



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

# Diagnóstico da Endometriose: Revisão da Literatura

**Nuno José Moreira Vilas Boas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Medicina**  
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor Jayson William Meyer

**Covilhã, abril de 2017**



# Dedicatória

Aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós.

Pelo amor incondicional, pela ternura, bondade e pelo esforço constante. Por acreditarem sempre em mim e me encorajarem a nunca desistir dos meus sonhos. Por terem tornado um sonho em realidade.



# Agradecimentos

À Universidade da Beira Interior e à Faculdade de Ciências da Saúde, por serem o local da concretização de um sonho. Por me terem ensinado, não só Medicina, mas também os valores a seguir como futuro profissional.

À cidade da Covilhã, por me ter acolhido e ter sido a minha casa durante 6 anos.

Ao Doutor Jayson Meyer, meu orientador, pela disponibilidade, dedicação e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Pelo exemplo de profissionalismo aliado à constante boa disposição.

A todos os Professores, Médicos e Tutores. Em especial ao Professor Doutor Miguel Castelo-Branco, por ser um exemplo como médico e professor. Pela disponibilidade, ensinamentos e dedicação constante ao curso e aos estudantes de Medicina.

A todos os meus amigos. Aos meus amigos do Norte por estarem sempre presentes ao longo desta jornada, apesar de todas as minhas ausências. Aos meus amigos da Covilhã, por me terem acompanhado nesta aventura. Por todas as memórias que levarei comigo para o futuro.

À minha família, pelo apoio incessante desde o início desta etapa. Pela aprendizagem e crescimento constante. Sem eles jamais chegaria onde cheguei.

Ao meu avô e à minha bisavó que iniciaram este percurso comigo, mas que não o terminam fisicamente. Continuam sempre presentes.

A todos, o meu sincero obrigado!



# Prefácio

*“On ne voit bien qu'avec le cœur. L'essentiel est invisible pour les yeux”*

Antoine de Saint-Exupéry



## Resumo

**Introdução:** A endometriose, definida como a presença de tecido endometrial fora do útero, é uma das doenças ginecológicas inflamatórias mais comuns, afetando cerca de dez por cento das mulheres em idade reprodutiva, sendo uma das principais causas de infertilidade feminina. O intervalo médio entre o aparecimento dos primeiros sintomas e o diagnóstico da doença foi reportado como sendo entre sete a dez anos. Atualmente, o gold-standard no diagnóstico da endometriose é a laparoscopia, um procedimento minimamente invasivo com potenciais riscos, existindo a necessidade de um método não-invasivo que contribua para a redução do tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico definitivo da doença. Existe, assim, uma rápida expansão da literatura no que concerne ao uso de métodos de imagem e de biomarcadores moleculares, tanto a nível do plasma, do líquido peritoneal, da urina ou mesmo do tecido endometrial na pesquisa da endometriose.

**Objetivos:** 1- Identificar a importância do diagnóstico precoce da endometriose; 2- Identificar os métodos atualmente usados para o diagnóstico definitivo da endometriose; 3- Avaliar a eficácia de novos métodos no diagnóstico da endometriose; 4- Comparar os benefícios e as limitações das técnicas atualmente empregues com os diferentes métodos não-invasivos estudados.

**Materiais e métodos:** Para a realização desta dissertação foi realizada uma pesquisa alargada de literatura científica, que decorreu desde dezembro de 2015 a novembro de 2016, acerca do diagnóstico da endometriose em bases de dados, como *Pubmed*, *ResearchGate* e *B-on*, sendo utilizadas como principais palavras-chave: “*endometriosis*”; “*endometriosis diagnosis*”; “*non-invasive diagnosis of endometriosis*”; “*endometriosis biomarkers*”.

## Palavras-chave

Endometriose, Diagnóstico, Gold-Standard, Novos Métodos, Diagnóstico Não-invasivo, Biomarcadores.



## Abstract

**Introduction:** Endometriosis, defined as the presence and growth of endometrial tissue outside of the uterus, is one of the most common inflammatory gynaecological conditions, affecting up to ten percent of women in reproductive age, being one of the major causes of female infertility. The median time between onset of symptoms and diagnosis has been reported as anywhere from seven to ten years. The current gold-standard test for endometriosis is laparoscopy, a minimally invasive procedure with potential risks. This accentuates the need of a non-invasive test that can reduce the timespan between onset of symptoms and diagnosis of endometriosis. In that sense, there has been a rapid expansion of literature concerning the use of imaging techniques or molecular biomarkers found in the plasma, peritoneal fluid, urine or even in endometrial tissue.

**Objectives:** 1- Establish the importance of an early diagnosis of endometriosis; 2- Identify the current methods used for the diagnosis of endometriosis; 3 - Assess the efficacy of new diagnostic methods for endometriosis; 4- Compare the benefits and limitations of the diagnostic procedures currently employed against those in study.

**Materials and Methods:** For the completion of this dissertation, a broad research of scientific literature was undertaken, from December 2015 to November 2016, concerning the diagnosis of endometriosis on databases such as *Pubmed*, *ResearchGate* and *B-on*, using the following terms as keywords: “endometriosis”; “endometriosis diagnosis”; “non-invasive diagnosis of endometriosis”; “endometriosis biomarkers”.

## Keywords

Endometriosis, Diagnosis, Gold-Standard, New Methods, Non-invasive Diagnosis, Biomarkers.



# Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Prefácio	vii
Resumo	ix
Palavras-chave	ix
Abstract	xi
Keywords	xi
Índice	xiii
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas	xvii
Lista de Acrónimos	xix
1. Introdução	1
2. Objetivos	2
3. Materiais e Métodos	3
4. A Endometriose	4
4.1. Epidemiologia	5
5. Diagnóstico da Endometriose	6
5.1. Gold-Standard	6
6. Novos Métodos	8
6.1. Imagiologia	9
6.2. Biomarcadores	11
6.2.1. Marcadores Endometriais	12
6.2.1.1. Transcriptomas endometriais	12
6.2.1.2. MiRNAs	13
6.2.1.3. Proteomas endometriais	13
6.2.1.4. Marcadores neuronais	14
6.2.1.5. Proteína P450 aromatase	15
6.2.1.6. Outros marcadores endometriais	15
6.2.2. Marcadores Serológicos	15

6.2.2.1.	CA-125	15
6.2.2.2.	Outras glicoproteínas	16
6.2.2.3.	Marcadores imunológicos e inflamatórios	17
6.2.2.4.	Angiogénese	17
6.2.2.5.	Stress oxidativo	18
6.2.2.6.	Adesão celular e invasão tecidual	18
6.2.2.7.	MiRNAs	18
6.2.2.8.	Proteomas serológicos	18
6.2.2.9.	Autoanticorpos	19
6.2.2.10.	Metabólitos	19
6.2.2.11.	DNA livre circulante	19
6.2.3.	Marcadores Urinários	20
6.2.3.1.	Adesão celular e invasão tecidual	20
6.2.3.2.	Proteomas urinários	20
7.	Conclusão	21
	Referências Bibliográficas	23

# Lista de Figuras

Figura 1. Classificação revista da endometriose pela *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM).

7



# Lista de Tabelas

Tabela 1. Sensibilidade e especificidade de técnicas imagiológicas no diagnóstico de endometriose pélvica posterior.

10



## Lista de Acrónimos

AFS	<i>American Fertility Society</i>
ASRM	<i>American Society for Reproductive Medicine</i>
CA	<i>Cancer antigen</i>
CCL2	Ligando 2 de quimiocina com motivo C-C
CCL5	Ligando 5 de quimiocina com motivo C-C
CCR-1	Recetor de quimiocinas do tipo 1
CK9	Citoqueratina-9
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EER	Ecografia endometrial
ETV	Ecografia transvaginal
EUA	Estados Unidos da América
FGF-2	Fator de crescimento de fibroblastos 2
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IFN	Interferão
IL	Interleucina
kDa	Quilodalton
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
m/z	Massa/carga
MALDI-TOF	<i>Matrix assisted laser desorption/ ionization time-of-flight</i>
miR	Micro ácido ribonucleico
MiRNAs	Micro ácidos ribonucleicos
MMP	Metaloproteinase matriz
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
PEDF	Fator derivado do epitélio pigmentar
PGP9.5	<i>Protein gene product 9.5</i>
PON-1	Paraoxonase 1
QALY	<i>Quality-adjusted life year</i>
RM	Ressonância magnética
RNA	Ácido ribonucleico
SELDI-TOF	<i>Surface-enhanced laser desorption/ ionization time-of-flight</i>
sICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1 solúvel
TC	Tomografia computadorizada
TNF	Fator de necrose tumoral
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular



# 1. Introdução

A endometriose, uma doença ginecológica crónica, inflamatória e dependente de estrogénio, é definida como a presença de tecido endometrial fora do útero (1), sendo uma das doenças ginecológicas inflamatórias mais comuns. Esta doença, afeta cerca de 6 a 10% das mulheres em idade reprodutiva (1), constituindo-se como uma das principais causas de infertilidade feminina e tendo uma implicação significativa a nível socioeconómico para as mulheres como indivíduos mas também para a sociedade (2).

As manifestações da endometriose podem ser inespecíficas, sendo as manifestações mais comuns: a dismenorreia, dor pélvica crónica, dispareunia, e em estádios mais avançados da doença, os nódulos no ligamento útero-sacral e massas anexas (3). Contudo, um número significativo de mulheres permanecem assintomáticas. Salienta-se que o intervalo médio entre o aparecimento dos primeiros sintomas e o diagnóstico da doença encontra-se entre 7 a 10 anos (4-6).

O diagnóstico definitivo da endometriose é claramente difícil. Atualmente, o gold-standard no diagnóstico da endometriose é a laparoscopia, com visualização direta da lesão e biópsia da mesma para estudo histológico, um procedimento minimamente invasivo com potenciais riscos (1,7,8).

Assim sendo, existe a necessidade de utilizar um método de diagnóstico não-invasivo que contribua para a redução do tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico definitivo da endometriose.

As técnicas de imagem, embora sejam de grande ajuda nos estádios mais avançados, são ajudas ineficientes no diagnóstico dos estádios iniciais da doença (9).

Existe assim, uma rápida expansão da literatura no que concerne ao uso de métodos de imagem e de biomarcadores moleculares, isolados ou em associação, tanto a nível do plasma, do fluído peritoneal, da urina ou mesmo do tecido endometrial na pesquisa da endometriose, como é o caso do marcador tumoral *Cancer Antigen (CA) 125* (10). Também no que diz respeito à monitorização da eficácia terapêutica, a existência destes biomarcadores poderá ser uma mais valia para o controlo da doença.

No entanto, atualmente não existem técnicas de exame não-invasivas para o diagnóstico da endometriose (11,12).

## 2. Objetivos

Os propósitos desta revisão da literatura são os seguintes:

1. Identificar a importância do diagnóstico precoce da endometriose;
2. Identificar os métodos atualmente usados para o diagnóstico definitivo da endometriose;
3. Avaliar a eficácia de novos métodos no diagnóstico da endometriose;
4. Comparar os benefícios e as limitações das técnicas atualmente empregues com os diferentes métodos não-invasivos estudados.

### 3. Materiais e Métodos

Para a realização desta dissertação foi realizada uma pesquisa alargada de literatura científica acerca do diagnóstico da endometriose em bases de dados, como *Pubmed*, *ResearchGate* e *B-on*, sendo utilizadas como principais palavras-chave: “*endometriosis*”; “*endometriosis diagnosis*”; “*non-invasive diagnosis of endometriosis*”; “*endometriosis biomarkers*”.

A pesquisa foi restringida a literatura publicada nas línguas inglesa e ocorreu em vários momentos desde dezembro de 2015 a novembro de 2016.

## 4. A Endometriose

A endometriose, uma condição ginecológica crónica, inflamatória, dependente de estrogénio (1), é definida pela presença de tecido endometrial fora da cavidade uterina (local fisiológico normal). Este tecido endometrial ectópico desenvolve-se em lesões, nódulos, tumores, implantes ou em crescimentos anómalos. Estas lesões são compostas por elementos do estroma ou elementos glandulares do endométrio e são encontrados mais comumente na região pélvica, nomeadamente nos ovários, nos ligamentos uterinos, no saco de Douglas e nas trompas de Falópio. Com o envolvimento dos ovários, estes podem aumentar de tamanho pela existência de quistos preenchidos com sangue, os chamados quistos de chocolate ou endometriomas, que poderão eventualmente aumentar de tamanho e romper, causando sintomas agudos que exigem intervenção cirúrgica imediata (13).

A endometriose também poderá ocorrer em órgãos, tal como o intestino delgado, intestino grosso, apêndice, ligamentos útero-sagrados, bexiga e cicatrizes cirúrgicas (14).

A clássica lesão endometrial é azul escura '*powder burn*'. Contudo, estas lesões podem aparecer em muitas outras formas e as lesões atípicas ainda ser vermelhas, castanhas, pretas, brancas ou amarelas (15), consoante os diferentes subtipos da doença, a sua localização, o suprimento sanguíneo e a quantidade de fibrose (14). As típicas lesões '*powder burn*' representam já o último estágio da doença, enquanto que as lesões atípicas podem apresentar uma maior atividade bioquímica (15).

As manifestações da endometriose podem ser inespecíficas, sendo as manifestações mais comuns: a dismenorreia, dor pélvica crónica, dispareunia e, em estádios mais avançados da doença, nódulos no ligamento útero-sacral e massas anexas (3). Porém, um número significativo de mulheres permanece assintomática. No entanto, quando a endometriose envolve órgãos específicos, podem surgir outras manifestações, nomeadamente tenesmo no período menstrual, diarreia, obstipação e disquesia no caso de envolvimento intestinal ou disúria e hematúria no caso de envolvimento da bexiga (3). A dor associada com a endometriose pode não estar associada com a gravidade da doença mas sim como a profundidade da infiltração das lesões endometriais, como por exemplo a defecação dolorosa durante a menstruação e dispareunia severa (3).

## 4.1. Epidemiologia

A endometriose é uma doença ginecológica que ocorre em 6 a 10% das mulheres em idade reprodutiva (1), com uma prevalência de 5 a 50% em mulheres inférteis (16) e de 71 a 87% das mulheres com dor pélvica crônica (17,18). Contudo, um aumento da identificação das lesões endometriais nos últimos anos pode levar a um aumento da taxa de detecção e assim da incidência da endometriose (19).

O intervalo médio entre o aparecimento dos primeiros sintomas e o diagnóstico da doença encontra-se entre 7 a 10 anos (4-6), sendo que este intervalo varia de acordo com a idade de apresentação dos sintomas (o intervalo era maior para mulheres em idades mais jovens) e de acordo com o estágio da doença (o intervalo era maior nas mulheres que se encontravam em estágio IV, comparativamente a mulheres em estágios I-III). Salienta-se que a endometriose é a terceira maior causa de hospitalização ginecológica nos Estados Unidos da América (EUA) (20).

Parece não existir predisposição racial para a endometriose. Todavia, uma associação familiar já foi sugerida, sendo que pacientes com familiares de primeiro grau tem um risco de 7 a 10 vezes aumentado de vir a desenvolver endometriose (21). Existe ainda uma forte concordância em gémeos monozigóticos (22).

Foi revelado, que o custo médio anual total da doença, a nível mundial, para uma mulher com endometriose era de 9579€, sendo que apenas 10% deste valor se destinava a custos com a medicação, e cerca de 66% eram relativos a perdas na produtividade (23). De mencionar que os *Quality-adjusted life year (QALY)* nesta população eram de 0,81 (23), sendo este pior do que o observado na população geral (0,85 - 0,94) (24), refletindo assim uma diminuição da qualidade de vida, especialmente nas áreas da dor, da psicologia e das atividades diárias (23).

## 5. Diagnóstico da Endometriose

O tempo médio no atraso do diagnóstico da endometriose foi estimado como sendo entre 7 a 10 anos (4-6).

O esforço de melhorar tanto o diagnóstico precoce como o tratamento da doença tem sido dificultado pela falta de meios adequados para estudar e avaliar a endometriose. O diagnóstico precoce é crucial para o tratamento atempado da doença, bem como para o controlo da sintomatologia e da prevenção das sequelas da doença, como da endometriose crónica (25).

### 5.1. Gold-Standard

O diagnóstico definitivo da endometriose é claramente difícil. Contudo, o gold-standard para o diagnóstico da endometriose peritoneal continua a ser a visualização direta da lesão através de laparoscopia, que se apresenta por congestão peritoneal, por adesões e outras manifestações, seguida de confirmação histológica (1,7). Está descrito que a sensibilidade e especificidade da laparoscopia como diagnóstico da endometriose é de 94% e de 79%, respetivamente (26). No entanto, apesar da biópsia não ser sempre necessária no momento da realização da laparoscopia, esta deve ser realizada caso existam dúvidas quanto à origem da lesão. Na visualização direta das lesões estas podem-se apresentar por congestão peritoneal, por adesões ou outras manifestações, contudo estas podem variar e serem inconstantes. A aparência histológica consiste em glândulas endometriais e do estroma com quantidades variáveis de inflamação e fibrose (3).

A exploração por laparoscopia consiste inicialmente na distensão abdominal com CO<sub>2</sub> para facilitar a visualização abdominal e através de uma pequena incisão é inserido o laparoscópio. Sendo que este procedimento pode ser dificultado e de risco acrescido devido à presença de adesões pélvicas que limitam o acesso a certas áreas, como os anexos ou o saco de Douglas (14).

Durante a laparoscopia pode-se determinar a extensão e a severidade da doença, e esta pode ser classificada de acordo com a *American Fertility Society* (AFS) (Figura 1) (27).



AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE  
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

Patient's Name \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_  
 Stage I (Minimal) - 1-5      Laparoscopy \_\_\_\_\_ Laparotomy \_\_\_\_\_ Photography \_\_\_\_\_  
 Stage II (Mild) - 6-15      Recommended Treatment \_\_\_\_\_  
 Stage III (Moderate) - 16-40  
 Stage IV (Severe) - >40  
 Total \_\_\_\_\_ Prognosis \_\_\_\_\_

PERITONEUM		< 1cm	1-3cm	> 3cm
ENDOMETRIOSIS	Superficial	1	2	4
	Deep	2	4	6
OVARY	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION		Partial	Complete	
		4	40	
ADHESIONS		< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
OVARY	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
TUBE	R Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16

\*If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.  
 Denote appearance of superficial implant types as red (R), red-pink, flame-like, vesicular blobs, clear vesicles, white (W), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown, or black (B) black, hemosiderin deposits, blue. Denote percent of total described as R\_\_\_% W\_\_\_% and B\_\_\_%. Total should equal 100%.

Additional Endometriosis: \_\_\_\_\_  
 Associated Pathology: \_\_\_\_\_

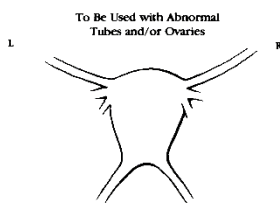
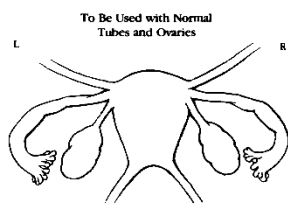


Figura 1. Classificação revista da endometriose pela *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) (27).

As formas mínimas (estádio I) e ligeiras (estádio II) são caracterizadas por lesões superficiais, difusas em estruturas que não o útero, trompas ou ovários e não estão associadas a cicatrizes e a adesões significativas. As formas moderadas (estádio III) caracterizam-se por pequenos endometriomas de < 2 cm envolvendo os ovários e cicatrizes dispersas em outras estruturas. A forma severa da doença (estádio IV) é caracterizada por grandes endometriomas ováricos, por adesões ováricas ou tubárias significativas, pela obstrução tubária, pelo envolvimento útero-sagrado e por doença intestinal e do trato urinário significativa (28).

A cistoscopia com biópsia está recomendada na literatura em caso de suspeita de endometriose na bexiga (3).

Porém a sensibilidade e a especificidade da laparoscopia ou da biópsia não são suficientes para justificar o uso por rotina destes procedimentos no diagnóstico ou monitorização da doença. Para além de que ambas as técnicas são invasivas, sendo uma barreira para o tratamento efetivo da doença (29).

## 6. Novos Métodos

Atualmente, não existe disponível para o diagnóstico da endometriose uma técnica de exame não-invasiva (11,12).

Não é possível diagnosticar a doença com base na recolha da história clínica e no exame objetivo. A apresentação da doença tem como base sintomas comuns a inúmeras outras doenças e poderá mimetizar outros distúrbios, tais como o síndrome pré-menstrual ou a doença inflamatória pélvica. Contudo, é de salientar a importância da recolha da história clínica e do exame físico. Tendo em conta que poderá diminuir assim os falsos positivos pois poderá ajudar a identificar mulheres que necessitem de uma avaliação adicional. Para uma melhor avaliação ao exame físico, este deverá ser realizado durante o período menstrual, sendo a altura que as pacientes apresentam a maioria dos seus sintomas. Nesta situação a palpação das estruturas pélvicas poderá revelar uma sensibilidade pélvica inespecífica (13). De mencionar ainda que algumas formas de endometriose profunda poderão escapar à visualização por laparoscopia e serem apenas palpáveis ao exame físico ou visualizadas através de exames de imagem dirigidos, como a ecografia por via vaginal ou retal e a ressonância magnética (RM). Os endometriomas poderão apresentar-se como massas anexas palpáveis ao exame físico. Este poderá ainda permitir palpar implantações endométricas na região posterior do fórnix vaginal, nos ligamentos útero-sagrados, no saco de Douglas, ou permitir mesmo a palpação de um útero retrovertido devido a adesões. No entanto, a presença de nódulos, quistos ou outras massas não indica necessariamente endometriose, sugerindo apenas a necessidade de uma investigação mais profunda (14).

Todavia, cada vez mais se percebe que é urgente encontrar técnicas de diagnóstico não-invasivas com elevada sensibilidade, ou seja em que a probabilidade de o teste ser positivo quando está presente endometriose seja alta. Bem como uma alta especificidade, de forma a garantir uma alta probabilidade de quando a endometriose está ausente o teste ser negativo (11,12).

Foi demonstrado que quanto mais jovem for a paciente no início dos seus sintomas, mais tempo existe entre a apresentação inicial e o diagnóstico efetivo da doença (30). Sendo que um diagnóstico não-invasivo precoce tem o potencial de possibilitar o tratamento da doença mais rapidamente e eventualmente prevenir a progressão da mesma. Pelo que vários estudos estão a avaliar o possível uso de testes de diagnóstico não-invasivos através do soro ou do plasma, da urina ou mesmo do líquido menstrual ou endometrial no diagnóstico da endometriose. Também estão em estudo testes semi-invasivos desenvolvidos através do fluido peritoneal obtidos através de aspiração guiada por ecografia transvaginal (ETV) ou através do

endométrio por biópsia endometrial transcervical (31). Por outro lado, também a ETV e a RM têm o potencial de melhorarem tanto o diagnóstico como o *follow-up* destes pacientes. Porém, a investigação na endometriose está a dar largos passos no que diz respeito à tecnologia proteômica e genômica sendo esta cada vez mais pesquisada em novas abordagens de diagnóstico da doença (32).

O objetivo mais importante destes testes e o que se quer alcançar, independentemente do método usado, é que nenhuma paciente com endometriose ou outra patologia pélvica associada com dor e/ou infertilidade e que possa beneficiar de cirurgia falhe ao diagnóstico por tal teste (11,31).

## 6.1. Imagiologia

Com a corrente prática de combinar o diagnóstico da endometriose com a realização da laparoscopia, existe o risco de levar ao subtratamento da doença ou de cirurgias desnecessárias. Pelo que, as técnicas imagiológicas estão a tornar-se cada vez mais importantes em determinar a presença ou a extensão pré-operatória da doença, e a decisão de realizar cirurgia deverá se basear num diagnóstico pré-operatório apropriado e uma avaliação adequada da extensão da doença (32). Estudos de imagem, tal como a ecografia, RM e a tomografia computadorizada (TC) parecem ser úteis apenas na presença de massas anexas ou pélvicas (3).

A ETV é a técnica de imagem de escolha quando se investiga a presença de endometriose (9), sendo que os estudos imagiológicos por si só parecem terem um alto valor preditivo no que diz respeito à diferenciação de um endometrioma num ovário de outras massas anexas. Foi concluído que a ETV é útil no diagnóstico de endometriomas do ovário, se o diâmetro for de 20 mm ou mais (9). Tendo sido reportado que a sensibilidade deste método é de 84-100%, com uma especificidade de 90-100% (33). A ETV combinada com o exame físico ginecológico apresenta uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 98% (34) para o diagnóstico da endometriose retal. Esta combinação apresentou ainda uma sensibilidade e especificidade de 87% e 98%, respetivamente, para o saco de Douglas obliterado, de 82% e 99%, respetivamente, para a endometriose da parede vaginal e de 88% e 99%, respetivamente, para a endometriose do septo retovaginal (34).

Na deteção da presença de endometriose infiltrativa profunda do reto ou do septo retovaginal, a ETV mostra-se mais uma vez a técnica de imagem de escolha (3,35). A ecografia endorectal (EER) tem um papel fundamental na identificação de lesões do septo retovaginal, mas tem o inconveniente de ser operador dependente e por isso a qualidade e os diagnósticos obtidos dependem da experiência de quem realiza o exame.

A RM deve ser reservada para casos em que os resultados da ecografia sejam dúbios como na endometriose retovaginal ou na bexiga (3,36). É também uma opção não-invasiva na avaliação de áreas não acessíveis por laparoscopia, tendo a vantagem de poder caracterizar as lesões endométricas e avaliar o envolvimento de regiões fora do peritoneu, do conteúdo das massas pélvicas ou de lesões ocultas por adesões densas (37). Assim, apesar de ainda não estar comprovada a efetividade do uso da RM na endometriose, esta poderá ser bastante útil se combinada com a laparoscopia.

O exame físico continua desapropriado na avaliação da extensão do envolvimento dos órgãos pélvicos posteriores, nomeadamente na endometriose retovaginal e na endometriose intestinal (mais frequentemente no retossigmoide), pelo que uma investigação mais profunda é necessária (38).

A sonovaginografia, descrita como uma técnica que usa a colocação de uma solução salina na vagina em combinação com a ETV, é usada para melhorar a localização, a extensão e a infiltração da endometriose retovaginal. Elementos essenciais para a decisão adequada de realizar cirurgia (Tabela 1) (32).

Foi comparada a sensibilidade e a especificidade da ETV com a EER para o diagnóstico da endometriose pélvica posterior e concluiu-se que a ETV é tão eficiente quanto a EER (Tabela 1). Contudo a ETV tem a limitação de não conseguir determinar com exatidão a distância entre as lesões retais e a margem anal ou avaliar a profundidade do envolvimento da parede retal. Assim, caso a endometriose retovaginal seja a suspeita pode-se recomendar a ETV, enquanto que a EER fica reservada para casos onde o envolvimento colorretal esteja suspeito (32).

Tabela 1. Sensibilidade e especificidade de técnicas imagiológicas no diagnóstico de endometriose pélvica posterior (32).

	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Valor preditivo positivo (%)	Valor preditivo negativo (%)
Lesões retovaginais				
ETV	44	50	67	28
ETV	75	83	95	45
Sonovaginografia	91	86	94	80
EER	75	67	90	40
Lesões colorretais				
ETV	95	100	100	89
EER	82	88	95	64

A ETV e a RM estão a ser cada vez mais usadas para diagnosticar a presença e a extensão de lesões infiltrativas (39).

## 6.2. Biomarcadores

É cada vez mais clara a necessidade de um diagnóstico não-invasivo para a endometriose. As técnicas de imagem são ajudas ineficientes no diagnóstico dos estádios iniciais da doença (9), e a laparoscopia, embora o gold-standard no diagnóstico da endometriose, é um procedimento cirúrgico, que apesar de minimamente invasivo tem potenciais riscos, tais como a lesão intestinal ou vascular (8).

Um biomarcador é um marcador biológico que tem a possibilidade de ser medido por diferentes técnicas e métodos que se correlacionam com um resultado ou estágio específico da doença. Ao longo dos últimos anos vários biomarcadores tem vindo a ser descritos, tanto a nível do plasma, do fluído peritoneal, da urina ou mesmo do tecido endometrial, como é o caso do marcador tumoral CA-125 (10) que tem sido bem descrito e investigado pela literatura. Bem como estudos que se focaram na avaliação de glicoproteínas, citocinas inflamatórias e não-inflamatórias, moléculas de adesão e fatores angiogénicos e de crescimento, elementos todos estes que estão associados com a patogénese da endometriose e o desenvolvimento das suas lesões (11). Não obstante, e apesar de alguns destes marcadores terem-se mostrado com níveis alterados no sangue periférico em mulheres com endometriose em certos estudos (12,40), nenhum ainda foi validado, sozinhos ou em combinação com outros biomarcadores, devido à sua baixa sensibilidade e especificidade quando comparados com o diagnóstico por laparoscopia (12).

Pelo que ainda não existe nenhum teste por estes métodos que seja fidedigno no diagnóstico da endometriose (11).

Também se tem questionado acerca da hipótese de que diferentes subtipos de biomarcadores sejam necessários para o diagnóstico de diferentes estádios da endometriose, devido ao facto de que a endometriose tem diferentes localizações e diferentes formas (superficial, infiltrativa, quística) (41). Ou seja, mulheres com endometriose peritoneal podem ter diferentes marcadores do que mulheres com endometriomas (12). Por exemplo, foi encontrado um aumento significativo da Interleucina (IL) 8 em mulheres com endometriomas quando comparados com mulheres com outros quistos ováricos (42).

Conquanto, novas abordagens têm cada vez um papel mais importante no desenvolvimento de testes não-invasivos para a endometriose. O estudo da proteómica, técnicas de estudo molecular, e a maturação genómica poderão ajudar a reconhecer novos biomarcadores, para o diagnóstico rápido e fidedigno, que poderão estar por trás da fisiopatologia envolvida no desenvolvimento das lesões endometrióticas (11,25). Muitos métodos baseados em ácido

desoxirribonucleico (DNA) são ainda usados na prática clínica em ginecologia e obstetrícia (43) pelo que é uma área promissora quanto ao seu uso para o diagnóstico da endometriose.

### 6.2.1. Marcadores Endometriais

Apesar de ser mais invasivo do que a serologia, o tecido do endométrio está disponível para biópsia no ambulatório, com a vantagem de ter uma melhor especificidade, através de dispositivos como a cânula de *Pipelle*. É preciso ainda ressaltar que o próprio endométrio apresenta diferentes fases consoante o período do ciclo menstrual, e que cada uma destas fases revela uma enorme variação molecular nas amostras do endométrio (44), sendo que é necessário ter em conta esta variação na interpretação da expressão dos genes e proteínas do endométrio. É preferível ainda que o estudo tenha lugar na fase proliferativa do ciclo, evitando assim preocupações de possível gravidez e interrupção da mesma através do procedimento (45).

Para além da fase do ciclo menstrual, outras condições ginecológicas influenciam a expressão das proteínas e do genoma endometrial eutópico, como é o caso de outras doenças inflamatórias como a hidrossalpinge (46) ou de outras patologias estrogénio-dependentes como os leiomiomas, pólipos endometriais ou a adenomiose (47,48) que partilham padrões de desregulação ao nível do transcriptoma endometrial com a endometriose. Assim sendo, é relevante a triagem de patologias coexistentes nos processos de descoberta e de validação de novos biomarcadores.

#### 6.2.1.1. Transcriptomas endometriais

Existem diferenças significativas no que diz respeito à expressão genética, ao nível da transcrição, entre o endométrio eutópico de pacientes com endometriose e o endométrio em mulheres sem endometriose (49). Foram identificadas várias vias e genes que poderão estar envolvidos na patogénese da doença e que são potenciais candidatos para o desenvolvimento de biomarcadores endometriais (50).

Um *microarray* do DNA envolvendo amostras de mulheres com endometriose ou outras condições ginecológicas benignas e amostras de mulheres sem endometriose confirmado por cirurgia foi usado para desenvolver classificadores específicos para a fase do ciclo menstrual com elevada precisão para detetar quer a endometriose quer o estágio da doença (51). Uma das mais valias deste estudo foi a possibilidade de delinear a endometriose de outras doenças pélvicas benignas, usando relativamente poucos genes. Possibilitando assim o desenvolvimento de um painel finito de biomarcadores. Porém é necessário a validação prospetiva através de um estudo coorte independente envolvendo amostras colhidas em múltiplos centros.

#### 6.2.1.2. MiRNAs

Os micro ácidos ribonucleicos (miRNAs) são pequenas sequências de ácido ribonucleico (RNA) não codificante, altamente conservados, que regulam a expressão dos genes a um nível pós-transcricional. Com mais de 2200 miRNAs identificados, eles vão silenciar, degradar e reprimir a transcrição de RNAs mensageiros (mRNA) específicos (52).

Existe já uma forte correlação provada da expressão de miRNAs tecidual e do soro em outras patologias (53) pelo que existe um grande potencial para que no futuro estas sequências não codificantes se tornem possíveis biomarcadores para identificar a endometriose.

Os miRNAs manifestam-se de forma diferente no endométrio numa mulher com endometriose ou de uma mulher sem endometriose (45). Foi revelada ainda a possível importância da desregulação destes miRNAs na patogénese de doenças do endométrio e da importância da fase do ciclo menstrual para a interpretação dos perfis de miRNAs nos protocolos para a descoberta de biomarcadores (54).

Estão descritas (55-59) diferenças na expressão dos miRNAs em endométrio eutópico e em endométrio ectópico. Foram identificados 48 miRNAs com expressões diferentes numa análise de tecido endometrial, durante a fase secretora inicial e intermédia, eutópico e ectópico em pacientes com endometriose e de mulheres livres de endometriose (55). Está descrito ainda a desregulação em 22 miRNAs num array que usou 377 miRNAs de amostras de endométrio eutópico e de tecido endometrial no peritoneu (56). Também a endometriose nos ovários demonstrou evidências de desregulação na expressão dos miRNAs em vários estudos (57,58). Foram revelados 156 miRNAs com desregulação na sua expressão entre tecido endometriótico e tecido endometrial normal, sendo que 22 deles são conhecidos por estarem envolvidos em processos de angiogénese e de fibrinólise (59).

Contrariamente, foi comparado a expressão de miRNAs no endométrio eutópico entre mulheres com ou sem endometriose confirmada por cirurgia (55,60). Foi demonstrado que 6 miRNAs associados à endometriose, da família do micro ácido ribonucleico (miR) 9 e do miR-34, encontravam-se infrarregulados (60). Bem como uma desregulação do miR-21 (61).

Esta diferença na expressão dos miRNAs no endométrio eutópico de mulheres com endometriose mostra-se promissora na pesquisa de futuros biomarcadores. Bem como as mudanças demonstradas na expressão dos miRNAs no tecido endometrial ectópico em mulheres com endometriose, que poderão estar associadas com o desenvolvimento da endometriose. Contudo é necessária uma maior validação e replicação destes estudos.

#### 6.2.1.3. Proteomas endometriais

Foram identificados perfis proteómicos únicos usando uma espectrometria de massa *surface-enhanced laser desorption/ ionization time-of-flight* (SELDI-TOF) em amostras de endométrio

eutópico de mulheres com e sem endometriose (62,63). Esta metodologia providencia perfis proteômicos diferentes em picos de massa/carga (m/z) sem caracterização dos péptidos ou das proteínas.

Num grupo onde quer os proteomas endometriais, quer os transcriptoma foram estudados, foram descritos 5 picos peptídicos (2.072 m/z, 2.973 m/z, 3.623 m/z, 3.680 m/z e 21.133 m/z), na fase secretora inicial do ciclo menstrual, com uma sensibilidade de 91% e uma especificidade de 80% no diagnóstico da endometriose, independentemente do estágio da doença (62).

Foram revelados 5 picos peptídicos (5.385 m/z, 5.425 m/z, 5.891 m/z, 6.448 m/z e 6.898 m/z) expressados de forma diferente, que coletivamente mostraram uma sensibilidade e especificidade, no diagnóstico da endometriose, de 91,7% e 90%, respetivamente (63).

No maior estudo realizado até ao momento, um painel de 3 picos peptídicos (16.069 m/z, 15.334 m/z e 15.128 m/z) teve uma sensibilidade de 87,5% e uma especificidade de 86,2% para diagnosticar a endometriose, para qualquer estágio da doença (64).

Foi também descrito um painel de 4 picos peptídicos (2 deles suprarregulados, 90.675 quilodalton (kDa) e 35.956 kDa, e 2 infrarregulados, 1.924 kDa e 2.504 kDa) que diagnosticaram endometriose em estágio I-II com uma sensibilidade e uma especificidade de ambas 100%. Os picos de 90.675 kDa e de 35.956 kDa foram ainda identificados com sendo as proteínas T-plastina e a anexina V (65).

É de grande importância ir de encontro ao desenvolvimento de um ensaio clínico fidedigno e viável para o reconhecimento de proteínas e péptidos que são expressos de forma desigual no endométrio em mulheres com endometriose.

#### 6.2.1.4. Marcadores neuronais

Percebeu-se que a neuroangiogénese possui um papel na endometriose, levando assim à investigação das fibras nervosas como potencial biomarcador para a endometriose.

Inicialmente foram detetadas fibras nervosas em lesões endometrióticas peritoneais (66). Estas descobertas levaram a que fosse avaliado a diferença na densidade das fibras nervosas em amostras de endométrio eutópico. Descreveu-se que a densidade das fibras nervosas era 14 vezes mais elevada no endométrio duma mulher com endometriose em estágio I-II relativamente a mulheres saudáveis (67). Neste mesmo estudo, que avaliou mulheres que iriam ser submetidas a laparoscopia devido a dor pélvica ou infertilidade, a identificação imunohistoquímica da *protein gene product 9.5* (PGP9.5) em amostras endometriais demonstrou uma sensibilidade e especificidade de 98% e 83%, respetivamente, na descoberta de endometriose aquando a realização da laparoscopia (67). Uma sensibilidade de 95% e uma

especificidade de 100% foram obtidas para o diagnóstico da endometriose com a combinação do PGP9.5, da substância P e do péptido intestinal vasoativo (68).

É importante novos estudos envolverem maiores populações de forma a validar a utilidade da densidade das fibras nervosas no endométrio como possível técnica não-invasiva para a endometriose.

#### 6.2.1.5. Proteína P450 aromatase

Está descrito que a expressão de mRNA da proteína P450 aromatase no endométrio, não está confinado a mulheres com endometriose, mas está também associado com a maioria das doenças uterinas proliferativas hormono-dependentes, tal como o leiomioma, a adeniose e a obstrução tubária proximal. Como marcador para a endometriose, a aromatase mostrou ter uma sensibilidade de 82%, uma especificidade de 59%, um valor preditivo positivo de 76% e um valor preditivo negativo de 67% (69). Considerou-se assim que esta proteína é preditiva para a presença de doença pélvica, contudo a sua falta de especificidade e a elevada incidência de falsos negativos causam dúvidas quanto à sua aplicabilidade clínica.

#### 6.2.1.6. Outros marcadores endometriais

A anexina V, um marcador de apoptose, mostrou ser um biomarcador endometrial promissor para o diagnóstico de endometriose em estágio I-II, bem como a T-plastina (65). A glicodelina, uma proteína derivada do endométrio com efeitos contracetivos, angiogénicos e imunossupressores, poderá contribuir para o desenvolvimento da endometriose e da sua associação com a infertilidade (70) e ser assim um possível biomarcador para o diagnóstico da doença.

### 6.2.2. Marcadores Serológicos

Não há dúvida que o sangue é uma potencial fonte para a pesquisa de biomarcadores. Não só permite a repetição da medição dos diversos parâmetros, como também é facilmente obtido. Sendo que a maioria dos biomarcadores para o diagnóstico da endometriose estudados no soro são maioritariamente glicoproteínas, fatores de crescimento, fatores de adesão hormonas, proteínas relacionadas com a imunologia da doença ou com a angiogénese (12,40). Contudo, e apesar da pesquisa intensiva e extensa no sangue periférico, nenhum biomarcador isolado ou combinado foi ainda validado como teste de diagnóstico para a endometriose (12).

#### 6.2.2.1. CA-125

O CA-125 é uma glicoproteína, produzida pelas células mesoteliais e endometriais e entra na circulação em resposta à inflamação, que tem sido extensivamente investigada para o diagnóstico não-invasivo da endometriose (71).

Está demonstrada a utilidade deste marcador no diagnóstico da doença, da sua correlação com a severidade da mesma e da resposta ao tratamento, em especial com os quistos ováricos endometriais (12,72). Contudo, este biomarcador sendo um marcador tumoral, não é específico da endometriose, e encontra-se elevado no cancro do ovário (73), mas também na doença inflamatória pélvica, na menstruação e na gravidez (74).

Com isto, verificou-se que a especificidade desta glicoproteína é baixa, mas também apresenta uma sensibilidade baixa para detetar a endometriose em qualquer estágio da doença. Sendo que a sensibilidade e a especificidade deste biomarcador para a endometriose de estágio I-IV foi de 50% e 72%, respetivamente. E para endometriose de estágio III-IV a sensibilidade foi de 60% com uma especificidade de 80% (10). Encontrou-se em mulheres com endometriose em estágio mais avançado níveis mais elevados de CA-125 e percebeu-se que o aumento e a diminuição dos níveis desta glicoproteína ao longo do tempo indicam progressão e regressão da doença, respetivamente (75).

Uma combinação do CA-125 com o CA-19-9 e da survivina aumentaram a sensibilidade para 87% com uma taxa de falsos positivos de 10% para detetar endometriose (72). A combinação do CA-125 com o recetor de quimiocinas do tipo 1 (CCR-1) e o Ligando 2 de quimiocina com motivo C-C (CCL2) revelou uma sensibilidade de 92,2% e uma especificidade de 81,6% (76).

Vários outros estudos foram realizados onde combinaram outros biomarcadores, no entanto nenhum destes resultados se encontram validados. Como é o caso da combinação do CA-125 com a IL-8 com o fator de necrose tumoral (TNF)  $\alpha$  na fase secretora do ciclo menstrual onde demonstrou uma sensibilidade e especificidade de 89,7% e 71,1%, respetivamente (77).

#### 6.2.2.2. Outras glicoproteínas

O CA-19-9, também ele um marcador tumoral do ovário, mostrou-se estar elevado na endometriose tendo uma sensibilidade igual ou mais baixa que o CA-125 em detetar endometriose (12). Tendo sido considerado um marcador útil para avaliar a severidade da doença, num estudo que comparou o valor clínico dos níveis de CA-19-9 *versus* de CA-125 (78).

Foi revelado que um painel de 4 biomarcadores (CA-125, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), a anexina V e a glicodelina/ molécula de adesão intercelular 1 solúvel (sICAM-1)) tinha uma sensibilidade e especificidade de 74-94% e de 55-75%, respetivamente (79).

Demonstrou-se ainda o potencial uso da glicodelina A como um biomarcador para a endometriose ovárica tendo sido encontrado níveis elevados desta glicoproteína no soro em mulheres com endometriomas. Mostrou ter uma sensibilidade de 82,1% e uma especificidade de 78,4% (80).

A folistatina, um inibidor da ativina, encontra-se aumentado em pacientes com endometriose (12), especialmente em mulheres com endometriomas ováricos. Demonstrando ter uma sensibilidade e especificidade, como biomarcador para a doença, de 92% (81). A folistatina permitiu ainda uma clara distinção entre endometriomas e outros quistos ováricos benignos.

A glicoproteína zinco- $\alpha$ -2, foi identificada como sendo um possível marcador para a endometriose e apresentou uma sensibilidade de 69,4% e uma especificidade de 100% em detetar a doença (82).

#### 6.2.2.3. Marcadores imunológicos e inflamatórios

Com uma compreensão da patogénese da endometriose novas moléculas vieram a ser estudadas como possíveis biomarcadores para a endometriose, como é o caso dos marcadores imunológicos e das citocinas inflamatórias. Como por exemplo a IL-1, a IL-6, a IL-8, a TNF- $\alpha$ , o CCL2 e o interferão (IFN)  $\gamma$  (12).

O uso de quimiocinas como biomarcadores para a endometriose foi revisto por um grupo. As moléculas CCL2, IL-8 e Ligando 5 de quimiocina com motivo C-C (CCL5) mostraram-se significativamente aumentadas em pacientes com endometriose, 46,1%, 50% e 75%, respetivamente, tendo mostrado potencial como biomarcadores. Aumento dos níveis de IL-4 no soro foram ainda encontrados em adolescentes com o diagnóstico da doença (83).

Foram ainda encontrados níveis elevados de IL-6 e IFN- $\gamma$  (84), IL-8 (42) e de TNF- $\alpha$  (85) em pacientes com endometriose quando comparados com mulheres sem endometriose.

Contudo, não existe consenso que citocinas, se é que existem, são capazes de discriminar pacientes com endometriose de pacientes com outras patologias pélvicas (79).

#### 6.2.2.4. Angiogénese

Está descrita a elevação do VEGF, um importante regulador da angiogénese, no sangue em pacientes com endometriose (12). Por exemplo foi incluído o VEGF em painéis para detetar endometriose de estágio I-II, com uma sensibilidade de 80% (79). Porém outros estudos não verificaram o mesmo, não se tendo encontrado diferenças significativas entre pacientes com ou sem endometriose (12).

O fator derivado do epitélio pigmentar (PEDF), com propriedade neurotróficas e anti-inflamatórias, é um inibidor da angiogénese tendo sido demonstrado que se encontrava diminuído em pacientes com endometriose independentemente da fase do ciclo menstrual (86).

Outros fatores, como o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF-2), a angiogenina e o recetor do VEGF registaram elevações no sangue em pacientes com endometriose (12).

Todavia, mais investigação é necessária para a sua validação como possíveis biomarcadores no diagnóstico da endometriose.

#### 6.2.2.5. Stress oxidativo

Devido a um fluxo menstrual retrógrado que irá conduzir à libertação de eritrócitos que por sua vez aquando a sua rutura, libertam ferro para a cavidade pélvica, levando a um aumento do stress oxidativo em mulheres com endometriose (87). Foram encontradas alterações em proteínas que estão relacionadas com este fenómeno. Nomeadamente, uma diminuição no soro de paraoxonase 1 (PON-1), de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (88) e de superóxido dismutase (89). E um aumento do colesterol total, das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), dos triglicéridos, dos lípidos peroxidados (88), 25-hidroxicolesterol (90), da proteína de choque térmico 70b' (91) e da vitamina E (89).

#### 6.2.2.6. Adesão celular e invasão tecidual

A sICAM-1 é uma das maiores moléculas de adesão que irá inibir a citotoxicidade mediada pelas células *natural killer* resultando numa diminuição do estado imunológico, estando assim envolvida no desenvolvimento e implementação das lesões endometriais (11). Foi sugerido, que os níveis de sICAM-1 aumentam durante os estádios I e II da endometriose e diminuem nos estádios III e IV (12), foi então avaliado como possível marcador para o diagnóstico da endometriose em casos não identificados por ecografia antes da laparoscopia (79). Também a molécula de adesão celular, osteopontina, encontrava-se elevada no plasma para qualquer estágio da doença (92).

Um aumento das metaloproteinases matriz (MMP) tipo 2 e da MMP-9 foi encontrado em pacientes com endometriose. O envolvimento destas moléculas na remodelação da matriz extracelular encontra-se envolvido na patogénese da doença, pelo que elas facilitam a invasão de fragmentos do tecido endometrial através do peritoneu para outras regiões que não o endométrio (93).

#### 6.2.2.7. MiRNAs

Tal como no tecido endometrial, também no sangue periférico os miRNAs foram sugeridos como potenciais biomarcadores para o diagnóstico da endometriose (11).

Foram encontrados níveis reduzidos no sangue de miR-17-5p, miR-20a, miR-22 (94), miR-145, miR-131 miR-542-3p e miR-9 (95) e níveis aumentados de miR-16, miR-191, miR-195 (96), miR-199a e miR-122 (95) em pacientes com endometriose quando comparados com mulheres sem endometriose.

#### 6.2.2.8. Proteomas serológicos

Os proteomas, tipicamente chamados de proteínas “*fingerprints*”, foram já estudados para o seu uso como possíveis biomarcadores para a endometriose. Ainda que tenham sido revelados

resultados promissores, são técnicas bastante caras e que demoram imenso tempo até que se consigam obter resultados (12).

Foram descritos 3 picos peptídicos (5988.7 m/z, 7185.3 m/z e 8929.8 m/z) que demonstraram uma sensibilidade e uma especificidade de 91,4% e 95% respetivamente, em detetar endometriose. Estes dados foram ainda posteriormente validados num ensaio cego que revelou uma sensibilidade de 89,3% e uma especificidade de 90% (97).

Foi revelado que a combinação de 5 picos peptídicos (2.058 m/z, 2.456 m/z, 3.883 m/z, 14.694 m/z e 42.065 m/z), através de uma espectrometria de massa SELDI-TOF, durante a fase menstrual do ciclo, tinha uma sensibilidade de 88% e uma especificidade de 84% na deteção da endometriose (98).

Um pico peptídico de 5.830 m/z encontrava-se suprarregulado em amostras sanguíneas de mulheres com endometriose antes da cirurgia comparativamente com os níveis do mesmo após a cirurgia. O mesmo pico encontrava-se ausente em pacientes saudáveis (99).

Conquanto, é necessária uma melhor standardização e reprodutibilidade destas tecnologias antes destas puderem ser usadas em investigações para propósitos clínicos (11).

#### 6.2.2.9. Autoanticorpos

Anticorpos anti-endometriais mostraram resultados promissores como possíveis biomarcadores para a endometriose, encontrando-se em níveis mais elevados em pacientes com endometriose. Também outros anticorpos demonstraram ter potencial como biomarcadores para a endometriose, tal como anticorpos contra a anidrase carbónica, a transferrina, a  $\alpha$ -2-glicoproteína-HS, a cardiolipina, a laminina-I, a LDL oxidada por cobre e a LDL modificada por malondialdeído (12).

#### 6.2.2.10. Metabólitos

Está descrito que em pacientes com endometriose em estágio I-II existem valores elevados de lactato, 3-hidroxi-butirato, 2-hidroxi-butirato, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-teanina, L-lisina, glicerofosfatidilcolina e de ácido succínico e níveis diminuídos de lípidos, glicose, L-isoleucina e L-arginina (100).

#### 6.2.2.11. DNA livre circulante

A concentração de DNA livre circulante no sangue era mais elevado em mulheres com endometriose do que em mulheres sem endometriose (101). Esta descoberta sugere que estes ácidos nucleicos livres no plasma podem ser potenciais biomarcadores para o diagnóstico não-invasivo da endometriose. Contudo, é necessária mais investigação no que diz respeito a estas moléculas.

### 6.2.3. Marcadores Urinários

Nos últimos anos apenas 11% dos estudos realizados acerca de biomarcadores para a endometriose eram baseados em amostras de urina. O que faz com que esta abordagem aos marcadores urinário seja muito pouco explorada e sendo um dos alvos menores, comparativamente aos estudos realizados em amostras de sangue, no que diz respeito à pesquisa de novos biomarcadores para detetar esta condição (102). Foram identificados níveis elevados de certas proteínas na urina de mulheres com endometriose comparativamente a mulheres sem endometriose, como é o caso da proteína de ligação da vitamina D (103) e o da enolase-1 (104). No entanto, estes resultados não têm ainda poder diagnóstico suficiente, pelo que é necessária uma maior investigação de possíveis marcadores na urina para a deteção da doença.

#### 6.2.3.1. Adesão celular e invasão tecidual

Também na urina as metaloproteinases matriz foram investigadas pela sua associação com a endometriose. Um painel com a MMP-2, MMP-9 e o complexo MMP-9/ lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos estava significativamente elevado em pacientes com endometriose quando comparado com mulheres sem a doença (105).

#### 6.2.3.2. Proteomas urinários

Usando uma espectrometria de massa *matrix assisted laser desorption/ ionization time-of-flight* (MALDI-TOF), foram reveladas diferenças em perfis peptídicos na urina de mulheres com endometriose comparativamente a mulheres sem endometriose. Está descrita uma expressão aumentada em 12 vezes de 5 proteínas em pacientes com endometriose, sendo que a citoqueratina-9 (CK9) encontrava-se altamente suprarregulada na urina destas mulheres, pelo que é um potencial biomarcador urinário (106). Foi identificado um péptido periovulatório, de massa 3.2809 kDa, que com uma sensibilidade de 82% e uma especificidade de 88%, diferenciou qualquer estágio da endometriose de mulheres sem a doença (107).

## 7. Conclusão

A existência de um método de diagnóstico não-invasivo fidedigno e seguro para a endometriose trará enormes benefícios, quer a nível individual do paciente quer para a saúde global, pela redução do tempo entre o aparecimento dos primeiros sintomas e o diagnóstico efetivo da doença (11), bem como a melhoria da qualidade de vida das mulheres com a doença. Com o controlo e o tratamento precoce da doença é expectável que haja uma diminuição e controlo dos sintomas mais tardios da doença, como é o caso da infertilidade, evitando assim os tratamentos caros e dispendiosos para a fertilidade (31).

Em conclusão, a identificação de um biomarcador ou de um painel de biomarcadores para o diagnóstico da endometriose é um objetivo prioritário a ser atingido. Porém, é necessária a existência de *guidelines* internacionais específicas sobre a pesquisa atual destes marcadores bem como a sua aplicação clínica no futuro, pois nem todas as descobertas científicas trazem mais benefícios que prejuízos, e podem não trazer melhorias para a saúde. A existência destas ferramentas terá que trazer uma maior sensibilidade e especificidade que as técnicas atualmente empregues. Assim sendo, dois grupos de mulheres que poderão beneficiar de tais ferramentas de diagnóstico são aquelas com subfertilidade inexplicada e aquelas com dor pélvica severa inexplicada que é refratária aos contraceptivos orais e aos anti-inflamatórios não esteroides (108). Também em mulheres com sintomas consistentes com o estágio I-II da endometriose poderão beneficiar de tratamento por laparoscopia, caso a endometriose esteja presente. No entanto, se se verificasse a não existência de endometriose, este procedimento invasivo poderia trazer mais riscos que benefícios, pelo que neste grupo de pacientes a existência de um teste não-invasivo poderá ser uma mais valia (31).

Um outro papel para estes biomarcadores é a identificação da eficácia terapêutica e do controlo da evolução da doença dos sintomas, assim como da recorrência da endometriose, onde um estudo mostrou ser de 40 a 50% aos 5 anos após o tratamento cirúrgico (109).

Conquanto e apesar de todos os estudos realizados até à data, nenhum biomarcador foi validado para ser usado como teste no diagnóstico da endometriose com sensibilidade e especificidade suficientes para o seu uso clínico (11).



## Referências Bibliográficas

1. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* [Internet]. 2004;364(9447):1789-99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15541453>
2. Simoens S, Hummelshoj L, D'Hooghe T. Endometriosis: Cost estimates and methodological perspective. Vol. 13, *Human Reproduction Update*. 2007. p. 395-404.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin No. 114: Management of Endometriosis. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2010;116(1):223-236. 10.1097/AOG.0b013e3181e8b073. Available from: [http://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2010/07000/Practice\\_Bulletin\\_No\\_\\_114\\_\\_Management\\_of.41.aspx](http://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2010/07000/Practice_Bulletin_No__114__Management_of.41.aspx)
4. Ballard K, Lowton K, Wright J. What's the delay? A qualitative study of women's experiences of reaching a diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*. 2006;86(5):1296-301.
5. Matsuzaki S, Canis M, Pouly JL, Rabischong B, Botchorishvili R, Mage G. Relationship between delay of surgical diagnosis and severity of disease in patients with symptomatic deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril*. 2006;86(5):1314-6.
6. Hadfield R, Mardon H, Barlow D, Kennedy S. Delay in the diagnosis of endometriosis: a survey of women from the USA and the UK. *Hum Reprod*. 1996;11(4):878-80.
7. Hickey M, Ballard K, Farquhar C. Endometriosis. *BMJ* [Internet]. 2014;348:g1752. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24647161>
8. Kyama CM, T'Jampens D, Mihalyi A, Simsa P, Debrock S, Waelkens E, et al. ProteinChip technology is a useful method in the pathogenesis and diagnosis of endometriosis: a preliminary study. *Fertil Steril* [Internet]. 2006;86(1):203-9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028206005395>
9. Moore J, Copley S, Morris J, Lindsell D, Golding S, Kennedy S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Jan 15];20(6):630-4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12493057>
10. Mol BWJ, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MAHM, Bongers MY, van der Veen F, et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 16;70(6):1101-8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(98\)00355-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(98)00355-0)
11. Fassbender A, Dorien O, De Moor B, Waelkens E, Meuleman C, Tomassetti C, et al. Biomarkers of endometriosis. *Endometr Pathog Treat* [Internet]. 2014;99(4):321-39.

Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.01.097>

12. May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Peripheral biomarkers of endometriosis: A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2010;16(6):651-74.
13. Duleba AJ. Diagnosis of endometriosis. *Obs Gynecol Clin North Am* [Internet]. 1997;24(2):331-46. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9163770](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9163770)
14. Frackiewicz EJ, Zarotsky V. Diagnosis and treatment of endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2003;4(1):67-82.
15. Redwine DB. The visual appearance of endometriosis and its impact on our concepts of disease. *Prog Clin Biol Res*. 1990;323:393-412.
16. Missmer SA, Cramer DW. The epidemiology of endometriosis. Vol. 30, *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2003. p. 1-19.
17. Koninckx PR, Meuleman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril*. 1991 Apr;55(4):759-65.
18. Ling FW. Randomized controlled trial of depot leuprolide in patients with chronic pelvic pain and clinically suspected endometriosis. Pelvic Pain Study Group. *Obstet Gynecol* [Internet]. 1999;93(1):51-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9916956>
19. Leibson CL, Good AE, Hass SL, Ransom J, Yawn BP, O'Fallon WM, et al. Incidence and characterization of diagnosed endometriosis in a geographically defined population. *Fertil Steril*. 2004;82(2):314-21.
20. Velebil P, Wingo PA, Xia Z, Wilcox LS, Peterson HB. Rate of hospitalization for gynecologic disorders among reproductive-age women in the United States. *Obstet Gynecol*. 1995;86(5):764-9.
21. Matalliotakis IM, Arici A, Cakmak H, Goumenou AG, Koumantakis G, Mahutte NG. Familial aggregation of endometriosis in the Yale Series. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2008;278(6):507-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-008-0644-1>
22. Hadfield RM, Mardon HJ, Barlow DH, Kennedy SH. Endometriosis in monozygotic twins. *Fertil Steril*. 1997;68(5):941-2.
23. Simoens S, Dunselman G, Dirksen C, Hummelshoj L, Bokor A, Brandes I, et al. The burden of endometriosis: Costs and quality of life of women with endometriosis and treated in referral centres. *Hum Reprod*. 2012;27(5):1292-9.

24. Bernert S, Fernández A, Haro JM, König H, Alonso J, Vilagut G, et al. Comparison of different valuation methods for population health status measured by the EQ-5D in three European countries. *Value Health* [Internet]. 2009;12(5):750-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19490564>
25. Ametzazurra A, Matorras R, García-Velasco JA, Prieto B, Simón L, Martínez A, et al. Endometrial fluid is a specific and non-invasive biological sample for protein biomarker identification in endometriosis. *Hum Reprod*. 2009;24(4):954-65.
26. Wykes CB, Clark TJ, Khan KS. Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *BJOG*. 2004 Nov;111(11):1204-12.
27. Theron E, Shaw GB, Action S. Special Contribution. *Soc Work (South Africa)*. 2007;43(3):283-90.
28. Damewood MD. Pathophysiology and management of endometriosis. *J Fam Pract*. 1993 Jul;37(1):68-75.
29. Aznaurova YB, Zhumataev MB, Roberts TK, Aliper AM, Zhavoronkov A a. Molecular aspects of development and regulation of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2014;12(1):50. Available from: <http://www.ebscohost.com>
30. Arruda MS, Petta CA, Abrao MS, Benetti-Pinto CL. Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women. *Hum Reprod*. 2003 Apr;18(4):756-9.
31. D'Hooghe TM, Mihalyi AM, Simsa P, Kyama CK, Peeraer K, De Loecker P, et al. Why we need a noninvasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis with a high sensitivity. *Gynecol Obstet Invest*. 2006;62(3):136-8.
32. Brosens I, Puttemans P, Campo R, Gordts S, Brosens J. Non-invasive methods of diagnosis of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* [Internet]. 2003;15(6):519-22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14624220>
33. Garcia-Velasco JA, Somigliana E. Management of endometriomas in women requiring IVF: To touch or not to touch. Vol. 24, *Human Reproduction*. 2009. p. 496-501.
34. Nisenblat V, Bossuyt PMM, Farquhar C, Johnson N, Hull ML. Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;2016(2).
35. Bazot M, Malzy P, Cortez A, Roseau G, Amouyal P, Daraï E. Accuracy of transvaginal sonography and rectal endoscopic sonography in the diagnosis of deep infiltrating endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;30(7):994-1001.
36. Bazot M, Bornier C, Dubernard G, Roseau G, Cortez A, Daraï E. Accuracy of magnetic resonance imaging and rectal endoscopic sonography for the prediction of location of deep pelvic endometriosis. *Hum Reprod*. 2007;22(5):1457-63.

37. Bis KG, Vrachliotis TG, Agrawal R, Shetty AN, Maximovich A, Hricak H. Pelvic endometriosis: MR imaging spectrum with laparoscopic correlation and diagnostic pitfalls. *Radiographics*. 1997;17(3):639-55.
38. Chapron C, Dubuisson J-B, Pansini V, Vieira M, Fauconnier A, Barakat H, et al. Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 2002 May;9(2):115-9.
39. Brosens I, Puttemans P, Campo R, Gordts S, Kinkel K. Diagnosis of endometriosis: Pelvic endoscopy and imaging techniques. Vol. 18, *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2004. p. 285-303.
40. Othman EE-DR, Hornung D, Al-Hendy A. Biomarkers of endometriosis. *Expert Opin Med Diagn* [Internet]. 2008 Jul 1;2(7):741-52. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17530059.2.7.741>
41. Rogers PAW, D'Hooghe TM, Fazleabas A, Gargett CE, Giudice LC, Montgomery GW, et al. Priorities for endometriosis research: recommendations from an international consensus workshop. *Reprod Sci* [Internet]. 2009;16(4):335-46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19196878><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3682634>
42. Ohata Y, Harada T, Miyakoda H, Taniguchi F, Iwabe T, Terakawa N. Serum interleukin-8 levels are elevated in patients with ovarian endometrioma. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 14;90(4):994-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1355>
43. Nepomnyashchaya YN, Artemov A V., Roumiantsev SA, Roumyantsev AG, Zhavoronkov A. Non-invasive prenatal diagnostics of aneuploidy using next-generation DNA sequencing technologies, and clinical considerations. Vol. 51, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2013. p. 1141-54.
44. Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, et al. Molecular Phenotyping of Human Endometrium Distinguishes Menstrual Cycle Phases and Underlying Biological Processes in Normo-Ovulatory Women. *Endocrinology* [Internet]. 2005 Nov 23;147(3):1097-121. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/en.2005-1076>
45. Fassbender A, Burney RO, O DF, D'Hooghe T, Giudice L. Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
46. Daftary GS, Taylor HS. Hydrosalpinx fluid diminishes endometrial cell HOXA10 expression. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;78(3):577-80. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)03306-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(02)03306-X)

47. Kitawaki J, Koshiba H, Ishihara H, Kusuki I, Tsukamoto K, Honjo H. Progesterone Induction of 17 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 during the Secretory Phase Occurs in the Endometrium of Estrogen-Dependent Benign Diseases But Not in Normal Endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2000 Sep 1;85(9):3292-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.85.9.6829>
48. Fischer CP, Kayisili U, Taylor HS. HOXA10 expression is decreased in endometrium of women with adenomyosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;95(3):1133-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.060>
49. Sherwin JRA, Sharkey AM, Mihalyi A, Simsa P, Catalano RD, D'Hooghe TM. Global gene analysis of late secretory phase, eutopic endometrium does not provide the basis for a minimally invasive test of endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2008 May 1;23(5):1063-8. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/23/5/1063.abstract>
50. May KE, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Endometrial alterations in endometriosis: A systematic review of putative biomarkers. *Hum Reprod Update*. 2011;17(5):637-53.
51. Tamaresis JS, Irwin JC, Goldfien GA, Rabban JT, Burney RO, Nezhat C, et al. Molecular Classification of Endometriosis and Disease Stage Using High-Dimensional Genomic Data. *Endocrinology* [Internet]. 2014 Sep 22;155(12):4986-99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/en.2014-1490>
52. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2007 Nov 8;36(suppl\_1):D154-8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkm952>
53. Resnick KE, Alder H, Hagan JP, Richardson DL, Croce CM, Cohn DE. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2017 Jan 23;112(1):55-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2008.08.036>
54. Kuokkanen S, Chen B, Ojalvo L, Benard L, Santoro N, Pollard JW. Genomic Profiling of MicroRNAs and Messenger RNAs Reveals Hormonal Regulation in MicroRNA Expression in Human Endometrium. *Biol Reprod* [Internet]. 2010 Apr 1;82(4):791-801. Available from: <http://www.biolreprod.org/content/82/4/791.abstract>
55. Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, Chegini N. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2007 Nov 1;13(11):797-806. Available from: <http://molehr.oxfordjournals.org/content/13/11/797.abstract>

56. Ohlsson Teague EMC, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, Perry N, Wagaarachchi P, Robertson SA, et al. MicroRNA-Regulated Pathways Associated with Endometriosis. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2009 Feb 1;23(2):265-75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/me.2008-0387>
57. Filigheddu N, Gregnanin I, Porporato PE, Surico D, Perego B, Galli L, et al. Differential expression of micrnas between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010.
58. Hawkins SM, Creighton CJ, Han DY, Zariff A, Anderson ML, Gunaratne PH, et al. Functional MicroRNA Involved in Endometriosis. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2011 May 1;25(5):821-32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/me.2010-0371>
59. Braza-Boïls A, Marí-Alexandre J, Gilabert J, Sánchez-Izquierdo D, España F, Estellés A, et al. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors. *Hum Reprod* [Internet]. 2014 May 1;29(5):978-88. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/29/5/978.abstract>
60. Burney RO, Hamilton AE, Aghajanova L, Vo KC, Nezhat CN, Lessey BA, et al. MicroRNA expression profiling of eutopic secretory endometrium in women with versus without endometriosis. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2009 Oct 1;15(10):625-31. Available from: <http://molehr.oxfordjournals.org/content/15/10/625.abstract>
61. Aghajanova L, Giudice LC. Molecular Evidence for Differences in Endometrium in Severe Versus Mild Endometriosis. *Reprod Sci* [Internet]. 2010 Nov 9;18(3):229-51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1933719110386241>
62. Fassbender A, Verbeeck N, Börnigen D, Kyama CM, Bokor A, Vodolazkaia A, et al. Combined mRNA microarray and proteomic analysis of eutopic endometrium of women with and without endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2012 Jul 1;27(7):2020-9. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/27/7/2020.abstract>
63. Wang L, Zheng W, Ding X, Yu J, Jiang W, Zhang S. Identification biomarkers of eutopic endometrium in endometriosis using artificial neural networks and protein fingerprinting. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;93(7):2460-2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.08.061>
64. Ding X, Wang L, Ren Y, Zheng W. Detection of mitochondrial biomarkers in eutopic endometria of endometriosis using surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;94(7):2528-30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.054>
65. Kyama CM, Mihalyi A, Gevaert O, Waelkens E, Simsa P, Van De Plas R, et al. Evaluation of endometrial biomarkers for semi-invasive diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*. 2011;95(4).

66. Tamburro S, Canis M, Albuisson E, Dechelotte P, Darcha C, Mage G. Expression of transforming growth factor B1 in nerve fibers is related to dysmenorrhea and laparoscopic appearance of endometriotic implants. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;80(5):1131-6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)01182-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(03)01182-8)
67. Al-Jefout M, Dezarnaulds G, Cooper M, Tokushige N, Luscombe GM, Markham R, et al. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod* [Internet]. 2009 Dec 1;24(12):3019-24. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/24/12/3019.abstract>
68. Bokor A, Kyama CM, Vercruyse L, Fassbender A, Gevaert O, Vodolazkaia A, et al. Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2009 Dec 1;24(12):3025-32. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/24/12/3025.abstract>
69. Dheenadayalu K, Mak I, Gordts S, Campo R, Higham J, Puttemans P, et al. Aromatase P450 messenger RNA expression in eutopic endometrium is not a specific marker for pelvic endometriosis. In: *Fertility and Sterility*. 2002. p. 825-9.
70. Seppälä M, Koistinen H, Koistinen R, Hautala L, Chiu PC, Yeung WS. Glycodelin in reproductive endocrinology and hormone-related cancer. Vol. 160, *European Journal of Endocrinology*. 2009. p. 121-33.
71. Gupta S, Agarwal A, Sekhon L, Krajcir N, Cocuzza M, Falcone T. Serum and peritoneal abnormalities in endometriosis: Potential use as diagnostic markers. Vol. 58, *Minerva Ginecologica*. 2006. p. 527-51.
72. Mabrouk M, Elmakky A, Caramelli E, Farina A, Mignemi G, Venturoli S, et al. Performance of peripheral (serum and molecular) blood markers for diagnosis of endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2012;285(5):1307-12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-011-2122-4>
73. He R-H, Yao W-M, Wu L-Y, Mao Y-Y. Highly elevated serum CA-125 levels in patients with non-malignant gynecological diseases. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2011;283(1):107-10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-010-1717-5>
74. Adamson GD. Diagnosis and clinical presentation of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Feb;162(2):568-9.
75. Pittaway DE. CA-125 in women with endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* [Internet]. 1989;16(1):237-52. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/2664620>
76. Agic A, Djalali S, Wolfler MM, Halis G, Diedrich K, Hornung D. Combination of CCR1 mRNA, MCP1, and CA125 measurements in peripheral blood as a diagnostic test for endometriosis. *Reprod Sci*. 2008;15(9):906-11.

77. Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, Simsa P, Pochet N, De Smet F, et al. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Hum Reprod*. 2010;25(3):654-64.
78. Harada T, Kubota T, Aso T. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*. 2002 Oct;78(4):733-9.
79. Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM, et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod*. 2012;27(9):2698-711.
80. Kocbek V, Vouk K, Mueller MD, Rižner TL, Bersinger NA. Elevated glycodelin-A concentrations in serum and peritoneal fluid of women with ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol* [Internet]. 2013 May 1;29(5):455-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/09513590.2013.769516>
81. Florio P, Reis FM, Torres PB, Calonaci F, Abrao MS, Nascimento LL, et al. High serum follistatin levels in women with ovarian endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2009 Oct 1;24(10):2600-6. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/24/10/2600.abstract>
82. Signorile PG, Baldi A. Serum Biomarker for Diagnosis of Endometriosis. *J Cell Physiol* [Internet]. 2014;229(11):1731-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.24620>
83. Borrelli GM, Abrão MS, Mechsner S. Can chemokines be used as biomarkers for endometriosis? A systematic review. *Hum Reprod*. 2014;29(2):253-66.
84. Othman EEDR, Hornung D, Salem HT, Khalifa EA, El-Metwally TH, Al-Hendy A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;137(2):240-6.
85. Xavier P, Belo L, Beires J, Rebelo I, Martinez-de-Oliveira J, Lunet N, et al. Serum levels of VEGF and TNF-alpha and their association with C-reactive protein in patients with endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*. 2006;273:227-31.
86. Chen L, Fan R, Huang X, Xu H, Zhang X. Reduced Levels of Serum Pigment Epithelium-Derived Factor in Women With Endometriosis. *Reprod Sci* [Internet]. 2011 Nov 3;19(1):64-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/1933719111413300>
87. Wölfler MM, Meinhold-Heerlein IM, Henkel C, Rath W, Neulen J, Maass N, et al. Reduced hemopexin levels in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;100(3):777-781.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.05.010>
88. Verit FF, Erel O, Celik N. Serum paraoxonase-1 activity in women with endometriosis and its relationship with the stage of the disease. *Hum Reprod* [Internet]. 2008 Jan 1;23(1):100-4. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/23/1/100.abstract>

89. Prieto L, Quesada JF, Cambero O, Pacheco A, Pellicer A, Codoceo R, et al. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;98(1):126-30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.03.052>
90. Sharma I, Dhaliwal LK, Saha SC, Sangwan S, Dhawan V. Role of 8-iso-prostaglandin F<sub>2α</sub> and 25-hydroxycholesterol in the pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;94(1):63-70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.01.141>
91. Lambrinoudaki I V, Augoulea A, Christodoulakos GE, Economou E V, Kaparos G, Kontoravdis A, et al. Measurable serum markers of oxidative stress response in women with endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;91(1):46-50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.11.021>
92. D'Amico F, Skarmoutsou E, Quaderno G, Malaponte G, Corte C La, Scibili G, et al. Expression and localisation of osteopontin and prominin-1 (CD133) in patients with endometriosis. *Int J Mol Med*. 2013;31(5):1011-6.
93. Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Altered circulating levels of matrix metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors and effect of progesterone supplementation in women with endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;100(1):127-134.e1. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.03.006>
94. Jia S, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2013 Feb 1;28(2):322-30. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/28/2/322.abstract>
95. Wang W-T, Zhao Y-N, Han B-W, Hong S-J, Chen Y-Q. Circulating MicroRNAs Identified in a Genome-Wide Serum MicroRNA Expression Analysis as Noninvasive Biomarkers for Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012 Nov 1;98(1):281-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2012-2415>
96. Suryawanshi S, Vlad AM, Lin HM, Mantia-Smaldone G, Laskey R, Lee M, et al. Plasma MicroRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(5):1213-24.
97. Zheng N, Pan C, Liu W. New Serum Biomarkers for Detection of Endometriosis Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J Int Med Res* [Internet]. 2011 Aug 1;39(4):1184-92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/147323001103900406>

98. Fassbender A, Waelkens E, Verbeeck N, Kyama CM, Bokor A, Vodolazkaia A, et al. Proteomics Analysis of Plasma for Early Diagnosis of Endometriosis. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2012;119(2, Part 1). Available from: [http://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2012/02000/Proteomics\\_Analysis\\_of\\_Plasma\\_for\\_Early\\_Diagnosis.12.aspx](http://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2012/02000/Proteomics_Analysis_of_Plasma_for_Early_Diagnosis.12.aspx)
99. Jing J, Qiao Y, Suginami H, Taniguchi F, Shi H, Wang X. Two novel serum biomarkers for endometriosis screened by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and their change after laparoscopic removal of endometriosis. *Fertil Steril*. 2009 Oct;92(4):1221-7.
100. Dutta M, Joshi M, Srivastava S, Lodh I, Chakravarty B, Chaudhury K. A metabonomics approach as a means for identification of potential biomarkers for early diagnosis of endometriosis. *Mol Biosyst* [Internet]. 2012;8(12):3281-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C2MB25353D>
101. Zachariah R, Schmid S, Radpour R, Buerki N, Fan AX-C, Hahn S, et al. Circulating cell-free DNA as a potential biomarker for minimal and mild endometriosis. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2017 Jan 23;18(3):407-11. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60100-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60100-9)
102. Lanišnik Rižner T. Noninvasive biomarkers of endometriosis: myth or reality? *Expert Rev Mol Diagn* [Internet]. 2014 Apr 1;14(3):365-85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1586/14737159.2014.899905>
103. Cho S, Choi YS, Yim SY, Yang HI, Jeon YE, Lee KE, et al. Urinary vitamin D-binding protein is elevated in patients with endometriosis. *Hum Reprod* [Internet]. 2012 Feb 1;27(2):515-22. Available from: <http://humrep.oxfordjournals.org/content/27/2/515.abstract>
104. Yun BH, Lee YS, Chon SJ, Jung YS, Yim SY, Kim HY, et al. Evaluation of elevated urinary enolase I levels in patients with endometriosis. *Biomarkers* [Internet]. 2014 Feb 1;19(1):16-21. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2013.863973>
105. Becker CM, Louis G, Exarhopoulos A, Mechsner S, Ebert AD, Zurakowski D, et al. Matrix metalloproteinases are elevated in the urine of patients with endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;94(6):2343-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.02.040>
106. Tokushige N, Markham R, Crossett B, Ahn SB, Nelaturi VL, Khan A, et al. Discovery of a novel biomarker in the urine in women with endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;95(1):46-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.05.016>

107. El-Kasti MM, Wright C, Fye HKS, Roseman F, Kessler BM, Becker CM. Urinary peptide profiling identifies a panel of putative biomarkers for diagnosing and staging endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2017 Jan 23;95(4):1261-1266.e6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.11.066>
108. Somigliana E, Vercellini P, Vigano&apos; P, Benaglia L, Crosignani PG, Fedele L. Non-invasive diagnosis of endometriosis: The goal or own goal? *Hum Reprod*. 2010;25(8):1863-8.
109. Guo SW. Recurrence of endometriosis and its control. *Hum Reprod Update*. 2009;15(4):441-61.

