidos pertencente à família do hormônio liberador da corticotropina (CRH). A urocortina é expressada no endométrio humano sendo associada com várias funções na fisiologia endometrial e na endometriose. Recentemente autores demonstraram que os níveis de urocortina eram duas vezes maiores em pacientes com endometrioma em relação àquelas com cistos ovarianos. Para o diagnóstico de endometrioma esses autores determinaram uma sensibilidade de 88% e especificidade de 90%, por outro lado o CA-125 apresentou sensibilidade e especificidade de 65% (Florio, Bruni et al. 2008).

Florio et al (Florio, Reis et al. 2009) encontraram utilizando a dosagem sérica de folistatin níveis de sensibilidade melhores do que o CA 125 (92% x 44%) como marcador em pacientes com endometriose que apresentavam endometriomas .

Há uma procura por um marcador de endometriose principalmente para endometriose em estágios menores onde os sintomas são inespecíficos com menor alteração em exames de imagem e físico, pois simplificaria a conduta terapêutica e diminuiria o atraso no diagnóstico.

Utilização de métodos diagnósticos

Define-se como sensibilidade como a proporção de indivíduos com o fator em estudo, no caso doença, que têm um teste positivo, já especificidade é a proporção destes indivíduos sem a doença que têm um teste negativo (Richardson, Polashenski et al. 2003; Fletcher and Fletcher 2005).

A escolha por um teste altamente sensível, ou seja, um teste que é positivo na presença da doença precisa ser o escolhido quando as conseqüências de deixar um indivíduo com uma doença sem o diagnóstico são consideráveis. Um teste altamente sensível é muito útil quando

seu resultado é negativo, pois praticamente exclui a possibilidade da doença (Richardson, Polashenski et al. 2003; Fletcher and Fletcher 2005).

A escolha de um teste altamente específico é útil para confirmar o diagnóstico de resultados sugeridos por outros testes. O motivo disto é que o quanto utilizamos um teste altamente específico ele raramente é positivo na ausência de doença, produzindo poucos resultados falso positivos. Um teste específico é muito útil quando um resultado falso-positivo pode ser nocivo para o paciente seja emocionalmente, fisicamente ou financeiramente. Ao contrário do teste sensível, o teste altamente específico é muito útil quando seu resultado é positivo (Richardson, Polashenski et al. 2003; Fletcher and Fletcher 2005).

Quando queremos realizar um teste diagnóstico obviamente gostaríamos que este teste fosse ao mesmo tempo altamente sensível e específico. Infelizmente isso não é possível, pois em geral há um contrabalanço entre a sensibilidade e especificidade nos testes diagnósticos, sendo que o aumento de um resulta na queda do outro. Devido a isso existe a escolha arbitrária de um ponto de corte de acordo com a necessidade clínica com testes mais sensíveis ou específicos para cada situação. Essa escolha do ponto de corte pode ser efetuada a partir de uma escala contínua com valores de referência do teste a ser utilizado com sua sensibilidade e especificidade em cada ponto, sendo então realizada sua escolha de forma arbitrária de acordo com a doença e a necessidade (Fletcher and Fletcher 2005).

Outra maneira de escolha de um ponto de corte é através da curva ROC (*receiver operator characteristic*). Ela é construída por meio da representação gráfica da taxa de verdadeiro positivo (sensibilidade) contra a taxa de falso positivo (1-especificidade) ao longo de uma faixa de valores de possíveis pontos de corte. A acurácia geral de um teste pode ser descrita como a área sob a curva ROC, sendo que quanto maior for a área, melhor será o teste. Em geral, o melhor ponto de corte fica no “ombro” da curva ROC, ou seja, o ângulo na curva mais próxima no canto superior esquerdo (Fletcher and Fletcher 2005).

Justificativa

O aumento da prolactina em pacientes com endometrioses já foi relatado por inúmeros autores, entretanto refutado por alguns. O CA 125 é o marcador mais estudado e já comprovadamente associado a esta doença. Além disso, a busca por marcadores de endometriose que sejam de baixo custo e de fácil execução alimenta a esperança dos ginecologistas, pois diminuiria o atraso diagnóstico que se encontra ao redor de 8 anos. Dos marcadores estudados recentemente a PRL poderá ter, também, papel fundamental na patogênese da doença, uma vez que se associa a angiogênese de focos endometrióticos.

Com o objetivo de estabelecer uma forma menos invasiva de diagnóstico desta enfermidade, através de exames sorológicos (prolactina e CA 125), resolvemos avaliar os dois marcadores, sendo que primeiramente fazer a análise de prolactina como marcador de endometriose, confirmar seu aumento nesta doença, comparando com o marcador corrente o Ca 125 e após isso fazer a análise do uso conjunto destes dois marcadores como testes de rastreio para a endometriose calculando sua sensibilidade e especificidade para este fim e procurando o melhor ponto de corte para este fim no sentido de melhorar a acuidade diagnóstica. Não há estudos anteriores avaliando os dois marcadores juntos para o diagnóstico de endometriose.

Objetivo

Quantificar o nível sérico de prolactina e CA 125 em pacientes com endometriose (pacientes com infertilidade e endometrioses, pacientes com dor e endometriose) comparando com grupo controle (assintomáticas e sem endometriose).

Comparar o valor clínico da dosagem sérica de prolactina com o CA 125 para o diagnóstico de endometriose.

Avaliar se a combinação da dosagem sérica de prolactina com o Ca 125 pode ser um método acurado para o diagnóstico de endometriose comparada as avaliações isoladas de cada marcador.

Estabelecer um novo ponto de corte mais acurado dos marcadores prolactina e CA 125 no diagnóstico de endometriose.

Referências

- (1997). "Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996." Fertil Steril **67**(5): 817-21.
- Abrao, M. S., S. Podgaec, et al. (1997). "The use of biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis." Hum Reprod **12**(11): 2523-7.
- Abrao, M. S., S. Podgaec, et al. (1999). "Tumor markers in endometriosis." Int J Gynaecol Obstet **66**(1): 19-22.
- Agic, A., S. Djalali, et al. (2008). "Combination of CCR1 mRNA, MCP1, and CA125 measurements in peripheral blood as a diagnostic test for endometriosis." Reprod Sci **15**(9): 906-11.
- Ballard, K., K. Lowton, et al. (2006). "What's the delay? A qualitative study of women's experiences of reaching a diagnosis of endometriosis." Fertil Steril **86**(5): 1296-301.
- Bedaiwy, M. A., T. Falcone, et al. (2002). "Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial." Hum Reprod **17**(2): 426-31.
- Cunha-Filho, J. S., J. L. Gross, et al. (2003). "Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis." J Assist Reprod Genet **20**(3): 117-21.
- Cunha-Filho, J. S., J. L. Gross, et al. (2001). "Hyperprolactinemia and luteal insufficiency in infertile patients with mild and minimal endometriosis." Horm Metab Res **33**(4): 216-20.
- Cunha-Filho, J. S., J. L. Gross, et al. (2002). "Prolactin and growth hormone secretion after thyrotrophin-releasing hormone infusion and dopaminergic (DA2) blockade in infertile patients with minimal/mild endometriosis." Hum Reprod **17**(4): 960-5.
- Fairbanks, F., M. S. Abrao, et al. (2009). "Interleukin-12 but not interleukin-18 is associated with severe endometriosis." Fertil Steril **91**(2): 320-4.
- Fedele, L., S. Bianchi, et al. (1992). "Pain symptoms associated with endometriosis." Obstet Gynecol **79**(5 (Pt 1)): 767-9.
- Fletcher, R. H. and S. W. Fletcher (2005). Clinical epidemiology : the essentials. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins.
- Florio, P., L. Bruni, et al. (2008). "Evaluation of endometrial urocortin secretion for prediction of pregnancy after intrauterine insemination." Clin Chem **54**(2): 350-5.
- Florio, P., F. M. Reis, et al. (2009). "High serum follistatin levels in women with ovarian endometriosis." Hum Reprod **24**(10): 2600-6.
- Florio, P., F. M. Reis, et al. (2007). "Plasma urocortin levels in the diagnosis of ovarian endometriosis." Obstet Gynecol **110**(3): 594-600.
- Gagne, D., M. Rivard, et al. (2003). "Development of a nonsurgical diagnostic tool for endometriosis based on the detection of endometrial leukocyte subsets and serum CA-125 levels." Fertil Steril **80**(4): 876-85.
- Glitz, C., C. A. Souza, et al. (2009). "Peritoneal and serum interleukin-18 levels are not increased in women with minimum or mild endometriosis." Braz J Med Biol Res **42**(11): 1039-43.
- Gregoriou, G., P. Bakas, et al. (1999). "Evaluation of serum prolactin levels in patients with endometriosis and infertility." Gynecol Obstet Invest **48**(1): 48-51.
- Imura, H. (1985). The Pituitary gland. New York, Raven Press.
- Karasek, M., M. Pawlikowski, et al. (2006). "[Hyperprolactinemia: causes, diagnosis, and treatment]." Endokrynol Pol **57**(6): 656-62.
- Kitawaki, J., H. Ishihara, et al. (2005). "Usefulness and limits of CA-125 in diagnosis of endometriosis without associated ovarian endometriomas." Hum Reprod **20**(7): 1999-2003.
- Koninckx, P. R. (1994). "Is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women?" Hum Reprod **9**(12): 2202-5.

- Kurdoglu, Z., R. Gursoy, et al. (2009). "Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis." *Fertil Steril* **92**(5): 1761-3.
- Lima, A. P., M. D. Moura, et al. (2006). "Prolactin and cortisol levels in women with endometriosis." *Braz J Med Biol Res* **39**(8): 1121-7.
- Machida, T., M. Taga, et al. (1997). "Prolactin secretion in endometriotic patients." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **72**(1): 89-92.
- Maiorana, A., C. Cicerone, et al. (2007). "Evaluation of serum CA 125 levels in patients with pelvic pain related to endometriosis." *Int J Biol Markers* **22**(3): 200-2.
- Martinez, L. B., M. Z. Leyva, et al. (2002). "Prolactin receptor in human endometriotic tissues." *Acta Obstet Gynecol Scand* **81**(1): 5-10.
- Martinez, S., N. Garrido, et al. (2007). "Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis." *Hum Reprod* **22**(3): 836-42.
- Matalliotakis, I., D. Panidis, et al. (1996). "PRL, TSH and their response to the TRH test in patients with endometriosis before, during, and after treatment with danazol." *Gynecol Obstet Invest* **42**(3): 183-6.
- McNatty, K. P., R. S. Sawers, et al. (1974). "A possible role for prolactin in control of steroid secretion by the human Graafian follicle." *Nature* **250**(5468): 653-5.
- Mihalyi, A., O. Gevaert, et al. "Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers." *Hum Reprod* **25**(3): 654-64.
- Mingyuan, L., X. Yu, et al. (2000). "Preparation of anti-idiotypic antibodies specific for anti-HEL and analysis of their functional mimicry." *Chin Med Sci J* **15**(2): 124-6.
- Missmer, S. A. and D. W. Cramer (2003). "The epidemiology of endometriosis." *Obstet Gynecol Clin North Am* **30**(1): 1-19, vii.
- Mol, B. W., N. Bayram, et al. (1998). "The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis." *Fertil Steril* **70**(6): 1101-8.
- Muse, K., E. A. Wilson, et al. (1982). "Prolactin hyperstimulation in response to thyrotropin-releasing hormone in patients with endometriosis." *Fertil Steril* **38**(4): 419-22.
- Novella-Maestre, E., C. Carda, et al. (2009). "Dopamine agonist administration causes a reduction in endometrial implants through modulation of angiogenesis in experimentally induced endometriosis." *Hum Reprod* **24**(5): 1025-35.
- Olive, D. L. and L. B. Schwartz (1993). "Endometriosis." *N Engl J Med* **328**(24): 1759-69.
- Park, B. J., T. E. Kim, et al. (2009). "Massive peritoneal fluid and markedly elevated serum CA125 and CA19-9 levels associated with an ovarian endometrioma." *J Obstet Gynaecol Res* **35**(5): 935-9.
- Pizzo, A., F. M. Salmeri, et al. (2002). "Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis." *Gynecol Obstet Invest* **54**(2): 82-7.
- Pupo-Nogueira, A., R. M. de Oliveira, et al. (2007). "Vascular endothelial growth factor concentrations in the serum and peritoneal fluid of women with endometriosis." *Int J Gynaecol Obstet* **99**(1): 33-7.
- Reese, J., N. Binart, et al. (2000). "Implantation and decidualization defects in prolactin receptor (PRLR)-deficient mice are mediated by ovarian but not uterine PRLR." *Endocrinology* **141**(5): 1872-81.
- Richardson, W. S., W. A. Polashenski, et al. (2003). "Could our pretest probabilities become evidence based? A prospective survey of hospital practice." *J Gen Intern Med* **18**(3): 203-8.
- Seeber, B., M. D. Sammel, et al. (2008). "Panel of markers can accurately predict endometriosis in a subset of patients." *Fertil Steril* **89**(5): 1073-81.
- Shimoya, K., A. Moriyama, et al. (2000). "Increased concentrations of secretory leukocyte protease inhibitor in peritoneal fluid of women with endometriosis." *Mol Hum Reprod* **6**(9): 829-34.
- Somigliana, E., P. Viganò, et al. (2004). "Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions." *Hum Reprod* **19**(8): 1871-6.

- Tyson, J. E., P. Hwang, et al. (1972). "Studies of prolactin secretion in human pregnancy." Am J Obstet Gynecol **113**(1): 14-20.
- Vercellini, P., L. Trespidi, et al. (1996). "Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization." Fertil Steril **65**(2): 299-304.
- Wang, H., N. Gorpudolo, et al. (2009). "The role of prolactin- and endometriosis-associated infertility." Obstet Gynecol Surv **64**(8): 542-7.
- Zondervan, K. T., P. L. Yudkin, et al. (1999). "Prevalence and incidence of chronic pelvic pain in primary care: evidence from a national general practice database." Br J Obstet Gynaecol **106**(11): 1149-55.

Artigo

Este artigo foi submetido à revista Human Reproduction

Evaluation of serum prolactin and CA-125 levels as biomarkers for diagnosis of endometriosis

Autores: João Paulo Bilibio, Carlos Augusto Bastos de Souza, Gustavo Peretti Rodini, Vanessa Krebs Genro, Emily de Conto, João Sabino Lahorgue da Cunha-Filho

Abstract

Background: There is an effort to find a non-invasive method for diagnosis of endometriosis with adequate sensitivity and specificity, such as peripheral biomarkers, mainly due to the diagnosis delay. The aim of this study was to evaluate serum prolactin and CA-125 levels as plasma biomarkers for the diagnosis of endometriosis.

Methods: This prospective cross-sectional study was performed in University hospital. Prolactin and CA-125 levels were measured in 97 patients. Sixty-three women submitted to laparoscopy as part of an infertility or pain investigation (study group) with endometriosis. In addition, 34 fertile patients submitted to laparoscopy for tubal ligation (control group) without endometriosis. Blood samples were obtained from patients during the secretory phase before the video laparoscopy. The levels of prolactin and CA-125 in peripheral blood were determined by enzyme immunoassay and compared between groups.

Result(s): Plasma levels of prolactin and CA-125 were increased in all women with endometriosis including those with pain, infertility, and minimal-mild or moderate-severe endometriosis as compared with controls. The sensitivity and specificity of endometriosis diagnosis were equal for prolactin (sensitivity 21% and specificity 99%) and CA-125 (sensitivity 27% and specificity 97%). Using these two markers, the sensitivity and specificity were 44% and 99 %, respectively, with the usual cutoffs: 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for CA-125. However, by utilizing the best cutoffs (the best sensitivity for specificity greater than 90% for each one: for prolactin 14.8 ng/ml and for CA-125 19.8 U/I), sensitivity was 77% and specificity was 88%, respectively.

Conclusion(s): Prolactin is an equally effective biomarker for the diagnosis of endometriosis as CA-125; alone, these two markers have lowered sensitivity. However, we showed for the first

time that the use of these two markers together, especially when using adequate cutoffs (prolactin 14.8 ng/ml and CA-125 19.8 U/I), allows the diagnosis of endometriosis with adequate and acceptable sensitivity and specificity.

Keywords: Endometriosis, Infertility, prolactin, CA-125, plasma biomarkers, non-invasive diagnosis

Introduction

At the present moment, the gold standard for diagnosis of endometriosis is laparoscopic inspection (Kennedy, Bergqvist et al. 2005). All other techniques, including imaging, are failing to diagnose or stage disease. The symptoms are often non-specific as they may mimic those associated with other chronic pain disorders. As a result, women can suffer for eight- to twelve-years before obtaining a diagnosis and correct treatment (Hadfield, Mardon et al. 1996; Arruda, Petta et al. 2003). Because of this, there is an effort to find a less invasive method for diagnosing that would have a groundbreaking impact on the patients' quality of life, on efficacy of available treatments as well as on the cost of treating endometriosis. Several markers are being studied based on the fact that endometriosis induces a local, and likely a systemic, inflammatory and hormonal process in peritoneal fluid and serum of these women (May, Conduit-Hulbert et al.). Amongst them, CA-125 continues to be the most important marker compared or associated with other markers such as CA 19-9 (Abrao, Podgaec et al. 1999; Kurdoglu, GURSOY et al. 2009; Park, Kim et al. 2009), anti-cardiolipin antibodies (Fairbanks, Abrao et al. 2009), interleukin (IL)-6 (Shimoya, Moriyama et al. 2000; Bedaiwy, Falcone et al. 2002), IL-8 (Pizzo, Salmeri et al. 2002; Glitz, Souza et al. 2009), IL-12 (Fairbanks, Abrao et al. 2009), follistatin (Florio, Reis et al. 2009), urocortin (Florio, Reis et al. 2007), vascular endothelial growth factor (Pupo-Nogueira, de Oliveira et al. 2007) and panel of markers (Mihalyi, Gevaert et al.; Gagne, Rivard et al. 2003; Somigliana, Vigano et al. 2004; Martinez, Garrido et al. 2007; Agic, Djalali et al. 2008; Seeber, Sammel et al. 2008), among others.

The levels of CA-125 were correlated with both the presence and the extent of endometriosis. The specificities of CA-125 have been described around 80% in the majority of the studies, however the level of sensitivity (20-50%) imposes limitations to the clinical use of this test for endometriosis diagnosis. Serum CA-125 levels may be elevated in endometriosis; however, compared to laparoscopy measuring serum CA-125 levels had no value as a

diagnostic tool. After all, the conclusion of researchers is that preoperative and postoperative values of this marker could be used to guide therapy but it is not sensitive or specific enough to be used alone as a diagnostic test (Mol, Bayram et al. 1998).

Infertile women with endometriosis exhibit latent hyperprolactinemia which is more evident in infertile women who fail to become pregnant after several therapeutic schemes (Wang, Gorpudolo et al. 2009). This conclusion is based on studies that reported significantly elevated prolactin levels in infertile patients with endometriosis (Acien, Lloret et al. 1989; He 1993; Gregoriou, Bakas et al. 1999; Cunha-Filho, Gross et al. 2001; Lima, Moura et al. 2006). One of these studies has documented a correlation between the stages of endometriosis and the levels of prolactin secretion (Muse, Wilson et al. 1982), suggesting that prolactin is correlated with endometriosis stage. In addition to this finding, prolactin was found increased in early stages of endometriosis.(Cunha-Filho, Gross et al. 2001). One study showed that the 8 am decline in prolactin levels (seen in healthy women) failed to occur in women with endometriosis (Radwanska, Henig et al. 1987). However, others (Brosens et al (Brosens, Koninckx et al. 1978), Matorras et al (Matorras, Rodriguez et al. 1996), Arumigan et al (Arumugam 1991) and Matalliotakis et al (Matalliotakis, Panidis et al. 1996)) did not find a significant difference between the groups in basal prolactin levels.

Prolactin is also a powerful angiogenic inducer; it exerts a pro-angiogenic effect through blood vessel receptors (Reese, Binart et al. 2000). The use of a dopamine agonist caused a reduction in endometrial implants suggesting that the reduction in prolactin levels may constitute a parallel mechanism in angiogenesis of these endometrial implants (Novella-Maestre, Carda et al. 2009).

Thus, the present study had three aims: (1) comparison of the serum prolactin and CA-125 levels in fertile women with and without endometriosis, (2) comparison of the clinical value of prolactin versus CA-125 for the diagnosis of endometriosis, and (3) evaluation of whether the combined analysis of prolactin and CA125 can be accurate for the diagnosis of endometriosis.

Materials and methods

Design

A prospective cross-sectional study was performed.

Patients

Patients were selected from among the women at the Gynecological Clinic at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. All of the study participants were informed about the procedures and signed a consent form. The research project was approved by the Ethics Committee of the hospital.

A total of 97 patients were analysed, and they were divided into two groups:

Group 1 included 34 fertile patients without endometriosis and without pain or infertile patients who were submitted to laparoscopy for tubal ligation (control group).

Group 2 included 63 infertile patients with a diagnosis of any stage of endometriosis with normal results in other infertility tests, who were having laparoscopy surgery for infertility investigation (endometriosis with infertility) and patients with endometriosis, in any stage, who were having laparoscopy surgery for pain investigation (endometriosis with pain).

Infertility was defined, according to the American Society of Reproductive Medicine, as the absence of pregnancy after one year of regular sexual intercourse without any contraception method (1997).

We have excluded patients with previous endocrine disorders, patients who were using drugs that could affect the parameters of the tests employed, patients whose infertility or pain was not caused by endometriosis and patients with irregular menstrual cycles.

Endometriosis was graded according to the classification system of the American Society for Reproductive Medicine (1985) and the endoscopic procedure was carried out in all cases by the same investigator (J.P.B).

Measurements

Hormonal assessment was carried out by measuring serum levels of prolactin and CA-125 during the secretory phase of the menstrual cycle (prior to the surgery). The prolactin measurements were done in a pool of three samples. Prolactin was analysed using chemiluminescence Kits (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim Indianapolis USA). The largest inter- and intra-kit variation was 2.0% and 1.7%, respectively. CA-125 was analysed with Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim Indianapolis USA. The largest inter- and intra-kit variation was 1.8% and 1.6%, respectively.

Statistical analysis

Data were tested for normality using the Kolmogorov-Smirnov test. Parametric (mean and standard deviation – SD) were calculated for each quantitative variable. Statistical comparisons between the groups were performed by one-way analysis of variance (ANOVA). If a significant overall difference was found, the post hoc Tukey T3 was computed for multiple comparisons. Non-parametric (median, confidence intervals - CI) were calculated. The Mann-Witney test was used for two variables and the Kruskal-Wallis test was used for more than two variables. If a significant overall difference was found, the Bonferroni test was used for multiple comparisons using the ‘Analyse-it’ software. The chi-square test for 2x2 tables was realised for qualitative variables.

Statistical significance was set at $P < 0.05$. The statistical tests were carried out using SPSS 14 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., USA) or the ‘Analyse-it’ software package for Microsoft Excel®.

Receiver operating characteristic (ROC) curves were obtained with their respective areas under the curves and 95% confidence intervals and compared by the method of Hanley and McNeil using ‘Analyse-it’. The operating point on the ROC was chosen by maximizing the sum of the sensitivity and specificity with the following constraints: best sensitivity for specificity >90% and best specificity for sensitivity >70%. Specificity, positive and negative

predictive value (calculate based in pre test probability: 0.10) and positive and negative likelihood ratio were determined after choosing an operating point sensitivity using these best points, the usual cutoff and the two associated markers (using the usual cutoff and the best cutoff for specificity >90%).

Results

A total of 97 patients were enrolled in this study in two groups; a control group (n= 34) and a study group (n= 63) that included patients with endometriosis (endometriosis group). The study group included infertile patients with an endometriosis diagnosis in any stage and with normal results in other infertility tests that underwent laparoscopy surgery for infertility investigation (endometriosis with infertility) or patients with endometriosis diagnosis in any stage that underwent laparoscopy surgery for pain investigation (endometriosis with pain).

The demographic data are presented in TABLE I. The mean age and body-mass index (BMI) were similar for all groups. The clinical pregnancy mean was higher in the Control group (4.30 ± 1.94) than the others (endometriosis with infertility group and endometriosis with pain group). A comparison of the groups with endometriosis (infertility and pain) showed the mean of pregnancy was higher in the pain group (1.60 ± 1.43) than the infertility group (0.47 ± 1.36) $P=0.01$. Patients with children represented 12.5% of the infertility group and 80% of the pain group ($P<0.00$), and 100% in the control group.

TABLE I
Demographic characteristics (mean±SD)

Parameter	Control group <i>N</i> = 34	Endometriosis with infertility group <i>N</i> = 32	Endometriosis with pain group <i>N</i> = 31	<i>P</i> value ¹
Age (years)	33.03±4.42	33.34±4.66	33.67±7.16	<i>NS</i>
BMI (kg/m ²)	26.28±4.21	25.70±4.82	25.40±4.48	<i>NS</i>
Pregnancy (N)	4.30±1.94 ^{ab}	0,47±1,36 ^{ac}	1,60±1.43 ^{bc}	^a 0.000 ^b 0.000 ^c 0.013
Children (%)	100.0%	12,5% ^c	80% ^c	^c 0.000

¹anova, tunnett T3 or qui-square utilised

Control versus women with endometriosis (including all stages)

The median plasma levels of Prolactin and CA-125 were significantly higher in women with endometriosis [13.99 (CI 12.10-15.40) and 20.00 (CI 16.20-27.20), respectively] compared with controls [9.37 (CI 6.91-11.60) and 13.55 (CI 10.70-16.80), respectively] *P*=0.000 (Fig. I and Fig. II, respectively).

The area under the ROC curve for prolactin is 0.761 and for CA-125 is 0.721, both of which are able to discriminate women with endometriosis (*P*<0.00), but neither is better than the other (*P*=0.58, as assessed by ROC curve analyses) (Fig III).

The sensitivity and specificity were 21% and 99% for prolactin (cut of 20 ng/ml) and 27% and 97% for CA-125 (cut of 35 U/I), respectively. When we used the best cut where the best sensitivity for specificity was greater than 90% we found that sensitivity and specificity were 45% and 99% for prolactin (cut of 14.80 ng/ml) and 51% and 91% for CA-125 (cut of 19.80 U/I), respectively. When we set the best specificity for sensitivity at greater than 70% we found that sensitivity and specificity were 70% and 68% for prolactin (cut of 11.00 ng/ml) and 71% and 50% for CA-125 (cut of 13.60 U/I), respectively (TABLE II).

When we used the two markers together for diagnosis of endometriosis, the sensitivity was 44% and the specificity was 97% using a cutoff of 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for CA-125. Using a cutoff for prolactin of 14.80 ng/ml and a cutoff of 19.80 for CA-125, the sensitivity was 77% and the specificity was 88% (TABLE II).

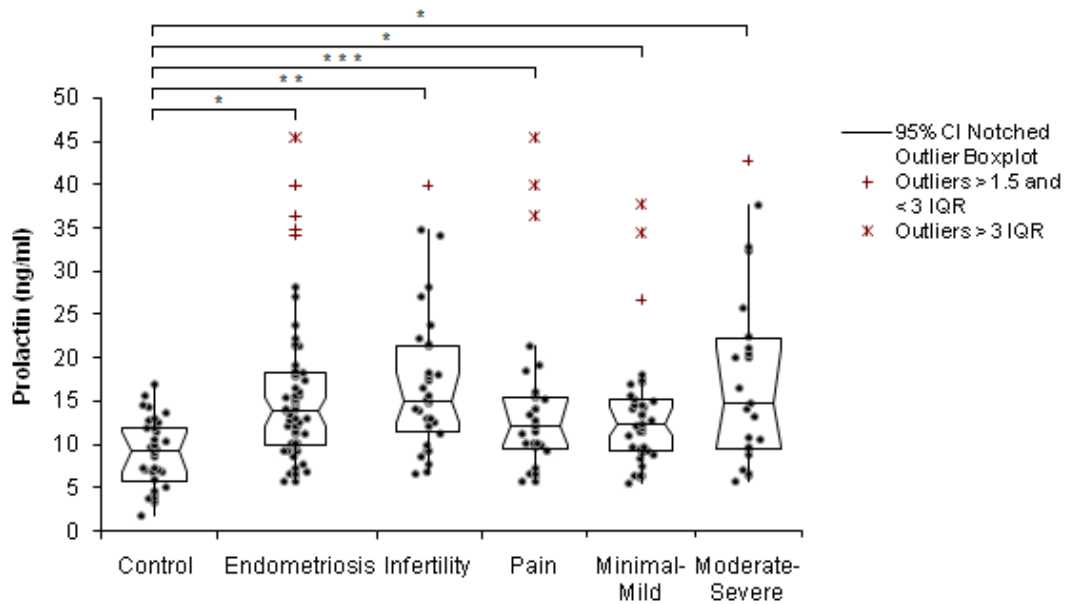


Figure I The prolactin median in women with endometriosis n=63 (all cases), infertility with endometriosis n=32, pain with endometriosis n=31, minimal-mild n=40 and moderate-severe endometriosis n=23 as compared with controls n=34. *P<0.000, **P<0.001, ***P<0.007

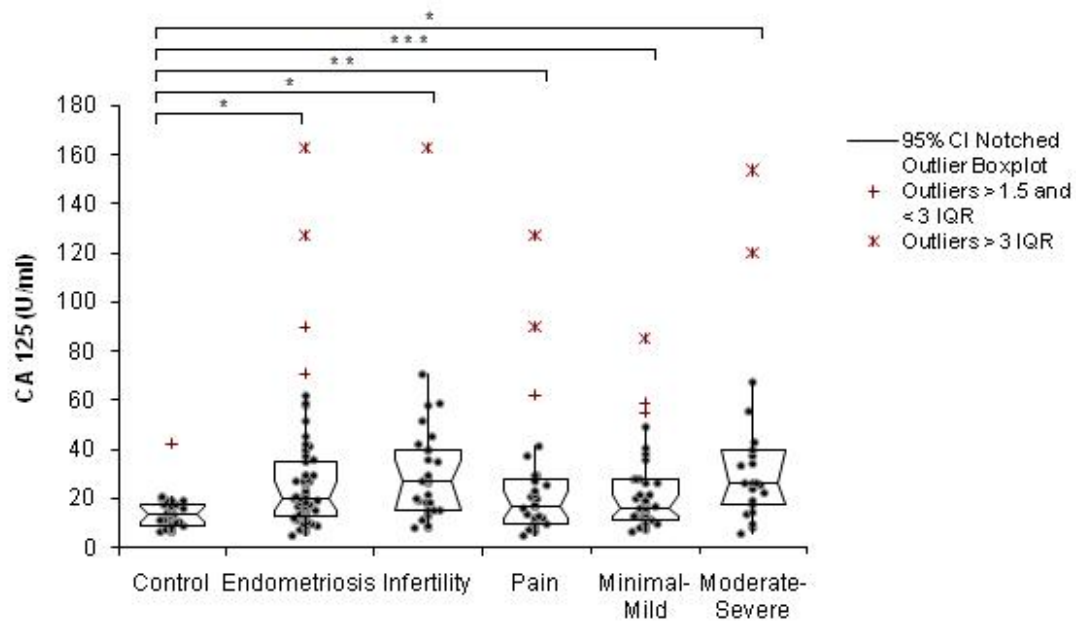


Figure II The CA-125 median in women with endometriosis n=63 (all cases), infertility with endometriosis n=32, pain with endometriosis n=31, minimal-mild n=40 and moderate-severe endometriosis n=23 as compared with controls n=34. *P<0.000, **P<0.045, ***P<0.018

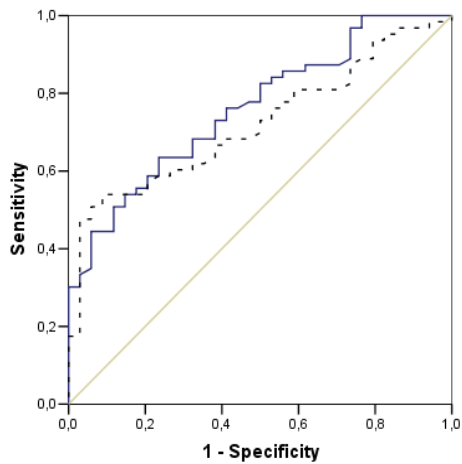


Figure III ROC curves of Prolactin (line) and CA-125 (dotted) for the diagnosis of endometriosis (area under ROC curve 0.827 and 0.796, respectively)

Control versus women with infertility and endometriosis (including all stages)

The median plasma levels of Prolactin and CA-125 were significantly higher in women with infertility and endometriosis [15.10 (CI 12.60-18.30) and 26.95 (CI 15.50-35.70), respectively] as compared with controls [9.37 (CI 6.91-11.60) and 13.55 (CI 10.70-16.80), respectively] $P < 0.001$ (Fig. I and Fig. II, respectively).

The area under the ROC curve for prolactin is 0.827 and 0.796 for CA-125, both of which are accurate to discriminate women with endometriosis ($p < 0.001$). ;however, neither is better than the other ($P 0.68$, as assessed by ROC curve analyses; Fig IV).

The sensitivity and specificity were 28% and 97% for prolactin (cut of 20 ng/ml) and 34% and 97% for CA-125 (cut of 35 U/I), respectively. When we set the best sensitivity for specificity at greater than 90%, we found that sensitivity and specificity were 56% and 94% for prolactin (cut of 14.80 ng/ml) and 59% and 91% for CA-125 (cut of 19.80 U/I), respectively. When we set the best specificity for sensitivity at greater than 70%, we found that sensitivity and specificity were 72% and 59% for prolactin (cut of 12.60 ng/ml) and 71% and 62% for CA-125 (cut of 15.50 U/I), respectively (TABLE II).

When we used the two markers together for diagnosis of endometriosis, the sensitivity was 53% and the specificity was 99% when using a cutoff of 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for CA-125. Using a cutoff for prolactin of 14.80 ng/ml and 19.80 for CA-125, the sensitivity was 81% and the specificity was 88% (TABLE II).

Control versus women with pain and endometriosis (including all stages)

The median plasma levels of Prolactin and CA-125 were significantly higher in women with pain and endometriosis [12.10 (CI 10.04-15.36) and 16.90 (CI 11.90-25.30), respectively] as compared with controls [9.37 (CI 6.91-11.60) and 13.55 (CI 10.70-16.80), respectively] $P < 0.007$ and $P < 0.045$. (Fig. I and Fig. II, respectively).

The area under the ROC curve for prolactin is 0.693 and 0.643 for CA-125, both of which are accurate to discriminate women with endometriosis ($P<0.05$). However, neither is better than the other ($P=0.60$, as assessed by ROC curve analyses; Fig. IV).

The sensitivity and specificity was 16% and 99% for prolactin (cut of 20 ng/ml) and 19% and 97% for CA-125 (cut of 35 U/I), respectively. When we used the best cutoff where the best sensitivity for specificity was greater than 90% we found that sensitivity and specificity were 32% and 91% for prolactin (cut of 14.80 ng/ml) and 45% and 91% for CA-125 (cut of 19.80 U/I), respectively. When we set the best specificity for sensitivity at greater than 70%, we found that sensitivity and specificity were 71% and 59% for prolactin (cut of 10.04 ng/ml) and 71% and 41% for CA-125 (cut of 11.90 U/I), respectively (TABLE II).

When using the two markers together for diagnosis of endometriosis, the sensitivity was 26% and the specificity 99% when using a cutoff of 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for CA-125. Using a cutoff for prolactin of 14.80 ng/ml and 19.80 for CA-125 the sensitivity was 65% and the specificity was 88% (TABLE II).

Control versus women with minimal mild endometriosis

The plasma levels of Prolactin and CA-125 were significantly higher in women with stage I and II endometriosis [13.05 (CI 11.50-15.20) and 16.90 (CI 13.20-22.00), respectively] as compared with controls [9.37 (CI 6.91-11.60) and 13.55 (CI 10.70-16.80), respectively; $P<0.000$ and $P<0.018$]. (Fig. I and Fig. II, respectively).

The area under the ROC curve for prolactin is 0.749 and 0.661 for CA-125, both of which are accurate to discriminate women with minimal and moderate ($P<0.02$) endometriosis. However, neither is better than the other ($P=0.28$ respectively, as assessed by ROC curve analyses; Fig IV).

The sensitivity and specificity was 10% and 99% for prolactin (cut of 20 ng/ml) and 18% and 97% for CA-125 (cut of 35 U/I), respectively. When we used the best cut where the best sensitivity for specificity was greater than 90%, we found that sensitivity and specificity

was 38% and 94% for prolactin (cut of 14.80 ng/ml) and 43% and 91% for CA-125 (cut of 19.60 U/I), respectively. When we set the best specificity for sensitivity at greater than 70%, we found that sensitivity and specificity were 70% and 62% for prolactin (cut of 10.30 ng/ml) and 70% and 47% for CA-125 (cut of 13.10 U/I), respectively (TABLE II).

When we used the two markers together for diagnosis of endometriosis, the sensitivity was 25% and the specificity was 98% when using a cutoff of 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for CA-125. When using a cutoff for prolactin of 14.80 ng/ml and a cutoff of 19.80 for CA-125 the sensitivity was 65% and the specificity was 88% (TABLE II).

Control versus women with moderate-severe endometriosis

The plasma levels of Prolactin and CA125 were significantly higher in women with stage III and IV endometriosis [15.60 (CI 10.20-22.40) and 27.50 (CI 19.70-41.70), respectively] as compared with controls [9.37 (CI 6.91-11.60) and 13.55 (CI 10.70-16.80) respectively; $P < 0.000$; Fig. I and Fig. II, respectively].

The area under the ROC curve for prolactin is 0.782 and 0.825 for CA-125 both of which are accurate to discriminate women with minimal and moderate ($P < 0.00$) endometriosis, but neither is better than the other (P 0.39 respectively, as assessed by ROC curve analyses; Fig IV).

The sensitivity and specificity was 43% and 98% for prolactin (cut of 20 ng/ml) and 48% and 97% for CA-125 (cut of 35 U/I), respectively. When we used the best cut where the best sensitivity for specificity was greater than 90% we found that sensitivity and specificity were 57% and 91% for prolactin (cut of 14.80 ng/ml) and 76% and 91% for CA-125 (cut of 19.80 U/I), respectively. When we set the best specificity for sensitivity at greater than 70% we found that sensitivity and specificity were 71% and 68% for prolactin (cut of 11.20 ng/ml) and 71% and 97% for CA-125 (cut of 23.60 U/I), respectively (TABLE II).

When we used the two markers together for diagnosis of endometriosis, the sensitivity was 76% and the specificity was 98% using a cutoff of 20.0 ng/ml for prolactin and 35 U/I for

CA-125. Using a cutoff for prolactin of 14.80 ng/ml and 19.80 for CA-125 the sensitivity was 91% and the specificity was 88% (TABLE II).

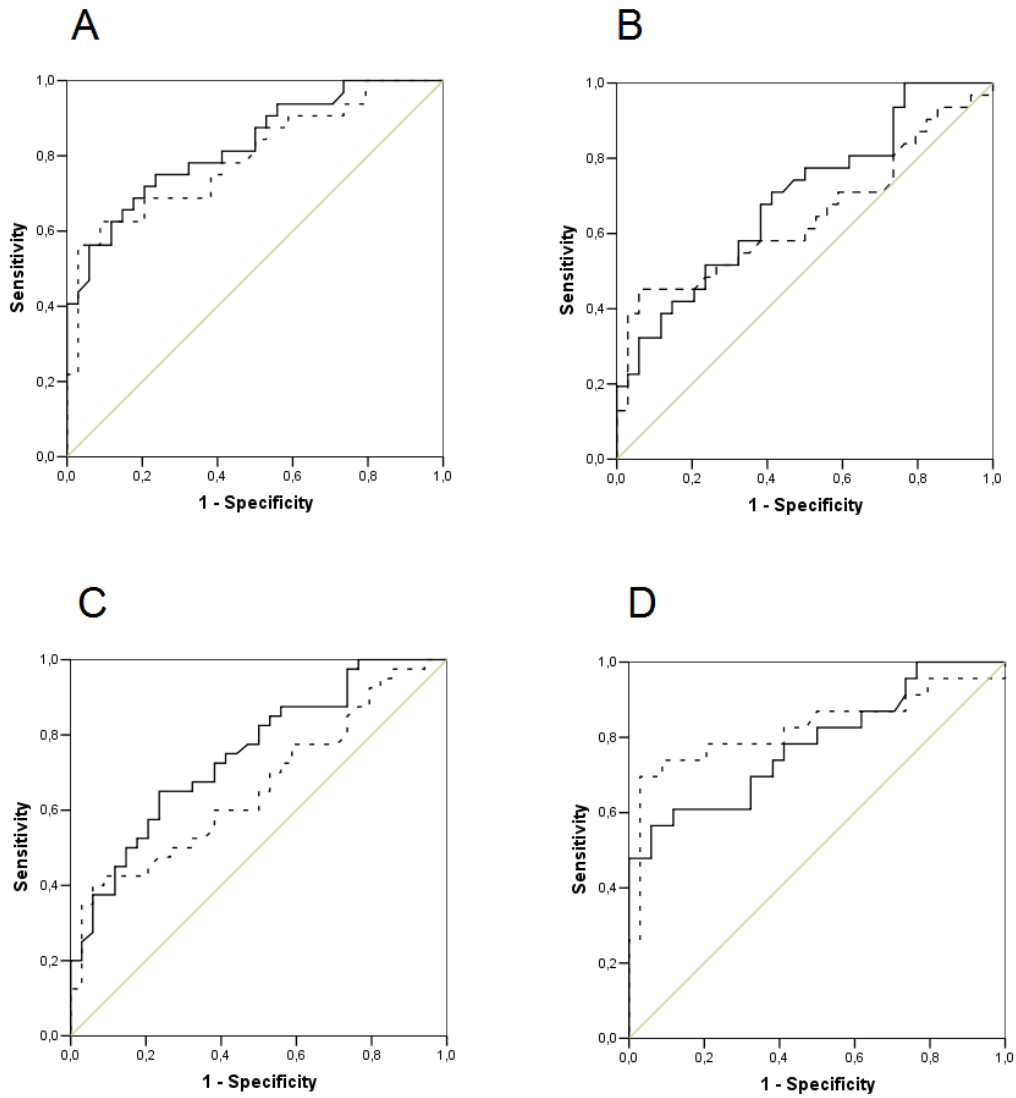


Figure IV: ROC curves of Prolactin (line) and CA125 (dotted) for the diagnosis of endometriosis with infertility (A; area under ROC 0.827 and 0.796 respectively); endometriosis with pain (B; area under ROC curve 0.693 and 0.643); stage I and II endometriosis (C; area under ROC curve 0.749 and 0.667, respectively) and stage III and IV endometriosis (D; area under ROC curve 0.782 and 0.825 respectively)

TABLE II

Cutoff, Sensitivity, specificity, PV and LR for serum prolactin and CA-125 in the diagnosis of endometriosis

Stage	Selected proteins	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV ^e	NPV	LR+	LR-
Ctrl versus All	PRL	20.0	21	99	0.53	0.93	10.25	0.79
		14.8 ^a	45	94	0.46	0.94	7.56	0.59
		11.0 ^b	70	68	0.19	0.95	2.02	0.44
	Ca-125	35.0	27	97	0.51	0.92	9.17	0.75
		19.8 ^a	51	91	0.39	0.94	5.76	0.54
		13.6 ^b	71	50	0.14	0.94	1.43	0.57
PRL + Ca-125	20.0 ^c +35.0 ^d	44	97	0.61	0.48	14.03	0.59	
	14.8 ^{ac} +19.8 ^{ad}	77	88	0.41	0.97	6.21	0.31	
Ctrl versus infertility	PRL	20.0	28	97	0.52	0.92	13.81	0.72
		14.8 ^a	56	94	0.52	0.95	9.56	0.46
		12.6 ^b	72	59	0.28	0.96	3.49	0.35
	Ca-125	35.0	34	97	0.57	0.93	11.69	0.68
		19.8 ^a	59	91	0.42	0.95	6.38	0.48
		15.5 ^b	71	62	0.17	0.95	1.88	0.46
PRL, Ca-125	20.0 ^c +35.0 ^d	53	99	0.70	0.95	18.06	0.47	
	14.8 ^{ac} +19.8 ^{ad}	81	88	0.43	0.98	6.91	0.21	
Ctrl versus pain	PRL	20.0	16	99	0.44	0.92	6.58	0.84
		14.8 ^a	32	91	0.38	0.92	3.66	0.74
		10.04 ^b	71	59	0.16	0.95	1.72	0.49
	Ca-125	35.0	19	97	0.42	0.92	6.58	0.83
		19.8 ^a	45	91	0.36	0.94	5.12	0.60
		11.9 ^b	71	41	0.12	0.93	1.21	0.71
PRL, Ca-125	20.0 ^c +35.0 ^d	26	99	0.52	0.93	9.87	0.73	
	14.8 ^{ac} +19.8 ^{ad}	65	88	0.38	0.96	5.48	0.40	
Ctrl versus I, II	PRL	20.0	10	99	0.43	0.82	6.80	0.90
		14.8 ^a	38	94	0.42	0.93	6.38	0.66
		10.3 ^b	70	62	0.17	0.94	1.83	0.49
	Ca-125	35.0	18	97	0.41	0.92	5.95	0.85
		19.6 ^a	43	91	0.40	0.94	4.53	0.63
		13.1 ^b	70	47	0.13	0.93	1.32	0.64
PRL, Ca-125	20.0 ^c +35.0 ^d	25	98	0.50	0.92	8.50	0.77	
	14.8 ^{ac} +19.8 ^{ad}	65	88	0.38	0.95	5.53	0.40	
Ctrl versus III IV	PRL	20.0	43	98	0.64	0.94	16.19	0.57
		14.8 ^a	57	91	0.42	0.95	6.48	0.47
		11.2 ^b	71	68	0.20	0.95	2.21	0.42
	Ca-125	35.0	48	97	0.65	0.94	16.19	0.54
		19.8 ^a	76	91	0.49	0.97	8.60	0.26
		23.6 ^b	71	97	0.73	0.97	24.29	0.29
PRL, Ca-125	20.0 ^c +35.0 ^d	76	98	0.79	0.97	25.90	0.25	
	14.8 ^{ac} +19.8 ^{ad}	91	88	0.46	0.99	7.69	0.11	

^aThe operating point on the ROC was chosen by maximizing the sum of the sensitivity and specificity in all cases with the following constraints: best sensitivity for specificity >90%

^bThe operating point on the ROC was chosen by maximizing the sum of the sensitivity and specificity in all with the following constraints: best specificity for sensitivity > 70%

^c Prolactin cutoff

^d CA-125 cutoff

^e Calculate based in pre test probability: 0.10

Discussion

There is an effort to find a non-invasive method for diagnosis of endometriosis with adequate sensitivity and specificity, such as peripheral biomarkers (May, Conduit-Hulbert et al.), mainly due to the diagnosis delay of 8 to 12 years (Hadfield, Mardon et al. 1996; Arruda, Petta et al. 2003). We found that using two markers with easy execution and small costs (prolactin and CA-125) changes the cutoff with objective if we adjust these markers to endometriosis using the best points of the ROC curve. We set the best points of CA-125 and prolactin to have a specificity greater than 90% (cutoff of CA-125 of 19.9 U/I and prolactin of 14.8 ng/ml) and found sensitivity and specificity as follows: 77% and 88% for all cases of endometriosis, 81% and 88% for infertility patients, 91% and 88% for stage III endometriosis and IV endometriosis, 65% and 88% for stage I endometriosis and II endometriosis and 65% and 88% for pain patients, respectively.

The association of these two markers as a non-invasive diagnostic test for endometriosis is promising. Using the usual cutoffs (35 U/I for CA125 and 20 ng/ml for prolactin), we get a sensitivity of 44% and a specificity of 97%, values obviously still below the ideal for a diagnostic test. Xavier et al. have already highlighted the importance of choosing the correct threshold for a putative biomarker. These authors calculated cut-off values using ROC curves to identify the level at which most women were correctly diagnosed and found a value of 22.6 IU/ml for CA125. Also, Kitawaki et al. suggests that for the diagnosis of endometriosis without endometriomas, two new cutoff values for CA-125 (20 and 30 U/mL) could be provided to improve diagnostic performance (Kitawaki, Ishihara et al. 2005). The results of our analysis may lead to the creation of a panel of markers for endometriosis where new cutoffs must be evaluated, especially for markers such as CA-125 and prolactin which have easy execution and low costs.

Our data has confirmed that there is an elevated serum level of prolactin in patients with endometriosis confirming previous studies. Also, other previous study made for us found the

presence of hyperprolactinemia in about 30% of patients with stages I and II endometriosis (Muse, Wilson et al. 1982; Gregoriou, Bakas et al. 1999; Cunha-Filho, Gross et al. 2001; Lima, Moura et al. 2006; Wang, Gorpudolo et al. 2009). In our analysis we also confirmed that the levels increase with the higher stages of endometriosis, confirming a previous study that found 12.5, 16.6, 19.5 and 28.5 ng/ml serum prolactin levels in stage I, II, III and IV, respectively (Gregoriou, Bakas et al. 1999). Another important result is that the increase also occurs in the group with pain and endometriosis (group of patients with complaints of pain due to endometriosis, but without complaints of infertility).

The sensitivity and specificity of CA-125 for diagnosis of endometriosis were 27% and 97%, respectively, with levels being higher (48% and 97%) for elevated stages (III and IV). Our results are similar to the meta-analysis published over 10 years ago, which found that CA125 may be more beneficial in diagnosing elevated stages than early stages (Mol, Bayram et al. 1998). Recent studies that look at markers for endometriosis confirm these correlations between high CA-125 levels and endometriosis and found similar sensitivity to Somigliana et al. who found 27% for all stages and 47% for stages III and IV (Somigliana, Vigano et al. 2004; Maiorana, Cicerone et al. 2007; Martinez, Garrido et al. 2007; Agic, Djalali et al. 2008; Seeber, Sammel et al. 2008). However, less was found for Mihalyi et al. who reported a sensitivity of 65.1% and a specificity of 71.1%. However, these researchers used a logistic regression model performance for analysis which was different from the other studies (Mihalyi, Gevaert et al.).

Prolactin had a similar sensitivity to CA-125 for endometriosis diagnosis, presenting a sensitivity and specificity of 21 and 99% for all stages and 43% and 98% for the combined stages III and IV, respectively. Previous studies regarding sensitivity and specificity of prolactin for endometriosis do not exist. Using the ROC curves in the comparison between prolactin and CA-125, we noticed that the area under the ROC curve was higher for prolactin than CA-125 in all the groups, except for the group of endometriosis III and IV, confirming that there is a marked increase of CA125 in advanced stages of endometriosis. However, although the area

under the ROC curve tends to be higher in general for prolactin than CA-125, the comparison among all groups showed that both are equivalent for the endometriosis diagnosis.

We confirm the fact that CA-125 alone is a bad marker for endometriosis because its sensitivity is very low, a basic necessity for a diagnostic test (Kennedy, Bergqvist et al. 2005). Because of this, we used the ROC curve to determine a cutoff with high sensitivity for this objective. However, we found the specificity is very low at this point (sensitivity > 70%). Next, we used the cutoff point with best sensitivity for specificity greater than 90% which provided interesting results. These same considerations serve for prolactin. Both prolactin and CA-125 are increased in endometriosis with an increase with higher stages of endometriosis which was higher in the infertility group than the pain group.

This is the first study that tested the use of prolactin as a marker of endometriosis; some previous studies demonstrated this association, but none with this approach. The studied population was from the same demographic area with similar and homogeneous population characteristics. The plasma samples were collected in the secretory phase of the menstrual cycle which is the best time for these tests to be conducted in endometriosis (Mihalyi, Gevaert et al.). We followed all criteria used in a recent review of peripheral biomarkers of endometriosis (May, Conduit-Hulbert et al.). We demonstrate that prolactin, beyond being associated with endometriosis, can serve as coadjutant marker; therefore, possessing a similar sensitivity to CA-125 the marker currently used. The number of patients in our study is similar to the average of the recent studies that investigated markers for endometriosis where the majority had presented a number between 50 and 150 (May, Conduit-Hulbert et al.; Bedaiwy, Falcone et al. 2002; Somigliana, Vigano et al. 2004; Martinez, Garrido et al. 2007; Agic, Djalali et al. 2008; Seeber, Sammel et al. 2008).

A possible limitation of our study is the heterogeneity of the clinical presentation of endometriosis with patients possessing pain and infertility. In addition, our groups did not have patients with endometriosis without symptoms. Another factor to be explored is the role of these

markers with deep illness since in these cases the predictive value pre-test is raised. There are new and promising markers (IL-6 and follistatin) that also must be combined and placed in comparison with PRL and CA-125 for adjusting the cutoff for endometriosis.

An important analysis carried through by this study is the search for a cutoff specifically for endometriosis, because the current values had not been defined for this intention. Our analysis had an increase in the sensitivity of the method without losing the specificity suggesting that the cutoff for endometriosis is not the same as that for hyperprolactinemia or ovarian tumors. We believe that these new values can be useful and must be confirmed with other studies.

In addition, we saw that we can modify the cutoff for higher sensitivity of diagnosis of endometriosis without modifying the specificity, probably because the current values had not been defined for this intention. The question that remains is which would be the role of prolactin in the pathophysiology of endometriosis. Prolactin has been given special attention because it can be one of the causes of minimal and mild endometriosis without considerable anatomical alterations presenting difficulty of pregnancy. We had already studied this relation with luteal insufficiency as one of the infertility causes (Cunha-Filho, Gross et al. 2001). Recently it was discovered that dopamine agonist administration causes a reduction in endometrial implantations through the modulation of angiogenesis in induced endometriosis suggesting that the reduction of prolactin levels may constitute a parallel mechanism in angiogenesis of these endometrial implants (Novella-Maestre, Carda et al. 2009).

In conclusion, we clearly demonstrated that the cutoff for CA-125 of 19.9 U/I and prolactin of 14.8 ng/ml could be used with a good sensitivity and specificity (77% and 88%, respectively) for the non-invasive diagnostic (or screening) test for endometriosis.

References

- (1985). "Revised American Fertility Society classification of endometriosis: 1985." Fertil Steril **43**(3): 351-2.
- (1997). "Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996." Fertil Steril **67**(5): 817-21.
- Abrao, M. S., S. Podgaec, et al. (1999). "Tumor markers in endometriosis." Int J Gynaecol Obstet **66**(1): 19-22.
- Acien, P., M. Lloret, et al. (1989). "Prolactin and its response to the luteinizing hormone-releasing hormone thyrotropin-releasing hormone test in patients with endometriosis before, during, and after treatment with danazol." Fertil Steril **51**(5): 774-80.
- Agic, A., S. Djalali, et al. (2008). "Combination of CCR1 mRNA, MCP1, and CA125 measurements in peripheral blood as a diagnostic test for endometriosis." Reprod Sci **15**(9): 906-11.
- Arruda, M. S., C. A. Petta, et al. (2003). "Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women." Hum Reprod **18**(4): 756-9.
- Arumugam, K. (1991). "Serum prolactin levels in infertile patients with endometriosis." Malays J Pathol **13**(1): 43-5.
- Bedaiwy, M. A., T. Falcone, et al. (2002). "Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial." Hum Reprod **17**(2): 426-31.
- Brosens, I. A., P. R. Koninckx, et al. (1978). "A study of plasma progesterone, oestradiol-17beta, prolactin and LH levels, and of the luteal phase appearance of the ovaries in patients with endometriosis and infertility." Br J Obstet Gynaecol **85**(4): 246-50.
- Cunha-Filho, J. S., J. L. Gross, et al. (2001). "Hyperprolactinemia and luteal insufficiency in infertile patients with mild and minimal endometriosis." Horm Metab Res **33**(4): 216-20.
- Fairbanks, F., M. S. Abrao, et al. (2009). "Interleukin-12 but not interleukin-18 is associated with severe endometriosis." Fertil Steril **91**(2): 320-4.
- Florio, P., F. M. Reis, et al. (2009). "High serum follistatin levels in women with ovarian endometriosis." Hum Reprod **24**(10): 2600-6.
- Florio, P., F. M. Reis, et al. (2007). "Plasma urocortin levels in the diagnosis of ovarian endometriosis." Obstet Gynecol **110**(3): 594-600.
- Gagne, D., M. Rivard, et al. (2003). "Development of a nonsurgical diagnostic tool for endometriosis based on the detection of endometrial leukocyte subsets and serum CA-125 levels." Fertil Steril **80**(4): 876-85.
- Glitz, C., C. A. Souza, et al. (2009). "Peritoneal and serum interleukin-18 levels are not increased in women with minimum or mild endometriosis." Braz J Med Biol Res **42**(11): 1039-43.
- Gregoriou, G., P. Bakas, et al. (1999). "Evaluation of serum prolactin levels in patients with endometriosis and infertility." Gynecol Obstet Invest **48**(1): 48-51.
- Hadfield, R., H. Mardon, et al. (1996). "Delay in the diagnosis of endometriosis: a survey of women from the USA and the UK." Hum Reprod **11**(4): 878-80.
- He, Y. E. (1993). "[Prolactin secretion in patients with endometriosis and its relationship to luteal phase defect and infertility]." Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi **28**(1): 14-7, 59.
- Kennedy, S., A. Bergqvist, et al. (2005). "ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis." Hum Reprod **20**(10): 2698-704.
- Kitawaki, J., H. Ishihara, et al. (2005). "Usefulness and limits of CA-125 in diagnosis of endometriosis without associated ovarian endometriomas." Hum Reprod **20**(7): 1999-2003.
- Kurdoglu, Z., R. Gursoy, et al. (2009). "Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis." Fertil Steril **92**(5): 1761-3.

- Lima, A. P., M. D. Moura, et al. (2006). "Prolactin and cortisol levels in women with endometriosis." Braz J Med Biol Res **39**(8): 1121-7.
- Maiorana, A., C. Cicerone, et al. (2007). "Evaluation of serum CA 125 levels in patients with pelvic pain related to endometriosis." Int J Biol Markers **22**(3): 200-2.
- Martinez, S., N. Garrido, et al. (2007). "Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis." Hum Reprod **22**(3): 836-42.
- Matalliotakis, I., D. Panidis, et al. (1996). "PRL, TSH and their response to the TRH test in patients with endometriosis before, during, and after treatment with danazol." Gynecol Obstet Invest **42**(3): 183-6.
- Matorras, R., F. Rodriguez, et al. (1996). "Infertile women with and without endometriosis: a case control study of luteal phase and other infertility conditions." Acta Obstet Gynecol Scand **75**(9): 826-31.
- May, K. E., S. A. Conduit-Hulbert, et al. "Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review." Hum Reprod Update.
- Mihalyi, A., O. Gevaert, et al. "Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers." Hum Reprod **25**(3): 654-64.
- Mol, B. W., N. Bayram, et al. (1998). "The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis." Fertil Steril **70**(6): 1101-8.
- Muse, K., E. A. Wilson, et al. (1982). "Prolactin hyperstimulation in response to thyrotropin-releasing hormone in patients with endometriosis." Fertil Steril **38**(4): 419-22.
- Novella-Maestre, E., C. Carda, et al. (2009). "Dopamine agonist administration causes a reduction in endometrial implants through modulation of angiogenesis in experimentally induced endometriosis." Hum Reprod **24**(5): 1025-35.
- Park, B. J., T. E. Kim, et al. (2009). "Massive peritoneal fluid and markedly elevated serum CA125 and CA19-9 levels associated with an ovarian endometrioma." J Obstet Gynaecol Res **35**(5): 935-9.
- Pizzo, A., F. M. Salmeri, et al. (2002). "Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis." Gynecol Obstet Invest **54**(2): 82-7.
- Pupo-Nogueira, A., R. M. de Oliveira, et al. (2007). "Vascular endothelial growth factor concentrations in the serum and peritoneal fluid of women with endometriosis." Int J Gynaecol Obstet **99**(1): 33-7.
- Radwanska, E., I. Henig, et al. (1987). "Nocturnal prolactin levels in infertile women with endometriosis." J Reprod Med **32**(8): 605-8.
- Reese, J., N. Binart, et al. (2000). "Implantation and decidualization defects in prolactin receptor (PRLR)-deficient mice are mediated by ovarian but not uterine PRLR." Endocrinology **141**(5): 1872-81.
- Seeber, B., M. D. Sammel, et al. (2008). "Panel of markers can accurately predict endometriosis in a subset of patients." Fertil Steril **89**(5): 1073-81.
- Shimoya, K., A. Moriyama, et al. (2000). "Increased concentrations of secretory leukocyte protease inhibitor in peritoneal fluid of women with endometriosis." Mol Hum Reprod **6**(9): 829-34.
- Somigliana, E., P. Vigano, et al. (2004). "Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions." Hum Reprod **19**(8): 1871-6.
- Wang, H., N. Gorpudolo, et al. (2009). "The role of prolactin- and endometriosis-associated infertility." Obstet Gynecol Surv **64**(8): 542-7.

Considerações gerais

Vimos que a prolactina assim como o CA 125 estão aumentados em pacientes com endometriose, sendo que o seus níveis são maiores quanto maior o grau de endometriose. Esse aumento foi encontrado tanto no grupo com infertilidade e endometriose, bem como no grupo de dor e endometriose.

A prolactina é um marcador equiparável ao CA 125 possuindo sensibilidade especificidade semelhante para diagnóstico de endometriose.

A associação destes dois marcadores, principalmente após a adequação do ponto de corte como demonstrado neste estudo, aumentando a sensibilidade sem perda da especificidade, podem ser úteis como teste diagnóstico de rastreio em pacientes com endometriose principalmente devido ao seu baixo custo e praticidade.

A utilização destes dois marcadores deve ser avaliada com seu uso através de um painel de marcadores para endometriose, pois parece que podem ser úteis para este fim, sendo que, além disso, são exames de custo baixos e de fácil execução na prática clínica.

Perspectivas

A prolactina está aumentada em pacientes com endometriose, entretanto ainda não sabemos se essa alteração é causa ou consequência da mesma. Uma das alterações possíveis pode ser devido a polimorfismos alterando a função deste hormônio, como por exemplo, o polimorfismo do receptor da dopamina que pode estar alterado neste grupo de pacientes. Já foi encontrado que em pacientes com hiperprolactinemia há alteração no receptor da dopamina, o qual será avaliado por nós como seguimento deste estudo se também ocorre esse tipo de alteração neste grupo de pacientes.

Além disso, a procura de um marcador de endometriose também deve passar para adequação de um ponto de corte específico para a doença em que a sensibilidade seja adequada sem a perda da especificidade como foi encontrado neste estudo e precisa ser confirmado em estudos subsequentes.

Anexos

Instrumento de coleta de dados

Classificação da endometriose segundo a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva das
pacientes

Anexo 1: Instrumento de coleta de dados

PROTOCOLO DE COLETA SANGUE

GRUPO: INFERTILIDADE (tempo _____ anos)
 DOR (tempo _____ anos)
 LIGADURA TUBÁRIA

Data ___/___/___

CÓDIGO

NOME:

IDADE:

PRONTUÁRIO:

PESO:

ALTURA:

IMC (Kg/m²):

DUM:

PARIDADE: G___P___C___A___

CICLOS: REGULARES IRREGULARES DIA DO CICLO: _____

ESPEMOGRAMA: milhões/mL _____ A+B _____ normais _____

DOSAGENS HORMONAIS:

prolactina _____ CA 125 _____

DOENÇA OU MEDICAÇÃO EM USO: SIM, QUAIS

NÃO

ACHADOS:

ENDOMETRIOSE: I () II () III () IV ()

ADERÊNCIAS PELVICAS

FATOR TUBÁRIO

OUTROS

PELVE NORMAL

COLETADO POR:

CENTRIFUGADO POR:

OUTRAS OBSERVAÇÕES:

Anexo 2: Classificação da endometriose segundo a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva das pacientes:

CLASSIFICAÇÃO REVISADA DE ENDOMETRIOSE DA AMERICAN FERTILITY SOCIETY (AFS-r)

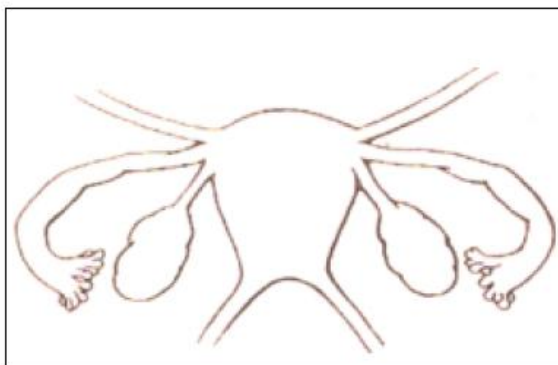
Nome: _____ Data: _____

PONTUAÇÃO: estágio I (Mínima): 1-5; estágio II (Leve): 6-15; estágio III (Moderada): 16-40; estágio IV (Severa): > 40 - PONTUAÇÃO TOTAL:
Laparoscopia: Laparotomia: Tratamento Recomendado: Prognóstico:

PERITÔNIO	ENDOMETRIOSE		< 1 cm	1 - 3 cm	> 3 cm
		Superficial		1	2
	Profunda		2	4	6
OVÁRIOS	D	Superficial	1	2	4
		Profunda	4	16	20
	E	Superficial	1	2	4
		Profunda	4	16	20
OBLITERAÇÃO DO FUNDO DE SACO POSTERIOR			Parcial	Completa	
			4	40	
ADERÊNCIAS			Envolvendo < 1/3	Envolve 1/3 - 2/3	Envolvendo > 2/3
OVÁRIOS	D	Finas	1	2	4
		Densas	4	8	16
	E	Finas	1	2	4
		Densas	4	8	16
TROMPAS	D	Finas	1	2	4
		Densas	4	8	16
	E	Finas	1	2	4
		Densas	4	8	16

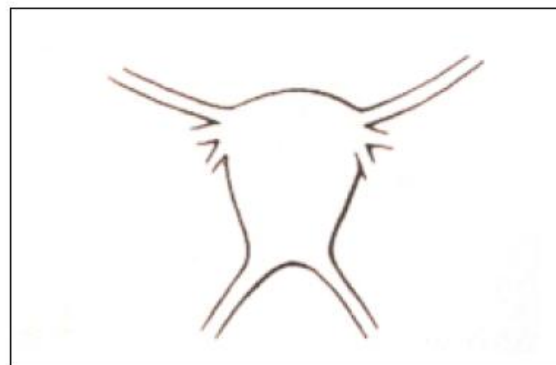
Se a porção fimbrial da trompa estiver completamente obstruída, altere a pontuação para 16.

Endometriose adicional:



Tubas e ovários normais

Patologias associadas:



Tubas e ovários alterados