



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Mecanismos fisiopatológicos de infertilidade na endometriose mínima a ligeira

Marina Ascenso Faria

JUNHO'2017



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Mecanismos fisiopatológicos de infertilidade na endometriose mínima a ligeira

Marina Ascenso Faria

Orientado por:

Dr. Joaquim Nunes

JUNHO'2017

Resumo

A endometriose é uma doença ginecológica benigna caracterizada pela presença de glândulas endometriais e estroma fora da cavidade uterina. Esta é uma das causas mais comuns de infertilidade feminina, sendo diagnosticada em 25 a 50% das mulheres inférteis. Embora a endometriose grave distorça a anatomia pélvica e reduza a fertilidade por razões mecânicas; os mecanismos pelos quais os implantes pequenos e superficiais presentes na endometriose mínima a ligeira resultam em infertilidade grave permanecem por esclarecer. A foliculogénese parece ser essencial para o desenvolvimento de oócitos que originam embriões de boa qualidade, capazes de se implantar e desenvolver apropriadamente, sendo este processo influenciado pelos componentes do fluido folicular e pelas células da granulosa. A capacidade de implantação depende não só da qualidade do oócito mas também do endométrio, que quando incapaz de responder apropriadamente, sem adequação temporal nas suas alterações, afeta negativamente o sucesso reprodutivo. A receptividade endometrial é ainda influenciada por mecanismos hormonais, imunes e genéticos. Crê-se que o fluido peritoneal, afeta não só o endométrio, como também a função dos espermatozoides. Por sua vez, o transporte dos gâmetas é condicionado quer pela presença de moléculas inibitórias, quer por anomalias mecânicas da peristalse uterina.

Palavras-chave

Endometriose mínima, endometriose ligeira, infertilidade, oócito, endométrio.

Abstract

Endometriosis is a benign gynecological disease characterized by the presence of endometrial glands and stroma outside the uterine cavity. This is one of the most common causes of female infertility, responsible for 25 to 50% of all cases. Although severe endometriosis distorts the pelvic anatomy and reduces fertility by mechanical means, the systems in which small and superficial implants in minimal to mild endometriosis result in severe infertility remain unclear. Folliculogenesis seems to be crucial for the development of oocytes capable of producing good embryos and suitable of properly implanting and developing. This process is influenced by the components of the follicular

fluid and granulosa cells that can influence their progression. The implantation capacity seems to be influenced not only by the quality of the oocyte, but also by the endometrium, which when unable to respond properly, without adequate temporal adaptation in endometrial alterations, negatively affects reproductive success. Endometrial receptivity appears to be influenced by hormonal, immune and genetic mechanisms. It is believed that the peritoneal fluid affects not only the endometrium but also the function of the spermatozoa. In turn, the transport of the gametes is conditioned either by the presence of inhibitory molecules or by mechanical abnormalities of uterine peristalsis.

Key-words

Minimal endometriosis, mild endometriosis, infertility, oocyte, endometrium.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

Índice

Introdução.....	6
Metodologia.....	7
Resultados	8
Discussão.....	8
Qualidade do oócito.....	8
Foliculogénese	8
Células da Granulosa.....	9
Hiperprolactinémia	10
Mitocôndrias	10
Fluido Folicular	11
Capacidade de implantação	12
Qualidade do embrião.....	13
Fluido Peritoneal	13
Esperma	14
Transporte dos gâmetas	15
Recetividade uterina	16
Desregulação genética	18
Conclusão	20
Agradecimentos	21
Referências Bibliográficas	22

Introdução

A endometriose é uma doença ginecológica benigna caracterizada pela presença de glândulas endometriais e estroma fora da cavidade uterina. Descoberta pela primeira vez no século XIX, a endometriose é mais comumente identificada no peritoneu pélvico, porém pode estar presente nos ovários, septo rectovaginal, ureter e mais raramente na bexiga, pericárdio e pleura.¹ Esta é uma doença hormono-dependente pelo que ocorre quase exclusivamente em mulheres em idade fértil e muito raramente em mulheres pós-menopausa.² Na verdade, trata-se de uma doença ginecológica com grande impacto, ocorrendo em 7 a 10% da população geral e em mais de 50% das mulheres pré-menopausa. Adicionalmente, é responsável por 20% das intervenções cirúrgicas ginecológicas e é a principal causa não obstétrica de internamento nas mulheres entre os 15 e os 44 anos de idade.³

O diagnóstico da endometriose é cirúrgico, através de laparoscopia ou laparotomia, tendo sido desenvolvido um sistema de classificação que avalia a extensão da doença.⁴ Este sistema foi revisto em 1996, pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva dividindo a doença em quatro estádios: estágio I – Mínima (1-5); estágio II – Ligeira (6-15); III – Moderada (16-40) e IV – Grave (>40), baseando-se na localização, extensão e profundidade dos implantes endométricos; presença e gravidade das adesões; e presença e tamanho dos endometriomas.⁵ O estágio de endometriose não se correlaciona com a presença ou gravidade da sintomatologia.⁶

Clinicamente, pode ser assintomática ou acompanhada por sintomas como dor pélvica crônica, dismenorreia e dispareunia, estando frequentemente associada a infertilidade.¹ Estatisticamente, cerca de 30 a 50% das mulheres com endometriose são inférteis e 25 a 50% das mulheres inférteis têm endometriose.⁷ Comparativamente com a taxa de fecundidade mensal de um casal saudável em idade reprodutiva que é cerca de 30% nos primeiros três ciclos, a taxa de fecundidade mensal para um casal infértil diagnosticado também com endometriose encontra-se entre os 2% e 10%.⁸

Porém apesar da intensa e constante investigação na área, os mecanismos pelos quais a endometriose conduz a infertilidade permanecem por esclarecer. Embora a endometriose grave distorça a anatomia pélvica e reduza a fertilidade por razões mecânicas; para muitos parece biologicamente implausível que os implantes pequenos e superficiais presentes na endometriose mínima a ligeira, possam resultar em infertilidade grave.⁹

Um estudo retrospectivo avaliou 192 casais inférteis submetidos a laparoscopia diagnóstica, dos quais 117 apresentavam infertilidade inexplicada e 75 foram diagnosticados com endometriose mínima a ligeira. Todas as mulheres tinham menos de 40 anos, ovulavam e os seus parceiros tinham parâmetros espermáticos normais. Considerando um período de seguimento de três anos após a realização da laparoscopia, constataram-se taxas de concepção cumulativa de 36% no grupo da endometriose mínima a ligeira, face a 55% do grupo com infertilidade inexplicada.¹⁰ Uma outra investigação comparou os resultados pós inseminação artificial de 119 mulheres com infertilidade inexplicada e 49 mulheres com endometriose mínima a ligeira. Não foram descritas diferenças entre os dois grupos no processo de estimulação ovárica e na qualidade do esperma e foram excluídas mulheres previamente submetidas a intervenções cirúrgicas e outras técnicas de reprodução medicamente assistida. Concluiu-se existir uma redução da taxa de gravidez nas mulheres com endometriose mínima a ligeira (16%) em comparação com mulheres com infertilidade inexplicada (34%).¹¹ Um outro artigo de revisão demonstrou o decréscimo da taxa de fertilização nas mulheres com endometriose mínima a ligeira (52 %) comparativamente com mulheres inférteis por fator tubário (69%)¹².

Contudo os mecanismos através dos quais a endometriose mínima a ligeira conduz a infertilidade não são plenamente claros, tendo sido propostas diversas teorias que serão discutidas de seguida.

Metodologia

Para a realização deste trabalho pesquisei artigos no PubMed usando as seguintes palavras-chave: *minimal endometriosis, mild endometriosis, minor endometriosis, infertility, folliculogenesis, oocyte quality, embryo quality, oxidative stress, follicular hormonal environment, implantation e endometrial receptivity*. Posteriormente consultei as referências bibliográficas de alguns artigos, o que me permitiu complementar as minhas pesquisas. Consultei ainda três livros de referência da especialidade de Ginecologia e Obstetrícia.

Resultados

Após a pesquisa inicial obtive 87 artigos, sendo que através da consulta de referências bibliográficas fez-se um total de 152. Destes aproveitei 112 artigos, incluindo todos aqueles que eram relativos a endometriose mínima a ligeira e seus mecanismos, bem como alguns que permitiram um melhor fundamento teórico. Excluí 40 artigos, dado serem referentes a estadios mais graves de endometriose, basearem-se em técnicas já não utilizadas ou não acrescentarem informação de relevo para a temática em questão.

Discussão

Qualidade do oócito

Embriões de boa qualidade, isto é, com capacidade de implantar e se desenvolver apropriadamente, têm origem em oócitos igualmente de boa qualidade. Por sua vez, estes originam-se a partir de folículos com um ambiente adequado, condicionado pelo fluido folicular e pelas células vizinhas que têm capacidade de influenciar a sua progressão.¹³

Há vários anos que se tenta perceber melhor qual o papel do oócito na infertilidade no contexto de endometriose mínima a ligeira. Concretamente, oócitos de mulheres sem doença foram usados para produzir embriões, posteriormente implantados em mulheres com endometriose tendo se verificado taxas de implantação e gravidez semelhantes às mulheres sem endometriose. Adicionalmente, constatou-se que as taxas de implantação de mulheres saudáveis que receberam oócitos oriundos de mulheres com endometriose foram reduzidas comparativamente ao grupo controlo.¹⁴ Neste sentido, as evidências clínicas sugerem que as alterações oocitárias nas mulheres com endometriose podem resultar em embriões de baixa qualidade.

Foliculogénese

No contexto de endometriose, verificaram-se alterações na foliculogénese que podem contribuir para disfunção ovulatória, baixa qualidade oocitária, diminuição da taxa de fertilização, embriões de baixo grau e taxas de implantação reduzidas.¹⁵ Mais

precisamente, foram identificadas fases foliculares mais longas, taxa de crescimento folicular mais lenta e folículo dominante de menor tamanho.⁸ Está também descrita a presença de maior proporção de oócitos maduros em telófase I aquando da maturação oocitária nas mulheres com endometriose, sugerindo a existência de atraso ou erro na meiose I.¹⁶ Oócitos em telófase I utilizados para procedimentos de microinjeção intracitoplasmática, revelaram taxas de fertilização inferiores que os oócitos em metáfase II.¹⁷ Adicionalmente, têm vindo a ser sugeridas alterações subtis na produção de hormonas esteroides nas mulheres com endometriose mínima a ligeira. Especificamente, baixa concentração de estradiol na fase pré-ovulatória e concentração total de LH reduzida durante o seu pico.¹⁸ Controversamente, Mahmood et al. concluiu que não se verificavam diferenças significativas na fase folicular de mulheres com endometriose ligeira.¹⁹

Células da Granulosa

Indiretamente é ainda possível avaliar a qualidade do oócito através das células da granulosa. Durante o desenvolvimento folicular estas diferenciam-se em dois tipos de células, as murais que rodeiam o antro folicular e as do cumulus que circundam o oócito.²⁰ Em mulheres com endometriose mínima a ligeira, ao analisar as células do cumulus verificou-se diminuição da expressão do gene CYP19A1 (gene que codifica a aromatase) evidenciando alterações na esteroidogénese que podem comprometer o desenvolvimento oocitário.²¹⁻²³ Para além de baixa atividade da aromatase foi identificada reduzida produção de progesterona. Anteriormente pensou-se poder dever-se à já descrita redução do pico de LH, porém estas alterações mantiveram-se após estimulação exógena, o que parece direcionar para defeito primário do folículo.²⁴ Foram ainda detetadas outras anomalias nas células da granulosa, designadamente baixo número de células na fase G2/M, um grande número em fase S e células apoptóticas.²⁵ A presença de corpos apoptóticos pode prever a qualidade do oócito, uma vez que oócitos com mais corpos apoptóticos revelaram menor sucesso na fertilização.^{26,27} Adicionalmente, verificou-se que a produção das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α pelas células da granulosa de mulheres com endometriose apresentavam aumento da sua produção em comparação com mulheres saudáveis.²⁸

Radicais livres e os produtos de peroxidação lipídica gerados durante o processo de crescimento folicular e ovulação podem ser responsáveis pelo decréscimo da qualidade do oócito, dada a sua capacidade de causar danos nos diversos componentes celulares, tais como membranas, proteínas, lípidos e DNA.²⁵ Um dos principais marcadores para avaliação do dano oxidativo e stress oxidativo é a 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OHdG).²⁹ Quando comparadas com pacientes inférteis por outros motivos, as mulheres com endometriose apresentaram maior incidência de 8-OHdG nas células da granulosa, o que provavelmente significa que o ambiente folicular da endometriose causa mais stress oxidativo que noutros pacientes.²⁵ Outro marcador importante é a 4-hidroxi-2-nonenal (4HNE), um dos produtos da peroxidação lipídica.³⁰ Este está envolvido numa variedade enorme de efeitos citopatológicos como inibição enzimática, inibição da síntese de DNA e RNA e inibição da síntese proteica. Pacientes com endometriose apresentaram níveis elevados de 4HNE nas células da granulosa.²⁵

Hiperprolactinémia

Foi ainda descrito que as mulheres com endometriose apresentam concentrações de prolactina elevadas, o que conduz a anovulação. No ovário, a prolactina leva à diminuição da afinidade dos recetores LH no corpo lúteo, associando-se a diminuição da produção de progesterona com anovulação e supressão da maturação folicular.³¹

Mitocôndrias

Também o papel das mitocôndrias oocitárias foi investigado, tendo-se verificado diminuição do número de mitocôndrias no grupo de mulheres com endometriose I e II submetidas a FIV, bem como a presença de anomalias mitocondriais (vacúolos pequenos ou volumosos). Pensa-se que as mitocôndrias do embrião derivam exclusivamente do oócito, para além de que a sua atividade parece ser essencial na maturação oocitária, segregação cromossómica e capacidade de desenvolvimento. Desta forma, as alterações encontradas podem correlacionar-se com a diminuição da qualidade oocitária.³²

Fluido Folicular

Outro fator de extrema importância para o processo de maturação do oócito é o fluido folicular, sendo que alterações na composição do mesmo podem influenciar o desenvolvimento e qualidade dos oócitos.³³ O efeito do fluido folicular de mulheres inférteis com endometriose ligeira (estadio II) na maturação nuclear e formação de anomalias meióticas foi testado em oócitos bovinos (semelhantes em tamanho e morfologia aos de origem humana). Quando expostos ao fluido folicular de mulheres com endometriose, foi obtido maior número de oócitos em metáfase I (50% vs 29%), sugerindo atraso e defeitos da meiose I. Entre os oócitos que atingiram a metáfase II, a percentagem de anomalias meióticas foi superior com fluido folicular de mulheres com endometriose (55.8% vs 23.1%).³⁴

Têm sido demonstradas diferenças nos constituintes do fluido folicular entre mulheres com e sem endometriose.^{8,35} Em concreto, verificou-se aumento das concentrações de interleucinas IL-6, IL-1 β , IL-10, TNF- α e ENA-78 (péptido ativador de neutrófilos derivado de células epiteliais) e diminuição do VEGF (fator de crescimento vascular endotelial) no fluido folicular.³⁵⁻³⁷ O aumento destas citocinas parece relacionar-se com o ciclo celular das células da granulosa, induzindo anomalias do mesmo.^{25,38} O aumento de IL-10 leva a um conseqüente aumento do p27, um inibidor do ciclo celular, causando paragem na fase G0.³⁸ Níveis elevados de TNF- α foram associados a redução da maturação oocitária suína, verificando-se menos oócitos em metáfase II e grande número de oócitos com anomalias no alinhamento cromossômico e na estrutura do citoesqueleto.³⁹ Quanto ao VEGF, sabe-se que este tem um papel fulcral na vascularização do folículo, pelo que a redução da sua concentração pode afetar a qualidade do mesmo.³⁵ Foi também identificado aumento de endotelina-1 no fluido folicular de mulheres inférteis com endometriose. Esta é conhecida por aumentar a resistência vascular periférica, e uma elevada resistência da artéria uterina tem sido correlacionada com baixas taxas de gravidez.⁴⁰

Foi também demonstrado aumento dos marcadores de stress oxidativo e redução dos níveis de antioxidantes no fluido folicular das mulheres com endometriose.⁴¹⁻⁴⁴ Mais concretamente, nas mulheres com endometriose verificou-se aumento nas concentrações de espécies reativas de oxigénio (ERO), óxido nítrico e peroxidação lipídica, sendo esta elevação observada principalmente nas mulheres que não engravidaram após FIV. Foram ainda descritos níveis diminuídos de capacidade total antioxidante, superóxido dismutase,

catalase, glutationa peroxidase, glutationa redutase e vitaminas A, C e E.^{41,42} A vitamina C é um importante antioxidante nos folículos, sendo que a falta desta vitamina resulta em atrofia ovárica e atresia folicular. A baixa capacidade antioxidativa pode ser baixa por excesso de consumo na tentativa de neutralizar as ERO ou o excesso de ERO pode ocorrer devido aos baixos níveis iniciais de mecanismos antioxidantes.⁴¹

O fluido folicular das mulheres com endometriose parece ainda induzir maior proliferação celular que o fluido de mulheres sem doença. Este efeito proliferativo não se correlaciona com o estadio da doença. Apesar de ainda não se perceber o mecanismo por detrás deste efeito, a alteração nos constituintes do fluido folicular parece relacionar-se.^{43,45}

Adicionalmente, constatou-se maior libertação do péptido GnSAF (fator atenuante das gonadotrofinas) pelo fluido folicular de mulheres com endometriose. Este é produzido pelos folículos mais pequenos e diminui a capacidade do estrogénio para sensibilizar a hipófise à hormona libertadora de gonadotrofinas, levando a uma menor produção de LH.^{18,46} No que respeita às concentrações de progesterona no fluido folicular, as investigações são inconclusivas, sendo descritas quer elevadas concentrações^{35,47}, quer concentrações inalteradas.^{18,48,49}

Capacidade de implantação

Múltiplos estudos demonstraram redução da capacidade de implantação nas mulheres com endometriose mínima a ligeira.^{12,50-52} A implantação é um processo extremamente coordenado que requer presença de embriões em desenvolvimento com capacidade de induzir as corretas alterações no epitélio endometrial, bem como a existência de um endométrio preparado para receber esses sinais e agir em consonância. Desta forma, qualquer endométrio incapaz de responder apropriadamente, sem adequação temporal nas alterações endometriais irá afetar negativamente o sucesso reprodutivo.¹³ Alterações no meio envolvente, mais concretamente pela ação do fluido peritoneal, também podem comprometer o processo de implantação.⁵³⁻⁵⁵

Qualidade do embrião

Tendo em conta as múltiplas alterações no oócito descritas anteriormente, a qualidade do embrião estará também comprometida nas mulheres com endometriose. Foi descrita uma elevada percentagem de embriões anormais nas mulheres com endometriose, mais concretamente o desenvolvimento era significativamente diferente, com áreas de depleção de organelos, condensações com vacúolos, halos de fragmentos anucleados e clivagem anormal de citoplasma anucleado.⁵⁶ Para além disso, um estudo que comparou um grupo de 59 mulheres inférteis com endometriose com um grupo de 78 mulheres com infertilidade por fator tubário, descreveu a presença de um número de blastómeros reduzido (5.4% versus 6.1%), verificando ainda a presença de mais embriões sequestrados (57.4% versus 45.2%).⁵⁰

Fluido Peritoneal

Estas alterações embrionárias podem também surgir devido ao fluido peritoneal, tendo sido demonstrado que o fluido peritoneal de mulheres com endometriose promove anomalias nos microtúbulos e cromossomas do oócito, bem como apoptose do embrião.

57

Diversas alterações nos constituintes do fluido peritoneal de mulheres com endometriose mínima a ligeira, têm sido descritas, principalmente no que diz respeito à imunidade. Mais concretamente demonstrou-se a presença de imunoglobulinas e depósitos de complemento⁵⁸. Também se evidenciaram autoanticorpos IgG e IgA contra o endométrio e ovários^{59,60} e ativação de células B policlonais autoimunes.⁶¹ Esta autoimunidade pode dever-se a uma predisposição genética ou ser desencadeada pelo endométrio ectópico surgindo como forma de conter a doença.⁵⁹

Verifica-se ainda aumento dos leucócitos que por sua vez produzem inúmeras citocinas e fatores de crescimento. A secreção de RANTES, uma citocina cuja concentração se encontra elevada no fluido peritoneal de mulheres com endometriose, promove a quimioatração de monócitos e células T.⁶² A IL-6 que se encontra igualmente em concentrações elevadas no fluido peritoneal também contribui para a ativação de células T e diferenciação de células B.⁶³ O aumento de TNF- α e VEGF conduz a maior produção de prostaglandinas, contribuindo para as aderências do endométrio ectópico.⁸ Sabe-se que

a IL-1 também se encontra aumentada no fluido peritoneal⁶⁴, e tal como o TNF- α , é indutora das metaloproteinases da matriz.⁸

Os leucócitos polimorfonucleares e os macrófagos ativados presentes no fluido peritoneal das mulheres com endometriose produzem uma elevada concentração de espécies reativas de oxigénio (ERO).⁶⁵ Este aumento pode ainda dever-se a alterações nas vias de desintoxicação.⁶⁶ As ERO são mediadores inflamatórios que modulam a proliferação celular⁸ podendo também danificar células mesoteliais do endométrio e induzir locais de adesão para células endometriais.⁶⁶ Crê-se que o desenvolvimento de stress oxidativo possa ser um dos links da cadeia de eventos que leva a infertilidade e que os níveis de redox possam modular a dinâmica e progressão da doença.⁸ Adicionalmente verificou-se redução da superóxido dismutase (SOD), uma enzima que catalisa a dismutação de radicais superóxido em oxigénio e peróxido de oxigénio^{67,68}, bem como redução da capacidade total antioxidante⁶⁸. A concentração do radical peróxido mostrou-se elevada⁶⁸, assim como, o nível de óxido nítrico (NO), um radical livre e um bioregulador da apoptose celular⁶⁹. Níveis baixos de NO são importantes para o funcionamento do ovário e implantação, porém quando aumentado reduz a fertilidade pelos seus efeitos deletérios na função oviductal, mobilidade do esperma, toxicidade embrionária e efeito inibitório na implantação.⁷⁰ De salientar que alguns estudos que investigaram a associação do NO, peróxido lipídico e ERO no fluido peritoneal de mulheres com endometriose não mostraram diferenças significativas.⁶⁸ A glutathiona peroxidase reduz os peróxidos lipídicos e de hidrogénio em peróxidos de água e álcool. Esta é regulada pelo estrogénio, pelo que apresenta variações dependentes da fase do ciclo menstrual, sendo que inicialmente na fase proliferativa se encontra em níveis baixos que vão aumentando progressivamente, sendo o aumento mais marcado no início da fase secretora. Contudo, verificou-se que a sua expressão no endométrio eutópico das mulheres com endometriose perde esta variação dependente de ciclo, levando a defeitos na proteção contra o stress oxidativo.⁷¹

Esperma

O aumento da imunidade e do stress oxidativo do fluido peritoneal contribui ainda para efeitos deletérios no esperma. Na verdade, esperma incubado com fluido peritoneal de mulheres com endometriose mostrou uma pior performance na penetração oocitária, bem

como uma menor velocidade de deslocação.⁷² Adicionalmente, o fluido peritoneal causa danos diretos no DNA dos espermatozoides.⁷³ As mulheres com endometriose apresentavam maior quantidade de macrófagos ativados com maior atividade fagocitária espermática.⁷⁴ A presença de macrófagos ativados no fluido peritoneal inibe a ligação do espermatozoide à zona pelúcida, sendo o principal mediador o TNF- α .⁷⁵ O aumento do TNF- α leva ainda a alterações nos espermatozoides, quer seja pela sua capacidade de estimular a apoptose através da cascata da caspase, quer pela produção de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica que reduz o potencial de fertilização das células sexuais.⁷⁶ O aumento de IL-1 e IL-6 já descrito tem também influência na mobilidade dos espermatozoides. Crê-se que a IL-6 se combina com o seu recetor e este complexo por sua vez associa-se com a glicoproteína 130 expressa no esperma. Apesar de não se saber o exato mecanismo, foi demonstrada uma redução da mobilidade aquando da ação deste triplo complexo.⁷⁷ Nas mulheres com endometriose foi ainda descrita a existência de anticorpos anti-transferrina e anti- α 2 glicoproteína HS, ambas presentes no fluido peritoneal, que inibem a mobilidade do esperma *in vitro*. Concretamente, verificou-se menor número de espermatozoides rápidos, redução da força, linearidade e anomalias da cabeça do espermatozoide.^{78,79} Controversamente, um estudo não relatou diferenças significativas na mobilidade e função do esperma quando incubado com fluido peritoneal de pacientes com endometriose.⁸⁰ A peroxidação lipídica causa aumento da permeabilidade e perda de integridade da membrana e inativação enzimática dos espermatozoides.⁸¹ Para além disso, o stress oxidativo pode conduzir a infertilidade por causar defeitos na reação acrossómica e fusão espermatozoide-oócito.⁸²

Também a interação do espermatozoide com o epitélio da endosalpíngex parece estar alterada. O epitélio da ampola tende a ligar-se aos espermatozoides de forma mais intensa resultando num menor número de espermatozoides livres disponíveis para circular e concluir a fertilização.⁸³

Transporte dos gâmetas

O transporte dos gâmetas pode ainda ser afetado pela presença de um inibidor da captação do óvulo (OCI), uma macromolécula presente no fluido peritoneal de mulheres com endometriose que reduz a atividade das fimbrias da trompa de Falópio. Esta macromolécula afeta a mobilidade das fimbrias, criando uma membrana que cobre as suas

fissuras e rugosidades.⁸⁴ Adicionalmente, foram relatadas anomalias na peristalse uterina nas mulheres com endometriose, designadamente marcado hiperperistaltismo na fase folicular, e peristaltismo disperistáltico, arrítmico e com características convulsivas na fase folicular tardia, comparativamente ao grupo controlo que apresentava contrações regulares. Estes movimentos arrítmicos podem comprometer o rápido transporte do esperma e conseqüentemente levar a redução da fertilidade.⁸⁵

Recetividade uterina

Contudo, apesar de todos os mecanismos já descritos, crê-se que o embrião é responsável apenas por um terço das falhas de implantação, sendo a inadequada recetividade uterina responsável por aproximadamente dois terços.⁸⁶

A recetividade uterina é definida como um período de tempo restrito em que o útero é recetivo à adesão do blastocisto e sua implantação. As mudanças desta transição endometrial são primariamente coordenadas pelo estrogénio (E2) e progesterona (P4) que modulam temporal e espacialmente os diversos eventos. Embora diversas moléculas envolvidas na implantação já tenham sido identificadas, os mecanismos que regulam a interação endométrio-blastocisto permanecem pobremente definidos.⁸⁷

No que respeita à esteroideogénese endometrial, existe evidência suficiente para afirmar que o endométrio eutópico e ectópico de mulheres com endometriose comportam-se de forma distinta do endométrio de mulheres sem endometriose. Isto baseia-se em três pontos principais: o endométrio ectópico não segue as mesmas mudanças cíclicas que o endométrio normal, provavelmente por possuírem diferentes receptores; os três tipos de células respondem distintamente à produção de citocinas e sua regulação; o endométrio ectópico e eutópico da mulher com endometriose produz estrogénios.⁸⁸ Na verdade, um estudo reportou níveis elevados de aromatase no endométrio eutópico e ectópico (onde deveria ser ausente), resultando numa elevada produção de estrogénios.⁸⁹ Esta alteração associa-se provavelmente às elevadas concentrações de PPAP-A (*pregnancy associated plasma protein*) no fluido peritoneal de doentes com endometriose. Esta proteína é produzida pelo endométrio, ovário e placenta e tem uma atividade protease que leva a diminuição do IGFBP-4 (*insulin growth factor binding protein 4*), resultando em níveis altos de IGF (*insulin like growth factors*). Por sua vez, os IGF atuam em sinergia com a LH para aumentar a androestenediona e testosterona que são depois aromatizadas em

estrogénio. Uma vez que a aromatase folicular está diminuída, a conversão dá-se no tecido endometrial, levando ao aumento das concentrações de estrogénio endometriais.⁹⁰ O aumento de estrogénio estimula a enzima COX-2 que por sua vez faz aumentar a prostaglandina E2 (PGE2). Esta é o estimulador mais potente da expressão da aromatase no tecido endometrial, resultando em aumento de estrogénio. Desta forma, verifica-se um circuito de *feedback* positivo em que o estrogénio leva à sua própria produção, aumentando ainda mais a sua concentração e contribuindo para a progressão da doença.⁹¹ Para além de uma produção aumentada, parece existir também uma diminuição da inativação, quer pela ausência da enzima 17 β hidroxisteróide desidrogenase II que está normalmente presente nas células glandulares endometriais e é responsável pela inativação do estrogénio⁹²; quer pela substituição do fator inibitório da aromatase COUP-TF pelo SF-1 que tem efeito contrário estimulando-a.⁸⁹ Adicionalmente, há evidência de uma relativa resistência à progesterona nas lesões endometriais, o que pode conduzir a uma potenciação das ações do estradiol, já que a progesterona tem uma ação inibitória sobre os recetores de estrogénio.^{93,94}

Perante as evidências de resistência à progesterona, um grupo de investigação decidiu determinar os níveis das isoformas A e B do recetor da progesterona.⁹⁵ Durante a fase luteal, a decidualização endometrial é induzida pela progesterona através dos seus recetores que ativam fatores de transcrição. O recetor tem duas isoformas A e B que diferem funcionalmente, sendo a isoforma B responsável pela ação da progesterona e a isoforma A pela repressão da sua função.⁹⁴ Foram usadas amostras de tecido endometrial eutópico e tecido endometriótico, simultaneamente biopsadas em 18 mulheres submetidas a laparoscopia em diferentes fases do ciclo menstrual. A isoforma PR-B estava presente em 17 de 18 amostras de endométrio eutópico e a sua concentração era maior na fase preovulatória, tal como expectável. Já a isoforma PR-A foi detetada nas 18 amostras com uma variação semelhante, ainda que menos marcada. No entanto, nas amostras de endométrio com endometriose, o PR-B não foi identificado em nenhuma amostra e o PR-A, ainda que tenha sido identificado em todas, estava presente em níveis reduzidos e sem qualquer variação cíclica. Posteriormente, foi ainda demonstrado que apenas os transcritos de RNA da isoforma A eram identificáveis. Desta forma, pode-se inferir que a resistência à progesterona pode dever-se à presença da isoforma A com função inibitória e ausência da isoforma B estimuladora.⁹⁵

A baixa receptividade endometrial pode ser secundária a atrasos na maturação histológica, alterações bioquímicas ou distúrbios nas moléculas de adesão celular, tais como, integrinas $\alpha\beta_3$.⁹⁶ Sabe-se que o período de implantação se inicia com a expressão destas integrinas.⁹⁷ Porém na endometriose mínima a ligeira, a maioria das mulheres mostrou expressão deficitária das mesmas.⁹⁶ Contraditoriamente, um outro estudo não evidenciou alterações nas concentrações de integrinas nas mulheres com endometriose I e II.⁹⁸

Desregulação genética

A desregulação de outros genes pode conduzir a baixa receptividade do endométrio por disfunção da implantação embrionária, embriotoxicidade, disfunção imune e apoptose durante a janela de implantação.⁹⁹

A galectina-3 é uma proteína com funções biológicas específicas, nomeadamente adesão celular, migração, interações com a matriz extra-celular, resposta imune e transdução de sinal, expressa pelas células endometriais na fase secretória. Um decréscimo de Galectina-3 impede a adesão do embrião às células epiteliais do endométrio e atrasa a proliferação das células do estroma, impedindo que se estabeleçam as melhores condições para a acomodação do embrião. Um estudo constatou que havia uma diminuição dos níveis de galectina-3 no endométrio ectópico de mulheres com endometriose. Para além disso, percebeu-se que a estimulação com progesterona não fez aumentar os níveis, o que parece concordar com a já descrita resistência à progesterona.¹⁰⁰

Foi também documentada aumento da expressão do gene Wnt7A que faz parte de uma via de sinalização entre o epitélio e o estroma. A sua ativação aumentada (por produção no endométrio eutópico e no ectópico) altera a normal polaridade estroma-epitélio, impedindo o normal desenvolvimento endometrial durante a janela de implantação.¹⁰¹

O gene HOXA 10 e 11 é um homeobox gene essencial à implantação que está diretamente envolvido na embriogénese do útero e subsequentemente na regeneração do endométrio a cada ciclo menstrual. Nas mulheres sem doença verifica-se um aumento deste gene durante a janela de implantação em resposta aos níveis de estrogénios e progesterona, no entanto as mulheres com endometriose não apresentam este pico a meio da fase luteínica como seria expectável. Sabe-se que mulheres com baixos níveis de expressão de

HOXA10 têm baixas taxas de implantação. Propõe-se como mecanismo silenciador uma hipermetilação genética.^{102–104}

O eba (*endometrial bleeding associated factor*) pertence à família do TGF- β e é um marcador da receptividade endometrial. Fisiologicamente, a sua expressão encontra-se diminuída durante a fase de implantação nas mulheres férteis. Contudo, verificou-se desregulação da expressão de eba no endométrio de um grupo de mulheres inférteis durante a fase recetora do ciclo menstrual, encontrando-se em abundantes quantidades em pacientes com endometriose que não engravidaram comparativamente com pacientes que conseguiram engravidar.¹⁰⁵

A *claudin-4* é uma proteína de transporte, presente nas junções de oclusão entre as células, que favorece o influxo de Cl⁻ e bloqueia o influxo de iões Na⁺. Mulheres com baixos níveis de *claudin-4* numa biópsia endometrial na fase lútea, tinham maiores chances de uma implantação e gravidez de sucesso.¹⁰⁶ Porém, pacientes com endometriose mínima apresentaram níveis elevados de expressão de mRNA desta proteína.¹⁰⁷

O fator de crescimento do hepatócito é um mitogénio derivado das células do estroma endometrial e estimula a proliferação das células epiteliais endometriais. As células endometriais de mulheres com endometriose mostraram uma maior secreção deste fator, sugerindo anomalias glandulares na endometriose.¹⁰⁸

A apoptose tem um papel importante no processo de implantação, estando este processo em equilíbrio/homeostase com a proliferação endometrial, exceto quando o embrião se tenta fixar. Foram descritas alterações nas vias de apoptose, nomeadamente nas vias Bax/Bcl2¹⁰⁹ e Fas/FasL¹¹⁰, designadamente *downregulation* de genes proapoptóticos e *upregulation* de genes antiapoptóticos.¹¹¹

Um estudo analisou a presença e expressão de diversos genes através de uma biópsia de endométrio obtida na fase de implantação de mulheres com endometriose.⁹⁹ Este identificou alterações na expressão de diversos genes envolvidos na desintoxicação, mitose celular, síntese de glicoproteínas importantes para a adesão embrionária e toxicidade embrionária. Identificaram três grupos de genes: grupo I – *upregulated* na janela de implantação normal e *downregulated* nas mulheres com endometriose – IL-15, *proline-rich protein*, *B61*, *Dickkopf-1*, *glycodelin*, *N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase*, *GOS2 protein* e *purine nucleoside phosphorylase*; grupo II – *downregulated* durante o período de implantação e *upregulated* na endometriose -

semaphorin E2, neuronal olfactomedin-related endoplasmic reticulum localized protein mRNA e *Sam68-like phosphotyrosine protein α* ; grupo III – normalmente *downregulated* durante a janela de implantação e ainda mais diminuído na endometriose – *neuronal pentraxin II*. A alteração dos genes descritos pode contribuir para um ambiente embrionário inóspito à implantação.

Conclusão

A relação entre endometriose mínima a ligeira e infertilidade ainda não é consensual, permanecendo por esclarecer se os estadios iniciais da doença afetam efetivamente a fertilidade ou se são meros achados acidentais em mulheres com infertilidade inexplicada.⁶⁶ Embora existam múltiplos estudos com resultados controversos, a verdade é que diferentes investigações clínicas demonstraram piores resultados nas taxas de gravidez nas mulheres com endometriose mínima a ligeira, verificando-se igualmente piores taxas de implantação. Para além disso, apesar do tratamento cirúrgico (adesiolise e cauterização dos focos de endometriose) melhorar estas taxas, este não restaura totalmente o potencial reprodutivo destas mulheres, que permanece substancialmente mais baixo que em mulheres com infertilidade inexplicada.¹¹²

Ao longo deste trabalho foram revistas as diversas alterações (hormonais, químicas, imunológicas) associadas à endometriose e de que forma estas podem afetar a ovulação, qualidade do oócito, função tubária, função espermática, fertilização e implantação.

Por um lado, alterações no ambiente folicular e problemas ováricos intrínsecos podem ser responsáveis por foliculogénese deficitária e subsequentemente oócitos de baixa qualidade que por sua vez contribuem para baixas taxas de fertilização e originam embriões de baixa qualidade com capacidade implantatária diminuída. Diferentes moléculas envolvidas em mecanismos fisiológicos distintos, designadamente apoptose, esteroidogénese e angiogénese, têm sido investigadas apresentando, porém, resultados controversos. Por outro lado, também os aspetos endometriais e os diferentes mecanismos moleculares envolvidos na receptividade uterina têm sido estudados, mostrando, contudo, conclusões ambíguas. Todavia, não podemos descurar a hipótese de se tratar de patologia multifatorial, em que quer o embrião quer o endométrio têm um papel importante. De relembrar que em estudos de doação oocitária, embriões sem doença parecem ter um papel de maior relevo que o endométrio potencialmente afetado¹⁴.

Em suma, este trabalho apresentou diferentes perspectivas para a compreensão dos diversos mecanismos envolvidos na infertilidade em mulheres com endometriose mínima a ligeira. O próximo passo passará pelo desenvolvimento de mais e melhores estudos, concebidos no sentido não só de perceber a fisiopatologia, mas com intuito de perceber a sua aplicabilidade para o desenvolvimento de novos meios diagnósticos não invasivos e aprimorar a abordagem terapêutica.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço ao meu orientador, o Dr. Joaquim Nunes que sem saber há dois anos despertou em mim o interesse pela área da Medicina da Reprodução e mais tarde, aceitou acompanhar o meu Trabalho Final de Mestrado. Pelo seu apoio, empenho e interesse ao longo do desenvolvimento desta revisão, deixo o meu maior agradecimento. Em segundo lugar agradecer à minha família que todos os dias me incentiva, motiva e acarinha, contribuindo para o meu sucesso acadêmico e pessoal.

Por último, aos meus amigos. Aqueles que ao longo de seis anos me têm acompanhado nesta caminhada, passo a passo, e que mais do que ninguém, viram de perto o crescer deste trabalho; e não menos importante, as minhas amigas de sempre que apesar de longe, estão sempre presentes e me dão forças para fazer mais e melhor.

Referências Bibliográficas

1. Cunningham, F. G., Leveno, K. J., Bloom, S. L., Spong, C. Y., Dashe, J. S., Hoffman, B. L. *Williams Obstetrics*. (McGraw-Hill Education, 2014).
2. Alan H. DeCherney, Lauren Nathan, Neri Laufer, A. S. R. *Current Diagnosis & Treatment Obstetrics & Gynecology*. McGRAW-HILL (2007).
3. Pernoll, M. L. & Benson. *Handbook of Obstetrics & Gynecology*. McGRAW-HILL (2001).
4. Giudice, L. C. & Kao, L. C. Endometriosis. *Lancet* **364**, 1789–1799 (2004).
5. Theron, E., Shaw, G. B. & Action, S. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil. Steril.* **67**, 283–290 (1997).
6. American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis: A Guide for Patients. *Patient Inf. Ser.* **60**, 1–8 (2012).
7. Meuleman, C. *et al.* High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil. Steril.* **92**, 68–74 (2009).
8. Gupta, S. *et al.* Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil. Steril.* **90**, 247–257 (2008).
9. Kristin Holoch; Bruce Lessey. Endometriosis and infertility. *Gynakologe* **42**, 43–49 (2009).
10. Akande, V. A., Hunt, L. P., Cahill, D. J. & Jenkins, J. M. Differences in time to natural conception between women with unexplained infertility and infertile women with minor endometriosis. *Hum. Reprod.* **19**, 96–103 (2004).
11. Omland, A. K., Tanbo, T., Dale, P. O. & Åbyholm, T. Artificial insemination by husband in unexplained infertility compared with infertility associated with peritoneal endometriosis. *Hum. Reprod.* **13**, 2602–2605 (1998).
12. Trinder, J. & Cahill, D. J. Endometriosis and infertility: the debate continues. *Hum. Fertil. (Camb)*. **5**, S21–S27 (2002).
13. Garrido, N. *et al.* The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Hum. Reprod. Update* **8**, 95–103 (2002).
14. Simón, C. *et al.* Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertilization and oocyte donation. *Hum. Reprod.* **9**, 725–729 (1994).
15. Garrido, N., Pellicer, A., Remohí, J. & Simón, C. Uterine and ovarian function in endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* **21**, 183–191 (2003).
16. Barcelos, I. D. *et al.* Comparative analysis of the spindle and chromosome configurations of in vitro-matured oocytes from patients with endometriosis and from control subjects: a pilot study. *Fertil. Steril.* **92**, 1749–1752 (2009).
17. Hyun, C.-S. *et al.* Optimal ICSI timing after the first polar body extrusion in in vitro matured human oocytes. *Hum. Reprod.* **22**, 1991–5 (2007).
18. Cahill, D. J., Wardle, P. G., Maile, L. A., Harlow, C. R. & Hull, M. G. Pituitary-

- ovarian dysfunction as a cause for endometriosis-associated and unexplained infertility. *Hum. Reprod.* **10**, 3142–3146 (1995).
19. Mahmood, T. A. & Templeton, A. Folliculogenesis and ovulation in infertile women with mild endometriosis. *Hum Reprod* **6**, 227–231 (1991).
 20. Tanghe, S., Van Soom, A., Nauwynck, H., Coryn, M. & De Kruif, A. Minireview: Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization. *Mol. Reprod. Dev.* **61**, 414–424 (2002).
 21. Barcelos, I. D. *et al.* Gene expression of aromatase (CYP19A1) and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in cumulus oophorus cells of endometriosis and control infertile patients submitted to ICSI. *Fertil. Steril.* **96**, S75 (2011).
 22. Barcelos, I. D. E. S. *et al.* Down-regulation of the CYP19A1 gene in cumulus cells of infertile women with endometriosis. *Reprod. Biomed. Online* **30**, 532–541 (2015).
 23. Hosseini, E. *et al.* Epigenetic alterations of CYP19A1 gene in Cumulus cells and its relevance to infertility in endometriosis. *J. Assist. Reprod. Genet.* **33**, 1105–1113 (2016).
 24. Harlow, C. R. *et al.* Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **81**, 426–429 (1996).
 25. Saito H, Seino T, Kaneko T, Nakahara K, Toya M, K. H. Endometriosis and oocyte quality. *Gynecol Obs. Invest* **53**, 46–51 (2002).
 26. Nakahara, K. *et al.* The incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa can predict prognosis of ova from patients participating in in vitro fertilization programs. *Fertil. Steril.* **68**, 312–317 (1997).
 27. Sifer, C. *et al.* Could induced apoptosis of human granulosa cells predict in vitro fertilization-embryo transfer outcome? A preliminary study of 25 women. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **103**, 150–153 (2002).
 28. Carlberg, M. *et al.* Elevated expression of tumour necrosis factor alpha in cultured granulosa cells from women with endometriosis. *Hum. Reprod.* **15**, 1250–5 (2000).
 29. Toyokuni, S. & Sagripanti, J. L. Iron chelators modulate the production of DNA strand breaks and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Free Radic Res* **31**, 123–128 (1999).
 30. Toyokuni, S. *et al.* Formation of 4-hydroxy-2-nonenal-modified proteins in the renal proximal tubules of rats treated with a renal carcinogen, ferric nitrilotriacetate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 2616–20 (1994).
 31. Esmaeilzadeh, S., Mirabi, P., Basirat, Z., Zeinalzadeh, M. & Khafri, S. Association between endometriosis and hyperprolactinemia in infertile women. *Iran. J. Reprod. Med.* **13**, 155–160 (2015).
 32. Xu, B. *et al.* Oocyte quality is decreased in women with minimal or mild endometriosis. *Sci Rep.* **5**:10779., 10.1038/srep10779. (2015).
 33. Schattman, G. L., Esteves, S. C. & Agarwal, A. Unexplained infertility: Pathophysiology, evaluation and treatment. *Unexplained Infertil. Pathophysiol. Eval. Treat.* 1–347 (2015).

34. Da Broi, M. G., Malvezzi, H., Paz, C. C. P., Ferriani, R. A. & Navarro, P. A. A. S. Follicular fluid from infertile women with mild endometriosis may compromise the meiotic spindles of bovine metaphase II oocytes. *Hum. Reprod.* **29**, 315–323 (2014).
35. Garrido, N., Navarro, J., Remohí, J., Simón, C. & Pellicer, A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum. Reprod. Update* **6**, 67–74 (2000).
36. Pellicer, A. *et al.* The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: Local and systemic cytokine production. *Fertil. Steril.* **70**, 425–431 (1998).
37. Wunder, D. M., Mueller, M. D., Birkhäuser, M. H. & Bersinger, N. A. Increased ENA-78 in the follicular fluid of patients with endometriosis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **85**, 336–342 (2006).
38. Perrin, G. Q., Johnson, H. M. & Subramaniam, P. S. Mechanism of interleukin-10 inhibition of T-helper cell activation by superantigen at the level of the cell cycle. *Blood* **93**, 208–216 (1999).
39. Ma, C. H. *et al.* Effects of tumor necrosis factor-alpha on porcine oocyte meiosis progression, spindle organization, and chromosome alignment. *Fertil. Steril.* **93**, 920–926 (2010).
40. Abaé, M. *et al.* Immunoreactive endothelin-1 concentrations in follicular fluid of women with and without endometriosis undergoing in vitro fertilization-embryo transfer**Presented in part at the 48th Annual Meeting of The American Fertility Society, New Orleans, Louisiana. *Fertil. Steril.* **61**, 1083–1087 (1994).
41. Prieto, L. *et al.* Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertil. Steril.* **98**, 126–130 (2012).
42. Singh, A. K., Chattopadhyay, R., Chakravarty, B. & Chaudhury, K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod. Toxicol.* **42**, 116–124 (2013).
43. Nasiri, N. *et al.* Oxidative stress statues in serum and follicular fluid of women with endometriosis. *Cell J.* **18**, 582–587 (2016).
44. Da Broi, M. G., De Albuquerque, F. O., De Andrade, A. Z., Jordão Junior, A. A. & Navarro, P. A. Systemic and follicular oxidative stress in infertile women with endometriosis undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Reprod. e Clim.* **29**, 112–122 (2014).
45. Bahtiyar, M. O. *et al.* Follicular fluid of women with endometriosis stimulates the proliferation of endometrial stromal cells. *Hum Reprod* **13**, 3492–3495 (1998).
46. Dafopoulos, K. *et al.* Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: Evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. *Hum. Reprod.* **19**, 1985–1992 (2004).
47. Pellicer, A. *et al.* The follicular endocrine environment in stimulated cycles of women with endometriosis: Steroid levels and embryo quality. *Fertil. Steril.* **69**, 1135–1141 (1998).

48. Garrido N1, Krüssel JS, Remohí J, Simón C, P. A. Expression and function of 3beta hydroxysteroid dehydrogenase (3beta HSD) type II and corticosteroid binding globulin (CBG) in granulosa cells from ovaries of women with and without endometriosis. *J Assist Reprod Genet.* **19(1)**, 24–30 (2002).
49. MAHMOOD, T. A., ARUMUGAM, K. & TEMPLETON, A. A. Oocyte and follicular fluid characteristics in women with mild endometriosis. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **98**, 573–577 (1991).
50. Pellicer, a, Oliveira, N., Ruiz, a, Remohí, J. & Simón, C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum. Reprod.* **10 Suppl 2**, 91–97 (1995).
51. Catenacci, M. & Falcone, T. The effect of endometriosis on in vitro fertilization outcome. *Minerva Ginecol.* **60**, 209–221 (2008).
52. Arici, A. *et al.* The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil. Steril.* **65**, 603–7 (1996).
53. Mahutte, N. G. & Arici, A. New advances in the understanding of endometriosis related infertility. *J. Reprod. Immunol.* **55**, 73–83 (2002).
54. Illera, M. J. *et al.* Effect of peritoneal fluid from women with endometriosis on implantation in the mouse model. *Fertil. Steril.* **74**, 41–48 (2000).
55. Hahn DW; Carraher RP; Foldes RG; McGuire JL. Experimental evidence for failure to implant as a mechanism of infertility associated with endometriosis. *AM. J. Obs. GYNECOL.* **155/5**, 1109–1113 (1986).
56. Brizek, C. L., Schlaff, S., Pellegrini, V. A., Frank, J. B. & Worrilow, K. C. Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis - An association with endometriosis. *J. Assist. Reprod. Genet.* **12**, 106–112 (1995).
57. Mansour, G. *et al.* L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. *Fertil. Steril.* **91**, 2079–2086 (2009).
58. Weed, J. C. & Arquembourg, P. C. Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol* **23**, 885–893 (1980).
59. Mathur, S. *et al.* Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin. Exp. Immunol.* **50**, 259–266 (1982).
60. Tanaka T1, Umesaki N, Mizuno K, Fujino Y, O. S. Anti-endometrial IgM autoantibodies in endometriotic patients: a preliminary study. *Clin Exp Obs. Gynecol.* **27**, 133–7 (2000).
61. Badawy, S. Z. A., Cuenca, V., Kaufman, L., Stitzel, A. & Thompson, M. The regulation of immunoglobulin production by B cells in patients with endometriosis*. *Fertil. Steril.* **51**, 770–773 (1989).
62. Manolova, N., Zasheva, D. & Stamenova, M. Immunobiology of endometriosis. *Acta Medica Bulg.* **38**, 38–50 (2011).

63. Punnonen, J., Teisala, K., Ranta, H., Bennett, B. & Punnonen, R. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **174**, 1522–1526 (1996).
64. Kondera-Anasz, Z., Sikora, J., Mielczarek-Palacz, A. & Jońca, M. Concentrations of interleukin (IL)-1alpha, IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1 receptor antagonist (IL-1 Ra) in the peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **123**, 198–203 (2005).
65. ZELLER, J. M., HENIG, I., RADWANSKA, E. & DMOWSKI, W. P. Enhancement of Human Monocyte and Peritoneal Macrophage Chemiluminescence Activities in Women With Endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* **13**, 78–82 (1987).
66. Da Broi, M. G. & Navarro, P. A. Oxidative stress and oocyte quality: ethiopathogenic mechanisms of minimal/mild endometriosis-related infertility. *Cell Tissue Res.* **364**, (2016).
67. Öner-Iyidoğan, Y., Koçak, H., Gürdöl, F., Korkmaz, D. & Buyru, F. Indices of oxidative stress in eutopic and ectopic endometria of women with endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest.* **57**, 214–217 (2004).
68. Szczepańska, M., Koźlik, J., Skrzypczak, J. & Mikołajczyk, M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil. Steril.* **79**, 1288–1293 (2003).
69. Dong M1, Shi Y, Cheng Q, H. M. Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis. *J Reprod Med.* **46(10)**, 887–91 (2001).
70. Osborn, B. H., Haney, A. ., Misukonis, M. A. & Weinberg, J. B. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Fertil. Steril.* **77**, 46–51 (2002).
71. Ota, H., Igarashi, S. & Kato, N. Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil. Steril.* **74**, 313–318 (2000).
72. Aeby T. C.; Huang T; Nakayama R. T. The effect of peritoneal fluid from patients with endometriosis on human sperm function in vitro. *AM. J. Obs. GYNECOL.* **174/6**, 177–1785 (1996).
73. G. Mansour, J. Goldberg, A. Agarwal, R. Sharma, R. Mahfouz, T. F. Correlation between sperm DNA damage, stage of endometriosis and the duration of infertility. *Am. Soc. Reprod. Med.* **88**, (2007).
74. Jha, P., Farooq, A., Agarwal, N. & Buckshee, K. In vitro sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Am. J. Reprod. Immunol.* **36**, 235–237 (1996).
75. Faber, B. M., Chegini, N., Mahony, M. C. & Iii, C. C. C. Macrophage Secretory Products and Sperm Zona Pellucida Binding. **98**, 668–673 (2001).
76. Said, T. M. *et al.* Infliximab may reverse the toxic effects induced by tumor necrosis factor alpha in human spermatozoa: An in vitro model. *Fertil. Steril.* **83**, 1665–1673 (2005).

77. Yoshida, S. *et al.* A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: Implications in infertility associated with endometriosis. *Hum. Reprod.* **19**, 1821–1825 (2004).
78. Pillai, S., Rust, P. F. & Howard, L. Effects of antibodies to transferrin and alpha 2-HS glycoprotein on in vitro sperm motion: implications in infertility associated with endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* **39**, 235–42 (1998).
79. Mathur, S. P. Autoimmunity in endometriosis: relevance to infertility. *Am. J. Reprod. Immunol.* **44**, 89–95 (2000).
80. Sharma RK1, Wang Y, Falcone T, Goldberg J, A. A. Effect of peritoneal fluid from endometriosis patients on sperm motion characteristics and acrosome reaction. *Int J Fertil Womens Med.* **44**, (1999).
81. Agarwal, A., Gupta, S. & Sikka, S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **18**, 325–332 (2006).
82. Baker, M. A. & Aitken, R. J. The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology. *Mol. Cell. Endocrinol.* **216**, 47–54 (2004).
83. Reeve, L., Lashen, H. & Pacey, A. A. Endometriosis affects sperm-endosalpingeal interactions. *Hum. Reprod.* **20**, 448–451 (2005).
84. Hiroshi Suginami; Kohji Yano. An ovum capture inhibitor (OCI) in endometriosis peritoneal fluid: an OCI-related membrane responsible for fimbrial failure of ovum capture. *Fertil Steril* **50**, (1988).
85. Leyendecker, G., Kunz, G., Wildt, L., Beil, D. & Deininger, H. Uterine hyperperistalsis and dysperistalsis as dysfunctions of the mechanism of rapid sperm transport in patients with endometriosis and infertility. *Hum. Reprod.* **11**, 1542–51 (1996).
86. Lédée-Bataille, N. *et al.* Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum. Reprod.* **17**, 213–218 (2002).
87. Hauzman, E. E., Garcia-Velasco, J. A. & Pellicer, A. Oocyte donation and endometriosis: What are the lessons? *Semin. Reprod. Med.* **31**, 173–177 (2013).
88. Garcia-Velasco, J. A. & Arici, A. Is the endometrium or oocyte/embryo affected in endometriosis? *Hum. Reprod.* **14 Suppl 2**, 77–89 (1999).
89. Zeitoun, K. M. & Bulun, S. E. Aromatase: A key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil. Steril.* **72**, 961–969 (1999).
90. Arici, A., Matalliotakis, I. & Fragouli, Y. Increased Pregnancy-Associated Plasma Protein-A (PAPP-A) Concentrations in Peritoneal Fluid of Women with Endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 70–74 (2003).
91. Attar, E. & Bulun, S. E. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: Translational aspects. *Hum. Reprod. Update* **12**, 49–56 (2006).
92. Suzuki, T. *et al.* Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **83**, 4474–4480 (1998).

93. Bulun, S. E. *et al.* Progesterone resistance in endometriosis: Link to failure to metabolize estradiol. *Mol. Cell. Endocrinol.* **248**, 94–103 (2006).
94. Mote, P. A., Balleine, R. L., McGowan, E. M. & Clarke, C. L. Colocalization of progesterone receptors a and b by dual immunofluorescent histochemistry in human endometrium during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **84**, 2963–2971 (1999).
95. Attia, G. R. *et al.* Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 2897–2902 (2000).
96. Lessey, B. A. *et al.* Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **79**, 643–649 (1994).
97. Lessey, B. A. *et al.* Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *J. Clin. Invest.* **90**, 188–95 (1992).
98. Ordi, J. *et al.* Endometrial pinopode and alphavbeta3 integrin expression is not impaired in infertile patients with endometriosis. *J. Assist. Reprod. Genet.* **20**, 465–473 (2003).
99. Kao, L. C. *et al.* Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease. Based implantation failure and infertility. *Endocrinology* **144**, 2870–2881 (2003).
100. Yang, H. *et al.* Aberrant expression and hormonal regulation of Galectin-3 in endometriosis women with infertility. *J. Endocrinol. Invest.* **39**, 785–791 (2016).
101. Liu, Y. *et al.* Excessive ovarian stimulation up-regulates the Wnt-signaling molecule DKK1 in human endometrium and may affect implantation: An in vitro co-culture study. *Hum. Reprod.* **25**, 479–490 (2010).
102. Szczepańska, M., Wirstlein, P., Łuczak, M., Jagodziński, P. P. & Skrzypczak, J. Reduced expression of HOXA10 in the midluteal endometrium from infertile women with minimal endometriosis. *Biomed. Pharmacother.* **64**, 697–705 (2010).
103. Zanatta, A. *et al.* The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: A review. *J. Assist. Reprod. Genet.* **27**, 701–710 (2010).
104. Taylor, H., Olive, D. & Arici, a. HOXA10 gene expression is altered in the endometrium of patients with endometriosis. *J. Soc. Gynecol. Investig.* **5**, 111A–111A (1999).
105. Tabibzadeh, S. *et al.* Dysregulated expression of eba1, a novel molecular defect in the endometria of patients with infertility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 2526–2536 (2000).
106. Serafini, P. C. *et al.* Endometrial claudin-4 and leukemia inhibitory factor are associated with assisted reproduction outcome. *Reprod Biol Endocrinol* **7**, 30 (2009).
107. Mikołajczyk, M., Wirstlein, P. & Skrzypczak, J. Aberrant claudin-4 transcript levels in eutopic endometrium of women with idiopathic infertility and minimal endometriosis. *Ginekol. Pol.* **84**, 90–4 (2013).

108. Sugawara, J., Yoshida, H., Fukaya, T., Yajima, A. & Murakami, T. Increased secretion of hepatocyte growth factor by eutopic endometrial stromal cells in women with endometriosis. *Fertil. Steril.* **68**, 468–472 (1997).
109. McLaren, J., Prentice, A., Charnock-Jones, D. S., Sharkey, A. M. & Smith, S. K. Immunolocalization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2 and Bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hum. Reprod.* **12**, 146–52 (1997).
110. Garcia-Velasco, J. A., Arici, A., Zreik, T., Naftolin, F. & Mor, G. Macrophage derived growth factors modulate Fas ligand expression in cultured endometrial stromal cells: A role in endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.* **5**, 642–650 (1999).
111. Juan A. Garcia-Velasco, M.D.1 and Aydin Arici, M. D. . Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis. *Semin. Reprod. Med.* **21**, (2003).
112. Marcoux, S., Maheux, R., Bérubé, S. & Endometriosis, the C. C. G. on. Laparoscopic Surgery in Infertile Women with Minimal or Mild Endometriosis. *N. Engl. J. Med.* **337**, 217–222 (1997).