

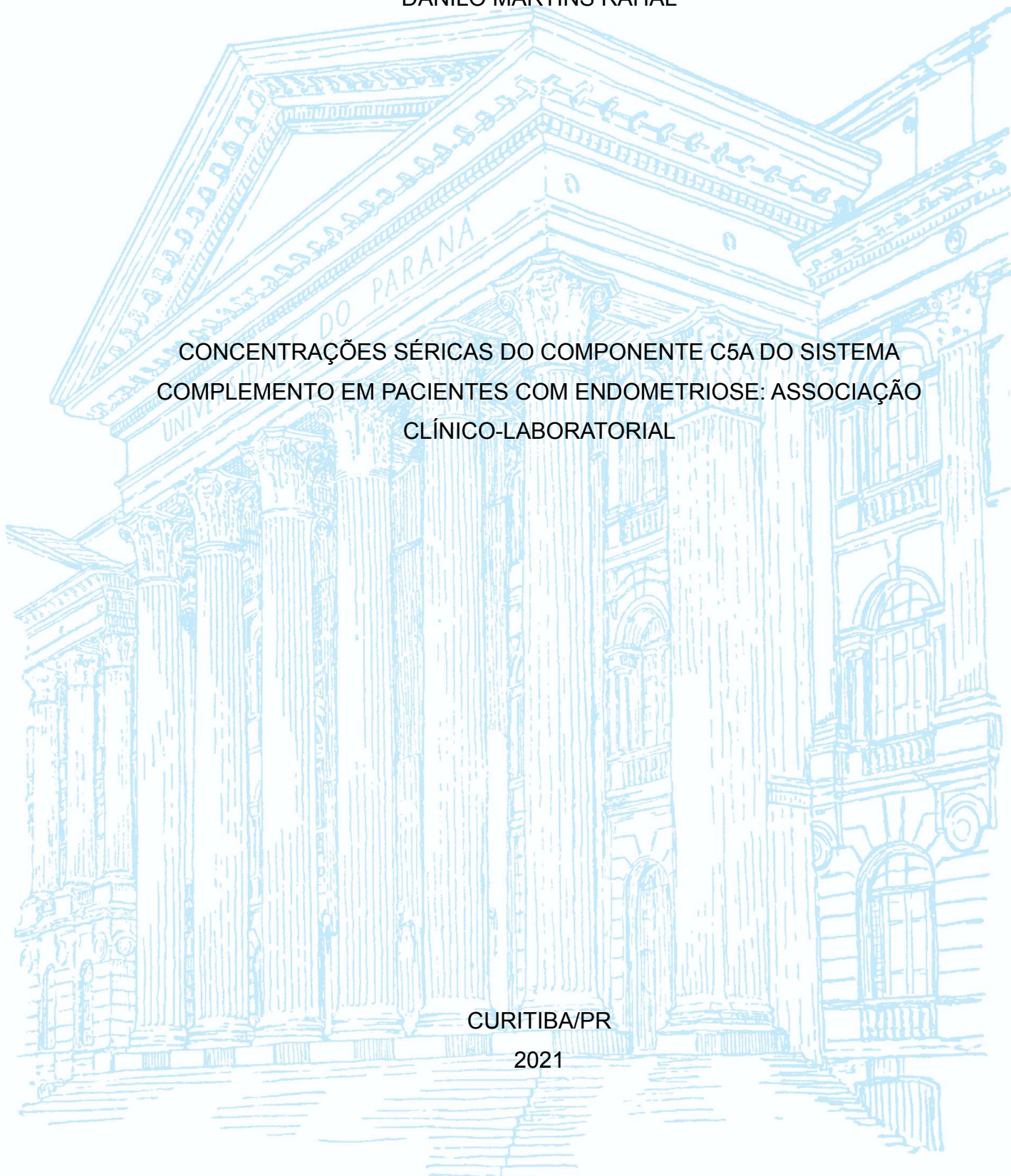
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANILO MARTINS RAHAL

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DO COMPONENTE C5A DO SISTEMA
COMPLEMENTO EM PACIENTES COM ENDOMETRIOSE: ASSOCIAÇÃO
CLÍNICO-LABORATORIAL

CURITIBA/PR

2021



DANILO MARTINS RAHAL

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DO COMPONENTE C5A DO SISTEMA
COMPLEMENTO EM PACIENTES COM ENDOMETRIOSE: ASSOCIAÇÃO
CLÍNICO-LABORATORIAL

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tocoginecologia e Saúde da Mulher.

Orientador: Prof. Dr. Renato Mitsunori Nishihara

CURITIBA/PR

2021

R147 Rahal, Danilo Martins

Concentrações séricas do componente C5a do sistema complemento em pacientes com endometriose: associação clínico-laboratorial. [recurso eletrônico] / Danilo Martins Rahal. – Curitiba, 2021.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Renato Mitsunori Nishihara

1. Endometriose. 2. Proteínas do sistema complemento. 3. Complemento C5a. 4. Inflamação. I. Nishihara, Renato Mitsunori. II. Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

NLM: QW 680



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO TOCOGINECOLOGIA E
SAÚDE DA MULHER - 40001016084P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em TOCOGINECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **DANILO MARTINS RAHAL** intitulada: **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DO COMPONENTE C5a DO SISTEMA COMPLEMENTO EM PACIENTES COM ENDOMETRIOSE: ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL**, sob orientação do Prof. Dr. RENATO MITSUNORI NISHIHARA, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 23 de Julho de 2021.

Assinatura Eletrônica

23/07/2021 11:24:49.0

RENATO MITSUNORI NISHIHARA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

26/07/2021 08:25:05.0

JAIME KULAK JUNIOR

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

23/07/2021 13:20:36.0

KADIJA RAHAL CHRISOSTOMO

Avaliador Externo (SOCIEDADE DE OBSTETRÍCIA E GINECOLOGIA DO PARANÁ)

RUA GENERAL CARNEIRO, 181 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80060-900 - Tel: (41) 3525-6855 - E-mail: pgtoco@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 102562

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 102562

Dedico esta dissertação a todas as mulheres que sofrem de endometriose, principalmente às que participaram do projeto, procurando buscar conhecer mais sobre a doença e melhorar a qualidade de vida delas.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha esposa, que sempre me apoiou e deu suporte para concluir essa dissertação, bem como à minha família que sempre me motivou para seguir meus objetivos.

Agradeço também a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, entre eles as pacientes que participaram da pesquisa, colegas médicos cirurgiões, instrumentadoras e a equipe de anestesia do Hospital Nossa Senhora das Graças e do Hospital Santa Cruz.

Sou grato também ao meu orientador, Professor Doutor Renato, que tanto me ensinou e deu suporte nessa jornada, sem medir esforços. Não posso deixar de agradecer à pós doutoranda Fabiana Antunes de Andrade, que contribuiu para execução desta dissertação e artigo publicado. E, por último, mas extremamente importantes nessa pesquisa, aos acadêmicos de medicina Carlos Bezerra Sobrinho e Laura Vilas Boas, que se dedicaram para a realização da pesquisa.

“A vida é breve, a arte é longa.” (HIPÓCRATES)

RESUMO

INTRODUÇÃO: A endometriose (EM) é uma doença ginecológica dependente de estrogênio, caracterizado pela presença de tecido semelhante ao endométrio fora de sua localização normal. Estima-se que a EM acometa cerca de 10% das mulheres em idade reprodutiva. Os principais sintomas clínicos são infertilidade e dor, apesar de muitas pacientes com EM serem assintomáticas. Na EM há disfunção do sistema imunológico, incluindo alterações do sistema complemento. O sistema complemento faz parte da imunidade inata e é composto por três vias: clássica, alternativa e lectina. As três vias convergem para clivagem de C3 em C3a e C3b e, após, de C5 em C5a e C5b, culminando no complexo de ataque à membrana. C3a e C5a são anafilotoxinas, sendo importantes proteínas inflamatórias que atuam de diversas formas. Em tecido endometriótico e pacientes com EM, há aumento da expressão gênica de C5 e C5a. **OBJETIVOS:** Avaliar as concentrações séricas de C5a em pacientes com diferentes graus de gravidade de EM e comparar com grupo controle sadio. **MATERIAL E MÉTODO:** Foram incluídas 94 pacientes, com mais de 18 anos e em idade reprodutiva, encaminhadas para laparoscopia com suspeita de EM e confirmadas por anatomia patológica após a cirurgia. Foram dosadas as concentrações séricas de C5a no pré-operatório imediato dessas pacientes e de 50 pacientes saudáveis, assintomáticas, sem suspeita clínica de EM, do banco de dados do laboratório de imunopatologia molecular do Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná. **RESULTADOS:** A média de idade das pacientes com EM e do grupo controle foi de 37,2 anos e 37,4 anos, respectivamente. Pela classificação revisada da *American Society of Reproductive Medicine*, 27 pacientes tinham EM grau I, 24 tinham grau II, 23 tinham grau III e 20 tinham grau IV. O tempo médio do início dos sintomas das pacientes até o procedimento cirúrgico foi de 6,4 anos. Dismenorreia foi o sintoma mais comum das pacientes com EM, sendo mais presente nas pacientes com EM inicial comparado com a avançada ($p=0,002$). Foram observadas concentrações séricas superiores da proteína C5a em pacientes com EM, em relação às pacientes do grupo controle ($p<0,0001$). Não se observou associação significativa entre a gravidade ou sintomas da EM com as concentrações séricas de C5a. **CONCLUSÃO:** Os níveis de C5a estão aumentados em pacientes com EM em comparação àquelas sem EM. A presença de dismenorreia é mais frequente em pacientes com EM nos estágios iniciais do que naquelas em estágios avançados. Não há associação significativa de algum sintoma específico com aumento de C5a em pacientes com EM.

Palavras-chave: Endometriose. Proteínas do Sistema Complemento. Complemento C5a. Inflamação.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Endometriosis (EM) is an estrogen-dependent gynecological disorder, characterized by the presence of tissue similar to the endometrium outside of the uterine cavity. It is estimated that EM affects about 10% of women of reproductive age. The main clinical symptoms are infertility and pain, although many patients with EM are asymptomatic. In EM there is dysfunction of the immune system, including changes in the complement system. The complement system is part of innate immunity and consists of three pathways: classical, alternative and lectin. The three pathways converge for cleavage of C3 into C3a and C3b and then from C5 to C5a and C5b, culminating in the membrane attack complex. C3a and C5a are anaphylotoxins, being important inflammatory proteins that act in different ways. In endometriotic tissue and patients with EM, there is an increase in C5 and C5a gene expression. **OBJECTIVES:** To evaluate serum C5a concentrations in patients with different degrees of severity of EM and to compare it with a healthy control group. **MATERIAL AND METHOD:** 94 patients were included, between 18 years and menopause, referred for laparoscopy with suspicion of EM and confirmed by pathological anatomy after surgery. Serum C5a concentrations were measured in the immediate preoperative period of these patients and of 50 healthy, asymptomatic patients, without clinical suspicion of EM, from the database of the Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná molecular immunopathology laboratory. **RESULTS:** The mean age of patients with EM and the control group was 37,2 years and 37,4 years, respectively. According to the revised classification of the American Society of Reproductive Medicine, 27 patients had stage I of EM, 24 had stage II, 23 had stage III and 20 had stage IV. The average time from the onset of the patients' symptoms to the surgical procedure was 6,4 years. Dysmenorrhea was the most common symptom of patients with EM, being more present in patients with early EM compared to advanced one ($p=0,002$). Higher serum concentrations of protein C5a were observed in patients with EM, compared to patients in the control group ($p<0,0001$). There was no significant association between the severity or symptoms of EM with serum C5a concentrations. **CONCLUSION:** C5a levels are increased in patients with EM compared to those without EM. The presence of dysmenorrhea is more frequent in patients with EM in the early stages than in those in advanced stages. There is no significant association of any specific symptom with an increase in serum C5a in patients with EM.

Keywords: Endometriosis. Complement System Proteins. Complement C5a. Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: CLASSIFICAÇÃO REVISADA DE ENDOMETRIOSE DA AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE (rASRM).....	23
FIGURA 2: AS TRÊS VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO: CLÁSSICA, LECTINA E ALTERNATIVA.....	26
FIGURA 3: FISIOPATOLOGIA DA ENDOMETRIOSE.....	37

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a NAS PACIENTES COM ENDOMETRIOSE E SADIAS.....	44
GRÁFICO 2: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a COMPARADAS POR GRAU DE ENDOMETRIOSE.....	45
GRÁFICO 3: SINTOMATOLOGIA DAS PACIENTES COM ENDOMETRIOSE E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a.....	45
GRÁFICO 4: ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE IDADE, TEMPO DE SINTOMAS E TEMPO DE INFERTILIDADE E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a NAS AMOSTRAS DE PACIENTES COM ENDOMETRIOSE (N=94).....	46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: COMPONENTES DO SISTEMA COMPLEMENTO E ASSOCIAÇÃO COM A ENDOMETRIOSE.....	29
TABELA 2: DADOS CLÍNICOS E SOCIODEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRAUS DE ENDOMETRIOSE.....	43
TABELA 3: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a E CORRELAÇÃO COM TEMPO DE SINTOMAS E TEMPO DE INFERTILIDADE.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

EM	- Endometriose
LP	- Líquido peritoneal
NS	- Sem significância estatística
MBL	- Proteína ligante de manose
IIQ	- Intervalo interquartil
C3aR	- Receptor de C3a
C5aR	- Receptor de C5a
rASRM	- Classificação revisada de endometriose da <i>American Society for Reproductive Medicine</i>
COVID-19	- Novo coronavírus
IFX-1	- Vilobelimab

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 JUSTIFICATIVA.....	17
1.2 OBJETIVOS.....	18
1.2.1 Objetivo geral.....	18
1.2.2 Objetivos específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 ENDOMETRIOSE.....	18
2.1.1 Epidemiologia.....	19
2.1.2 Histogênese.....	19
2.1.3 Quadro clínico.....	20
2.1.4 Diagnóstico.....	20
2.1.5 Classificação.....	21
2.1.6 Tratamento.....	24
2.2 SISTEMA COMPLEMENTO.....	24
2.3 ENDOMETRIOSE E O SISTEMA COMPLEMENTO.....	28
2.4 C5A.....	32
2.5 ENDOMETRIOSE E C5A.....	32
2.6 C5A E OUTRAS DOENÇAS.....	33
2.7 BIOMARCADORES NA ENDOMETRIOSE.....	34
2.8 SISTEMA COMPLEMENTO COMO BIOMARCADOR.....	35
2.9 DROGAS ALVO NA ENDOMETRIOSE.....	36
2.10 BLOQUEIO DO COMPLEMENTO E TERAPIA ALVO.....	37
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	38
3.2 PACIENTES.....	39
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	39
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	39
3.5 GRUPO CONTROLE.....	39
3.6 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE.....	40
3.7 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	40

3.8 DOSAGEM DE C5A.....	41
3.9 METODOLOGIA DA ANÁLISE DE DADOS.....	41
4 RESULTADOS.....	42
4.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA.....	42
4.1.1 Dados clínicos e sociodemográficos.....	42
4.2 ANÁLISE DO C5A.....	44
5 DISCUSSÃO.....	46
6 CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE 1 – FORMULÁRIO DEMOGRÁFICO.....	58
ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	59
ANEXO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO.....	63

1 INTRODUÇÃO

A endometriose (EM) é um distúrbio ginecológico comum, dependente de estrogênio, caracterizado pela presença de tecido semelhante ao endométrio fora de sua localização normal (BULUN, 2009; PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014). Os principais sintomas clínicos são infertilidade e dor, principalmente dor pélvica, dismenorreia e dispareunia; no entanto, muitos casos de EM são assintomáticos (DUNSELMAN et al., 2013; PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014). Embora a prevalência exata de EM seja desconhecida, alguns estudos estimam que afete até 10% das mulheres em idade reprodutiva (GIUDICE; KAO, 2004; BULUN, 2009; DUNSELMAN et al., 2013; PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014).

Existem muitas teorias sobre a patogênese da EM. A teoria mais aceita proposta por Sampson na década de 1920 sugere que o distúrbio se origina da menstruação retrógrada do tecido endometrial e que a transferência mecânica do tecido endometrial na menstruação progride para a cavidade pélvica, resultando em implantação invasiva e crescimento ectópico do tecido endometrial, causando a EM (SAMPSON, 1928; KOBAYASHI et al., 2014).

Apesar da patogênese não ser confirmada, é comprovado que há alteração do sistema imunológico na EM (KAMER-BARTOSIŃSKA et al., 2003; WALLACH et al., 2011; MILLER et al., 2017; RAHAL; ANDRADE; NISIHARA, 2021). No entanto, não se sabe se tal disfunção é a causa ou consequência desta doença (KRÁLÍČKOVÁ et al., 2018). Os fatores imunológicos ligados à fisiopatologia da EM incluem aumento do estresse oxidativo, inflamação imune crônica, quebra da tolerância imunológica, autoimunidade, células T helper 17, concentrações de interleucina-17 e 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina associada à ativação do receptor de hidrocarboneto de aril (ANDERSON, 2019).

O sistema complemento é uma parte da imunidade inata e inclui várias proteínas solúveis e de membrana celular que desempenham um papel crucial na defesa do hospedeiro contra patógenos, bem como na remoção de componentes danificados e alterados. O complemento pode ser ativado por meio de três vias:

clássica, alternativa e lectina (HOLERS, 2014). Uma vez ativado, o complemento culmina em processos múltiplos, incluindo opsonização e fagocitose de intrusos; quimiotaxia e ativação de leucócitos; lise de bactérias e células; e eliminação de células apoptóticas e complexos imunes dos tecidos (WALPORT, 2001). A ativação excessiva do complemento está associada a doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico, vasculite e artrite reumatoide. Nessas doenças, os poderosos mecanismos efetores do sistema complemento parecem estar direcionados para os próprios tecidos, resultando em danos a estes (HOLERS, 2014). Por outro lado, atividade insuficiente também foi associada a doenças autoimunes (HOLERS, 2014; SIKORA et al., 2018).

Após a junção das três vias do sistema do complemento, acontece a clivagem da proteína C3, em C3a e C3b. Com isso, ocorre a junção das proteínas C4b, C2a e C3b, formando a enzima C5 convertase. A enzima C5 convertase faz a clivagem da proteína C5 em C5a e C5b. A porção C5b vai iniciar a formação do complexo de ataque à membrana (SC5b-9) (WALPORT, 2001; GUO; WARD, 2005a; QUADROS; CUNHA, 2016). O componente C5a é uma anafilotoxina e é o mais potente mediador inflamatório produzido pelo sistema complemento. O C5a também é responsável pela produção dos mediadores inflamatórios nas células imunes, com um potente efeito liberador de histamina pelos mastócitos e basófilos, além de promover a liberação de outras quimiocinas e citocinas inflamatórias e a redução da concentração de citocinas antiinflamatórias (QUADROS; CUNHA, 2016).

A relação entre complemento e EM já foi demonstrada em alguns estudos (ISAACSON et al., 1989; KABUT et al., 2007; ASLAN et al., 2014; HASAN et al., 2019; RAHAL; ANDRADE; NISIHARA, 2021), indicando a importância do sistema complemento na fisiopatologia da doença, entretanto, esses estudos são escassos e, às vezes, controversos. Em relação à proteína C5a, apenas um estudo fez essa avaliação, não encontrando significância estatística em comparação de pacientes com EM e sem EM (KARADADAS et al., 2020). No entanto, o gene C5 tem expressão aumentada no tecido endometriótico (ASLAN et al., 2014; AHN et al., 2016).

1.1 JUSTIFICATIVA

A EM é uma doença inflamatória que acomete milhões de mulheres no Brasil, causando diminuição da qualidade de vida, dor e infertilidade. Até os dias de hoje não é consolidado o conhecimento sobre a fisiopatologia da endometriose, apesar de saber que há disfunção imunológica. Tendo em vista esta lacuna de conhecimento, esse estudo visa investigar se há participação do C5a na fisiopatologia da EM, podendo assim, aumentar o conhecimento sobre a inflamação presente na EM.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar as concentrações séricas de C5a em pacientes com diferentes graus de gravidade de EM e comparar com grupo controle sadio.

1.2.2 Objetivos específicos

Associar as concentrações séricas de C5a com a idade do diagnóstico de EM.

Associar as concentrações séricas de C5a com a sintomatologia da paciente com EM.

Associar as concentrações séricas de C5a com o grau de EM.

Associar as concentrações séricas de C5a com o tempo de doença após o início dos sintomas.

Associar as concentrações séricas de C5a com o tempo de infertilidade nas pacientes com EM inférteis.

Associar a sintomatologia de pacientes com EM e os diversos estágios da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENDOMETRIOSE

A EM é uma doença inflamatória, benigna e estrogênio dependente. A EM se caracteriza pela presença de tecido endometrial uterino, fora do seu local normal (GIUDICE; KAO, 2004; BULUN, 2009; DUNSELMAN et al., 2013).

2.1.1 Epidemiologia

Estima-se que a EM acometa até 10% das mulheres em idade reprodutiva, mas também podem ser encontradas em mulheres pré menarca e pós menopausa, nestas acometendo cerca de 3 a 5%. Dentre as mulheres com subfertilidade, de 21 a 47% das mulheres terão EM e, dentre as mulheres com dor pélvica crônica, 71 a 87% terão EM (BELLELIS et al., 2010; DUNSELMAN et al., 2013; PARAZZINI et al., 2017; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018).

Como fatores de risco para EM, pode-se destacar a menarca precoce, ciclos menstruais curtos, fluxo menstrual aumentado, nuliparidade e histórico familiar. Outros fatores de risco para aumento da prevalência da EM são baixo índice de massa corporal, consumo de bebidas alcoólicas e tabagismo. Exercício físico e uso de contraceptivo oral aparentam ter efeito protetor (VIGANÒ et al., 2004; PARAZZINI et al., 2017; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018).

O custo anual aproximado para o tratamento de mulheres com EM nos Estados Unidos é estimado em 49 bilhões, enquanto na Europa chegue a 12,5 milhões anuais (DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018).

2.1.2 Histogênese

A teoria mais aceita para a histogênese da EM é a teoria de Sampson, proposta em 1920 e publicada em 1927, que explica que fragmentos de tecido endometrial menstrual, contendo glândulas endometriais viáveis e estroma, chegam na cavidade peritoneal através da expulsão retrógrada da menstruação através das trompas de falópio, assim, aderindo e invadindo o mesotélio. Essa teoria é sustentada pela epidemiologia, já descrita acima, que as mulheres que estão mais “expostas” à menstruação têm maior predisposição para ter EM (SAMPSON, 1927; VIGANÒ et al., 2004; ZONDERVAN et al., 2018).

Além da teoria de Sampson, outras teorias foram propostas para a patogênese da EM, que podem atuar junto ou não da menstruação retrógrada, como por exemplo a teoria da metaplasia celômica, alteração da imunidade celular, metástase vascular e/ou linfática, sangramento uterino neonatal, embasamento genético, embasamento ambiental, multifatorial com envolvimento genético e ambiental (GIUDICE; KAO, 2004; BELLELIS et al., 2010; ZONDERVAN et al., 2018).

2.1.3 Quadro clínico

A maioria das mulheres com EM vão apresentar uma coleção de sintomas, como dismenorreia, dispareunia de profundidade, disquezia, dor abdominal crônica e subfertilidade. Um estudo brasileiro evidenciou que o sintoma mais comum de EM é a dismenorreia, acometendo mais de 60% das mulheres com EM. A dismenorreia também é o único sintoma preditivo de EM em mulheres com infertilidade que serão submetidas à laparoscopia (BELLELIS et al., 2010; DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018).

Em um estudo retrospectivo que analisou a prevalência de sintomas de 5540 mulheres três anos antes do diagnóstico de endometriose e parearam cada mulher com quatro controles de mesma idade, as que tiveram o diagnóstico de endometriose tiveram os seguintes *odds ratios* para esses sintomas: dor abdominal e pélvica 5,2, dismenorreia 8,1, sangramento menstrual volumoso 4,0, infertilidade 8,2, dispareunia e sangramento pós coital 6,8 e sintomas do trato urinário 1,2 (BALLARD et al., 2008; DUNSELMAN et al., 2013).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico da EM é inicialmente suspeitado por achados na história clínica, sinais e sintomas e corroborado pelo exame físico e exames de imagem. O padrão ouro para diagnóstico da EM é a biópsia da lesão através da laparoscopia e avaliação anatomopatológica. Durante a laparoscopia já deve ser feito o tratamento

da EM com a exérese das lesões de EM (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018).

Dentre os exames de imagem disponíveis, os que são utilizados na prática clínica por sua sensibilidade e especificidade são a ultrassonografia (transvaginal e transabdominal) e a ressonância nuclear magnética, ambos com preparo intestinal. Tanto a ultrassonografia quanto a ressonância nuclear magnética detectam apenas lesões endometrióticas profundas, tendo a ultrassonografia sensibilidade e especificidade de 91% e 98% respectivamente, quando realizados por operador experiente. A ressonância nuclear magnética possui sensibilidade e especificidade de 85% e 95% respectivamente (DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018; SHAH; JAGANI, 2018).

Por conta do diagnóstico definitivo ser cirúrgico, o tempo do início dos sintomas até o diagnóstico de EM é longo, em média 7 a 8 anos. No Brasil, o tempo médio é de 7 anos. Na Alemanha e na Áustria de 10,4 anos. No Reino Unido e na Espanha o tempo médio para diagnóstico é de 8 anos. Na Itália de 7 a 10 anos. Já na Irlanda e Bélgica de 4 a 5 anos (BELLELIS et al., 2010; DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018; PODGAEC et al., 2018).

Não há nenhum biomarcador conhecido para o diagnóstico não invasivo de EM para uso clínico até o momento. Inclusive o marcador CA-125 tem seu uso limitado, não sendo recomendado a utilização para diagnóstico de EM (DUNSELMAN et al., 2013).

2.1.5 Classificação

Muitas classificações para EM já foram desenvolvidas, baseada no local da lesão, aderências pélvicas e localização anatômica da lesão. Dentre as diversas classificações existentes, a classificação revisada de endometriose da *American Society for Reproductive Medicine* (rASRM), publicada em 1997 (**FIGURA 1**), é a mais aceita e a que deve ser sempre utilizada, conforme o consenso da *World Endometriosis Society* (JOHNSON et al., 2017). Nesta classificação, a endometriose é classificada em quatro estágios (I – mínima; II – leve; III – moderada; e IV – severa). Sendo muitas vezes dividida em inicial (estágios I e II) e avançada (estágios III e IV).

Uma das classificações que prediz o desfecho da fertilidade, é o *Endometriosis Fertility Index*. Nenhuma das classificações prediz dor pélvica, resposta a medicações, recorrência da doença, melhoria da qualidade de vida, ou outros fatores importantes (JOHNSON et al., 2017).

A *Enzian classification of endometriosis* não tem correlação com sintomas e infertilidade. Esta classificação deve ser empregada para ajudar a descrever as

lesões profundas de EM, pois é uma ferramenta ilustrativa que ajuda a exemplificar essas lesões em seus mais diversos locais de acometimento (JOHNSON et al., 2017).

Está em desenvolvimento uma nova classificação pela *American Association*

FIGURA 1: CLASSIFICAÇÃO REVISADA DE ENDOMETRIOSE DA AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE (rASRM)



AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

Patient's Name _____ Date _____

Stage I (Minimal) - 1-5
 Stage II (Mild) - 6-15
 Stage III (Moderate) - 16-40
 Stage IV (Severe) - >40
 Total _____

Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____

Recommended Treatment _____

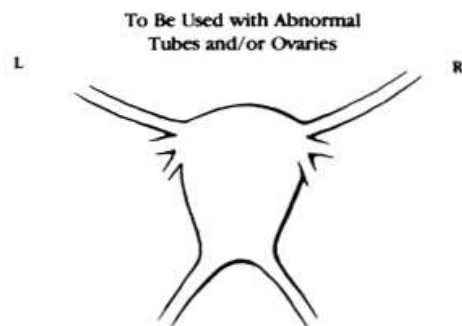
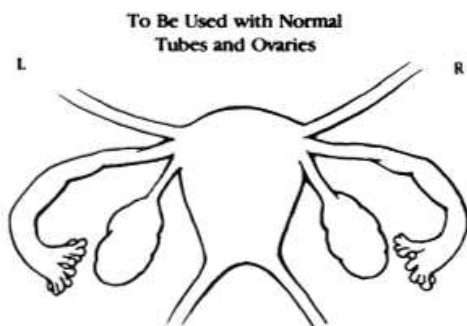
Prognosis _____

PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	<1cm	1-3cm	>3cm
		Superficial	1	2
	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 4	Complete 40	
OVARY	ADHESIONS	<1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	>2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	TUBE	R Filmy	1	2
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, red-pink, flamelike, 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: _____



2.1.6 Tratamento

O tratamento da EM é baseado nos dois pilares de sintomas da paciente: dor e/ou infertilidade (DUNSELMAN et al., 2013).

O tratamento empírico pode ser realizado em pacientes com quadro clínico de dor, principalmente dismenorreia, com suspeição clínica para EM. O tratamento se baseia em agentes que suprimem a função ovariana e limitam o crescimento e atividade da EM e a dor associada com a doença. Dentre as classes de agentes temos os androgênios, progestágenos, agonistas do GnRH e contraceptivos hormonais. Todos eles têm efeito superior ao placebo no controle da dor da EM e eficácia equivalente. Os mais usados são os contraceptivos hormonais e os agonistas do GnRH. Muitas outras medicações estão em estudo, mas ainda não liberadas para uso clínico (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018; ZONDERVAN et al., 2018).

Caso não haja melhora da dor com o tratamento clínico, é indicado o tratamento cirúrgico para a retirada das lesões de EM, dando preferência pela via laparoscópica e, mais recentemente, pela via robótica (DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018; RIVAS-LÓPEZ; SANDOVAL-GARCÍA-TRAVESI, 2020).

Em pacientes que apresentem desejo de engravidar e cujo principal sintoma é a infertilidade, não se deve prescrever tratamento hormonal para supressão da função ovariana. Como formas de tratamento há a cirurgia para exérese das lesões de EM ou tratamento de reprodução assistida como inseminação intrauterina com estímulo ovariano e a fertilização in vitro (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013; FALCONE; FLYCKT-REBECCA, 2018; ZONDERVAN et al., 2018).

2.2 SISTEMA COMPLEMENTO

O sistema complemento faz parte da resposta imune humoral inata e adaptativa e é um sistema que desencadeia processos inflamatórios muito além da eliminação do patógeno. Portanto, esse sistema deve ter um equilíbrio delicado entre ativação e regulação. Se isso não acontecer, o complemento pode não

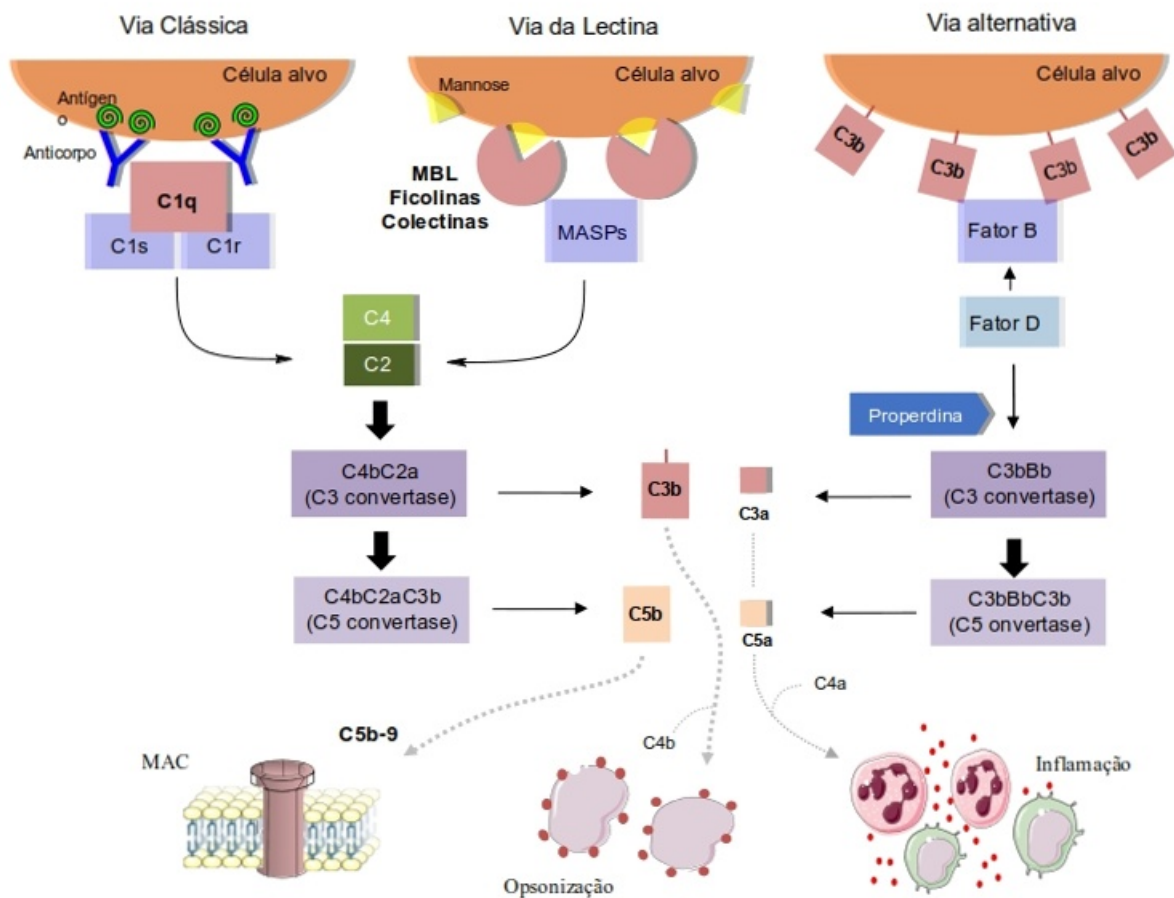
fornecer defesa eficaz contra agentes microbianos e pode induzir autoimunidade, resultando em doenças inflamatórias e imunologicamente mediadas (WALPORT, 2001; RICKLIN et al., 2010; HOLERS, 2014).

O complemento é composto por várias proteínas com diferentes funções. Dentre elas incluem o reconhecimento de padrões (C1q, lectina de ligação à manose, ficolin-1, ficolin-2, ficolin-3, properdina, CRP e CFHR-4), proteases (C1r, C1s, MASP-1, MASP-2, MASP-3, C2, fator B, fator D e fator I), componentes do complemento (C3, C4, C5, C6, C7, C8 e C9), receptores (CR1, CR2, CR3, CR4, C3aR, C5aR, C5L2, CRIg, cC1qR, gC1qR e C1qRp) e reguladores (C1-INH, sMAP, MAP1, C4BP, fator H, FHL-1, MCP, DAF, CFHR-1, CD59, vitronectina, clusterina e carboxipeptidase-N) (RICKLIN et al., 2010).

O complemento é descrito como uma cascata linear de vias separadas. No entanto, dependendo do gatilho, vários mecanismos de iniciação e reguladores atuam juntos para produzir uma defesa apropriada do hospedeiro e uma vigilância imunológica. A via clássica é frequentemente descrita como dependente de anticorpos porque é fortemente iniciada pela ligação de C1q a IgM e IgG; no entanto, C1q também pode ativar o complemento, reconhecendo diretamente estruturas distintas em células microbianas e apoptóticas e pentraxinas. Na via da lectina, a lectina ligadora de manose, ficolinas e colectinas reconhecem os padrões de carboidratos. Na via alternativa, o mecanismo de iniciação é realizado por properdina ou pela hidrólise espontânea de C3, levando à formação de um análogo de C3b, C3_{H2O} (RICKLIN et al., 2010).

Apesar da ativação dessas três vias por diferentes componentes, todas convergem para formar as convertases C3 e C5, seguidas pela formação do complexo de ataque à membrana, levando à lise celular. (WALPORT, 2001). A ativação do complemento também resulta na liberação de opsoninas (C3b e C4b), que medeiam a fagocitose e as moléculas inflamatórias (C4a, C3a e C5a) (WALPORT, 2001). A cascata do complemento com as três vias é ilustrada na **FIGURA 2**.

FIGURA 2: AS TRÊS VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO: CLÁSSICA, LECTINA E ALTERNATIVA



FONTE: Os autores (2021).

A via clássica do sistema complemento é iniciada pela ligação do complexo C1 (que consiste em uma molécula de C1q, duas moléculas de C1r e duas moléculas de C1s) a anticorpos ligados a um antígeno na superfície de uma célula bacteriana. Primeiramente C1 cliva C4, que faz uma ligação covalente à superfície da bactéria e, então, cliva C2 levando à formação do complexo enzimático C4b2a, que é a C3 convertase da via clássica (WALPORT, 2001).

A via da lectina é iniciada pela ligação do complexo de proteína ligante de manose (MBL) e as serinas proteases MASP1 e MASP2 com matrizes de grupos de manose na superfície bacteriana. O MASP2 atua de forma semelhante ao C1s para levar à formação da enzima C3 convertase, C4b2a. Já o MASP1 é capaz de clivar C3 diretamente (WALPORT, 2001).

A via alternativa é iniciada pela ligação covalente de uma pequena quantidade de C3b a grupos hidroxila em carboidratos e proteínas da superfície celular e é ativada pela clivagem de baixo grau de C3 no plasma. Este C3b se liga ao fator B, uma proteína homóloga a C2, para formar um complexo C3bB. O fator D cliva o fator B ligado a C3b para formar o complexo C3bBb da via alternativa. A ligação da properdina estabiliza esta enzima (WALPORT, 2001).

As enzimas C3 convertase clivam muitas moléculas de C3 em C3b, que se ligam covalentemente em torno do local de ativação do complemento. Parte do C3b liga-se ao C4b e C3b nas enzimas convertase das vias clássica e alternativa, respectivamente, formando as enzimas C5 convertase. Este C3b atua como um sítio receptor para C5, que é clivado para formar as proteínas C5a e C5b. Quando C5b se associa com C6 e C7, o complexo é inserido nas membranas celulares e interage com C8, induzindo à ligação de várias unidades de C9 para formar um poro lítico, o complexo de ataque à membrana, SC5b-9 (WALPORT, 2001; RICKLIN et al., 2010).

Embora a lise mediada pelo SC5b-9 seja considerada uma marca registrada do ataque do sistema complemento, há surpreendentemente poucos exemplos de suporte disso. Na verdade, muitos patógenos são protegidos da lise por meio de sua arquitetura de parede celular (por exemplo, bactérias Gram-positivas) ou pelo emprego de estratégias evasivas que interferem na montagem do SC5b-9. No entanto, mesmo quantidades sublíticas de SC5b-9 ou complexos parciais como C5b-8 são importantes para eventos de sinalização não letais (RICKLIN et al., 2010).

A sinalização pró-inflamatória e a fagocitose são essenciais para a defesa mediada pelo complemento contra a maioria das células estranhas. Durante a ativação e amplificação, C3a e C5a são constantemente liberados e disparam a sinalização pró-inflamatória por meio de seus correspondentes receptores acoplados à proteína G, receptor C3a (C3aR) e receptor C5a (C5aR; também chamado de CD88). Enquanto o C3aR se liga apenas ao C3a, o C5aR reconhece tanto o C5a quanto, mais fracamente, seu produto de degradação C5adesArg. As anafilatoxinas são efetores altamente potentes e têm uma série de papéis cruciais nas respostas imunes (RICKLIN et al., 2010).

C3a, e especialmente C5a, são poderosos quimioatraentes que guiam neutrófilos, monócitos e macrófagos em direção aos locais de ativação do complemento. Assim, promovem a fagocitose por meio da interação de opsoninas

com receptores de complemento. Dentre esses receptores, o CR1 (CD35) é particularmente relevante, pois interage não apenas com C3b e C4b para promover a fagocitose mediada por neutrófilos, mas também contribui para a degradação regulatória de seus ligantes pelo fator I. Assim, CR1 atenua a amplificação do complemento ao inativar C3b e C4b, enquanto simultaneamente torna as opsoninas acessíveis a outros receptores do complemento e promove respostas imunes diminuídas. Os receptores de integrina CR3 e CR4 se ligam ao fragmento iC3b e contribuem para a fagocitose e a CR3 também regula as respostas de citocinas, tráfego de leucócitos e formação de sinapses (RICKLIN et al., 2010).

2.3 ENDOMETRIOSE E O SISTEMA COMPLEMENTO

EM é uma doença inflamatória crônica com diagnóstico tardio devido à ausência de exames complementares adequados e biomarcadores que possam indicar a presença da doença, com isso o tratamento se concentra principalmente nos sintomas (dor e/ou infertilidade) (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013). A inflamação é um processo chave na patogênese da EM. Células inflamatórias, como neutrófilos e macrófagos, participam da inflamação, e esta última está associada ao estrogênio, sugerindo uma resposta imune na EM (JIANG et al., 2016). No entanto, os estudos sobre a resposta humoral na EM são raros.

Na fisiopatologia da EM, há muitas alterações imunológicas, sendo o sistema complemento com muitas alterações já conhecidas, apesar de ainda pouco estudado na EM (RAHAL; ANDRADE; NISHIHARA, 2021).

O complemento é a via imunológica mais significativamente desregulada em pacientes com EM (EDWARDS; HUANG; VLAD, 2015). Além disso, é um dos mecanismos imunológicos mais importantes que participam da depuração peritoneal e da inflamação. Um estudo sugere que o sistema complemento é ativado em mulheres e que existe uma associação entre a iniciação da EM e a vigilância imunológica através do sistema complemento (ZHANG et al., 2018).

A **TABELA 1** resume as evidências sobre o envolvimento de alguns componentes do sistema complemento na EM.

TABELA 1: COMPONENTES DO SISTEMA COMPLEMENTO E ASSOCIAÇÃO COM A ENDOMETRIOSE

Componente	Principal achado na endometriose	Autor/Ano	Comentários
C1q	Aumentado no LP (líquido peritoneal)	Sikora et al. / 2018	Concentração aumentada nos estágios iniciais da endometriose em relação aos avançados.
C1INH	Aumentado no LP	Sikora et al. / 2018	Concentração aumentada nos estágios iniciais da endometriose em relação aos avançados.
C1QA (gene) C1QB (gene) C1R (gene) C1S (gene) C2 (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C3	Presente no endométrio uterino da maioria das mulheres com EM e ausente em mulheres sem EM As células epiteliais glandulares encontradas em implantes endometrióticos produzem e secretam C3 Sem significância estatística (NS) no soro NS no soro Diminuído no soro A secreção de C3 pelas células do estroma foi significativamente maior do que as células epiteliais correspondentes A expressão diferencial da albumina sérica com o precursor C3 do complemento tem significância	Weed et al. / 1980 Isaacson; Coutifaris; Garcia; et al. / 1989 Steele et al. / 1984 Matalliotakis et al. / 1994 Meek et al. / 1988 Bischof et al. / 1994 Signorile and Baldi / 2015	O C3 endometrial produzido foi em quantidades significativamente maiores em pacientes com EM leve do que em pacientes sem EM ou pacientes com EM severa Poucas mulheres incluídas no estudo Poucas mulheres incluídas no estudo O metabolismo do endométrio eutópico é influenciado pela ectópico A avaliação dessas duas proteínas em conjunto com Zn-alfa2-glicoproteína poderia ajudar na identificação precoce de pacientes com EM

	estatística como um potencial biomarcador		
C3c	Aumentado no LP Aumentado no LP e sérico Aumentado no LP e sérico	Badawy; Cuenca; Marshall; et al. / 1984 Badawy; Cuenca; Stitzel; et al. / 1984 Kabut et al. / 2007	Níveis aumentados no soro em relação ao LP
iC3b	Diminuído no LP e sérico	Kabut et al. / 2007	Nível mais alto no LP do que no soro. Maior concentração no LP e no soro no estágio inicial de EM do que em EM avançada
C3a-des-Arg C3 (gene)	NS no soro A expressão em glândulas ectópicas foi significativamente maior do que em glândulas tópicas Expressão significativa do gene C3 Aumento da expressão	Fassbender et al. / 2009 Tao et al. / 1997 Sayegh et al. / 1996 Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C4	Aumentado no LP e sérico Aumentado no LP e sérico Aumentado no LP NS no soro NS no soro NS no soro	Badawy; Cuenca; Stitzel; et al. / 1984 Kabut et al. / 2007 Badawy; Cuenca; Marshall; et al. / 1984 Steele et al. / 1984 Meek et al. / 1988 Matalliotakis et al. / 1994	Maior concentração em estágio avançado de EM Poucas mulheres incluídas no estudo Poucas mulheres incluídas no estudo Poucas mulheres incluídas no estudo
C4a (gene)	<i>Down regulation</i> da expressão C4a	Wölfler et al. / 2011	
C4AB (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C4BPA (gene)	Diminuição da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C5 (gene)	Aumento da expressão Aumento da expressão	Aslan et al. / 2014 Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C6 (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C7 (gene)	Aumento da expressão Aumento da expressão	Suryawanshi et al. / 2014 Ahn et al. / 2016	Comparado com mulheres sem EM Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
C8A (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
Membrane-attack complex (SC5b-9)	Aumentado no LP e sérico	Kabut et al. / 2007	Maior concentração em estágio avançado de EM. A concentração é mais baixa no LP do que no soro.
MBL (proteína ligante de manose)	NS no LP NS no LP NS entre EM e baixo nível de MBL	Kavoussi et al. / 2006 Özkerkan et al. / 2010 Kruse et al. / 2014	

	Aumentado no LP	Sikora et al. / 2018	Maior concentração no estágio inicial do EM do que no estágio avançado.
<i>MASP-1</i> (gene)	Diminuição da expressão	Suryawanshi et al. / 2014	Comparado com mulheres sem EM
<i>CFB</i> (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016 Suryawanshi et al. / 2014	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle Comparado com mulheres sem EM
<i>CFH</i> (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016 Suryawanshi et al. / 2014	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle Comparado com mulheres sem EM
<i>CFI</i> (gene)	Aumento da expressão	Ahn et al. / 2016	Tecido ectópico comparado com endométrio de controle
<i>CFD</i> (gene)	Aumento da expressão	Suryawanshi et al. / 2014	Comparado com mulheres sem EM

FONTE: Rahal et al. (2021).

2.4 C5A

A anafilotoxina C5a é um pequeno polipeptídeo, com 74 aminoácidos, que se origina da clivagem do seu precursor C5. A estrutura dessas moléculas consiste em uma espinha dorsal de quatro segmentos anti-paralelos α -helicoidais capturados por três pontes dissulfeto, seguidos por uma α -hélice flexível que medeia a exposição de um resíduo de arginina do terminal carboxila, o que é necessário para um ótimo funcionamento da C5a (ALLEGRETTI et al., 2012; QUADROS; CUNHA, 2016; AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019).

A C5a exerce sua função através de seus receptores C5aR1 (CD88) e C5aR2 (C5L2). A ativação de C5aR1 acarreta em um influxo de cálcio e início de cascatas de sinalização. Já o C5aR2 é um receptor transmembrana desacoplado às proteínas G. Com isso, a C5a exerce a maior parte de suas funções através dos seus receptores em células imune inatas mieloides, como monócitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, basófilos, mastócitos e eosinófilos (QUADROS; CUNHA, 2016; AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019).

Esta proteína tem um potente fator inflamatório, sendo nominada de anafilotoxina por sua capacidade de liberar histamina. As anafilotoxinas causam inflamação através de múltiplos mecanismos, como aumentando a permeabilidade vascular através da liberação de histamina, atua como quimiotático para leucócitos e estimula a produção de mediadores inflamatórios como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (ALLEGRETTI et al., 2012; AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019).

2.5 ENDOMETRIOSE E C5A

A proteína C5a é um dos peptídeos com maior potência inflamatória no sistema complemento, com um amplo espectro de funções. C5a é um forte quimioatraente para neutrófilos e também tem atividade quimiotática para monócitos e macrófagos. Esta proteína ainda causa estresse oxidativo em neutrófilos e eleva a fagocitose e a liberação de enzimas granulares (GUO; WARD, 2005a; HAJISHENGALLIS et al., 2017).

São escassos, até o momento, estudos que avaliam a proteína C5a em pacientes com EM. Somente Karadadas et. al, em 2020, publicaram uma

comparação de C5a em pacientes com EM e grupo controle e não obtiveram significância estatística (KARADADAS et al., 2020). O grupo estudo, neste artigo, não era uniforme em grau de EM (mais de 74% das pacientes apresentavam EM grau IV), podendo ter levado a um viés de seleção.

Outro fator já avaliado relacionado a esta proteína, é a expressão do gene C5 aumentada no tecido endometriótico (ASLAN et al., 2014; AHN et al., 2016).

2.6 C5A E OUTRAS DOENÇAS

A proteína C5a participa da patogênese de diversas doenças, como sepse, síndrome do distresse respiratório agudo, artrite reumatoide, psoríase, glomerulonefrites, esclerose múltipla, lesões de isquemia e reperfusão, asma, diversos tipos de câncer (por exemplo: cervical, linfoma, sarcoma, pulmonar, melanoma, mamário, ovárico, uterino, trato digestivo, renal, leucemia, hepático, entre outros) (GUO; WARD, 2005a; ALLEGRETTI et al., 2012; AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019).

Entre a infinidade de elementos do complemento com relevância potencial no câncer, C5a é reconhecida como elemento crucial para o estabelecimento de um microambiente favorável para a progressão do tumor (AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019).

Em pacientes com sepse, há a ativação das três vias do sistema complemento, culminando numa ativação excessiva do sistema complemento, com aumento da produção de diversos componentes, como o C5a, podendo ser responsável por lesão de órgãos e comprometimento do sistema imune inato (GUO; WARD, 2005a).

Na artrite reumatoide, a presença de C5a na articulação inflamada faz o recrutamento de macrófagos, neutrófilos e linfócitos que, atuando em conjunto com os fibroblastos, medeiam os eventos destrutivos crônicos (ALLEGRETTI et al., 2012).

Na psoríase, na fase precoce de sensibilidade cutânea, a C5a tem papel chave na produção de serotonina liberada pelas plaquetas e mastócitos (ALLEGRETTI et al., 2012).

Em muitas outras doenças autoimunes, como pênfigo bolhoso e síndrome antifosfolípide, há uma participação importante da C5a (ALLEGRETTI et al., 2012).

2.7 BIOMARCADORES NA ENDOMETRIOSE

O diagnóstico definitivo de EM é feito por biópsia via laparoscopia (SHAH; JAGANI, 2018). Outro método menos invasivo para o diagnóstico de EM inclui ultrassom transvaginal com preparo intestinal, com especificidade e sensibilidade de detecção de EM profunda de 91% e 98%, respectivamente. Além disso, a ultrassonografia transvaginal não é precisa para detectar a presença ou ausência de EM peritoneal ou aderências associadas a EM (D'HOOGHE et al., 2019). Outro método diagnóstico é a ressonância magnética com preparo intestinal, que tem especificidade e sensibilidade de 95% e 85% respectivamente (SHAH; JAGANI, 2018).

O biomarcador de EM precisa ser descoberto para o diagnóstico precoce em pacientes sintomáticos (dor, infertilidade), identificação de indivíduos em risco da doença para prevenção, potencial droga alvo para tratamento, marcador potencial para resposta após cirurgia por EM ou tratamento clínico, monitoramento de recorrência ou progressão; e identificação de subpopulações clinicamente relevantes com diferentes etiologias ou com diferentes suscetibilidades ao tratamento (D'HOOGHE et al., 2019).

Alguns marcadores diagnósticos não invasivos foram investigados no sangue, tecido e urina de pacientes com EM em comparação com indivíduos de controle correspondentes em estágio menstrual (RILEY; MOEN; VIDEM, 2007; AHN; SINGH; TAYADE, 2017; SHAH; JAGANI, 2018; D'HOOGHE et al., 2019; WEISHENG et al., 2019). CA-125 é um dos biomarcadores mais propostos; no entanto, não é recomendado como um teste de diagnóstico (DUNSELMAN et al., 2013; D'HOOGHE et al., 2019). Um estudo mostrou uma correlação entre cinco peptídeos no diagnóstico de EM com 91,7% de sensibilidade e 90,0% de especificidade e 203 genes estavam associados a EM (SHAH; JAGANI, 2018).

Existem alguns microRNAs estudados como biomarcadores para EM. Os níveis séricos de miR-122 e miR-199a estão significativamente aumentados em mulheres com EM em comparação com mulheres sem EM. Portanto, esses

microRNAs podem ser um potencial biomarcador no diagnóstico da EM (MAGED et al., 2018).

No entanto, nenhum biomarcador estudado provou ser útil no uso clínico de rotina. O longo processo de desenvolvimento de biomarcadores não invasivos pode explicar esse fenômeno (D'HOOGHE et al., 2019). Existem quatro etapas para desenvolver um biomarcador: (1) identificação de marcadores promissores (pré-clínicos); (2) validação dos achados iniciais com ensaios clínicos que substituem o ensaio de descoberta de biomarcador em populações semelhantes como marcos; (3) Avaliação do desempenho do ensaio de biomarcador clínico para ser consistente com o uso pretendido (ou seja, diagnóstico precoce / estudos de coorte); e (4) validação do desempenho do biomarcador em uma amostra independente da população-alvo (prospectiva). Quase todos os estudos ainda estão na etapa 1, e apenas raros esforços foram feitos para atingir o marco 2 (D'HOOGHE et al., 2019).

2.8 SISTEMA COMPLEMENTO COMO BIOMARCADOR

Existem poucos estudos que investigaram as proteínas do sistema complemento como potenciais biomarcadores. Riley et al. analisou os níveis de SC5b-9 no LP e não encontrou diferenças nos níveis em mulheres com ou sem EM (RILEY; MOEN; VIDEM, 2007). Por outro lado, Signorile et al. apresentaram curva ROC para expressão de C3 com sensibilidade de 58,1% e especificidade de 100% ($p = 0,082$) para diagnosticar EM. Eles propuseram que a análise da expressão da albumina sérica e do precursor C3 do complemento com Zn-alfa2-glicoproteína poderia ajudar na identificação precoce de pacientes com EM (SIGNORILE; BALDI, 2015).

No entanto, mais pesquisas são necessárias para descobrir um biomarcador que pode ser recomendado em cuidados clínicos de rotina (MAY et al., 2010). As proteínas do sistema complemento podem ser biomarcadores, mas precisam ser melhor estudados.

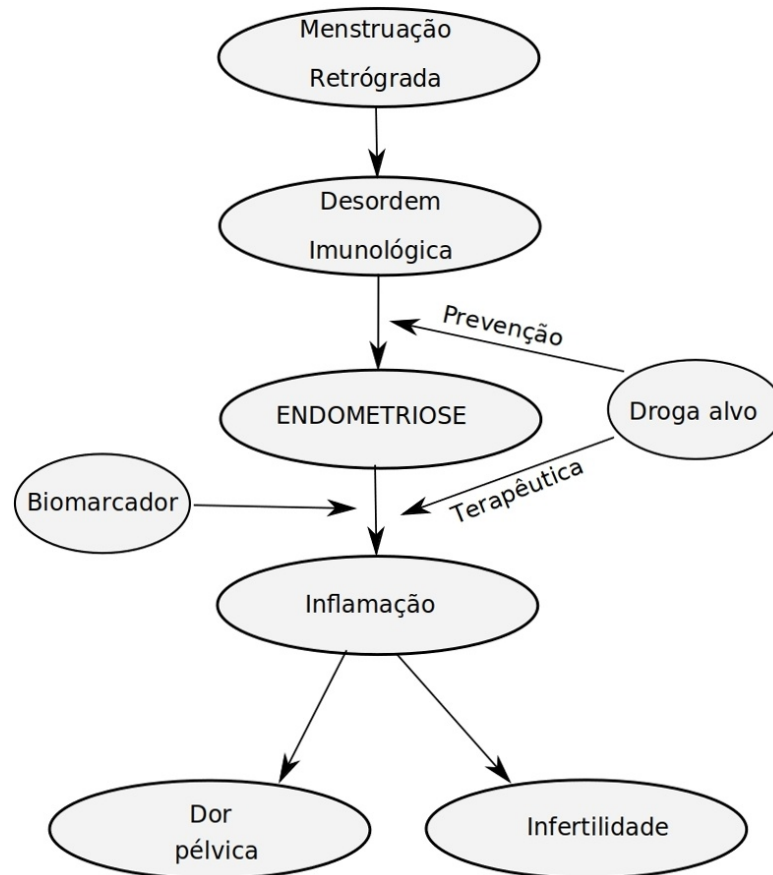
2.9 DROGAS ALVO NA ENDOMETRIOSE

A EM não tem um regime de tratamento específico. O tratamento atual se concentra na infertilidade e no controle da dor, e os sintomas reaparecem quando a medicação é interrompida (DUNSELMAN et al., 2013; LIN et al., 2018; SHAH; JAGANI, 2018).

Quase todos os tratamentos atualmente disponíveis para EM são supressivos e não curativos. O tratamento da dor associada à EM é baseado na supressão da produção de estrogênio e na indução da amenorréia (BEDAIWY et al., 2017). O tratamento da infertilidade associada à EM é baseado na tecnologia de reprodução assistida (LIN et al., 2018). Existem alguns grupos de medicamentos aprovados para o tratamento com a supressão de estrogênio para EM, como anticoncepcionais hormonais combinados, progestágenos, danazol, agonistas GnRH, gestrinona e inibidores de aromatase (PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014). Outra opção de tratamento para EM que melhora a fertilidade e o alívio da dor é a abordagem cirúrgica por laparoscopia (DUNSELMAN et al., 2013).

Existem alguns alvos terapêuticos experimentais, como tratamento anti-TNF- α , tratamento com citocinas, inibidor da angiogênese, agentes imunomoduladores e antiinflamatórios, antioxidantes, moduladores seletivos do receptor de progesterona, moduladores seletivos do receptor de estrogênio, antagonistas de GnRH e metaloproteinases de matriz (PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014; BEDAIWY et al., 2017; LIN et al., 2018). Porém, mais estudos serão necessários para aprimorar o conhecimento da patogênese da EM e o desenvolvimento de novas opções de tratamento que possam atuar na prevenção ou no cuidado terapêutico da EM, conforme mostrado na **FIGURA 3**.

FIGURA 3: FISIOPATOLOGIA DA ENDOMETRIOSE



FONTE: O autor (2021).

2.10 BLOQUEIO DO COMPLEMENTO E TERAPIA ALVO

Foi provado que a fisiopatologia da EM envolve uma desregulação crônica do sistema inflamatório, incluindo o sistema complemento (ZHANG et al., 2018). A maioria dos medicamentos usados para tratar EM também agem no sistema complemento, como agonistas de GnRH e danazol (ZHANG et al., 2018). No entanto, não existe um alvo terapêutico que atue diretamente no sistema complemento.

O direcionamento terapêutico para bloqueio do sistema complemento pode ter como alvo as vias de iniciação, a alça de amplificação e as vias efetoras. Existem muitos inibidores selecionados que têm como alvo o complemento em pesquisas. Até o momento, existem apenas duas classes de medicamentos liberados para uso clínico que atuam como bloqueio alvo no sistema complemento, que é o inibidor de

C1 para angioedema hereditário e medicamentos alvo na proteína C5 para hemoglobinúria paroxística noturna, síndrome urêmica hemolítica atípica, miastenia gravis generalizada e neuromielite óptica (RICKLIN; MASTELLOS; LAMBRIS, 2019).

Alguns estudos foram e estão sendo realizados visando bloquear a ação do C5a, utilizando-se monoclonais que se ligam ao C5a ou a receptores do mesmo em doenças onde tal molécula tem participação efetiva no aumento da inflamação (HAWKSWORTH et al., 2017; ZELEK; MORGAN, 2020).

Um avanço recente tem sido feito do bloqueio do sistema complemento em pacientes com infecção pelo novo coronavírus (COVID-19), uma doença grave, inflamatória pulmonar com infiltrado linfocítico e ativação do sistema de coagulação, que causou milhões de mortes ao redor do mundo desde o início da pandemia. Uma das opções de tratamento em estudo, é o uso da medicação vilobelimab (IFX-1), que é um anticorpo monoclonal quimérico IgG4 que liga especificamente com alta afinidade à forma solúvel de C5a humano. Essa medicação se mostrou segura no estudo fase 2. Há outros estudos clínicos em andamento que visam bloquear o sistema complemento para tratamento de pacientes com COVID-19, como por exemplo: AMY-101 e APL-9 que fazem a inibição de C3; Eculizumab, Ravulizumab e Zilucoplan que inibem C5; Avdoralimab que age como Anti-C5aR; e Conestat alfa e Ruconest que são inibidores de C1 esterase (VLAAR et al., 2020; VITIELLO et al., 2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo tem desenho transversal analítico.

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica do Paraná através da Plataforma Brasil, sob número de parecer 3.030.546, em 21 de novembro de 2018 (ANEXO 1).

3.2 PACIENTES

Foram incluídas no grupo estudo mulheres com diagnóstico confirmado por videolaparoscopia e biópsia com anatomopatológico confirmados para EM, totalizando 94 pacientes. As pacientes foram selecionadas no pré-operatório para videolaparoscopia de uma única equipe cirúrgica da rede privada de Curitiba, por alta suspeição clínica e/ou exames de imagem, no período de abril de 2019 até dezembro de 2020.

Antes do procedimento cirúrgico, foram obtidos os termos de consentimento livre e esclarecido por escrito de todas as participantes e aplicado questionário com dados demográficos e clínicos como idade, paridade, sintomas (dor, sangramento uterino anormal, infertilidade, etc.), idade do início dos sintomas, histórico familiar de EM, história de doenças sexualmente transmissíveis e fase do ciclo menstrual, por questionário aplicado para paciente no pré-operatório (Apêndice I).

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Mulheres com suspeita de EM e que realizaram laparoscopia.
- Mais de 18 anos e em idade reprodutiva.
- EM comprovada por anatomopatológico.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Mulheres com doença crônica grave, doenças inflamatórias ou doenças autoimunes.
- Mulheres em vigência de quadro infeccioso.

3.5 GRUPO CONTROLE

Fizeram parte do grupo controle mulheres sadias, assintomáticas, sem suspeita clínica de EM, que fazem parte do banco de dados do laboratório de imunopatologia molecular do HC-UFPR.

3.6 COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE

Das pacientes incluídas no estudo foram coletados 10ml de sangue venoso periférico no pré-operatório imediato, no momento da punção do acesso venoso periférico. A amostra coletada foi colocada em tubo de coleta de sangue sem anticoagulante e um tubo com EDTA. Após coleta do material, foram colocados em recipiente com isolamento térmico contendo gelo no seu interior.

3.7 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O procedimento cirúrgico foi padronizado. Todos os cuidados de antissepsia e assepsia tomados. A paciente foi posicionada em posição semiginecológica, com sondagem vesical de demora e manipulador uterino. Em seguida, realizado punção de 10mm umbilical, colocação de trocater, ótica e confecção de pneumoperitônio. Após, foi realizado três punções suprapúbicas, sendo duas de 5mm e a terceira de 5 ou 10mm, conforme planejamento cirúrgico.

Assim que o acesso cirúrgico foi realizado, foi feito inventário da cavidade abdominal, procurando alterações, com maior ênfase em lesões de EM e aderências, inicialmente em compartimento superior, visualizando-se fígado, diafragma à direita, vesícula biliar e região peritoneal ao redor, seguindo-se por diafragma à esquerda, estômago e região peritoneal ao redor. A seguir foram avaliados as goteiras parietocólicas direita e esquerda.

Após foi colocado a paciente em posição de Trendelenburg e realizado inventário da cavidade pélvica, avaliando-se toda a região peritoneal, septo vesico uterino, útero, ligamentos uterinos, trompas uterinas e sua perviedade, ovários, fossetas ovarianas bilaterais, ligamentos uterosacro bilaterais, septo retovaginal e alças intestinais, desde reto, sigmóide, apêndice, intestino grosso e delgado.

Com esses dados, já se tinha as informações necessárias para a programação cirúrgica para o tratamento de EM.

Em todos os procedimentos, foi realizado exérese das lesões de EM, sendo encaminhadas para análise anatomopatológica.

No término da cirurgia, foi preenchido a rASRM e as amostras de sangue foram encaminhadas para o laboratório de imunopatologia molecular do Hospital de

Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) onde foram separadas, aliquotadas e armazenadas em menos 80°C.

No pós-operatório tardio, foram analisados os resultados dos exames anatomopatológicos de todas as pacientes, sendo confirmado a presença de tecido endometriótico.

3.8 DOSAGEM DE C5A

Das amostras séricas coletadas, foi dosada a proteína C5a, do sistema complemento, através da técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) de captura ou sanduíche, utilizando-se o kit comercial da empresa *BD OptEIA™ Human C5a ELISA Kit II*, referência 557965. As concentrações finais foram lidas no aparelho BioTek Elx 800, devidamente calibrado.

De maneira sucinta, o teste emprega a técnica de ELISA em sanduíche de fase sólida. Ele utiliza anticorpo monoclonal específico para C5a-desArg humano revestido em uma placa de 96 poços. Padrões e amostras são adicionados aos poços, e qualquer C5a-desArg presente liga-se ao anticorpo imobilizado. Os poços são lavados e é adicionada uma mistura de anticorpo C5a anti-humano biotilado e estreptavidina-peroxidase, produzindo um “sanduíche” de anticorpo-antígeno-anticorpo. Os poços são novamente lavados e é adicionada uma solução de substrato, que produz uma cor azul em proporção direta à quantidade de C5a-desArg presente na amostra inicial. A solução de parada muda a cor de azul para amarelo e os poços são lidos a 450 nm. Utiliza-se uma curva padrão para o cálculo das concentrações de C5a presentes na amostra em ng/mL.

3.9 METODOLOGIA DA ANÁLISE DE DADOS

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk foram aplicados para avaliação da normalidade da distribuição dos dados, através do software GraphPad Prism 3.0. As variáveis contínuas foram expressas com média \pm desvio-padrão ou mediana [intervalo interquartil] e comparadas com os testes t e teste não paramétrico Mann-Whitney. A correlação entre variáveis contínuas foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman (r) com auxílio do software

GraphPad Prism 3.0. Teste qui-quadrado e teste exato de Fisher foram utilizados para comparar os dados qualitativos através do software SPSS 17.0. Valores p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Foram incluídas da amostra um total de 94 mulheres no grupo estudado e 50 mulheres no grupo controle, após excluídas todas as pacientes que tinham algum critério de exclusão.

4.1.1 Dados clínicos e sociodemográficos

A média de idade das pacientes do grupo estudado foi de $37,2 \pm 7,2$ anos, enquanto a do grupo controle foi de $37,4 \pm 7,3$ anos, mostrando uma homogeneidade entre os grupos ($p=0,776$).

Dentre as mulheres do grupo estudado, pela classificação rASRM, 27 tinham EM no estágio I, 24 foram classificadas como estágio II, 23 estavam no estágio III e 20 no estágio IV.

Dentre as pacientes com EM inicial (estágios I e II) e avançada (estágios III e IV), os grupos eram bem semelhantes em idade (média de 37,0 e 37,4, respectivamente) e com sintomatologias bem equiparadas, exceto pela dismenorreia, que foi mais frequente nas pacientes com EM inicial ($p=0,002$) (**TABELA 2**).

O tempo médio do início dos sintomas das pacientes até o procedimento cirúrgico foi de 6,4 anos e a mediana de 4,5 anos.

TABELA 2: DADOS CLÍNICOS E SOCIODEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA DE ACORDO COM OS GRAUS DE ENDOMETRIOSE

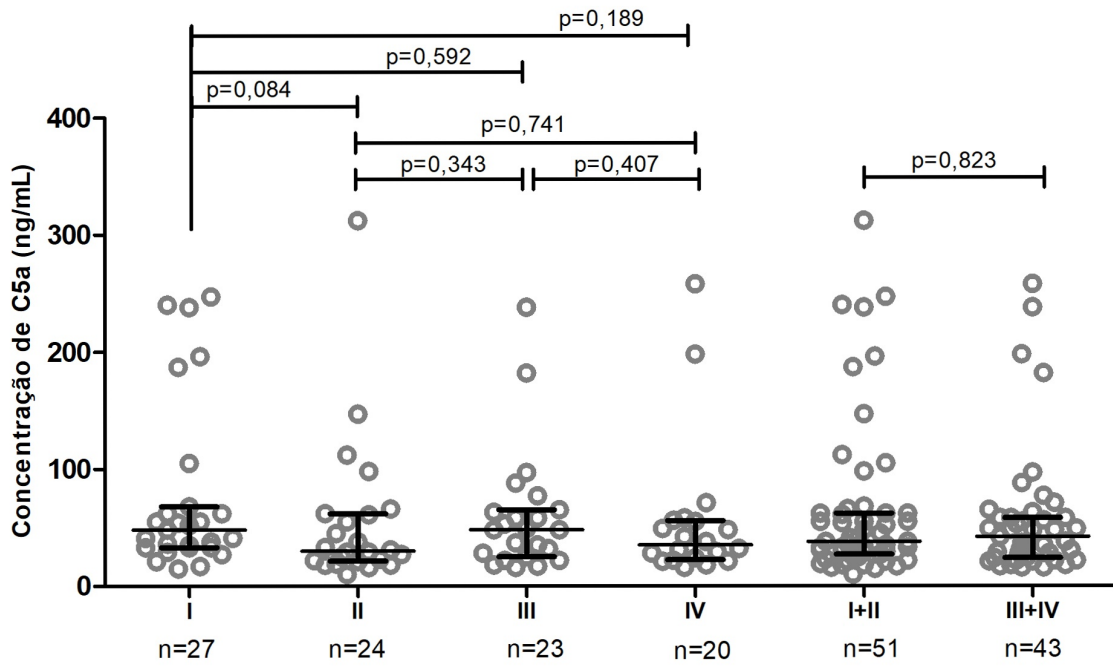
Características	Pacientes (n=94)	I+II (n=51)	III+IV (n=43)	I+II vs. III+IV
Idade <i>média</i> ± SD	37,21 ± 7,19	37,06 ± 7,84	37,40 ± 6,41	0,837
Assintomáticos <i>n</i> (%)	7 (7,44)	2 (3,92)	5 (11,63)	0,104
Sintomas <i>n</i> (%)				
Dismenorreia	60 (63,83)	40 (78,43)	20 (46,51)	0,002
Dor crônica	42 (44,68)	21 (41,18)	21 (48,84)	0,534
Infertilidade	36 (38,29)	19 (37,25)	17 (39,53)	0,834
Sangramento uterino anormal	34 (36,17)	23 (45,09)	11 (25,58)	0,056
Dispareunia	2 (2,13)	2 (3,92)	0	0,498
Sangramento umbilical	1 (1,06)	0	1 (2,32)	0,457
Dor vesical	1 (1,06)	0	1 (2,32)	0,457
Tempo de sintoma <i>mediana</i> [IIQ]	4,50 [2 - 10]	5,00 [2 - 10]	3,00 [2 - 8]	0,089
Número de gestações <i>mediana</i> [IIQ]	1,00 [0 - 2]	1,00 [0-2]	1,00 [0 - 2]	0,920
Tempo de infertilidade (meses) <i>mediana</i> [IIQ]	36,00 [24 - 216]	36,00 [19 - 108]	30,00 [24 - 144]	0,889
Ciclo menstrual (dias) <i>mediana</i> [IIQ]	28,00 [21 - 30]	28,00 [20 -30]	28,00 [25 - 30]	0,094
Duração da menstruação (dias) <i>mediana</i> [IIQ]	5,00 [3,7 -7,0]	5,00 [4 - 7]	5,00 [3 - 7]	0,935
Uso de contraceptivos <i>n</i> (%)	33 (35,11)	19 (37,25)	14 (35,56)	0,669
Infecção sexualmente transmissível (HPV) <i>n</i> (%)	9 (9,57)	2 (3,92)	7 (16,28)	0,075

SD: desvio padrão

IIQ = intervalo interquartil

FONTE: O autor (2021).

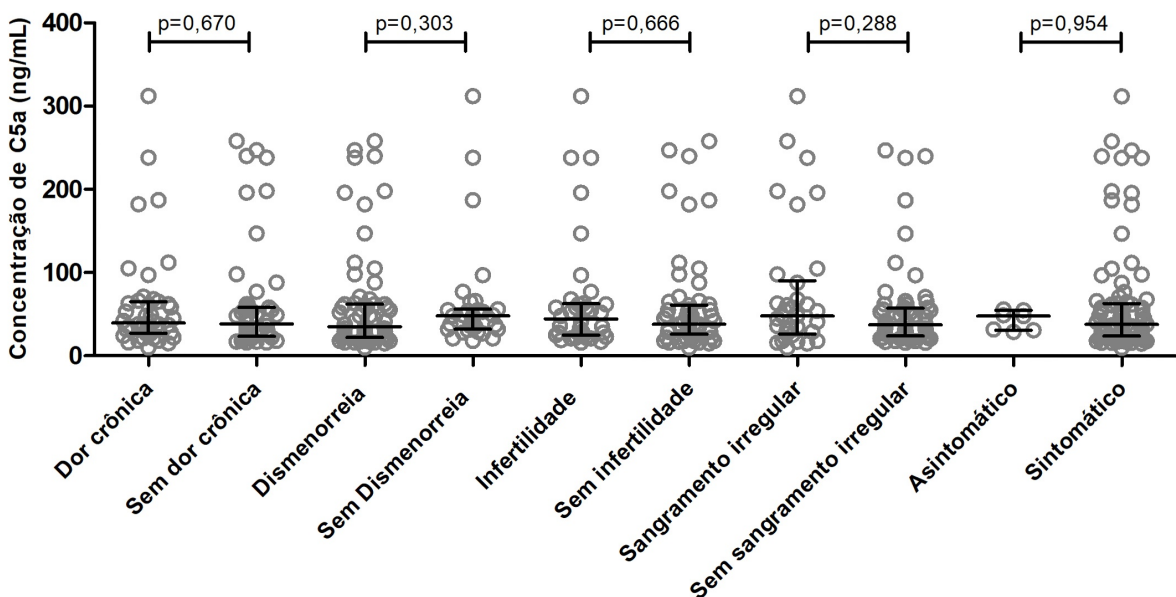
GRÁFICO 2: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a COMPARADAS POR GRAU DE ENDOMETRIOSE



FONTE: O autor (2021).

Dentre os diversos sintomas, pacientes sintomáticas e assintomáticas, não houve associação significativa das concentrações séricas de C5a, como pode ser visualizado no **GRÁFICO 3**.

GRÁFICO 3: SINTOMATOLOGIA DAS PACIENTES COM ENDOMETRIOSE E CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a



FONTE: O autor (2021).

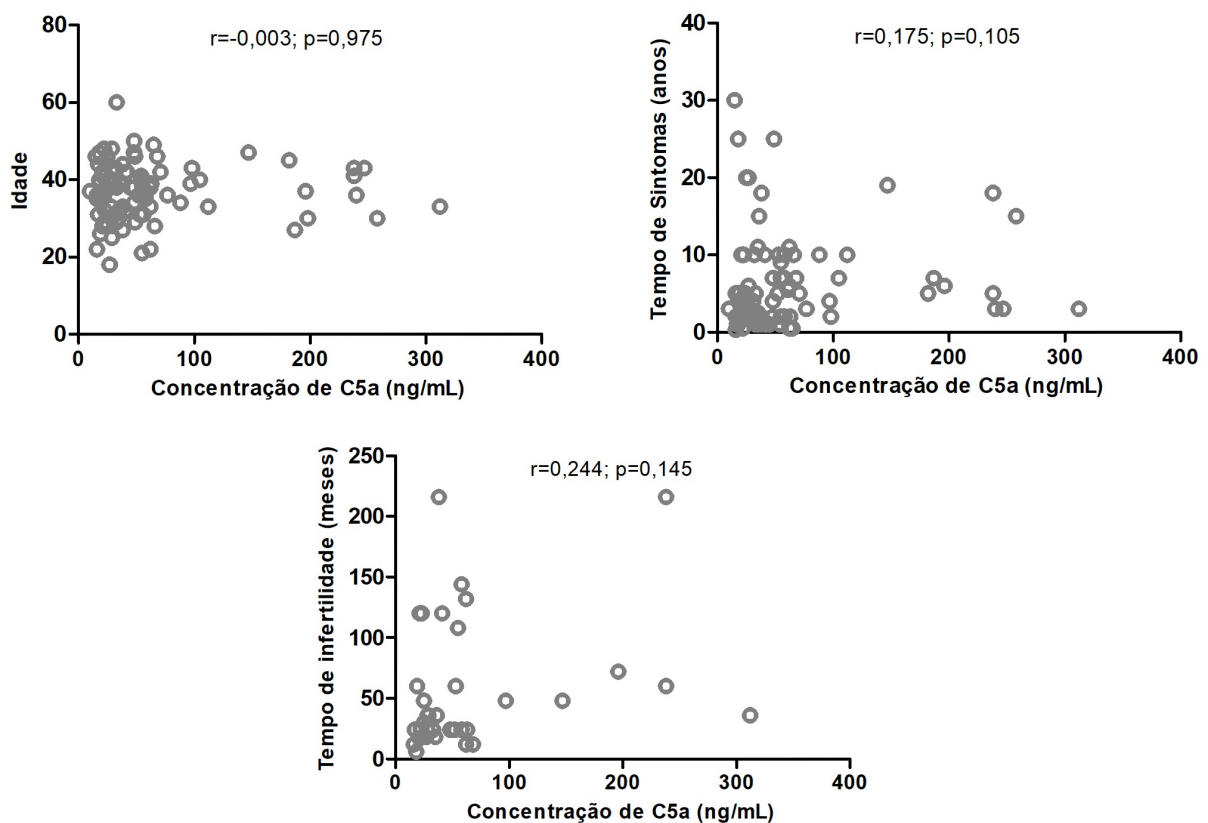
Na avaliação das concentrações séricas de C5a com idade, tempo de sintomas e infertilidade em pacientes com EM, não foi encontrada correlação, conforme **TABELA 3** e **GRÁFICO 4**.

TABELA 3: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a E CORRELAÇÃO COM TEMPO DE SINTOMAS E TEMPO DE INFERTILIDADE

Parâmetro	Idade (anos)	Tempo de sintomas	Tempo de infertilidade
N	94	86	37
Spearman r	-0,003	0,175	0,244
P value	0,975	0,105	0,145

FONTE: O autor (2021).

GRÁFICO 4: ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE IDADE, TEMPO DE SINTOMAS E TEMPO DE INFERTILIDADE E AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE C5a NAS AMOSTRAS DE PACIENTES COM ENDOMETRIOSE (N=94)



5 DISCUSSÃO

São escassos os estudos abordando o tema complemento e EM. Este é o segundo estudo mundial publicado que avaliou a proteína C5a do sistema complemento em pacientes com EM, apesar desta doença ser de alta prevalência,

acometendo até 10% das mulheres em idade reprodutiva (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013; PODGAEC et al., 2018; KARADADAS et al., 2020), e tendo um fator imunológico já comprovado, com influência do sistema complemento (SIKORA et al., 2018; ZHANG et al., 2018; KARADADAS et al., 2020). Os dados observados no nosso estudo contribuem para aumentar o conhecimento sobre a fisiopatologia da EM, mostrando que as concentrações de C5a estão significativamente aumentadas nas pacientes com EM.

A média de idade encontrada nas nossas pacientes com EM foi de 37,2 anos. A média de idade foi muito semelhante aos trabalhos publicados em pacientes com EM submetidos à cirurgia (KAVOUSSI; MUELLER; LEBOVIC, 2006; HASAN et al., 2019; KARADADAS et al., 2020). Alguns estudos tiveram uma média de idade menor, no entanto esses estudos incluíram apenas pacientes em que o motivo da cirurgia foi infertilidade e a EM apenas um achado da cirurgia (KABUT et al., 2007; FASSBENDER et al., 2009).

Segundo a classificação de EM rASRM, nosso estudo apresentou uma proporção semelhante entre os diversos graus. Achado este semelhante em boa parte dos artigos sobre EM (KAVOUSSI; MUELLER; LEBOVIC, 2006; FASSBENDER et al., 2009). Alguns autores encontraram proporções diferentes entre os grupos, alguns com predominância de pacientes com EM nos graus I e II, enquanto outros com predominância de pacientes com EM nos graus III e IV (KABUT et al., 2007; KARADADAS et al., 2020).

Um dos principais sintomas da EM é a dismenorreia, sendo o sintoma mais encontrado no nosso estudo (64% das pacientes), condizente com a literatura (BELLELIS et al., 2010). A dismenorreia ainda foi mais comum nas pacientes com estágios iniciais (78%) do que em estágios avançados (46%), com significância estatística ($p=0,002$). Não houve diferença significativa dos demais sintomas. Os estudos presentes na literatura evidenciam que não há diferença significativa entre a sintomatologia e o grau de EM, incluindo dismenorreia (SCHLIEP et al., 2015).

Em 2020, Karadadas et al. avaliaram 71 pacientes com EM e compararam com 77 pacientes de grupo controle as concentrações séricas de C5a, não obtendo diferença estatística entre os grupos, ao contrário do presente estudo. Um dos possíveis fatores que possam ter influenciado nesse resultado de Karadadas et al. é a não homogeneidade do grupo com EM, sendo 18% dos estágios I e II juntos, 8%

do estágio III e 74% do estágio IV (KARADADAS et al., 2020). Já no nosso estudo, os grupos estudados foram mais homogêneos. Outro motivo que possa justificar essa diferença entre os resultados é o tipo de kit utilizado para realizar a dosagem de C5a e suas respectivas sensibilidades.

Apesar de muitas pesquisas, até o momento, não foi encontrado um biomarcador que possa ser útil no diagnóstico não invasivo de EM (DUNSELMAN et al., 2013). Isso torna o diagnóstico da EM mais tardio, tendo uma média de 11,7 anos nos Estados Unidos, 8 anos no Reino Unido e Espanha, 7 anos no Brasil e 4 a 5 anos na Irlanda e Bélgica (GIUDICE; KAO, 2004; DUNSELMAN et al., 2013; PODGAEC et al., 2018). No nosso estudo, o tempo médio do início dos sintomas até a cirurgia foi de 6,4 anos, condizente com a literatura.

Em uma recente revisão realizada pelo nosso grupo, foram encontrados muitos estudos que identificaram alterações do sistema complemento em pacientes com EM. Alguns desses estudos ainda encontraram diferença entre os diversos estágios de EM, sendo estes, com maiores alterações nos estágios iniciais (RAHAL; ANDRADE; NISIHARA, 2021).

O sistema complemento é composto por mais de 30 proteínas plasmáticas e glicoproteínas. Esse sistema atua por uma cascata enzimática com uma variedade de interações entre proteínas, através de três vias: via clássica, que é ativada por complexo antígeno-anticorpo; via alternativa, que é ativada por moléculas de superfície; e a via da lectina, que é ativada pela ligação da MBL em estruturas de fungos ou bactérias. As três vias de ativação, resultam na produção de C3a, C4a e C5a, que são anafilotoxinas e C5b-9 que causa lise de células e bactérias. A produção de C5a pode ser feita de forma sistêmica, pela cascata descrita acima, ou por ação local por serina proteases relacionada a células fagocíticas contendo C5 convertase (GUO; WARD, 2005b).

Bem como encontramos o C5a aumentado em pacientes com EM, outros autores encontraram proteínas do sistema complemento do final da cascata elevados, como o C3 e o SC5b-9 (KABUT et al., 2007; HASAN et al., 2019). Há evidência também de aumento da expressão gênica de C5 em tecidos endometrióticos (ASLAN et al., 2014).

O C5a em altas doses pode ser prejudicial, causando disfunção de neutrófilos e parando o sistema de sinalização do organismo, além de sua função

anafilática, causando inflamação (GUO; WARD, 2005b; FASSBENDER et al., 2009). Com isso, o aumento de C5a está diretamente relacionado a dor, principal sintoma da EM (QUADROS; CUNHA, 2016).

Já existe medicamento capaz de bloquear a ação do C5a liberado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o eculizumab, que é um anticorpo monoclonal contra o C5a, bloqueando sua função. Até o momento, o eculizumab só está liberado para uso em pacientes com hemoglobinúria paroxística noturna e síndrome hemolítica urêmica atípica (QUADROS; CUNHA, 2016). Outra classe de medicação estudada que bloqueia o C5a são os antagonistas do receptor do C5a, mas até o momento não estão aprovados para uso clínico (QUADROS; CUNHA, 2016; HAWKSWORTH et al., 2017).

No momento, há muitos estudos em andamento para avaliação de bloqueio de C5, C5a, receptor de C5a em diversas doenças, como: doença renal diabética, urticária crônica, artrite reumatoide, psoríase, pênfigo bolhoso, síndrome antifosfolípide, sepse, doenças inflamatórias pulmonares, alguns tipos de câncer (tanto para tratamento como progressão da doença), neuromielite óptica, miastenia grave refratária generalizada, rejeição a transplante cardíaco, síndrome de Guillain-Barre, prevenção da função tardia do enxerto renal em transplantes renais, prevenção e tratamento da doença de reperfusão de enxerto renal, glomerulonefrite membranoproliferativa primária, dermatomiosite, asma alérgica moderada e degeneração macular relacionada à idade (ALLEGRETTI et al., 2012; HAWKSWORTH et al., 2017; AJONA; ORTIZ-ESPINOSA; PIO, 2019; KOLKHIR et al., 2020; BUDGE et al., 2021).

Mais recentemente, o eculizumab tem sido estudado e mostrado importante efeito no tratamento de COVID-19, com resultados promissores em meio à pandemia (DIURNO et al., 2020; MAGRO, 2020).

Tendo em vista a presença de C5a aumentada em pacientes com EM, o bloqueio de C5a poderia atuar como um alvo terapêutico no tratamento da EM ou evitando recidiva da doença, com as medicações que bloqueiam esta proteína.

Dentre as pacientes com EM, tínhamos a hipótese de um aumento de C5a em pacientes com sintomatologia como a dor e infertilidade, pelo aumento da reação inflamatória. No entanto, essa hipótese não se confirmou pelo estudo, não havendo

diferença significativa entre as pacientes com EM com e sem dor e com e sem infertilidade.

Uma das limitações do estudo é o formato, por ser um estudo transversal. Não tendo a avaliação antes da presença de EM e no pós operatório tardio, avaliando se há queda da proteína. Outra limitação do estudo é a baixa quantidade de dados do grupo controle.

Mais estudos são necessários para melhor conhecer a fisiopatologia da EM, principalmente no que engloba proteínas do sistema complemento. Com isso, identificar medicações para tratamento e/ou evitar recidiva. Recomenda-se um enfoque na proteína C5a do sistema complemento e medicações que bloqueiam sua função em pacientes com EM.

6 CONCLUSÕES

Diante das informações obtidas nesse estudo, conclui-se que:

1- As concentrações séricas de C5a foram significativamente maiores em pacientes com EM em relação ao grupo sem doença.

2- Não foi observada associação significativa entre concentrações séricas de C5a com a gravidade da EM, idade da paciente, sintomas, tempo de doença ou tempo de infertilidade.

3- A presença de dismenorreia foi mais frequente em pacientes com EM nos estágios iniciais do que naquelas em estágios avançados.

REFERÊNCIAS

AHN, S. H. et al. Immune-inflammation gene signatures in endometriosis patients. **Fertility and Sterility**, v. 106, n. 6, p. 1420- 1431.e7, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.005>>.

AHN, S. H.; SINGH, V.; TAYADE, C. Biomarkers in endometriosis: challenges and opportunities. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 3, p. 523–532, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.01.009>>.

AJONA, D.; ORTIZ-ESPINOSA, S.; PIO, R. Complement anaphylatoxins C3a and C5a: Emerging roles in cancer progression and treatment. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 85, p. 153–163, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.11.023>>.

ALLEGRETTI, M. et al. Targeting C5a: Recent Advances in Drug Discovery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 217–236, 2012.

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. **Fertility and Sterility**, v. 67, n. 5, p. 817–821, maio 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001502829781391X>>.

ANDERSON, G. Endometriosis Pathoetiology and Pathophysiology: Roles of Vitamin A, Estrogen, Immunity, Adipocytes, Gut Microbiome and Melatonergic Pathway on Mitochondria Regulation. **Biomolecular Concepts**, v. 10, n. 1, p. 133–149, 19 jul. 2019. Disponível em: <<http://www.degruyter.com/view/j/bmc.2019.10.issue-1/bmc-2019-0017/bmc-2019-0017.xml>>.

ASLAN, C. et al. Overexpression of Complement C5 in Endometriosis. **Clinical Biochemistry**, v. 47, n. 6, p. 496–498, abr. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000991201300550X>>. Acesso em: 5 abr. 2019.

BALLARD, K. D. et al. Can symptomatology help in the diagnosis of endometriosis? Findings from a national case-control study - Part 1. **BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 115, n. 11, p. 1382–1391, 2008.

BEDAIWY, M. A. et al. New developments in the medical treatment of endometriosis. **Fertility and Sterility**, v. 107, n. 3, p. 555–565, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.12.025>>.

BELLELLIS, P. et al. Epidemiological and clinical aspects of pelvic endometriosis—a case series. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 467–471, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20835646>>.

BUDGE, K. et al. Complement, a Therapeutic Target in Diabetic Kidney Disease. **Frontiers in Medicine**, v. 7, n. January, p. 1–10, 2021.

BULUN, S. E. Endometriosis. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 3, p. 268–279, 15 jan. 2009. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra0804690>>.

D’HOOGHE, T. M. et al. Endometriosis biomarkers: Will codevelopment in academia–industry partnerships result in new and robust noninvasive diagnostic tests? **Biology of Reproduction**, 2019.

DIURNO, F. et al. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: Preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 24, n. 7, p. 4040–4047, 2020.

DUNSELMAN, G. et al. ESHRE Endometriosis Guideline Development Group Management of women with endometriosis. **Human Reproduction**, v. 29, n. 3, p. 400–12, 2013.

EDWARDS, R. P.; HUANG, X.; VLAD, A. M. Chronic Inflammation in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer: New Roles for the “Old”; Complement Pathway. **Oncoimmunology**, v. 4, n. 5, p. e1002732–e1002732, maio 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26155393>>. Acesso em: 5 abr. 2019.

FALCONE, T.; FLYCKT-REBECCA, R. Clinical management of endometriosis. **Obstetrics and Gynecology**, v. 131, n. 3, p. 557–571, 2018.

FASSBENDER, A. et al. Plasma C3a-Des-Arg Levels in Women with and without Endometriosis. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 62, n. 3, p. 187–195, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00728.x>>.

GIUDICE, L. C.; KAO, L. C. Endometriosis. **The Lancet**, v. 364, n. 9447, p. 1789–1799, 2004.

GUO, R.-F.; WARD, P. A. Role of C5a in Inflammatory Responses. **Annual Review of Immunology**, v. 23, n. 1, p. 821–852, abr. 2005a. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115835>>.

GUO, R. F.; WARD, P. A. Role of C5a in inflammatory responses. **Annual Review of Immunology**, v. 23, p. 821–852, 2005b.

HAJISHENGALLIS, G. et al. Novel mechanisms and functions of complement. **Nature Immunology**, v. 18, n. 12, p. 1288–1298, 2017.

HASAN, A. et al. Serum Albumin and C3 Complement Levels in Endometriosis. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 29, n. 08, p. 702–705, 2019.

HAWKSWORTH, O. A. et al. New concepts on the therapeutic control of complement anaphylatoxin receptors. **Molecular Immunology**, v. 89, n. April, p. 36–43, 2017.

HOLERS, V. M. Complement and Its Receptors: New Insights into Human Disease. **Annual Review of Immunology**, v. 32, n. 1, p. 433–459, 2014.

ISAACSON, K. B. et al. Production and Secretion of Complement Component 3 by Endometriotic Tissue. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 69, n. 5, p. 1003–1009, nov. 1989. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-2793987>>. Acesso em: 5 abr. 2019.

JIANG, L. et al. Inflammation and endometriosis. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 21, n. 5, p. 941–8, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27100482>>.

JOHNSON, N. P. et al. World endometriosis society consensus on the classification of endometriosis. **Human Reproduction**, v. 32, n. 2, p. 315–324, 2017.

KABUT, J. et al. Levels of Complement Components IC3b, C3c, C4, and SC5b-9 in Peritoneal Fluid and Serum of Infertile Women with Endometriosis. **Fertility and Sterility**, v. 88, n. 5, p. 1298–1303, nov. 2007. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-17482181>>. Acesso em: 5 abr. 2019.

KAMER-BARTOSIŃSKA, A. et al. Innate immunity participation in the pathogenesis of endometriosis. **Ginekologia polska**, v. 74, n. 9, p. 959–67, set. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14674152>>.

KARADADAS, E. et al. Evaluation of complement system proteins C3a, C5a and C6 in patients of endometriosis. **Clinical Biochemistry**, v. 81, p. 15–19, 2020.

KAVOUSSI, S. K.; MUELLER, M. D.; LEOVIC, D. I. Expression of mannose-binding lectin in the peritoneal fluid of women with and without endometriosis. **Fertility and Sterility**, v. 85, n. 5, p. 1526–1528, 2006.

KOBAYASHI, H. et al. Pathogenesis of endometriosis: The role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review). **Molecular Medicine Reports**, v. 9, n. 1, p. 9–15, 2014.

KOLKHIR, P. et al. New treatments for chronic urticaria. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 124, n. 1, p. 2–12, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.08.014>>.

KRÁLÍČKOVÁ, M. et al. Altered Immunity in Endometriosis: What Came First? **Immunological Investigations**, v. 47, n. 6, p. 569–582, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/08820139.2018.1467926>>.

LIN, Y. H. et al. Chronic niche inflammation in endometriosis-associated infertility: Current understanding and future therapeutic strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 1–33, 2018.

MAGED, A. M. et al. Diagnostic accuracy of serum miR-122 and miR-199a in women with endometriosis. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 141, n. 1, p. 14–19, abr. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ijgo.12392>>.

MAGRO, G. COVID-19: Review on latest available drugs and therapies against SARS-CoV-2. Coagulation and inflammation cross-talking. **Virus Research**, v. 286, n. January, p. 198070, set. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168170220304639>>.

MAY, K. E. et al. Peripheral biomarkers of endometriosis: A systematic review. **Human Reproduction Update**, v. 16, n. 6, p. 651–674, 2010.

MILLER, J. E. et al. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility. **Oncotarget**, v. 8, n. 4, p. 7138–7147, 2017. Disponível em: <<http://www.oncotarget.com/fulltext/12577>>.

PARAZZINI, F. et al. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, v. 209, p. 3–7, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.04.021>>.

PODGAEC, S. et al. Protocolo Febrasgo Endometriose. In: **Protocolos Febrasgo**. São Paulo: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO), 2018. 32.

PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: A committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 101, n. 4, p. 927–935, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.02.012>>.

QUADROS, A. U.; CUNHA, T. M. C5a and pain development: An old molecule, a new target. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 58–67, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2016.02.004>>.

RAHAL, D.; ANDRADE, F.; NISIHARA, R. Insights into the role of complement system in the pathophysiology of endometriosis. **Immunology Letters**, v. 231, n. January, p. 43–48, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2021.01.005>>.

RICKLIN, D. et al. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. **Nature immunology**, v. 11, n. 9, p. 785–97, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20720586>%0A<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2924908>>.

RICKLIN, D.; MASTELLOS, D. C.; LAMBRIS, J. D. **Therapeutic targeting of the complement system** *Nature Reviews Drug Discovery*, 2019. .

RILEY, C. F.; MOEN, M. H.; VIDEM, V. Inflammatory markers in endometriosis: Reduced peritoneal neutrophil response in minimal endometriosis. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 86, n. 7, p. 877–881, 2007.

RIVAS-LÓPEZ, R.; SANDOVAL-GARCÍA-TRAVESI, F. A. Robotic surgery in gynecology: Review of literature. **Cirugia y Cirujanos (English Edition)**, v. 88, n. 1, p. 107–116, 2020.

SAMPSON, J. Peritoneal Endometriosis, Due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Peritoneal Cavity. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 15, n. 1, p. 101–110, 1928. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937815326934>>.

SAMPSON, J. A. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. **The American journal of pathology**, v. 3, n. 2, p. 93- 110.43, 1927. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19969738>%0A<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1931779>>.

SCHLIEP, K. C. et al. Pain typology and incident endometriosis. **Human Reproduction**, v. 30, n. 10, p. 2427–2438, 2015.

SHAH, R.; JAGANI, R. P. Review of Endometriosis Diagnosis through Advances in Biomedical Engineering. **Critical Reviews in Biomedical Engineering**, v. 46, n. 3, p. 277–288, 2018. Disponível em: <<http://www.dl.begellhouse.com/journals/4b27cbfc562e21b8,3ce1ac5b6e88c9ed,6971bc3c59281329.html>>.

SIGNORILE, P. G.; BALDI, A. Supporting evidences for potential biomarkers of endometriosis detected in peripheral blood. **Data in Brief**, v. 5, p. 971–974, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2015.10.047>>.

SIKORA, J. et al. The Role of Complement Components C1q, MBL and C1 Inhibitor in Pathogenesis of Endometriosis. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 297, n. 6, p. 1495–1501, 23 jun. 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00404-018-4754-0>>. Acesso em: 5 abr. 2019.

VIGANÒ, P. et al. Endometriosis: Epidemiology and aetiological factors. **Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 18, n. 2, p. 177–200, 2004.

VITIELLO, A. et al. Pharmacological approach for the reduction of inflammatory and prothrombotic hyperactive state in COVID-19 positive patients by acting on complement cascade. **Human Immunology**, v. 82, n. 4, p. 264–269, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.01.007>>.

VLAAR, A. P. J. et al. Anti-C5a antibody IFX-1 (vilobelimab) treatment versus best supportive care for patients with severe COVID-19 (PANAMO): an exploratory, open-label, phase 2 randomised controlled trial. **The Lancet Rheumatology**, v. 2, n. 12, p. e764–e773, 2020. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30341-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30341-6)>.

WALLACH, E. E. et al. Immunobiology of endometriosis. **Acta Medica Bulgarica**, v. 38, n. 1, p. 38–50, 2011. Disponível em: <<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0035160255&doi=10.1016%2FS0015-0282%2800%2901630-7&partnerID=40&md5=d6ae74370051b5f98c602e91e61a8f4f>>.

WALPORT, M. J. Complement. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 15, p. 1140–1144, 12 abr. 2001. Disponível em: <www.nejm.org>.

WEISHENG, B. et al. Discovering endometriosis biomarkers with multiplex cytokine arrays. **Clinical Proteomics**, v. 16, n. 1, p. 28, 2019. Disponível em: <<https://clinicalproteomicsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12014-019-9248-y>>.

ZELEK, W. M.; MORGAN, B. P. Monoclonal Antibodies Capable of Inhibiting Complement Downstream of C5 in Multiple Species. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. December, p. 1–14, 2020.

ZHANG, T. et al. The link between immunity, autoimmunity and endometriosis: a literature update. **Autoimmunity Reviews**, v. 17, n. 10, p. 945–955, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.03.017>>.

ZONDERVAN, K. T. et al. Endometriosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, 2018.

APÊNDICE 1 – FORMULÁRIO DEMOGRÁFICO

Data: ___/___/____

Nome:

Data de nascimento: ___/___/____

Número de gravidezes:

Número de partos normais:

Número de partos cesareana:

Número de abortamentos:

Sintomas

 Dor contínua Dor no período menstrual Sangramento aumentado ou irregular Infertilidade. Tentando engravidar há quanto tempo? ___ anos e ___ meses.

Há quanto tempo começaram os sintomas? ___ anos e ___ meses.

Mais alguém na família com endometriose?

 Não Sim. Quem? _____

Já teve alguma doença sexualmente transmissível?

 Não Sim. Qual(is)? _____

Quanto tempo dura seu ciclo menstrual? ___ dias

Quantos dias dura a menstruação? ___ dias

Quando foi sua última menstruação? ___/___/____

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo do sistema complemento em pacientes com endometriose – avaliação sérica e líquido peritoneal. Correlação clínico-laboratorial.

Pesquisador: Renato Mitsunori Nisihara

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 02795318.0.0000.0103

Instituição Proponente: Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.030.546

Apresentação do Projeto:

A endometriose é uma patologia com grande importância clínica e social. É uma doença ginecológica crônica, comprovadamente associada a inflamação e aumento de citocinas inflamatórias. Há aumento de diversos componentes do sistema complemento em dosagens séricas e em líquido peritoneal em pacientes com endometriose. No entanto não há muitos estudos que avaliam a via da lectina do sistema complemento e os estudos que têm são controversos. Este estudo avaliará as dosagens sérica e em líquido peritoneal de MBL, MASP-1 e MASP-2 em 100 mulheres no menacme que serão submetidas à laparoscopia por endometriose e comparar com as dosagens em 100 mulheres sadias.

Serão selecionadas para o grupo caso 120 mulheres com diagnóstico confirmado por videolaparoscopia e biópsia com anatomopatológico confirmando endometriose. As pacientes serão selecionadas quando forem submetidas a videolaparoscopia no Hospital Vita Batel, em Curitiba – PR. Destas pacientes serão coletados 10ml de sangue venoso periférico no pré-operatório imediato, colocados em tubo de coleta de sangue sem coagulante e um tubo com EDTA. No início da laparoscopia, antes de qualquer intervenção cirúrgica, será coletado do fundo de saco de Douglas 2ml de líquido peritoneal, armazenado em tubo de coleta seco.

Critério de Inclusão:

Mulheres que serão submetidas à laparoscopia por endometriose pelo Dr Lucas Dall’Stella no Hospital Vita Batel. Idade: entre 18 anos e a menopausa. Endometriose comprovada por

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770

Bairro: Bigorrilho

CEP: 80.730-000

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3240-5570

Fax: (41)3240-5584

E-mail: comite.etica@fepar.edu.br

SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR



Continuação do Parecer: 3.030.546

anatomopatológico. Mulheres que aceitem participar do estudo e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo II).

Critério de Exclusão:

Mulheres com doença crônica grave, doenças inflamatórias ou doenças autoimunes.

Mulheres em vigência de quadro infeccioso.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a participação de proteínas do sistema complemento, via alternativa e via das lectinas em especial, através de dosagem sérica e do líquido peritoneal em pacientes com endometriose.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Perda de confidencialidade da paciente e risco inerente de complicações da coleta de sangue, como hematoma. Para minimizar os riscos, os dados das pacientes serão mantidos em sigilo pela equipe pesquisadora e, para coleta de sangue, serão adotadas todas as medidas cabíveis e adequadas para menor exposição da paciente a riscos.

Benefícios:

Não há benefícios diretos para este paciente. No entanto, o estudo trará maior conhecimento sobre a doença, podendo trazer melhorias o diagnóstico e tratamento de pacientes no futuro.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontrados óbices éticos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, manifesto pela aprovação do projeto de pesquisa.

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770

Bairro: Bigorilho

CEP: 80.730-000

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3240-5570

Fax: (41)3240-5584

E-mail: comite.etica@fepar.edu.br

**SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR**



Continuação do Parecer: 3.030.546

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba, de acordo com as atribuições definidas na Resolução 466/12 CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da pesquisa.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento do projeto, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1253313.pdf	09/11/2018 15:04:27		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.odt	09/11/2018 14:59:30	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito
Folha de Rosto	folharosto_sistema_complemento.pdf	09/11/2018 14:56:14	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Plataforma_ABNT.pdf	09/11/2018 14:55:13	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Plataforma_ABNT.docx	09/11/2018 14:55:05	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TCLE2.docx	08/11/2018 12:24:38	Renato Mitsunori Nishihara	Aceito
Outros	Lucas.pdf	08/11/2018 09:04:52	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	VITA.pdf	07/11/2018 21:46:46	DANILO MARTINS RAHAL	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770
Bairro: Bigorilho **CEP:** 80.730-000
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3240-5570 **Fax:** (41)3240-5584 **E-mail:** comite.etica@fepar.edu.br

SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR



Continuação do Parecer: 3.030.546

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 21 de Novembro de 2018

Assinado por:
ANA CRISTINA LIRA SOBRAL
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770

Bairro: Bigorilho

CEP: 80.730-000

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3240-5570

Fax: (41)3240-5584

E-mail: comite.etica@fepar.edu.br

ANEXO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO

Revista: Immunology Letters

Métricas da revista:

- CiteScore: 5.1
- Fator de impacto: 3.276
- Fator de impacto em 5 anos: 3.015



Contents lists available at ScienceDirect

Immunology Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/imlet

Insights into the role of complement system in the pathophysiology of endometriosis

Danilo Rahal^a, Fabiana Andrade^{b,c}, Renato Nishihara^{a,b,c,*}

^a Post Graduate Program in Gynecology and Obstetrics, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

^b Clinical Hospital, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

^c Department of Medicine, Positivo University, Curitiba, Paraná, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords

Endometriosis
Complement system
Immunology
Biomarker
Therapeutic target

ABSTRACT

Endometriosis (EM) is a gynecologic disorder characterized by the presence of endometrium-like tissue outside of normal location that affects up to 10 % of all women in reproductive age. The pathogenesis of endometriosis is not completely known. The relationship between complement and EM has already been demonstrated in some studies, indicating an important role in the pathophysiology of the disease, however, researches are scarce and sometimes controversial. The objective of this review is to bring state-of-the-art knowledge on the subject and promote better understanding of the complement system role in the pathophysiology of EM. We searched in databases up to December 2020 and found 1213 articles that were screened, from which were selected 54 articles from title and abstract. We found that there is a dysfunction of the immune system on endometriosis, including the complement system. Apparently, the complement system is dysregulated in endometriosis and several proteins of the three complement pathways presented serum levels altered in women with endometriosis compared with those without the disease. The most studied protein is C3. Future investigations on the innate immune response and complement system could offer a further understanding on the inflammatory pathogenesis of EM, which will support a new therapeutic plan.

1. Background

Endometriosis (EM) is a common gynecologic estrogen-dependent disorder characterized by the presence of endometrium-like tissue outside their normal location [1,2]. The main clinical symptoms are painful and mainly involve pelvic pain, infertility, dysmenorrhea, and dyspareunia; however, the majority of the cases of EM are asymptomatic [2,3]. Although the exact prevalence of EM is unknown, some studies estimate that it affects up to 10 % of women in the reproductive age [1–4].

There are many theories regarding the pathogenesis of EM. The most accepted theory proposed by Sampson in the 1920s suggests that the disorder originates from retrograde menstruation of the endometrial tissue and that the mechanical transfer of the endometrial tissue on menstruation progresses to the pelvic cavity, resulting in invasive implantation and ectopic growth of the endometrial tissue and causing endometriosis [5,6]. However, this theory cannot completely explain

the origin and all aspects of the disorder. Therefore, other theories have been suggested for the pathophysiology of EM, such as coelomic metaplasia, altered cellular immunity, metastasis, genetic basis, environmental basis, and multifactorial mode of inheritance with interactions between specific genes and the environment [4].

Despite this ambiguity, it is clear that there is an immune system dysfunction in EM [7–9]. However, it is unknown if this dysfunction is the cause or subsequence of the disease [10]. Immune factors linked to EM pathophysiology include increased oxidative and nitrosative stress, chronic immune inflammation, increased immune tolerance, autoimmunity, T-helper (Th) 17 cells, interleukin (IL)-17 levels, and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-associated activation of the aryl hydrocarbon receptor [11].

The complement system is a part of innate immunity and includes several soluble and cell-membrane proteins that act together to produce an appropriate host defense and immune surveillance [12]. Complement can be activated via three pathways: classical, alternative, and lectin

Abbreviations: EM, endometriosis; PF, peritoneal fluid; MAC, membrane-attack complex; MBL, mannose-binding lectin; MASP, MBL-associated serine protease; NS, No statistically significant.

* Corresponding author at: Departamento de Medicina – Universidade Positivo, Rua Prof. Pedro Viriato, 5300 zip code 81280-330, Curitiba, Paraná, Brazil.

E-mail address: renatonishihara@up.edu.br (R. Nishihara).

<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2021.01.005>

Received 5 January 2021; Accepted 11 January 2021

Available online 15 January 2021

0165-2478/© 2021 European Federation of Immunological Societies. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

[13]. That culminates into multiples processes, including opsonization and phagocytosis of intruders, chemotaxis and leukocyte activation, bacteria and cells lysis, and clearance of apoptotic cells and immune complexes from tissues [14]. Although primarily described as a host defense system, excessive complement activation is potentially harmful and is associated with diseases with chronic inflammatory component [12].

The relationship between complement and EM has already been demonstrated in some studies [15–35], indicating the importance of the complement system in the pathophysiology of the disease, however, these studies are scarce and sometimes controversial.

2. Objectives

The objective of this review is to provide state-of-the-art knowledge regarding this subject and to promote better understanding of the role of the complement system in the pathophysiology of EM.

3. Search strategy

This research was conducted by searching the following databases: PubMed, Scopus, Web of Science, and BVS-Biblioteca Virtual em Saúde (Health virtual Library). Original research reports (up to December 2020) that correlated EM with inflammation or complement were searched. The following keywords were used in the database search: "endometriosis," "complement," and "inflammation."

First, 1213 articles were obtained. After thoroughly reading the titles and abstracts, we excluded studies that contained other non-related research subjects, editorials, conferences, as well as those that were repeated in different databases.

After the first selection, a total of 51 articles about EM and complement were included in this review.

4. Complement system

Complement is a complex system with more than 50 soluble and membrane-associated proteins, including receptors and regulatory proteins, that triggers immunological and inflammatory processes far beyond pathogen elimination [36]. Once activated, complement pathways converge in the formation of active enzyme complexes (C3 and C5 convertases) and culminate in the formation of the membrane attack complex (MAC), which is inserted into the target membrane leading to cell lysis. In addition to lytic activity, complement induces other important effector functions of the immune response, including opsonization, phagocytosis and lysis of pathogens; removal of apoptotic cells, cellular debris and immune complexes as well as, induction of pro-inflammatory effects and connection between innate and adaptive immunity [12–14].

Excessive or unregulated activation of the complement can be harmful to the organism, being associated with tissue damage and inflammatory process in certain diseases. On the other hand, insufficient complement activity has also been associated with susceptibility to infections [12–14,36]. Therefore, this system should have a delicate balance between activation and regulation. If this does not happen, the complement may not provide effective defense against microbial intruders and could induce self-attack, resulting in immune and inflammatory diseases [12–14].

5. Endometriosis and complement system

EM is a chronic inflammatory disease with delayed diagnosis due to the absence of appropriate complementary examinations and biomarkers that can indicate the presence of the disease, and treatment mainly focuses on the symptoms (pain and/or infertility) [3,4]. Inflammation is a key process in the pathogenesis of EM. Inflammatory cells such as neutrophils and macrophages participate in inflammation,

and the latter is associated with estrogen, suggesting an immune response in EM [37]. However, studies regarding humoral response in EM are rare.

Complement pathway is frequently altered in EM [31,38], and has already been described associated with the early stages of the disease [39]. In addition, complement is one of the most important immune mechanisms participating in peritoneal clearance and inflammation [39]. We have described the studies about the involvement of components of the complement system in EM. Table 1 summarizes these evidences.

5.1. C1

C1q and C1INH levels in the peritoneal fluid (PF) of patients with EM were compared with those of patients without EM, as well as with patients with early (stages I and II according to the American Fertility Society) and advanced (stages III and IV) EM, revealed that there was a significant increase in C1q and C1INH levels in women with EM than in those without EM [16]. There was a higher concentration of C1q and C1INH in the PF of women with early stage of EM than in the PF of those with advanced disease. These results suggest that the complex of immunoglobulins and ectopic endometrial cells initiates the classical pathway in endometriosis, particularly in the early stages of the disease [16]. In addition, gene expressions of C1QA, C1QB, C1R, and C1S were reported to be increased in women with EM than in those without EM [29].

5.2. C3

C3 is the most studied complement protein in o EM. The first published article that researched complement proteins in women with EM dates back to the 1980s [40]. This study showed that C3 is present in the endometrium of most women with EM but is absent from the endometrium of women without proven EM [40]. Another study confirmed that the glandular epithelial cells found in the endometrium produce and secrete C3 [41]. Badawy et al. described that the complement component C3c (a stable C3-conversion product) is significantly higher in the PF of women with EM than in the PF of those without EM [23]. In other study, the same group discovered that the complement component C3c is significantly higher in the serum and PF of patients with EM than in the serum and PF of those without EM [42]. However, Steele et al. [15] and Matalliotakis et al. [32] did not find a significant difference in serum C3 levels in patients with EM compared with those without EM. In contrast, Meek et al. found a lower serum C3 levels in patients with EM compared with the control group [21].

The endometrial tissue of patients with minimal EM produces a significantly higher quantity of C3 than that of patients without EM or with severe EM. However, there is not a significant difference in endometrial C3 production between patients with moderate and minimal EM, moderate and severe EM, or severe EM and patients without EM [43].

The most recent study has shown that serum C3 levels were significantly higher in EM patients than in the controls [44]. Comparing PF and serum iC3b and C3c levels of patients with and without EM revealed that patients with EM have higher levels of C3b in both PF and serum than those without EM. However, an opposite trend was observed for iC3b; the level of this protein was lower in the PF and serum of women with EM than in those of women without EM. In patients with EM, there is a higher level of C3c in the serum than in the PF and a lower level of iC3b in the serum than in the PF. With regard of iC3b, a higher concentration was found in women in the early stage of EM than in those with advanced EM in both biological fluids [18]. A study that has researched the relation between C3a and EM revealed that there is no difference in C3a-des-Arg levels in women with EM and in those without EM [24].

The metabolism of the eutopic endometrium is influenced by the ectopic endometrium [30]. In the eutopic endometria of women with peritoneal EM, the secretion of C3 by stromal cells was significantly

Table 1
Complement components and endometriosis.

Component	Main finding in endometriosis	Author/Year	Comments
C1q	Higher level in PF	Sikora et al. / 2018	Higher concentration at early stage of EM than at advanced stage.
CIINH	Higher level in PF	Sikora et al. / 2018	Higher concentration at early stage of EM than at advanced stage.
<i>CIQA (gene)</i> <i>CIQB (gene)</i> <i>CIIR (gene)</i> <i>CIS (gene)</i> <i>C2 (gene)</i>	Overexpressed	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
	Present in the uterine endometrium of most women with EM and is absent of women without EM	Weed et al. / 1980	
	Glandular epithelial cells found in endometriotic implants produce and secrete C3	Isaacson; Coutifaris; Garcia; et al. / 1989	The endometrial C3 produced was in significantly greater amounts in patients with minimal EM than in patients without EM or patients with severe EM
	NS in serum	Steele et al. / 1984	Few women included in study
C3	NS in serum	Mataliotakis et al. / 1994	Few women included in study
	Lower level in serum	Meek et al. / 1988	
	The secretion of C3 by stromal cells was significantly higher than the corresponding epithelial cells	Bischof et al. / 1994	the metabolism of the eutopic endometrium is influenced by the ectopic one
	The differential expression of serum albumin ad complement C3 precursor is statistical significance as a potential biomarker	Signorile and Baldi / 2015	The evaluation of these two proteins together with Zn-alpha2-glycoprotein could help in the early identification of EM patients
	Higher level in PF	Badawy; Cuenca; Marshall; et al. / 1984	
C3c	Higher level in PF and serum	Badawy; Cuenca; Stitzel; et al. / 1984	
	Higher level in PF and serum	Kabut et al. / 2007	Higher level in serum than in PF
iC3b	Lower level in PF and serum	Kabut et al. / 2007	Higher level in PF than in serum. Higher concentration in PF and serum at early stage of EM than at advanced EM
C3a-des-Arg	NS in serum	Fassbender et al. / 2009	
	The expression in ectopic glands was significantly higher than in eutopic glands	Tao et al. / 1997	
C3 (gene)	A significant C3 gene expression	Sayegh et al. / 1996	
	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium

Table 1 (continued)

Component	Main finding in endometriosis	Author/Year	Comments
	Higher level in PF and serum	Badawy; Cuenca; Stitzel; et al. / 1984	
	Higher level in PF and serum	Kabut et al. / 2007	Higher concentration at advanced stage of EM
C4	Higher level in PF	Badawy; Cuenca; Marshall; et al. / 1984	
	NS in serum	Steele et al. / 1984	Few women included in study
	NS in serum	Meek et al. / 1988	Few women included in study
	NS in serum	Mataliotakis et al. / 1994	Few women included in study
<i>C4a (gene)</i>	Down regulation of expression of <i>C4a</i>	Wölfler et al. / 2011	
<i>C4AB (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>C4BPA (gene)</i>	Decreased expression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
	The expression is up-regulated	Aslan et al. / 2014	
<i>C5 (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>C6 (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
	Overexpression	Suryavanshi et al. / 2014	Compared with women without EM
<i>C7 (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>C8A (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
			Higher concentration at advanced stage of EM.
Membrane-attack complex (SC5b-9)	Higher in PF and serum	Kabut et al. / 2007	Concentration is lower in PF than in serum.
	NS in PF	Kavoussi et al. / 2006	
	NS in PF	Özkerem et al. / 2010	
MBL	NS between EM and low levels of MBL	Kruse et al. / 2014	
	Higher level in PF	Sikora et al. / 2018	Higher concentration at early stage of EM than at advanced stage.
<i>MASP-1 (gene)</i>	Decreased expression	Suryavanshi et al. / 2014	Compared with women without EM
		Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>CFB (gene)</i>	Overexpression	Suryavanshi et al. / 2014	Compared with women without EM
		Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>CFH (gene)</i>	Overexpression	Suryavanshi et al. / 2014	Compared with women without EM
		Ahn et al. / 2016	Compared ectopic tissue with control endometrium
<i>CFI (gene)</i>	Overexpression	Ahn et al. / 2016	Compared with women without EM
		Suryavanshi et al. / 2014	Compared with women without EM

higher than that by the corresponding epithelial cells. Tao et al. compared the gene expression of C3 in eutopic and ectopic endometrium tissues in patients with EM. They found that the expression of C3 mRNA in ectopic glands was significantly higher than that in eutopic glands [33]. Previously, Sayegh et al. suggested that patients with EM have a significantly higher C3 gene expression in comparison those without EM [45].

Signorile and Baldi proposed C3 as a potential biomarker of EM. They affirmed that the expression levels of serum albumin plus complement C3 precursor in women with EM were different from those without EM. They also concluded that the evaluation of C3 with serum albumin and Zn-alpha2-glycoprotein could help in the early identification of patients with EM [28].

A study has reported that the gene expression of C3 is increased in ectopic tissues than in the control endometrium [29].

Taken together, these studies indicated a possible role of C3 in EM. Therefore, C3 and its cleavage components could be potential biomarkers of EM considering that endometrial ectopic implants produce and secrete C3 and that C3 gene expression is higher in women with EM than in those without EM. In addition, C3b could be studied as a biomarker and a possible target medication for the specific treatment of EM inflammation.

5.3. C4

The relationship between C4 and EM is controversial. Kabut et al. [18] and Badawy et al. [42] reported that C4 levels were higher in the serum and PF of women with EM than in those of women without EM. In addition, they found a higher level of C4 in women with advanced stage of EM. In another study, Badawy et al. [23] described a higher level of C4 in the PF of women with EM. On the other hand, Steele et al. [15], Matalliotakis et al. [32], and Meek et al. [21] did not find a statistical difference between serum C4 levels in women with and without EM. Nevertheless, these three studies included a small number of cases.

Two-dimensional gel electrophoresis to evaluate the expression levels of C4a in the PF of women with peritoneal EM, ovarian EM, and without EM revealed that there is a downregulation of C4a in women with peritoneal EM and ovarian EM [25].

In addition, the gene expression levels of C4A/B were increased in ectopic tissues than in the control endometrium [29].

5.4. C7 gene

The gene expression of C7 is overexpressed in women with EM than in those without EM [46]. Comparing the gene expression of C7 in ectopic tissues with that in control endometrium revealed that there is C7 overexpression in ectopic tissues [29].

5.5. Membrane-attack complex – SC5b-9 - (MAC)

There are only two studies that have measured MAC in patients with EM and have compared with the results with patients without EM. Kabut et al. showed that SC5b-9 levels were higher in the PF and serum of women with EM than in those of the control group. An increased concentration of SC5b-9 was observed in women with advanced stage of EM. This study also showed that the concentration of the MAC was lower in the PF than in the serum [18]. Riley et al. compared the concentration of SC5b-9 in the PF of women with and without EM. They did not find a difference in the PF concentration between the studied and control groups [47].

Interestingly, Aslan et al. researched the expression of 84 immune-response genes in patients with EM compared it with that in healthy controls. They found a significant increase in the expression of 23 genes and a significant decrease in the expression of two genes in the EM group than in the control group. Among the overexpressed genes, the expression of the C5 gene was significantly upregulated [26].

5.6. Mammose-binding lectin

The relation between MBL and EM is controversial. Kavoussi et al. compared the concentration of MBL in the PF of women with and without EM. They did not find a statistical difference [17]. Özerkan et al. studied the serum concentration of MBL and did not note a statistical difference between women with and without EM [35]. On the contrary, Sikora et al. demonstrated a higher concentration of MBL in the PF of women with EM than in that of women without EM. They also found a higher concentration in the early stage of EM (stages I and II) than in the advanced stage (III and IV) [16]. Kruse et al. investigated the association between EM and low levels of MBL. They did not find a statistical difference [27].

5.7. Others proteins

The gene expressions of other complement proteins have been studied. C2, C5, C6, C8A, CFB, CFH, and CFI are observed to be overexpressed in ectopic tissues than in the control endometrium, whereas the expression of CABPA is decreased [29].

Moreover, comparing the gene expression patterns of women with EM with those without EM revealed that CFB, CFD, and CFH are overexpressed, whereas that of MASP-1 is downregulated [46].

6. Therapeutic target in endometriosis

EM does not have a specific treatment regimen. Almost all currently available treatments of EM are suppressive and not curative. The treatment of EM-associated pain is based on suppressing estrogen production and inducing amenorrhea [48], such as combined hormonal contraceptives, progestagens, danazol, GnRH agonists, gestrinone, and aromatase inhibitors [2]. The treatment of EM-associated infertility is based on assisted reproductive technology [49]. Another option for EM treatment that improves the fertility and pain relief is the surgical approach via laparoscopy [3].

There are some experimental therapeutic targets such as anti-TNF- α treatment, cytokines treatment, angiogenesis inhibitor, immunomodulatory and anti-inflammatory agents [2,48,49]. However, more studies will be necessary to improve the knowledge of EM pathogenesis and

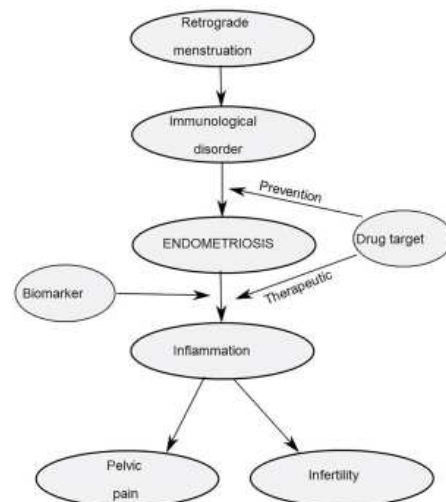


Fig. 1. Pathophysiology of the endometriosis.

development of new treatment options that can act on the prevention or therapeutic care of EM, as shown in Fig. 1.

6.1. Complement as a therapeutic target

It has been proved that the pathophysiology of EM involves a chronic dysregulation of inflammatory system, including the complement system [39]. Most drugs used to treat EM also act on the complement system too, such as GnRH agonists and danazol [39]. Nevertheless, there is no therapeutic target that acts directly on the complement system.

There are many selected inhibitors targeting complement in research. Until this moment, there are just two targets with drugs approved, C1-inhibitor for hereditary angioedema, and C5 target drugs for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, atypical haemolytic uraemic syndrome, generalized myasthenia gravis, and neuromyelitis optica [50].

7. Conclusions

Previous studies have pointed out that EM has an important immunological factor and that the complement system acts incisively on the disease. It had been proved that the innate immune system participates in the pathophysiology of EM. Despite this, there are only few studies about this theme, and some of them are controversial.

Therefore, is necessary to provide better insights into EM pathophysiology. Future investigations on the innate immune response and complement system could offer a further understanding on the inflammatory pathogenesis of EM, which will support a new therapeutic plan.

Author contributions

Rahal, D participated in the design, planning, selection of papers and writing of the manuscript. Nishihara, R participated in the design, planning and revision of the manuscript. Andrade, F participated in the review and creation of images.

Funding

None.

Declaration of Competing Interest

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

References

- [1] S.E. Bulun, Endometriosis, *N. Engl. J. Med.* 360 (2009) 268–279, <https://doi.org/10.1056/NEJMr0804690>.
- [2] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion, *Fertil. Steril.* 101 (2014) 927–935, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.02.012>.
- [3] G. Dunselman, N. Vermeulen, C. Becker, C. Calhaz-Jorge, T. D'Hooghe, B. De Bie, et al., ESHRE endometriosis guideline development group management of women with endometriosis, *Hum. Reprod.* 29 (2013) 400–412, <https://doi.org/10.1093/humrep/det457.2>.
- [4] L.C. Giudice, L.C. Kao, Endometriosis, *Lancet* 364 (2004) 1789–1799, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17403-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17403-5).
- [5] H. Kobayashi, Y. Higashimura, H. Shigetomi, H. Kajihara, Pathogenesis of endometriosis: the role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review), *Mol. Med. Rep.* 9 (2014) 9–15, <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1755>.
- [6] J. Sampson, Peritoneal Endometriosis, Due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Peritoneal Cavity, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 15 (1928) 101–110, [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(15\)32693-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(15)32693-4).
- [7] A. Kama-Bartosinska, K. Szybo, H. Tchirzewski, J. Lewy, [Innate immunity participation in the pathogenesis of endometriosis], *Ginekol. Pol.* 74 (2003) 959–967.
- [8] J.E. Miller, S.H. Ahn, S.P. Monsanto, K. Khalaj, M. Koti, C. Tayade, Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility, *Oncotarget* 8 (2017) 7138–7147, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12577>.
- [9] E.E. Wallach, N. Taylor, D. Ph. D.I. Lebovic, M.D. Mueller, R.N. Taylor, et al., Immunobiology of endometriosis, *Acta. Med. Bulg.* 38 (2011) 38–50, [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01630-7](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01630-7).
- [10] M. Kralickova, L. Fiala, P. Losan, P. Tomez, V. Vetricka, Altered Immunity in Endometriosis: What Came First? *Immunol. Invest.* 47 (2018) 569–582, <https://doi.org/10.1080/088520139.2018.1467926>.
- [11] G. Anderson, Endometriosis Pathoetiology and Pathophysiology: Roles of Vitamin A, Estrogen, Immunity, Adipocytes, Gut Microbiome and Melatonergic Pathway on Mitochondria Regulation, *Biomol. Concepts* 10 (2019) 133–149, <https://doi.org/10.1515/bmc-2019-0017>.
- [12] D. Kikkin, G. Hajishengallis, K. Yang, J.D. Lambris, Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis, *Nat. Immunol.* 11 (2010) 785–797, <https://doi.org/10.1038/ni.1923>.
- [13] V.M. Holers, Complement and its receptors: new insights into human disease, *Annu. Rev. Immunol.* 32 (2014) 433–459, <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120154>.
- [14] M.J. Walport, Complement, *N. Engl. J. Med.* 344 (2001) 1140–1144, <https://doi.org/10.1056/NEJMr00104123441506>.
- [15] R.W. Steele, W.P. Dmowski, D. Marmer, J. Immunologic, Aspects of human endometriosis, *Am. J. Reprod. Immunol.* 6 (1984) 33–36, <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1984.tb00106.x>.
- [16] J. Sikora, A. Wróblewska-Czech, M. Smycz-Kubanska, A. Mielczarek-Palacz, A. Cygal, A. Witek, et al., The role of complement components C1q, MBL and C1 inhibitor in pathogenesis of endometriosis, *Arch. Gynecol. Obstet.* 297 (2018) 1495–1501, <https://doi.org/10.1007/s00404-018-4754-0>.
- [17] S.K. Kavoussi, M.D. Mueller, D.I. Lebovic, Expression of mannose-binding lectin in the peritoneal fluid of women with and without endometriosis, *Fertil. Steril.* 85 (2006) 1526–1528, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.10.032>.
- [18] J. Kabut, Z.Z. Kondera-Anasz, J. Sikora, A. Mielczarek-Palacz, Levels of complement components C3b, C3c, C4, and SC5b-9 in peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis, *Fertil. Steril.* 88 (2007) 1298–1303, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.12.061>.
- [19] S.Z. Badawy, V. Cuenca, A. Stitzel, R.D. Jacobs, R.H. Tomar, Autoimmune phenomena in infertile patients with endometriosis, *Obstet. Gynecol.* 63 (1984) 271–275.
- [20] K.B. Isaacson, C. Coutifaris, C.R. Garcia, C.R. Lyttle, Production and secretion of complement component 3 by endometriotic tissue, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69 (1989) 1003–1009, <https://doi.org/10.1210/jcem-69-5-1003>.
- [21] S.C. Meek, D.D. Hodge, J.R. Musich, Autoimmunity in infertile patients with endometriosis, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 158 (1988) 1365–1373, [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(88\)90369-9](https://doi.org/10.1016/0002-9378(88)90369-9).
- [22] J.C. Weed, P.C. Aquembourg, Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin. Obstet. Gynecol.* 23 (1980) 885–893, <https://doi.org/10.1097/00003081-198023030-00018>.
- [23] S.Z. Badawy, V. Cuenca, L. Marshall, R. Munchback, A.C. Elias, D.A. Coble, Cellular components in peritoneal fluid in infertile patients with and without endometriosis, *Fertil. Steril.* 42 (1984) 704–706.
- [24] A. Fassbender, T. D'Hooghe, A. Mihalyi, C. Ryama, P. Simsa, B.A. Lessey, et al., Plasma C3a-des-Arg levels in women with and without endometriosis, *Am. J. Reprod. Immunol.* 62 (2009) 187–195, <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00728.x>.
- [25] M.M. Wöfler, I.M. Meinhold-Heerlein, L. Söhlgen, W. Rath, R. Knüchel, J. Neulen, et al., Two-dimensional gel electrophoresis in peritoneal fluid samples identifies differential protein regulation in patients suffering from peritoneal or ovarian endometriosis, *Fertil. Steril.* 95 (2011) 2764–2768, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.03.061>.
- [26] C. Aslan, H. Ak, N. Askar, A.B. Ozkaya, A.M. Ergenoglu, A.O. Yeniel, et al., Overexpression of complement C5 in endometriosis, *Clin. Biochem.* 47 (2014) 496–498, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.11.020>.
- [27] C. Kruse, R. Steffensen, H.J. Nielsen, J.C. Jensenius, Mannan-binding lectin polymorphisms and serum levels in patients with endometriosis, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 181 (2014) 256–258, <https://doi.org/10.1016/j.ejogb.2014.08.012>.
- [28] P.G. Signorile, A. Baldi, Supporting evidences for potential biomarkers of endometriosis detected in peripheral blood, *Data Br* 5 (2015) 971–974, <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.10.047>.
- [29] S.H. Ahn, K. Khalaj, S.L. Young, B.A. Lessey, M. Koti, C. Tayade, Immune-inflammation gene signatures in endometriosis patients, *Fertil. Steril.* 106 (2016) 1420–1431, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.005>.
- [30] P. Bischof, D. Planas-Basset, A. Meisser, A. Campsna, Investigations on the cell type responsible for the endometrial secretion of complement component 3 (C3), *Hum. Reprod.* 9 (1994) 1652–1659, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138768>.
- [31] S. Suryawanshi, X. Huang, E. Elshabev, R.A. Budiu, L. Zhang, S.H. Kim, et al., Complement pathway is frequently altered in endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer, *Clin. Cancer Res.* 20 (2014) 6163–6174, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1338>.
- [32] I. Matalliotakis, M. Neonaki, P. Prokopsakis, E. Koumantakis, Auto-immunity in infertile patients with endometriosis, *J. Obstet. Gynecol. (Lahore)* 14 (1994) 114–115, <https://doi.org/10.3109/01443619409030025>.
- [33] X.J. Tao, R.A. Sayegh, K.B. Isaacson, Increased expression of complement component 3 in human ectopic endometrium compared with the matched eutopic endometrium, *Fertil. Steril.* 68 (1997) 469–467.
- [34] R.A. Sayegh, X.J. Tao, J.T. Awwad, K.B. Isaacson, K.B. Isaacson, Localization of the expression of complement component 3 in the human endometrium by in situ

- hybridization, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81 (1996) 1641–1649, <https://doi.org/10.1210/jcem.81.4.8636381>.
- [35] K. Özerkan, B. Oral, G. Ucu, Mannose-binding lectin levels in endometriosis, *Fertil. Steril.* 94 (2010) 775–776, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.09.055>.
- [36] G. Hajishengallis, E.S. Reis, D.C. Mastellos, D. Ricklin, J.D. Lambris, Novel mechanisms and functions of complement, *Nat. Immunol.* 18 (2017) 1288–1298, <https://doi.org/10.1038/nri.3858>.
- [37] L. Jiang, Y. Yan, Z. Liu, Y. Wang, Inflammation and endometriosis, *Front Biosci (Landmark Ed)* 21 (2016) 941–948.
- [38] R.P. Edwards, X. Huang, A.M. Vlad, Chronic inflammation in endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer: new roles for the “old”; complement pathway, *Oncoimmunology* 4 (2015), <https://doi.org/10.1080/2162402X.2014.1002732> e1002732–e1002732.
- [39] T. Zhang, C. De Carolis, G.C.W. Man, C.C. Wang, The link between immunity, autoimmunity and endometriosis: a literature update, *Autoimmun. Rev.* 17 (2018) 945–955, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.03.017>.
- [40] J.C. Weed, P.C. Arquembourg, Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin. Obstet. Gynecol.* 23 (1980) 885–893, <https://doi.org/10.1097/00003081-198023030-00018>.
- [41] K.B. Isaacson, C. Coutifaris, C.R. Garcia, C.R. Lyttle, Production and secretion of complement component 3 by endometriotic tissue, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69 (1989) 1003–1009, <https://doi.org/10.1210/jcem-69-5-1003>.
- [42] S.Z. Badawy, V. Cuenca, A. Stiltzel, R.D. Jacobs, R.H. Tomar, Autoimmune phenomena in infertile patients with endometriosis, *Obs Gynecol* 63 (1984) 271–275.
- [43] K.B. Isaacson, M. Galman, C. Coutifaris, C.R. Lyttle, Endometrial synthesis and secretion of complement component-3 by patients with and without endometriosis, *Fertil. Steril.* 53 (1990) 836–841, [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)53518-3](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)53518-3).
- [44] A. Hassan, A. Rahim, M. A'zal, A. Naveed, S. Ayub, S. Jahan, Serum albumin and C3 complement levels in endometriosis, *J. Coll Physicians Surg Pakistan* 29 (2019) 702–705, <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2019.08.702>.
- [45] R.A. Sayegh, X.J. Tao, J.T. Awwad, K.B. Isaacson, Localization of the expression of complement component 3 in the human endometrium by in situ hybridization, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81 (1996) 1641–1649.
- [46] S. Suryawanshi, X. Huang, E. Elshaeve, R.A. Budiu, L. Zhang, S.H. Kim, et al., Complement pathway is frequently altered in endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer, *Clin. Cancer Res.* 20 (2014) 6163–6174, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1338>.
- [47] C.F. Riley, M.H. Moen, V. Videm, Inflammatory markers in endometriosis: reduced peritoneal neutrophil response in minimal endometriosis, *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 86 (2007) 877–881, <https://doi.org/10.1080/00016340701417398>.
- [48] M.A. Bedaiwy, S. Alfaraj, P. Yong, R. Casper, New developments in the medical treatment of endometriosis, *Fertil. Steril.* 107 (2017) 555–565, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.12.025>.
- [49] Y.H. Lin, Y.H. Chen, H.Y. Chang, H.K. Au, C.R. Tzeng, Y.H. Huang, Chronic niche inflammation in endometriosis-associated infertility: current understanding and future therapeutic strategies, *Int. J. Mol. Sci.* 19 (2018) 1–33, <https://doi.org/10.3390/ijms19082385>.
- [50] D. Ricklin, D.C. Mastellos, J.D. Lambris, Therapeutic targeting of the complement system, *Nat. Rev. Drug Discov.* (2019), <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0055-y>.