



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIENCIA ANIMAL

ALINE FERREIRA DA SILVA MARIANO

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA ENDOMETRIOSE INDUZIDA
EM RATAS APÓS O TRATAMENTO COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Bumelia
sartorum* Mart**

RECIFE

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

ALINE FERREIRA DA SILVA MARIANO

**“ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA ENDOMETRIOSE INDUZIDA
EM RATAS APÓS O TRATAMENTO COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Bumelia
sartorum* Mart”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal. Área de Morfofisiologia.

Orientador:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Co-orientadores:

Prof. Dr. Clécio Souza Ramos

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira

RECIFE

2015

Ficha catalográfica

M333a Mariano, Aline Ferreira da Silva
 Análise morfológica e histoquímica da endometriose
 induzida em ratas após o tratamento com extrato etanólico
 de *Bumelia sartorum* Mart / Aline Ferreira da Silva
 Mariano. – Recife, 2015.
 74 f. : il.

 Orientador: Álvaro Aguiar Coelho Teixeira.
 Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
 de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2015.
 Referências.

 1. Endometriose 2. *Bumelia sartorum* Mart 3. Níveis
 hormonais 4. Histologia 5. Histoquímica 6. Apoptose
 I. Teixeira, Álvaro Aguiar Coelho, orientador II. Título

CDD 636.089

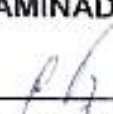
ALINE FERREIRA DA SILVA MARIANO

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E HISTOQUÍMICA DA ENDOMETRIOSE INDUZIDA
EM RATAS APÓS O TRATAMENTO COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Bumelia
sartorum* Mart**

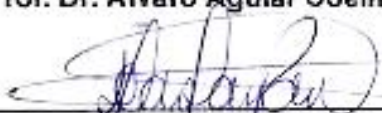
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal. Área de Morfofisiologia.

Aprovada em 24 de Fevereiro de 2015.

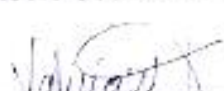
BANCA EXAMINADORA:



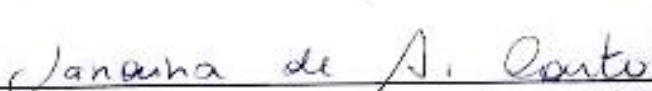
Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira (Orientador) – UFRPE



Prof. Dr. Clécio Souza Ramos – UFRPE



Prof. Dr. Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE



Prof. Dr. Janaina de Albuquerque Couto – UFRPE

“Dedico este trabalho a Deus, por ser meu refúgio e fortaleza, a minha amada Mãe e ao meu amado namorado por todo o apoio, compreensão, amor e oração”.

Agradecimentos

A Deus por sua presença constante em minha vida, me amparando nos momentos difíceis, me dando força interior para superar as dificuldades, mostrando o caminho nas horas incertas e me suprimindo em todas as minhas necessidades. A Ele toda Honra e toda Glória.

A minha querida e amada Mãe, Josenilda Ferreira, pelo carinho, incentivo, força, paciência e principalmente pelo amor e compreensão. Para ela todo o meu amor.

Ao meu querido e amado namorado, Valdomiro Araújo, pelo seu amor, carinho, compreensão, dedicação e por estar comigo sempre.

Aos meus sogros, Maria Valderez e Valdomiro Cavalcanti, pelo incentivo, ajuda e carinho em todos os momentos em que precisei.

Aos meus familiares e amigos que suportaram minha ausência e fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando. A eles todo meu carinho e amor.

Aos meus vizinhos pelo carinho, incentivo e compreensão, principalmente a uma menininha chamada Clara que me encanta todos os dias com seu sorriso e seu carinho por mim.

Aos queridos amigos do Laboratório de Histologia, que sempre caminharam lado a lado comigo, dando força e apoio. Em especial aos amigos Welma, Ismaela, Solange, Carolline Guimarães, Cintia, Hilda, Belisa, Lécio, Raionir, Franklin, Clóvis e Marina que por muitas vezes se prontificaram a ajudar e colaborar com este projeto, me proporcionando dias felizes e tornando esta caminhada mais leve.

Aos amigos do Laboratório de Ecoquímica e Síntese Orgânica, Renato, Mauricéia, Queila, Aldicéia, Andreza, Leonardo, Betinho, Juliana Moenda, Juliana Lira, Rodrigo, Juliana, Karla, Milena, Rodolfo e Vinícius, por terem me acolhido tão bem, me ajudado e me proporcionado muitos momentos de alegria, em especial ao amigo Marcílio Fontes por toda sua disponibilidade e paciência para que o conteúdo químico deste trabalho pudesse ser realizado.

A todos os colegas e professores da Pós-graduação em Biociencia Animal pelo convívio e aprendizado.

Aos Professores do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, Álvaro Aguiar e Valéria Wanderley, pela oportunidade e confiança que depositaram em mim, fazendo com que eu estivesse sempre me superando, melhorando e crescendo, bem como pela dedicação e por todo o conhecimento adquirido na orientação deste trabalho.

A Professora Janaína Couto, por ter ajudado a construir meu currículo acadêmico desde o primeiro período da graduação, por toda sua paciência, dedicação, amizade, carinho e toda contribuição no meu aprendizado.

Ao Professor Clécio Ramos por ter me acolhido em seu ambiente de trabalho, pela amizade, dedicação e toda contribuição no meu aprendizado.

A minha querida Professora de Biologia do Ensino Médio, Sueli Sousa, por ter despertado em mim o interesse pela pesquisa, por suas palavras de incentivo, por sua amizade e carinho.

Aos técnicos do Biotério, André e Renata, pelos cuidados com os animais.

Aos técnicos administrativos, Edna Cherias, Márcia e Benício, da secretaria do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.

Aos funcionários da Biblioteca, pela atenção.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Área de Histologia, por ter cedido as instalações e os animais para a realização desse trabalho.

À Coordenação e aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

A todos os demais que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada a todos! Sem vocês, com certeza eu não teria conseguido chegar até aqui.

RESUMO

A endometriose é um processo inflamatório, caracterizado pela presença de implantes de endométrio fora da cavidade uterina. Atualmente, as opções terapêuticas para a endometriose, incluem terapia médica ou cirurgia. Contudo, grande parte da população mundial ainda utiliza plantas medicinais, como por exemplo a *Bumelia sartorum* Mart, popularmente conhecida como quixaba, para algumas infecções do aparelho reprodutor feminino. Assim, resolveu-se testar a hipótese se o tratamento de ratas induzidas a endometriose com o extrato etanólico da casca de *B. sartorum* causa uma regressão dos implantes endometriais e se provoca alterações nos níveis hormonais de estrógeno, progesterona e prolactina. Foram utilizadas 25 ratas albinas, com 90 dias de idade, divididas em cinco grupos: **GI**– ratas induzidas a endometriose (Controle); **GII**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com placebo (álcool 20%) por 15 dias; **GIII**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato da quixaba por 05 dias; **GIV**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato da quixaba por 10 dias; **GV**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato da quixaba por 15 dias. O extrato foi administrado por gavagem, numa concentração de 32 mg/mL/rata. Os resultados mostraram que os implantes do GI, GII e GIII apresentaram grandes cistos, infiltrado leucocitário e presença intensa de fibras colágenas, que são características da endometriose. Entretanto, nos grupos GIV e GV houve redução dos cistos, do infiltrado leucocitário e presença de macrófagos. A análise do extrato etanólico por CLAE/EM, Infravermelho e UV/Vis mostrou a presença de 11% do monômero de catequina/epicatequina, 60% dos seus dímeros e 3% dos seus trímeros. Houve redução dos níveis de estrógeno e aumento da progesterona apenas nas ratas do grupo GV e os níveis de prolactina não diferiram entre os grupos experimentais. Os grupos GIII, GIV e GV apresentaram os maiores índices apoptóticos, enquanto que apenas os grupos GIV e GV mostraram redução de glândulas e vasos sanguíneos nos implantes. Assim, conclui-se que o extrato etanólico bruto de *B. sartorum* é rico em compostos fenólicos, que pode promover uma regressão dos implantes endometriais e controla os níveis hormonais, quando utilizado por 15 dias na concentração de 32 mg/mL. Entretanto, experimentos adicionais com os fracionados do extrato etanólico bruto devem ser feitos para esclarecer melhor os mecanismos de ação envolvidos na atividade antiinflamatória na endometriose

Palavras-chave: endometriose, *Bumelia sartorum* Mart, níveis hormonais, histologia, histoquímica, apoptose.

ABSTRACT

Endometriosis is an inflammatory process, characterized by the presence of endometrial implants outside the uterine cavity. Currently, treatment options for endometriosis include medical therapy or surgery. However, much of the world's population still use medicinal plants, such as *Bumelia sartorum* Mart, popularly known as quixaba for some infections of the female reproductive system. So we decided to test the hypothesis that the treatment of rats induced endometriosis with the ethanol extract of the bark of *B. sartorum* causes a regression of endometrial implants and causes changes in hormone levels of estrogen, progesterone and prolactin. A total of 25 albino rats, 90 days old, were divided into five groups: **G1**- endometriosis-induced mice (control); **GII**- endometriosis induced female rats treated with placebo (20% ethanol) for 15 days; **GIII**- female rats induced endometriosis treated with quixaba extract for 05 days; **GIV**- female rats induced endometriosis treated with quixaba extract for 10 days; **GV**- female rats induced endometriosis treated with quixaba extract for 15 days. The extract was administered by gavage at a concentration of 32 mg / ml / rat. The results showed that the implants of G1, GII and GIII showed large cysts, leukocyte infiltration and intense presence of collagen fibers, which are characteristics of endometriosis. However, in the GIV and GV groups there was a reduction of the cysts, leukocyte infiltration and presence of macrophages. The analysis of the ethanol extract by HPLC / MS, IR and UV / Vis showed the presence of 11% of the monomer of catechin / epicatechin, 60% of dimers and trimers of their 3%. There was a reduction in estrogen levels and increased progesterone only in rats GV group, and prolactin levels did not differ between experimental groups. The GIII, GIV, and GV groups had the highest apoptotic indices, whereas only GIV, and GV groups showed a reduction glands and blood vessels in the implants. Thus, it is concluded that the ethanol extract of *B. sartorum* is rich in phenolic compounds, which can promote regression of endometrial implants and controls hormone levels when used for 15 days at a concentration of 32 mg / ml. However, further experiments with the fractionated ethanol extract should be made to clarify the mechanisms involved in the anti-inflammatory activity in endometriosis.

Keywords: endometriosis, *Bumelia sartorum* Mart, hormone levels, histology, histochemistry, apoptosis

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1.	Teorias envolvidas de patogênese da endometriose.....	20
Figura 2.	Camadas do útero.....	24
Figura 3.	Útero bicornio em ratas.....	24
Figura 4.	Fases do ciclo estral de ratas.....	26
Figura 5.	Constituintes da <i>B. sartorum</i> . (a) Triterpenos pentacíclico (tarxerona, taraxerol e eritridiol); (b) Ácido triterpênico (ácido básico); (c) Esteróide (α -espinasterol).....	35

CAPÍTULO II

Figura 1.	Cromatograma do extrato etanólico bruto de <i>Bumelia sartorum</i>	52
Figura 2.	Espectro de massas da catequina/epicatequina obtido por CLAE/EM, electrospray” – ESI ($M + 1$) ⁺	58
Figura 3.	Espectro de massas do dímero da procianidina obtido por CLAE/EM, electrospray” – ESI ($M + Na$) ⁺	59
Figura 4.	Espectro de massas do trimero da procianidina obtido por CLAE/EM, electrospray” – ESI ($M + 1$) ⁺	59
Figura 5.	Espectro de infravermelho do extrato etanólico das casca de <i>B. sartorum</i> em KBr.....	60
Figura 6.	Espectro de UV do extrato etanólico das casca de <i>B. sartorum</i> diluída em etanol a 0,2 mg/ml.....	60
Figura 7.	Fotomicrografia de implantes endometriais. G I. A: Notar implante (I) aderido a musculatura abdominal (M). B: Infiltrado leucocitário (asteriscos) e alguns macrófagos (setas) GII. C: Observar implante (I) totalmente aderido à camada muscular (M), bem como os cistos (asteriscos). D: Leucócitos presentes no interior dos cistos. H.E.....	62
Figura 8.	Fotomicrografia de implantes endometriais. G III, A: Observar um	

	grande cisto (asterisco). B: Infiltrado leucocitário. G IV, C: Notar presença de cisto (asterisco) aderido a camada muscular (M). D: Observar pouco infiltrado leucocitário. G V, E: Observar implante reduzido (I) sem cisto e em F: Estroma com vários macrófagos (setas).....63
Figura 9.	A: Histoquímica dos implantes endometriais. G I, A: Observar as fibras colágenas (FC). G II, B: Notar a presença de fibras colágenas (FC) circundando o cisto. C: Macrófagos (setas) no implante. G III, D: Implante endometrial. G IV, E: Implante endometrial. G V, F: Notar o tecido adiposo (TA). Tricômico de Mallory.....64
Figura 10.	Implantes endometriais e detalhe do estroma mostrando células Túnel-positivas dos grupos G I (A-B), G II (C-D) e G III (E-F), respectivamente. Coloração H.E. Asterisco - cisto, e - estroma.....66
Figura 11.	Implantes endometriais e detalhe do estroma mostrando células Túnel-positivas dos grupos G IV (A-B) e G V, respectivamente. Coloração H.E. Asterisco - cisto, e - estroma.....67
Figura 12.	Índice apoptótico (IA) no estroma dos implantes endometriais. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$)67

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1.	Frequência de doenças relacionadas a infertilidade feminina.....	19
Tabela 2.	Medicamentos mais utilizados para o tratamento da endometriose.....	30

CAPÍTULO II

Tabela 1.	¹ Médias ($\pm$ Erro Padrão) dos níveis séricos (ng/mL) de estrógeno, progesterona e prolactina nas fêmeas após tratamento.....	61
Tabela 2.	¹ Médias ($\pm$ Erro Padrão) do percentual da área ocupada por glândulas e vasos sanguíneos nos implantes endometriais.....	65
Tabela 3.	¹ Médias ($\pm$ Erro Padrão) da quantidade média de pixels para fibras colágenas.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs – Antiinflamatórios Não-esteroidais

PG – Prostaglandinas

IL – Interleucinas

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

PRL – Prolactina

IGF-PB1 – Fator de crescimento tipo insulina 1

Cx – Conexinas

MMPs – Metaloproteinases

RM – Ressonância Magnética

COC – Contraceptivos orais combinados

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofina

CLAE-EM – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplado ao espectro de massa

SPE – Extração em fase sólida

UV-Vis – Ultravioleta visível

IF – Infravermelho

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay

H.E. – Hematoxilina e eosina

TdT – Terminal deoxynucleotidyl transferase

PBS – Phosphate buffer saline

DAB – Diaminobenzidina

SUMÁRIO

Preâmbulo

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii

Capítulo

I	1. INTRODUÇÃO.....	16
	2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
	2.1. Endometriose.....	18
	2.1.1 epidemiologia.....	18
	2.1.2 Fisiopatologia.....	19
	2.1.3 O útero.....	23
	2.1.4 Modelos experimentais.....	26
	2.2 Diagnosticos e tratamento.....	29
	2.3 Plantas Medicinais.....	33
	2.4. <i>Bumelia sartorum</i> Mart.....	34
	3. REFERÊNCIAS.....	37
II	Efeito do extrato etanólico de <i>Bumelia sartorum</i> Mart. Sobre níveis hormonais, histologia, histoquímica e apoptose de implantes endometriais em ratas	
	RESUMO.....	48
	INTRODUÇÃO.....	49
	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
	RESULTADOS.....	58
	DISCUSSÃO.....	68
	CONCLUSÃO.....	71
	REFERÊNCIAS.....	72

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A endometriose é um processo inflamatório, que se caracteriza pela presença de implantes teciduais histologicamente semelhantes ao endométrio (estroma e glândulas) fora da cavidade uterina e que responde a estímulos hormonais podendo comprometer diversos locais como, por exemplo, ovários, peritônio, ligamentos uterossacrais, região retrocervical, septo retovaginal, além da bexiga, cólon sigmoide, reto e outras porções do tubo digestivo (D'Hooghe et al., 2003). É uma das afecções benignas mais comuns durante o período de vida reprodutiva da mulher, em todos os grupos étnicos e sociais (ESHRE, 2014).

Existem várias teorias para explicar o desenvolvimento da endometriose como: a teoria do implante endometrial, que explica o aparecimento da endometriose em cicatriz de cesáreas ou após histerectomias; a teoria da metaplasia celômica, que justifica o desenvolvimento da endometriose em mulheres com agenesia uterina; a disseminação por via hematogênica, que justifica as formas extraperitoneais e a teoria do refluxo tubário do fluido menstrual (BRICOU; BATT; CHAPRON, 2008; SAMPSON, 1927). No entanto, esse processo ainda não está bem esclarecido (NÁCUL; SPRITZER, 2010). O quadro clínico pode ser assintomático referindo-se somente à infertilidade ou apresentar os seguintes sintomas: dismenorreia severa, dispareunia profunda, dor pélvica crônica, dor ovulatória, sintomas urinários ou evacuatórios perimenstruais e fadiga crônica (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

Para se diagnosticar a endometriose deve ser realizado um exame de ultrassom endovaginal, exame ginecológico, e alguns exames de laboratório. A certeza só é dada através do exame de biópsia, esta pode ser feita por cirurgia, laparotomia ou preferencialmente laparoscopia que é um exame o qual manipula a cavidade abdominal através de instrumentos de óptica e vídeo juntamente com instrumentos cirúrgicos delicados que são introduzidos através de pequenos orifícios no abdome (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

A prevalência de endometriose é maior em determinadas populações, como as mulheres com a infertilidade (20% - 50%) e mulheres e adolescentes com doenças crônicas dor pélvica e dismenorréia (25% - 70%) (GAO et al., 2006).

O fato da endometriose necessitar de um método invasivo para seu diagnóstico, dificulta ou até mesmo impossibilita os avanços no estudo em humanos. Sendo assim, os modelos animais são extremamente importantes na elucidação dos mecanismos dessa doença (STOR; KENNED, 2004), bem como no teste de novos agentes terapêuticos. O modelo de endometriose em ratas (endometriose induzida), proposto por Vernon; Wilson (1985) é amplamente utilizado, uma vez que a técnica operatória é simples, a maioria dos implantes tem sucesso e, segundo Rossi et al. (2000), esse modelo é considerado válido pela maioria dos investigadores.

Atualmente, as opções terapêuticas para a endometriose, incluem terapia médica com o danazol, contraceptivos orais (combinados ou não), agonistas do GnRH, dispositivos liberadores de progesterona e anti-inflamatórios não-esteroidais ou cirurgia. Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs) são drogas frequentemente utilizadas com o intuito de minimizar as respostas inflamatórias indesejáveis, pois possuem propriedades analgésicas, antitérmica e antiinflamatória. Inibem a síntese de prostaglandinas (substâncias endógenas intermediárias do processo inflamatório) o que leva ao bloqueio dos efeitos inflamatórios. (WANNMACHER; BREDEMEIER, 2004)

Contudo, grande parte da população mundial ainda utiliza plantas medicinais para o tratamento de diversas enfermidades, isto se deve principalmente pela dificuldade em usufruir a medicina moderna, em virtude do elevado custo, muitas vezes associada ao difícil acesso a estes medicamentos ou medo da prática cirúrgica (FERREIRA, 2008).

A flora brasileira é riquíssima em espécies com princípios ativos com potencialidades de utilização na medicina natural. Muitas dessas características já estão comprovadas cientificamente como as da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi.) que é antiinflamatória e bactericida; do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), antiinflamatório, bactericida e analgésico; do ipê-roxo (*Tabebuia avelanadae* Lor. ex. Griseb.), antitumoral e antimicrobiano e da quixaba (*Bumelia sartorum* M.) que é hipoglicemiante e antiinflamatória (AGRA, 1996; DINIZ et al, 1998).

Neste contexto, o objeto de estudo é a *Bumelia sartorum* Mart, da Família Sapotaceae, popularmente conhecida como quixaba. É uma árvoreta que ocorre nas áreas úmidas e secas da caatinga e de acordo com Schenkel et al. (2001), tem uma grande utilização na fitoterapia popular, onde a casca de seu tronco e das raízes é amplamente utilizada na medicina caseira no interior do Nordeste como

antiinflamatórias e analgésicas. No entanto, vários profissionais de saúde condenam a prática do uso das plantas medicinais por não haver comprovação científica do potencial curativo das mesmas (FRANÇA et al., 2007).

Assim, esta pesquisa testa a hipótese de que o tratamento de ratas induzidas a endometriose com o extrato etanólico da casca de *B. sartorum* pode causar uma regressão dos implantes endometriais e pode provocar alterações nos níveis hormonais de estrógeno, progesterona e prolactina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ENDOMETRIOSE

2.1.1. Epidemiologia

A endometriose é uma desordem ginecológica comum que acomete cerca de 10 à 15% das mulheres em idade reprodutiva (DE JOLINIÉRE et al., 2014). No Brasil, estima-se que haja sete milhões de portadoras da doença (NAVARRO, BARCELOS; SILVA, 2006). Essa prevalência pode variar podendo chegar a acometer de 20 à 30% das mulheres com infertilidade, e 40 à 60% das mulheres que apresentam dor pélvica (SAYESNEH; TSIVOS; CRAWFORD, 2011). Apesar de tais dados, sua prevalência real não é conhecida uma vez que uma laparotomia ou laparoscopia é necessária para o diagnóstico (MUNKSGAARD; BLAAKAER, 2011; NEZHAT et al., 2008; SOMIGLIANA et al., 2005).

Atualmente a endometriose vem sendo comumente associada à infertilidade feminina (DE JOLINIÉRE et al., 2014; NAVARRO; BARCELOS, 2006). Em casos mais graves da doença, em que é possível a observação de alterações da anatomia pélvica, torna-se clara a associação entre a endometriose e a infertilidade subsequente. Nestes casos, a fibrose, aderências, alterações ovarianas demonstram tal característica (MAHMOOD; TEMPLETON, 1990).

Vários mecanismos têm sido propostos para justificar a taxa de infertilidade em pacientes portadoras, incluindo alteração na foliculogênese, levando à disfunção ovariana e menor qualidade dos oócitos, assim como os efeitos na fase lútea,

levando a uma menor taxa de fertilização e alterações na embriogênese (KONDO, 2009) (Tabela1).

Tabela 1- Frequência de doenças relacionadas a infertilidade feminina.

Doença	Porcentagem (%)
Desordens ovulatórias	25-27
Endometriose	5-15
Adesão pélvica	12
Oclusão tubária	11
Outras anormalidades tubárias	11
Hiperprolactinemia	7

Fonte: Adaptado de Sanders (1999)

Essa patologia pode acometer com maior frequência os ovários, os ligamentos uterinos, o septo reto-vaginal, o peritônio pélvico, as cicatrizes de laparotomias, além de acometer em menor frequência o umbigo, a vagina e o apêndice. Dentre estes, o local mais afetado é o ovário, como observado em 50% das pacientes (KISTNER, 1958; KUMAR et al, 2005). É também mais comum em mulheres que adiam a procriação. Os fatores de risco para a endometriose podem ser a menarca precoce; menstruações regulares com ciclos mais curtos (sete dias) ou fluxo intenso; dor menstrual e familiares de primeiro grau acometidos pela patologia (PORTH, 2006). É importante ressaltar que em mulheres que têm familiares de primeiro grau afetadas com a enfermidade, a possibilidade de desenvolvimento da endometriose é sete vezes maior, sugerindo que ela pode ser transmitida de uma forma poligenética multifatorial (BADALOTTI; TELOKEN, 1997).

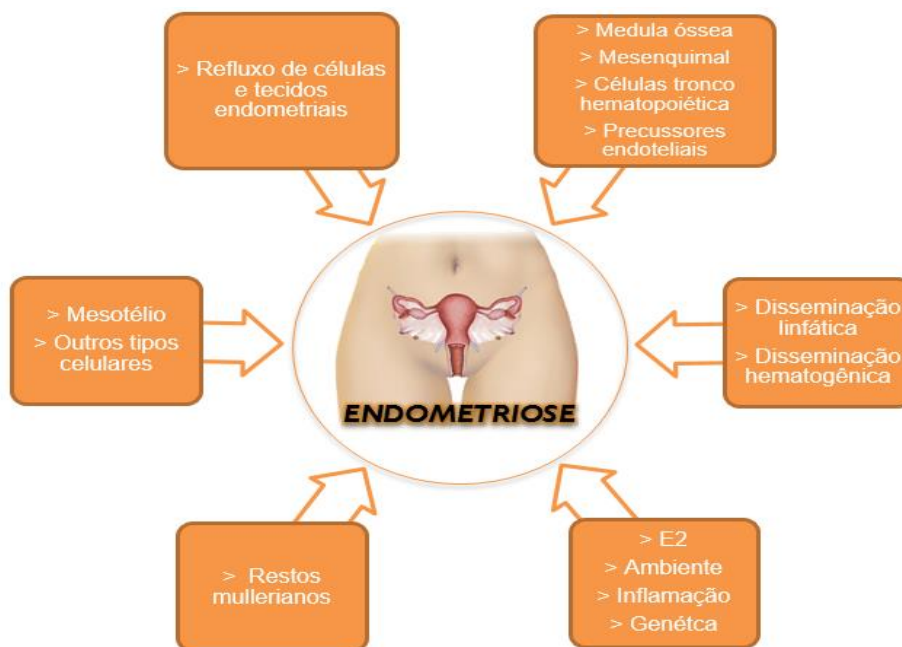
2.1.2. Fisiopatologia

Segundo Carvalho et al. (2004) e Nácúl; Spritzer (2010), a endometriose é um processo inflamatório crônico, estrogênio-dependente, caracterizado pela presença de tecido funcional semelhante ao endométrio localizado fora da cavidade uterina. Este tecido ectópico, adere-se totalmente a musculatura abdominal, além de conter cistos que contêm um fluido seroso claro. Nesses implantes também foram

observados tecidos de granulação. O estroma mostrou-se bastante celular com fibras colágenas, no entanto foi evidenciada uma rica vascularização, algumas glândulas endometriais e tecido adiposo (FRANCISCO, 2009; CONCEIÇÃO et al., 2005).

Numerosos estudos sugerem que esta patologia tenha origem multifatorial, que podem incluir fatores hormonais, hereditários, e imunológicos (GIUDICE KAO, 2004; SHARPE-TIMMS, 1997). Devido a tais características, diversas teorias são propostas para explicar a patogênese da endometriose (Figura 1).

Figura 1. Teorias envolvidas de patogênese da endometriose.



Fonte: Adaptado de Burney; Giudice (2012).

I-Teoria dos restos embrionários - Trata-se da primeira teoria, descrita por Russel, em 1899 (ABRÃO; MELO, 1998). Baseou-se na suposição de que células de origem mülleriana (remanescentes do período embrionário da mulher) poderiam apresentar potencial para desenvolver tecido endometrial fora de seu local original. Entretanto, por se tratar de uma teoria que era restrita apenas ao período reprodutivo não apresentou grande aceitação científica.

II- Teoria da Metaplasia - Relatada em 1919, por Meyer, representou a primeira teoria completa sobre a formação da endometriose. Tal autor propôs que a doença seria decorrente de uma possível transformação do peritônio pélvico em

tecido endometrial, levando à formação de focos de endometriose. Atualmente essa teoria é pouco aceita, por não justificar a presença de endometriose em locais onde não exista peritônio (ABRÃO; MELO, 1998).

III- Teoria da disseminação linfática e hematogênica - Sugerida pela primeira vez por Halban, em 1935, procurou justificar o aparecimento da endometriose em locais distantes. Baseou-se na presença de tecido endometrial microscópico em vasos linfáticos e linfonodos. A falta de estudos posteriores impediu que essa teoria tivesse maior destaque (FÁBREGAS et al., 2014).

IV- Teoria da disseminação iatrogênica – Frequentemente observa-se endometriose em cicatrizes de cirurgias prévias, como as abdominais ou partos. Baseado neste fato, Greenhill, em 1942, sugeriu a possibilidade de que fragmentos endometriais decorrentes da cirurgia poderiam permanecer no local (ABRÃO; MELO, 1998).

V- Teoria Imunológica - Estudos recentes relacionaram endometriose à alterações específicas da imunidade celular. Dmowski, em 1981, propôs que a deficiência na imunidade celular ou a incapacidade de reconhecer o tecido endometrial implantado fora do útero poderiam ser responsáveis pelo desenvolvimento da doença (FÁBREGAS et al., 2014). A participação do sistema imunológico na endometriose é clara, mas o mecanismo real desse processo ainda não está esclarecido. Sabe-se que a endometriose é mais frequente em pacientes com doenças de natureza imunológica, como por exemplo, o Lupus Eritematoso Sistêmico.

VI- Teoria da menstruação retrógrada - Representa uma das teorias mais aceita para explicar o desenvolvimento da doença. Foi descrita por Sampson, em 1927, que concluiu que haveria, durante a menstruação, “regurgitação” tubária de células endometriais, ou seja, apesar do endométrio ser expulso do útero, em grande parte, pela vagina, uma mínima quantidade poderia alcançar a cavidade pélvica, através das tubas uterinas, sem obstrução. Uma das justificativas para a credibilidade dessa teoria é o fato de que a doença apresenta maior acometimento dos ovários e ligamentos útero-sacros, coincidentes com a abertura das tubas uterinas.

Bricou, Batt; Chapron (2008) mostraram um estudo recente confirmando a teoria de Sampson, que relataram que a distribuição dos implantes endometrióticos é assimétrica e relacionada tanto com a anatomia abdominopélvica quanto com o

fluxo do líquido peritoneal. Um dos aspectos discutidos a respeito dessa teoria é que, embora 70 a 90% das mulheres apresentem menstruação retrógrada, apenas uma minoria irá desenvolver a doença. Isso sugere que outros fatores – genéticos, hormonais ou ambientais – poderiam determinar uma maior suscetibilidade.

A expressão aumentada de genes envolvidos com o mecanismo de apoptose celular, como o c-fos, pode aumentar a sobrevivência dessas células dentro da cavidade peritoneal que, interagindo com moléculas de adesão, irão se aderir à superfície peritoneal (MORSCH et al., 2009). A presença de quantidades elevadas de macrófagos no líquido peritoneal pode também estar associada à secreção de diversas citocinas, fatores de crescimento e de angiogênese, que irão promover a implantação e invasão desse tecido endometrial ectópico. Por outro lado, a manutenção e o crescimento dos implantes ectópicos são estimulados pelos estrogênios. Algumas evidências sugerem que a endometriose é caracterizada por resistência à ação de progesterona, cuja ação, antagônica aos estrogênios, leva à atrofia do endométrio (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

Os mecanismos para a elucidação da falência reprodutiva ainda permanecem controversos. Entretanto alguns efeitos na reprodução podem ser observados; como uma ação tóxica nos gametas e embriões, danos na mobilidade tubária, além da secreção de citocinas pro-inflamatórias (IL-1b, IL-8, IL-6 e TNF α), estradiol e progesterona, pelos implantes endometrióticos que atraem os macrófagos, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), e interleucina-8, criando assim um perfil inflamatório (PIVA; HORROWITZ; SHARPE-TIMMS, 2001; SHIFREN et al., 1996). Ocorre também alterações foliculares, decorrentes da elevação de citocinas (CARLBERG et al., 2000), aumento na taxa de apoptose nas células da granulosa (NAKAHARA et al., 1997; TOYA et al., 2000) diminuição da taxa de implantação e receptividade endometrial, decorrente do estado inflamatório local com produção excessiva de anticorpos contra antígenos do endométrio (BURNEY; TALBI; HAMILTON, 2007).

A endometriose tem uma elevada capacidade de proliferar, implantar e crescer na cavidade peritoneal (SHARPE-TIMMS, 1997). Estudos histopatológicos tem demonstrado que as glândulas endometrióticas apresentam uma grande variedade morfológica, apresentando um padrão que varia de poucas a muitas estruturas glandulares diferenciadas (DE JOLINIERE et al., 2014). Tais diferenças

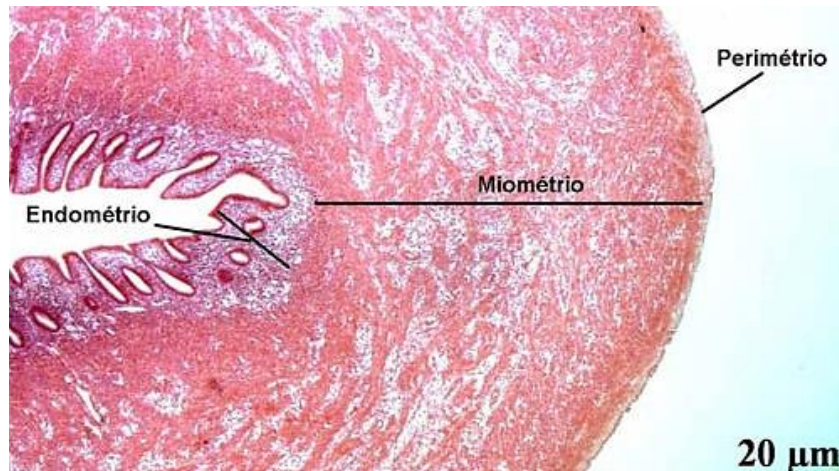
podem ser observadas em diferentes áreas celulares de uma mesma glândula (SCHWEPPE; WYNN; BELLER, 1984)

Alterações morfológicas das glândulas da endometriose foram encontradas em implantes apenas durante a fase proliferativa do ciclo menstrual sendo completamente ausentes durante a fase lútea (SCHWEPPE; WYNN; BELLER, 1984). Estas alterações incluem diferenciação histológica e indução de proteínas de secreção, tais como a prolactina (PRL) (IRWIN et al., 1993), fator de crescimento tipo insulina-1 (IGF-BP1) (RUTANEN; PEKONEN; MAKINEN, 1998), e proteínas da matriz extracelular, tais como fibronectina (LANE et al., 1995). Além disso, vários marcadores são expressos na endometriose, como as conexinas (Cx) (REGIDOR et al., 1997), β -caderinas (GAETJE et al., 1997), metaloproteinases (MMPs) (KOKORINE et al., 1997), e aromatase P450 (NOBLE et al., 1996). Ao todo, esses recursos indicam um elevado grau de desdiferenciação, em comparação com a situação normal.

2.1.3. O útero

O útero na espécie humana é um órgão oco, visceral, em forma de pêra invertida, localizado na pelve entre a bexiga e o reto (DI DIO, 2002; TORTORA, 2006). Segundo Junqueira; Carneiro (2013), histologicamente, a parede do útero é relativamente espessa e formada por três camadas: externa, média e interna, respectivamente, denominadas de perimétrio ou adventícia, a qual é constituída por tecido conjuntivo; miométrio, onde se encontra uma espessa camada de músculo liso; e o endométrio ou mucosa uterina, formada por epitélio simples cilíndrico e uma lâmina própria, constituída por tecido conjuntivo, onde se encontram as glândulas endometriais (Figura 2).

Figura 2. Camadas do útero.

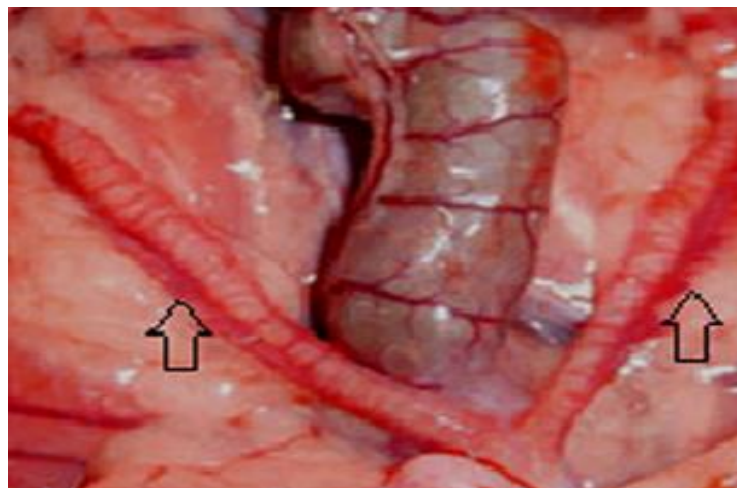


Fonte: Histologia do útero (2014).

O endométrio passa por uma sequência de alterações morfológicas e funcionais a cada ciclo menstrual. Essas alterações ocorrem em decorrência dos hormônios estrógenos e progesterona (BARACAT, 1991; GAMBRELL, 1976; HAM, 1967). Durante este ciclo, o endométrio constitui-se de duas camadas: funcional e basal. A camada funcional é mais superficial, sendo despreendida na menstruação, enquanto que a camada basal é mais delgada e profunda, permanecendo para que suas células proliferem e regenerem a camada a cada ciclo menstrual (GARTNER; HIATT, 1999).

Nas ratas, o útero tem formato bicornu, e continua-se com os dois ovidutos, que corresponderiam às tubas uterinas da mulher. Tem localização posterior à bexiga e anterior ao reto (ANATOMIA DO RATO, 2014) (Figura 3).

Figura 3. Útero bicornu em ratas (setas).



Fonte: Anatomia do rato (2014).

As fêmeas da espécie humana possuem o ciclo menstrual e as ratas apresentam ciclo estral. O ciclo estral tem duração média de quatro ou cinco dias e é caracterizado por fases de atuação do estrógeno (proestro e estro), fases de atuação da progesterona (metaestro e diestro), as quais podem ser determinadas pelos tipos celulares observados no esfregaço vaginal (MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002). As fases do ciclo estral proestro, estro, metaestro e diestro apresentam as seguintes características:

O proestro é uma fase preparatória, caracterizada pela proliferação dos fibroblastos do estroma endometrial e por um considerável aumento do número de capilares sanguíneos do endométrio. Essas modificações são acompanhadas pelo início do desenvolvimento dos folículos ovarianos e são consequência da secreção elevada de estrógeno e da síntese de progesterona pelas células granulosas dos folículos. (SALGADO, 2009). Observa-se que nesta fase a fêmea ainda não se apresenta receptiva à cópula, havendo predominância de células epiteliais nucleadas nos esfregaços vaginais (LAUS, 1996).

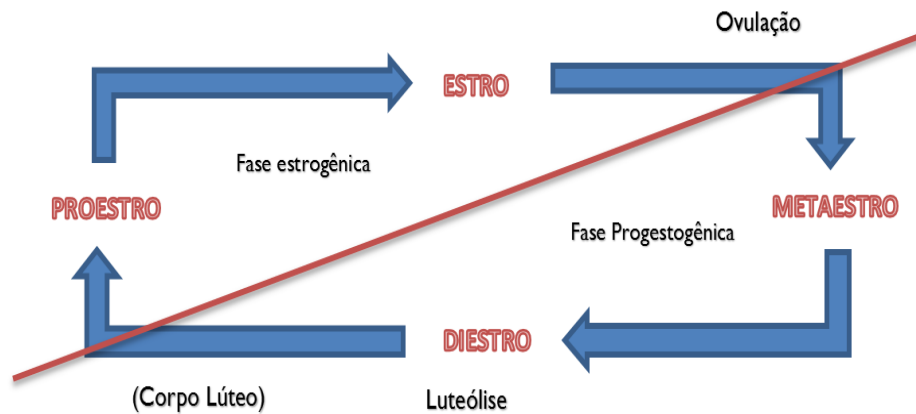
A fase de estro é o período em que a fêmea encontra-se sexualmente receptiva, no qual o útero encontra-se edemaciado e hipertrofiado. A maturação dos ovócitos, o crescimento dos folículos ovarianos e a produção continuada de estrógeno, promovem um aumento na concentração do hormônio luteinizante, o qual é responsável pela ruptura do folículo e liberação do ovócito. Nessa fase, há predomínio de células anucleadas queratinizadas nos esfregaços vaginais (SOLBERG, 2010).

No metaestro, há diminuição da secreção de estrogênio, o corpo lúteo começa a se formar e a secretar progesterona. Caso tenha ocorrido o acasalamento na fase de estro, a progesterona sintetizada atuará na remodelação do tecido uterino. No entanto, caso não haja acasalamento, o corpo lúteo eventualmente é degenerado. Esta fase tem proporção equivalente de leucócitos, células epiteliais nucleadas e queratinizadas nos esfregaços vaginais (SOLBERG, 2010).

Na fase de diestro, após a sua formação, o corpo lúteo começa a exercer alta atividade, com grande produção de progesterona. Nesta ocasião, o útero está pronto para receber o embrião, caso não aconteça, há regressão do corpo lúteo, com reorganização da parede uterina para o reinício do ciclo. Este período é caracterizado pela predominância de leucócitos nos esfregaços vaginais. Quando há

uma paralisação do ciclo, denominada-se esta fase de anestro (LAUS, 1996; SOLBERG, 2010) (Figura 4).

Figura 4. Fases do ciclo estral de ratas.



Fonte: autor.

Sendo assim, vários modelos experimentais de endometriose em ratas, que reproduzem histologicamente e endocrinamente essa patologia, têm sido elaborados, proporcionando um melhor entendimento sobre os aspectos fisiológico e bioquímico (WITZ et al., 1999; BOUCHER et al., 2000; PIVA et al., 2001).

2.1.4. Modelos experimentais

A endometriose é uma afecção, caracterizada pela presença de tecido endometrial de caráter benigno fora da cavidade uterina, que acomete mulheres em idade reprodutiva e apresenta um quadro clínico bastante variável (RODRIGUES; FREITAS; ZAMITH, 1995; KENNEDY ET AL, 2005).

De acordo com o *Committee on Practice Bulletins-Gynecology* (ACOG, 2000) o padrão-ouro para o diagnóstico da endometriose é a visualização direta da lesão endometrial utilizando a via laparoscópica, acompanhada por confirmação histológica da presença de pelo menos dois dos seguintes achados: macrófagos contendo hemosiderina ou epitélio, glândulas ou estroma endometrial.

O fato dessa afecção necessitar de método invasivo para seu diagnóstico dificulta ou até mesmo impossibilita a realização de estudos controlados sobre o comportamento dos implantes de endométrio em face de diversos medicamentos

(SCHOR et al, 1999). Portanto, um bom modelo experimental animal é necessário para elucidar o mecanismo da doença e testar novas drogas terapêuticas.

O achado de endometriose espontânea em 25% de animais primatas não humanos (D'HOOGHE et al, 1991) com histologia e localização semelhantes às encontradas em humanos (VERNON; WILSON, 1985; CORNILLIE, 1990; CLEMENT, 1990), bem como terem ciclo menstrual e serem filogeneticamente mais aproximados dos humanos em relação a outro animal (SCHOR et al, 1999), levou à utilização destes animais como modelo experimental. Entretanto as dificuldades éticas, a heterogeneidade das lesões e o alto custo na manutenção desses animais tem reduzido progressivamente a sua utilização como modelo experimental (SCHOR et al, 1999; SILVA et al, 2004).

Sendo assim, vários autores desenvolveram modelos experimentais de endometriose, com a finalidade de observar a resposta do endométrio ectópico a diferentes esquemas terapêuticos, seu comportamento durante a gestação e a sua relação com a fecundidade em animais pequenos, tais como coelhos, ratos e camundongos (SCHENKEN; ASCH, 1980; ZAMAH et al, 1984; BERGQVIST et al, 1985; VERNON; WILSON, 1985; ROCK et al, 1993; BRUNER et al, 1997; SOMIGLIANA et al, 1999).

Os modelos experimentais de endometriose criados cirurgicamente em pequenos animais são classificados em dois tipos: homólogos e heterólogos. Nos modelos homólogos, o endométrio é obtido do útero do animal e suturado ou disperso na cavidade peritoneal. No modelo heterólogo, fragmentos endometriais de humanos são injetados em animais imunodeficientes por via intraperitoneal ou subcutânea. Em ambos, lesões endometrióticas-símbles, identificadas histologicamente, são induzidas nos animais (AMARAL et al, 2009).

Para estudar o efeito da endometriose sobre a fertilidade, Schenkem; Asch (1980) desenvolveram um modelo experimental de endometriose em coelhas da raça Nova Zelândia Branco, retirando fragmentos de endométrio e implantando-os no peritônio. Segundo Silva et al (2004), a utilização desse modelo experimental de endometriose em coelhas é possível reproduzir, sendo viável e de fácil execução. Pois eles conseguiram reproduzir a doença em 80% das coelhas 8 semanas após o implante.

Jones (1984) utilizou, pela primeira vez, ratas para o estudo da endometriose, conseguindo reproduzir a doença fixando fragmentos de endométrio retirados do

corno uterino à parede lateral do abdome. Com o objetivo de avaliar os atributos fisiopatológicos da endometriose, Vernon; Wilson (1985) fizeram tentativas cirúrgicas por autotransplante endometrial ou transplante de tecido uterino para o peritônio para induzir a endometriose em ratas. Esses autores observaram que os autotransplantes de fragmentos uterinos para a cavidade peritoneal foi o único tratamento que produziu implantes de endometriose saudáveis. Estes implantes cresceram em estruturas císticas elipsoidais que foram compostas por ambas as glândulas endometriais e estroma e foram encontrados para conter prostaglandina em concentrações semelhantes às que são medidas no tecido uterino. Ainda segundo esses autores, o desenvolvimento bem sucedido de tecido endometrial transplantado cirurgicamente no rato oferece um modelo de pesquisa que podem ser utilizados para estudar os aspectos da endometriose que não podem ser investigados adequadamente em mulheres.

Sakata et al. (1990), também utilizaram ratas para o estudo da doença, porém, implantaram fragmentos de endométrio sob a cápsula renal dos animais. Rock et al. (1993), por sua vez, ao implantarem fragmentos de endométrio e de endometriose de mulheres e endométrio do próprio animal no globo ocular de coelha, tendo sucesso apenas no experimento que utilizou fragmento de endométrio da própria coelha, havendo rejeição do tecido humano.

Schor et al (1999) com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade do modelo experimental proposto por Jones (1984) concluíram que este modelo realmente reproduz a doença em ratas, ao observarem um crescimento significativo dos implantes três semanas após a indução.

O modelo de indução da endometriose em ratas proposto por Vernon; Wilson (1985) é amplamente utilizado, uma vez que a técnica operatória é simples, a maioria dos implantes tem sucesso e, segundo Rossi et al. (2000), esse modelo é considerado válido pela maioria dos investigadores. Além disso, os roedores são animais de fácil manipulação, possuem ciclos estrais e prenhez de curta duração, sendo por estes motivos mais utilizados em experimentos reprodutivos (SIMÕES, 1979).

2.2. DIAGNÓSTICOS E TRATAMENTOS

Devido a endometriose ser uma afecção de quadro clínico e etiopatogenia bastante variáveis (KENNEDY et al, 2005), o diagnóstico também se dá de forma variada. O diagnóstico baseia-se na anamnese, no exame físico e nos exames complementares. Dentre os exames complementares, podem ser realizados a ultrassonografia, tomografia computadorizada, ressonância nuclear magnética, laparoscopia e dosagens de marcadores como o CA-125, proteína C reativa e anticorpos anticardiolipina (ABRÃO et al, 1992; NEZHAT et al., 1990).

Entretanto, a certeza só é dada através do exame de biópsia, esta pode ser feita por cirurgia, laparotomia ou preferencialmente laparoscopia que é um exame o qual manipula a cavidade abdominal através de instrumentos de óptica e vídeo juntamente com instrumentos cirúrgicos delicados que são introduzidos através de pequenos orifícios no abdome (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

Embora o diagnóstico definitivo da endometriose necessite de uma intervenção cirúrgica, diversos achados nos exames físico, de imagem e laboratoriais podem prever, com alto grau de confiabilidade, que a paciente apresenta endometriose (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

O exame físico ginecológico pode variar, dependendo da localização e estágio da doença. O toque vaginal bimanual, o útero fixo ou retrovertido, devido ao processo aderencial, é um dado indireto para suspeita clínica. Dor ou sangramento de qualquer localização que apresente qualquer relação com a menstruação aumentam as suspeitas para a doença, propiciando uma avaliação mais detalhada principalmente em cicatrizes cirúrgicas. Um dos achados mais relevantes ao exame físico é o encontro, ao toque vaginal, de espessamento e/ou dor em ligamentos útero-sacros e nódulo em fundo de saco de Douglas. Tais fatos corroboram não só a possibilidade da presença de doença como inferem na existência de doença profunda (PODGAEC; ABRÃO, 2004).

A ultra sonografia transvaginal é o exame inicial e, muitas vezes, o único método por imagem necessário para o diagnóstico das diversas doenças. Um estudo de Abrão et al. (2007), avaliando a acurácia desse exame, demonstrou uma sensibilidade de 94% e uma especificidade de 98% na identificação de focos de endometriose profunda.

A grande importância da ressonância magnética (RM) no diagnóstico da endometriose está na identificação das lesões não visíveis à laparoscopia, apresentando acurácia, sensibilidade e especificidade acima de 90% para endometriose profunda (OLIVE; SCWARTZ, 2004; GUERREIRO et al, 2004). Ainda segundo Bezerra et al. (2001), Olive; Schwartz (2004) e Francisco et al. (2005), os achados de RM são mais específicos que os de ultrasonografia e tomografia computadorizada.

Mais recentemente, algumas citocinas vêm sendo estudadas como novos marcadores da endometriose. A interleucina-6 (IL-6) parece ter um desempenho melhor do que outras citocinas em discriminar pacientes com endometriose (OTHMAN et al, 2008).

Os tratamentos para a endometriose variam de acordo com os sinais e sintomas apresentados pelas pacientes, e se o tratamento a ser feito tem o objetivo de tratar a infertilidade feminina ou dores pélvicas associadas aos implantes endometrióticos (NÁCUL; SPRITZER, 2010), os medicamentos mais utilizados estão citados na tabela 2.

Tabela 2 - Medicamentos mais utilizados para o tratamento da endometriose

Andrógenos	Danazol
Agonistas GnRH	Leuprolida, Acetato de Leuprolida, Leuprorrelina, Burserelin, Goserelin, Nafarelina
Progestágenos	Gestrinone, Medroxiprogesterona
Contraceptivos Orais	Combinação de estrógeno/progesterona
Antiinflamatórios Não-esteroidais	Naproxeno, Ibuprofeno

Fonte: (Baldi; Campioni; Signorile, 2008).

O uso de terapia medicamentosa para endometriose é baseado no fato de que a endometriose responde a ação hormonal. Duas condições fisiológicas, gravidez e menopausa, estão frequentemente associadas à amenização da dor provocada pela endometriose. Os análogos farmacológicos destas condições são os progestágenos e contraceptivos orais combinados, que levam a condições

hormonais semelhantes à vista durante a gravidez, e os androgênios e hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que promovem supressão do estrogênio endógeno (NAVARRO; BARCELOS; SILVA, 2006).

Basicamente, esses agentes inibem o crescimento dos implantes por decidualização e atrofia do endométrio ou por meio da supressão dos hormônios esteroides ovarianos e indução de um estado de hipoestrogenismo. Os estudos que avaliaram esses tratamentos hormonais mostraram que eles são igualmente efetivos, porém seus efeitos adversos e custos diferem de forma significativa (DAVIS et al., 2007; SELAK et al., 2007). Além disso, todos os tratamentos disponíveis para a dor associada com a endometriose têm efeito contraceptivo. Por outro lado, não é rara a associação de dor e infertilidade, principalmente nos graus mais severos da doença, o que impossibilita o uso desses tratamentos (NÁCUL; SPRITZER, 2010).

Embora a progesterona cause alterações secretoras no endométrio durante a fase lútea do ciclo menstrual normal, os progestágenos sintéticos causam atrofia endometrial por diminuição na síntese de receptores de estrogênio. Kirstner (1958) foi o primeiro a usar esta classe de medicamentos para tratar a endometriose com altas doses de progestágenos, levando a um estado de pseudogravidez. Porém, este tratamento promove alta incidência de efeitos colaterais, apresentados por cerca de 30% das usuárias.

Outro tipo de tratamento que pode ser utilizado é o danazol, que se trata de um androgênio que suprime as gonadotrofinas e age inibindo a ovulação. Seu uso no tratamento da endometriose está descrito desde 1971 (GREENBLATT et al., 1971). Vários outros estudos comparando esta medicação com Contraceptivos Orais Combinados (COC) e progestágenos mostram uma grande eficácia desta droga no tratamento da endometriose, promovendo grande satisfação das pacientes, melhora dos sintomas apresentados e, conseqüentemente, impacto positivo sobre a qualidade de vida (BARBIERI; EVANS; KISTNER, 1982; HENZL et al., 1988). Porém, a incidência de efeitos colaterais é muito alta, com desenvolvimento de quadros de ganho de peso, edema, diminuição no tamanho das mamas, acne, hirsutismo, oleosidade na pele e alterações no timbre da voz (BARBIERI; EVANS; KISTNER, 1982), além da potencial influência negativa sobre o metabolismo dos lipídeos, com elevação dos níveis de LDL-colesterol e colesterol total (CIRKEL; OCHS; SCHNEIDER, 1995).

Os agonistas do GnRH são considerados hoje o tratamento padrão contra dor associada a endometriose, devido ao estado de hipoestrogenismo que acarretam. Seu uso na endometriose foi descrito pela primeira vez em 1982 (MELDRUM et al., 1982). Desde então, vários estudos foram realizados, comparando esta classe de drogas com os tratamentos para endometriose já existentes. Houve excelente resposta terapêutica, com melhora significativa na dor pélvica associada a endometriose, e maior tempo de efeito sem o retorno dos sintomas (HORNSTEIN et al., 1997; LING, 1999; PETTA et al., 2005).

O fato da endometriose ativar os mecanismos da inflamação faz com que os antiinflamatórios não-esteroidais também sejam eficazes no tratamento desta patologia, visto que são drogas que inibem a síntese de prostaglandinas (substâncias endógenas intermediárias do processo inflamatório) o que leva ao bloqueio dos efeitos inflamatórios (WANNMACHER; BREDEMEIER, 2004).

Atualmente, com o desenvolvimento e a tecnologia dos aparelhos laparoscópicos, a utilização dessa técnica, permite uma excelente visão da pelve e, conseqüentemente, das lesões endometrióticas. Os objetivos principais da cirurgia em pacientes com endometriose são: remover completamente todos os implantes endometriais e aderências dos órgãos envolvidos e restabelecer a anatomia normal da pelve. O manejo delicado do tecido e a hemostasia meticulosa são fundamentais para se evitar a formação de novas aderências e focos endometrióticos (KENNEDY et al., 2005). A cirurgia laparoscópica para endometriose consiste em eletrocauterização ou destruição a laser dos implantes endometrióticos e adesiólise para melhorar a fertilidade, nos casos de endometriose mínima e leve, e é mais efetiva quando comparada com apenas laparoscopia diagnóstica (MARCOUX; MAHEUX; BÉRUBÉ, 1997).

Para as pacientes que desejam engravidar os tratamentos de reprodução assistida – inseminação intrauterina e fertilização in vitro – podem ser indicados para pacientes com endometriose e infertilidade, levando-se em conta o grau da doença, o envolvimento das trompas, a idade, o tempo de infertilidade e a presença de outros fatores associados (KENNEDY et al., 2005).

2.3 PLANTAS MEDICINAIS

O emprego de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde tem ocorrido ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local até as formas mais sofisticadas de fabricação industrial de medicamentos (HAMILTON, 2004; LORENZI; MATOS 2008).

Grande parte da população mundial ainda utiliza plantas medicinais para o tratamento de diversas enfermidades, isto se deve principalmente pela dificuldade em usufruir a medicina moderna, em virtude do elevado custo, muitas vezes associada ao difícil acesso a estes medicamentos ou medo da prática cirúrgica (FERREIRA, 2008).

O hábito do consumo dos produtos naturais possui um aspecto importante, pois o conhecimento sobre plantas medicinais é de domínio popular e os países em desenvolvimento e subdesenvolvidos contêm um forte componente social e cultural. Estes vegetais muitas vezes representam o único recurso terapêutico para muitas comunidades (ALVES, 2007).

As plantas contêm inúmeros constituintes ativos e seus extratos, quando testados, podem apresentar efeitos sinérgicos entre os diferentes princípios ativos devido a presença de compostos de classes ou estruturas diferentes contribuindo para a mesma atividade (MACIEL; PINTO; VALDIR, 2002).

O desenvolvimento da química orgânica e da tecnologia industrial tem permitido a análise, isolamento, refino e síntese dos princípios ativos das plantas, que são, na maioria, metabólitos secundários (SILVA JÚNIOR; VIZOTTO, 1996), onde seus efeitos terapêuticos são avaliados através de testes biológicos.

São inúmeros os compostos extraídos de plantas empregados na preparação de agentes terapêuticos que já se encontram disponíveis no mercado farmacêutico. Muitos deles são utilizados de forma pura ou associados a outras substâncias naturais ou sintéticas. Há ainda que se considerar que um número elevado de fármacos sintéticos ou semi-sintéticos foi descoberto usando-se produtos de origem natural como protótipo (CLARK, 1996; CECHIINE-FILHO; YUNES, 1998; DOUGLAS KINGHORN, 2001). Como exemplo, podemos citar: os alcalóides vimblastina (Velban®) e vincristina (Oncovin®) que são extraídos de *Catharantus roseus*, os quais são amplamente utilizados para o tratamento de linfomas e leucemia infantil (PASA; PEDROSA, 2001); os poderosos glicosídeos cardiotônicos, digoxina e

digitoxina, apresentam potente e seletiva ação sobre o músculo cardíaco (CLARK, 1996), que são extraídos de *Digitalis purpúrea*; um outro alcalóide que merece destaque é a reserpina, isolada de *Rauwolfia ssp.*, sendo um dos mais poderosos anti-hipertensivos conhecidos; a capsaicina, extraída de *Capsicum ssp.*, um importante anestésico tópico; pilocarpina, extraída do *Pilocarpus jaborandi*, um dos raros fármacos utilizados para o tratamento de glaucoma.

Atualmente as opções terapêuticas para a endometriose incluem terapia cirúrgica ou clínica, contudo, seus efeitos não são curativos, com recorrências frequentes. Dessa forma a busca de novos estudos sobre a eficácia das ervas no tratamento da endometriose tornam-se necessários (OLIVER; PRITTS, 2001).

Estudos com dados clínicos e experimentais sobre o uso de ervas medicinais para tratar a endometriose, informou que drogas com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, imunomoduladora e antioxidantes são eficazes no combate a esta doença.

A literatura relata o tratamento da endometriose com apenas uma planta medicinal, a *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC, popularmente conhecida como unha-de-gato. Estudos têm mostrado que essa planta possui propriedades antiinflamatória, imunomoduladora, pró-apoptótica e antioxidante, sendo portanto, alvo de estudos para tratar a endometriose (KURAS et al, 2006; ALLEN-HALL et al, 2007; NOGUEIRA NETO et al, 2011).

A *Bumelia sartorum* Mart, popularmente conhecida por quixaba, tem uma grande utilização na medicina popular. A casca de seu tronco e das raízes é amplamente utilizada na medicina caseira no interior do Nordeste como antiinflamatórias e analgésicas, sendo, portanto, uma possível alternativa de estudo sobre o efeito terapêutico na endometriose (SCHENKEL et al, 2000).

2.4. *Bumelia sartorum* Mart (Sapotaceae)

A flora brasileira é riquíssima em espécies com princípios ativos com potencialidades de utilização na medicina natural. Muitas dessas características já estão comprovadas cientificamente como as da aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi.*) que é antiinflamatória e bactericida; do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), antiinflamatório, bactericida e analgésico; do ipê-roxo (*Tabebuia avelanedae Lor. ex.*

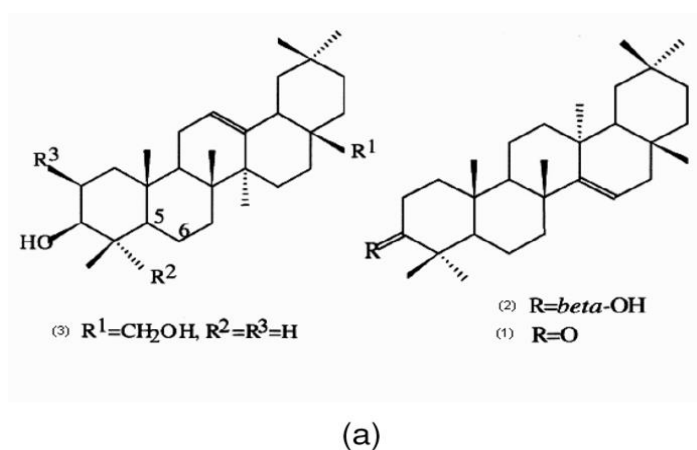
Griseb.), antitumoral e antimicrobiano e da quixaba (*Bumelia sartorum* M.) que é hipoglicemiante e antiinflamatória (AGRA, 1996; DINIZ et al, 1998).

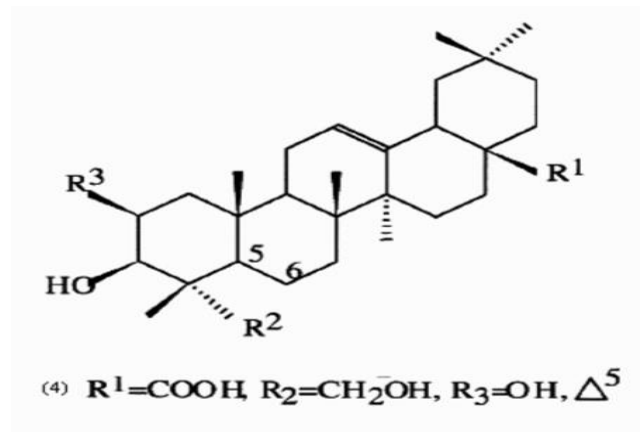
A *Bumelia sartorum* pertence à família Sapotaceae e é uma espécie nativa do Nordeste brasileiro conhecida popularmente por quixaba, quixabeira ou rompegibão. (ALMEIDA; BARBOSA-FILHO; NAIK, 1985). Apesar de não terem sido encontrados muitos trabalhos com ensaios de atividade biológica para esta espécie, o uso medicinal desta planta por comunidades tradicionais é bastante amplo.

Segundo Albuquerque et al. (2007), Beltrão; Tomaz; Beltrão (2008) e Filipoy (1994) a referida planta é utilizada para sangramentos, dores em geral, úlcera duodenal, gastrite, azia, inflamação crônica, lesão genital, inflamação dos ovários, cólica, problemas renais, problemas cardíacos, diabetes, e também como cicatrizante e expectorante.

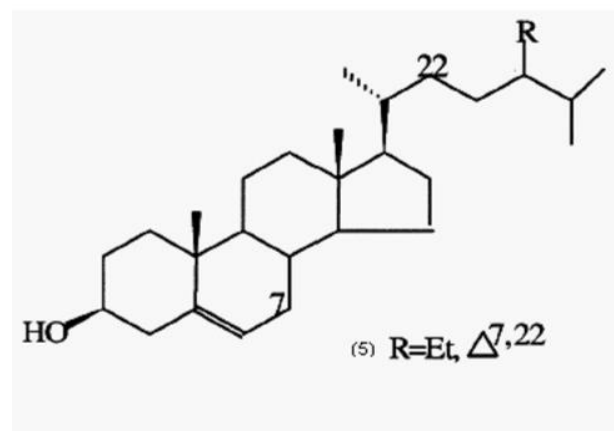
Numa abordagem química, Barbosa-Filho (1997) mostrou que esta planta é rica em triterpenos e esteróides (figura 5a e 5c). O composto principal foi identificado como ácido básico (figura 5b). Almeida, Barbosa-Filho; Naik (1985) afirmam que o extrato etanólico da casca da raiz da *B. sartorum*, além da atividade hipoglicêmica, apresenta atividade antiinflamatória significativa. Nos testes preliminares o extrato bruto da planta evidenciou efeito hipoglicemiante em ratos normais e aloxano-diabéticos induzidos. Também se observou uma diminuição significativa de triglicerídios, colesterol e uréia sanguínea em ratos aloxano-diabéticos, além de atividade antiinflamatória em edema induzido por carragenina na pata de ratos (ALMEIDA; BARBOSA-FILHO; NAIK, 1985).

Figura 5. Constituintes da *B. sartorum*. (a) Triterpenos pentacíclico (tarxerona, taraxerol e eritridiol); (b) Ácido triterpênico (ácido básico); (c) Esteróide (α -espinasterol).





(b)



(c)

Fonte: Barbosa-Filho, 1997.

3. REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M. S.; GONÇALVES, M. O.; DIAS, J. A. JR.; PODGAEC, S.; CHAMIE, L. P.; BLASBALG, R. Comparison between clinical examination, transvaginal sonography and magnetic resonance imaging for the diagnosis of deep endometriosis. **Human Reproduction**. V. 22, n, 12, p. 3092-3097, 2007.
- ABRÃO, M. S.; MELO, P. V. **O que é Endometriose**. In: Mendonça, E. & Colaboradores. Um Enigma Chamado Endometriose. Livraria e Editora Health. Belo Horizonte. p. 47-54, 1998.
- ABRÃO, M. S.; OLIVEIRA, R.; SOARES, J. B.; PORTO, R. C. P.; FONSECA, A. M.; TOGNOTTI, E. Humoral immunological alterations in endometriosis. **World Congress on Endometriosis**. Brussels, 32-O, 1992.
- ACOG Committee on Practice Bulletins-Gynecology. ACOG practice bulletin. Medical management of endometriosis. Number 11, December 1999 (replaces Technical Bulletin Number 184, September 1993). Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**. V. 71, n. 2, p. 183-196, 2000.
- AGRA, M. F. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos**, Paraíba-Brasil. João Pessoa: Editora Universitária / UFPB, 112 p., 1996.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quatitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 114, p. 325-354, 2007.
- ALLEN-HALL, L.; CANO, P.; ARNASON, J. T.; ROJAS, R.; LOCK, O.; LAFRENIE, R. M. Treatment of THP-1 cells with *Uncaria Tomentosa* extracts differentially regulates the expression if IL-1 β and TNF- α . . **Journal of Ethnopharmacology**. v.109, n. 2, p. 312-17, 2007.
- ALMEIDA, R. N.; BARBOSA-FILHO, J. M.; NAIK, S. R. Chemistry and pharmacology of an ethanol extract of *Bumelia sartorum*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 14, p. 173-185, 1985.
- ALVES, N. M. **Estudo farmacognóstico e da toxidade experimental (aguda e subaguda) do Guatambu (*Aspidosperma subincanum* Mart.)**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 110 p, 2007.
- AMARAL, V. F.; LAGO, E. A. D.; KONDO, W.; GUARITA-SOUZA, L. C.; FRANCISCO, J. C. Development of an experimental model of endometriosis in rats. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 36, n. 3, p. 250-255, 2009.
- ANATOMIA DO RATO. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/88510535/Anatomia-Do-Rato>> Acesso em: 15 abr. 2014.

BADALOTTI, M.; TELOKEN, C. **Fertilidade e infertilidade humana**. São Paulo: Medsi, 1997.

BARACAT, E. C. **Aspectos morfológicos e morfométricos do endométrio humano na pós menopausa, antes e pós estrogênio terapia oral e transdérmica**. Tese (Livre-docência) – Escola Paulista de Medicina, São Paulo, São Paulo, 76 p., 1991.

BARBIERI, R. L.; EVANS, S.; KISTNER, R. W. Danazol in the treatment of endometriosis: analysis of 100 cases with a 4-year follow-up. **Fertility and Sterility**. v. 37, n. 6, p. 737-746, 1982.

BARBOSA FILHO, J. M. Quimiodiversidade e potencialidade farmacológica da flora paraibana. **Caderno de Farmácia**. Porto Alegre, v. 13, n. 2, p.85-102, 1997.

BELTRÃO, A. E. S.; TOMAZ, A. C. A.; BELTRÃO, F. A. S.; MARINHO, P. In vitro biomass production of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem & Schult). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 696-698, 2008.

BERGQVIST, A.; JEPPSSON, S.; KULLANDER, S.; LJUNGBERG, O. Human endometrium transplanted into nude mice. Histologic effects of various steroid hormones. **American Journal of Pathology**. v. 119, n. 2, p. 336-344, 1985.

BEZERRA, M. R. L.; SOARES, A. F. F.; FAINTUCH, S.; GOLDMAN, S. M. Identificação das estruturas músculo-ligamentares do assoalho pélvico na ressonância magnética. **Radiologia Brasileira**. v. 34, p. 323-326, 2001.

BOUCHER, A.; LEMAY, A.; A KOUM, A. Effect of hormonal agents on monocyte chemotactic protein-1 expression by endometrial epithelial cells of women with endometriosis. **Fertility and Sterility**, v.74, n.5, p.969- 975, 2000.

BRICOU, A.; BATT, R. E.; CHAPRON, C. Peritoneal fluid flow influences 1. Anatomical distribution of endometriotic lesions: why Sampson seems to be right. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v.138, n.2, p.127-134, 2008.

BRUNER, K. L.; MATRISIAN, L. M.; RODGERS, W. H.; GORSTEIN, F.; OSTEN, K. G. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. **Journal of Clinical Investigation**. v. 99, n. 12, p. 2851-2857, 1997.

BURNEY, R. O.; GIUDICE, L. C. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 3, p. 511-519, 2012.

CARLBERG, M.; NEJATY, J.; FRÖYSA, B.; GUAN, Y. SÖDER, O.; BERGQVIST, A. Elevated expression of tumour necrosis factor alpha in cultured granulosa cells from women with endometriosis. **Human Reproduction**. v. 15, p. 1250-1255, 2000.

CARVALHO, C. V.; D'AMORA, P.; SATO, H.; GIRÃO, M. J. B. C.; LIMA, G. R.; SILVA, I. D. C. G.; SCHOR, E. Polimorfismo do Gene do Receptor de Progesterona (PROGINS) em Mulheres com Endometriose Pélvica. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 26, n. 8, p. 613-617, 2004.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quim. Nova.* v.21(1), p.99, 1998.

CIRKEL, U.; OCHS, H.; SCHNEIDER, H. P. A randomized, comparative trial of triptorelin depot (D-Trp6-LHRH) and danazol in the treatment of endometriosis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.** v. 59, n. 1, p. 61-69, 1995.

CLARK, A. M. Natural products as a resource for new drugs. *Pharmacol. Res.* v.13(8), p.1133-1141, 1996.

CLEMENT, P. B. Pathology of endometriosis. **Pathology Annual.** v. 25, p. 245-295, 1990.

CONCEIÇÃO, A. P. M.; BATISTA, A. P. C.; DE ARAÚJO, A. C. C.; DA SILVA, F. C. A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A. A. C.. Análise histológica da endometriose em ratas durante as fases do ciclo estral. **Arquivos do Instituto Biológico.** v.72, n.4, p.439-443, 2005.

CORNILLIE, F. J. Peritoneal endometriosis. In: Brosens, I.; Gordon, E. editors. Tubal infertility. 1 st ed. London: **Gower Medical**; p. 3-8, 1990.

D'HOOGE, T. M.; DEBROCK, S.; HILL, J. A.; MEULEMAN, C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? **Seminars in Reproductive Medicine.** v. 21, n. 2, p. 243-254, 2003.

D'HOOGE, T. M.; BAMBRA, C. S.; CORNILLIE, F. J.; ISAHAKIA, M.; KONINCKX, P. R. The prevalence and laparoscopic appearance of spontaneous endometriosis in the baboon (*Papio anubis*, *Papio cynocephalus*). **Biology of Reproduction.** V. 45, p. 411-416, 1991.

DAVIS, L.; KENNEDY, S. S.; MOORE, J.; PRENTICE, A. Modern combined oral 27. contraceptives for pain associated with endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews.** v. 3, 2007.

DE JOLINIÈRE, J. B.; AYOUBI, J. M. B.; GIANAROLI, L.; DUBUISSON, J. B.; GOGUSEV, J.; FEKI, A. Endometriosis: a new cellular and molecular genetic approach for understanding the pathogenesis and evolutivity. **Frontiers in surgery,** v. 1, 2014.

DI DIO, L. J. A. **Tratado de anatomia sistêmica aplicada.** 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu. p.666-667, 2002.

DINIZ, M. de F. F.; OLIVEIRA, R. A. G. de; MEDEIROS, A. C. D. de; MALTA JUNIOR, A. **Momento fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica: conhecimentos populares e científicos.** João Pessoa: Editora Universitária / UFPB, 205 p., 1998.

DOUGLAS KINGHORN, A. Pharmacognosy in the 21st century. **J. Pharm. Pharmacol.,** v.53(2), p.135-148, 2001.

ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. Disponível em: <<http://guidelines.endometriosis.org/>>. Acesso em: 30 Jun 2014.

FÁBREGAS, F. F.; GUIMFERRER, M. C.; , CASAS, F. T.; CABALLERO,, S. B.; XAURAD, R. F. Malignant transformation of abdominal wall endometriosis with lymph node metastasis: Case report and review of literature. **Gynecologic Oncology Case Reports**. v. 8, p. 10-13, 2014.

FERREIRA, C. P. **Plantas medicinais empregadas no tratamento do *Diabetes Mellitus*: padronização e controle de qualidade**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE. 99 p. 2008.

FILIPOY, A. Medicinal plant of the Pilage of Central Chaco. **Journal of Ethnopharmacol.** v. 44, p. 181-193, 1994.

FRANÇA, W. F. A.; MARQUES, M. M. M. R.; LIRA, K. D. L.; HIGINO, M. E. Terapêutica com plantas medicinais nas doenças bucais: a percepção dos profissionais no programa de saúde da família do Recife. **Odontologia Clínica Científica**, v. 6, n. 3, p. 233-237, 2007.

FRANCISCO, J. C. Desenvolvimento de modelo experimental de endometriose em ratas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 36, n. 3, p. 250-255, 2009.

FRANCISCO, V. V.; D'IPPOLITO, G.; SILVA, G. P. A.. BEZERRA, A. S. A.; SZEJNFELD, J. Prevalência de artefatos em exames de ressonância magnética do abdome utilizando a sequência GRASE: comparável com as melhores sequências rápidas? **Radiologia Brasileira**. v. 35, n. 5, p. 323-328, 2005.

GAO, X.; OUTLEY, J.; BOTTEMAN, M.; SPALDING, J.; SIMON, J. A.; PASHOS, C. L. Economic burden of endometriosis. **Fertility and Sterility**. v.86, n. 6. p. 1561-72, 2006.

GAETJE, R.; KOTZIAN, S.; HERRMANN, G.; BAUMANN, R.; STARZINSKI-POWITZ, A. Nonna- lignant epithelial cells, potentially invasive in human endometriosis, lackthe tumor suppressor molecule E-cadherin. **American Journal of Pathology**. v. 150, p. 461-467, 1997.

GAMBRELL, R. D. Estrogens, progestagens and endometrial cancer. In: BEARD, R.J. (Ed.). **Consensus on menopause research**. Lancaster: MTP Press, p.15-153, 1976.

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

GUERRIERO, S.; AJOSSA, S.; GERADA, M. Diagnostic value of transvaginal 'tenderness-guided' ultrasonography for the prediction of location of deep endometriosis. **Human Reproduction**. V. 23, p. 2452-2457, 2008.

HAM, A. W. **Histologia**. 3.ed. Rio de Janeiro. Guanabana Koogan, p. 846-847, 1967.

HAMILTON, A. C. Medicinal plants, conservation and livelihoods. **Biodiversity and Conservation** , v.13, p. 1477-1517, 2004.

HENZL, M. R.; CORSON, S. L.; MOGHISSI, K.; BUTTRAM, V. C.; BERQVIST, C.; JACOBSON, J. Administration of nasal nafarelin as compared with oral danazol for endometriosis. A multicenter double-blind comparative clinical trial. **New England Journal of Medicine**. v. 18, n. 8, p. 485-489, 1988.

HISTOLOGIA DO ÚTERO. Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Disponível em <<http://www2.unifesp.br/dmorfo/histologia/ensino/utero/index.html>> Acesso em: 30 Jun. 2014.

HORNSTEIN, M. D.; HEMMINGS, R.; YUZPE, A. A.; HEINRICHS, W. L. Use of nafarelin versus placebo after reductive laparoscopic surgery for endometriosis. **Fertility and Sterility**. v. 68, n. 5, p. 860-864, 1997.

IRWIN, J. C.; DELAS FUENTES, L.; DSUPIN, B. A.; GIUDICE, L. C. Insulin-like growth factor-1 regulation of human endometrial stromal cell function: coordinate effects on insulin-like growth factor binding protein-1, cell proliferation and prolactin secretion. **Regulatory peptides**. v. 48, p. 165-177, 1993.

JONES, R. C. The effect of a luteinizing hormone releasing hormone agonist (Wy-40,972), levonorgestrel, danazol, and ovariectomy on experimental endometriosis in the rat. **Acta Endocrinologica**. v. 106, p. 282-288, 1984.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 390-448, 2013.

KENNEDY, S.; BERGQVIST, A.; CHAPRON, C.; D'HOOGE, T.; DUNSELMAN, G.; GREB, R.; HUMMELSHOJ, L.; PRENTICE, A.; SARIDOGAN, E.; ESHR, E. Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. **Human Reproduction**. v. 20, n. 10, p. 2698-704, 2005.

KISTNER, R. W. The use of newer progestins in the treatment of endometriosis. **Am Journal of Obstetrics & Gynecology**. v. 75, n. 2, p. 264-278, 1958.

KOKORINE, I.; NISOLLE, M.; DONNEZ, J.; EECKHOUT, Y.; COURTOY, P. J.; MARBAIX, E. Expression of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-1) is related to the activity of human endometriotic lesions. **Fertility and Sterility**. v. 68, p. 246-251, 1997.

KONDO, W.; FERRIANI, R. A.; PETTA, C. A.; ABRÃO, M. S.; AMARAL, V. F. Endometriose e infertilidade: causa ou consequência? **Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida**, v. 13, n. 2, 2009.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. **Patologia: bases patológicas das doenças**. 7. ed. Elsevier, 2005.

KURAS, M.; NOWAKOWSKA, J.; SLIWINSKA, E.; PILARSKI, R.; ILASZ, R.; TYKARSKA, T.; ZOBEL, A.; GULEWICZ, K. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Wild) DC. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 107, p. 211-21, 2006.

- LANE B, OXBERRY, W.; MAZELLA, J.; TSENG, L. Decidualization of human endometrial stromal cells invitro effects of progestin and relaxin on the ultrastructure and production of decidual secretory proteins. **Human Reproduction**. v. 9, p. 259–66, 1995.
- LAUS, J. E. Biologia e reprodução. In: DE LUCA, R. R. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2º Edição. São Paulo : Winner Graph, 1996.
- LING, F. W. Randomized controlled trial of depot leuprolide in patients with chronic pelvic pain and clinically suspected endometriosis. Pelvic Pain Study Group. **Obstetrics & Gynecology**. v. 93, n.1, p. 51-8, 1999.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2008.
- MACIEL, AM.; PINTO, AC.; VEIGA JR, VF. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MAHMOOD, T. A; TEMPLETON, A. Pathophysiology of mild endometriosis : review of literature. **Human Reproduction**. v. 5, 1990.
- MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**. v.62 n.4, 2002.
- MARCOUX, S.; MAHEUX, R.; BÉRUBÉ, S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. **New England Journal of Medicine**. v. 337, n. 4, p. 217-22, 1997.
- MELDRUM, D. R.; CHANG, R. J.; LU, J.; VALE, W.; RIVIER, J.; JUDD, H. “Medical oophorectomy” using a long-acting GnRH agonist: a possible new approach to the treatment of endometriosis. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 54, n. 5, p. 1081-1083, 1982.
- MORSCH, D. M.; CARNEIRO, M. M.; LECKE, S. B.; ARAÚJO, F. C.; CAMARGOS, A. F.; REIS, F. M. c-fos gene and protein expression in pelvic endometriosis: a local marker of estrogen action. **Journal of Molecular Histology**. v. 40, n. 1, p. 53-58, 2009.
- MUNKSGAARD, P. S.; BLAAKAER, J. The association between endometriosis and gynaecological cancer and breast cancer: a review of epidemiologic data. **Gynecologic Oncology**. v. 123, p. 157-163, 2011.
- NÁCUL, A. P.; SPRITZER, P. M. Aspectos atuais do diagnóstico e tratamento da endometriose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 32, n. 6, p. 298-307, 2010.
- NAKAHARA, K.; SAITO, H.; SAITO, T.; ITO, M.; OHTA, N.; SAKAI, N. Incidence of apoptotic bodies in membran agranulosa of the patients participating in invitro fertilization program. **Fertility and Sterility**. v. 67, p. 302-308, 1997.

- NAVARRO, P. A. A. S.; BARCELOS, I. D. S.; SILVA, J. C. R. Tratamento da endometriose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, 2006.
- NEZHAT, C.; NEZHAT, F.; METZGER, D.A.; LUCIANO, A.A. Adhesion reformation after reproductive surgery by videolaseroscopy. **Fertility and Sterility**, v.53, p.1008-1011, 1990
- NEZHAT, F.; DATT, A. S.; HANSON, V.; PEJOVI, C. T.; NEZHAT, C. The relationship of endometriosis and ovarian malignancy: a review. **Fertility and Sterility**, v. 90, p. 1559-1570, 2008.
- NOBLE, L. S.; SIMPSON, E. R.; JOHNS, A.; BULUN, S. E. Aromatase expression in endometriosis. **Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 81, p. 174-179, 1996.
- NOGUEIRA NETO, J. N.; COELHO, T. M.; AGUIAR, G. C.; CARVALHO, L. R.; ARAÚJO, A. G. P.; GIRÃO, M. J. C.; SCHOR, E. Experimental endometriosis reduction in rats treated with *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extract. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. v. 154, n. 2, p. 205-208, 2011.
- OLIVER, D. L.; PRITTS, E. A. Treatment of endometriosis. **New England Journal of Medicine**. v. 345, n. 4, p. 266-75, 2001.
- OTHMAN, EEL-D.; HORNUNG, D.; SALEM, H. T.; KHALIFA, E. A.; EL-METWALLY, T. H.; AL-HENDY, A. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. v. 137, n. 2, p. 240-246, 2008.
- PASA, T. B. C.; PEDROSA, R. C.; Alvos Moleculares de Fitofármacos e Fitoterápicos. In: Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna. (Eds. YUNES, R.; CALIXTO, J.B.) Chapecó: Argos, 2001.
- PETTA, C. A.; FERRIANI, R. A.; ABRAO, M. S.; HASSAN, D.; ROSA E SILVA, J. C.; PODGAEC, S. Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis. **Human Reproduction**. v. 20, n. 7, p. 1993-8, 2005.
- PIVA, M.; HOROWITZ, G. M.; SHARPE-TIMMS, K. L. Interleukin-6 differentially stimulates haptoglobin production by peritoneal and endometriotic cells in vitro: a model for endometrial-peritoneal interaction in endometriosis. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.86, n.6, p.2553-2561, 2001.
- PODGAEC, S.; ABRÃO, M. S. Endometriose: aspectos atuais do diagnóstico e tratamento. **RBM Revista Brasileira de Medicina**, v. 61, n. 5, p. 41-46, 2004.
- PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- REGIDOR, P. A.; REGIDOR, M.; SCHINDLER, A. E.; WINTERHAGER, E. Aberrant expression pattern of gap junction connexin in endometriotic tissues. **Molecular Human Reproduction**. v. 3, p. 375-81, 1997.

ROCK, J. A.; PRENDERGAST, R. A.; BOBBIE, D.; GREEN, W. R.; PARMLEY, T. H.; DUBIN, N. H. Intraocular endometrium in the rabbit as a model for endometriosis. **Fertility and Sterility**. v. 59, p. 232-5, 1993.

RODRIGUES, DE LIMA G.; FREITAS, V.; ZAMITH, R. **Aspectos endócrinos da endometriose**. In: Rodrigues de Lima G, Baracat EC, editores. Ginecologia Endócrina. Atheneu: São Paulo, p. 209-20, 1995.

ROSSI, G. Dynamic aspects of endometriosis in a mouse model through analysis of implantation and progression. **Archives of Gynecology and Obstetrics**. v. 263, p. 102-107, 2000.

RUTANEN, E. M.; PEKONEN, F.; MAKINEN, T. Soluble34Kbindingproteininhibits the binding of insulin like growth factor Itoits receptor sinhuman secretory phase endometrium evidence for autocrine/paracrine regulation of growth factor action. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 66, p. 173–80, 1988.

SAKATA, M.; TERAOKAWA, N.; MIZUTANI, T.; TANIZAWA, O.; MATSUMOTO, K.; TERADA, N.; SUDO, K. Effects of danazol, gonadotropin releasing hormone agonist, and a combination of danazol and gonadotropin- releasing hormone agonist on experimental endometriosis. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**. v. 163, p. 1679-1684, 1990.

SALGADO, R. M. **Caracterização de proteoglicanos do útero de camundongos durante o ciclo estral e em animais ovariectomizados: análise dos efeitos da castração e da reposição hormonal**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 43 p., 2009.

SAMPSON, J. A. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. v. 14, p. 422-469, 1927.

SAYESNE, H. A.; TSIVO, S. D.; CRAWFORD, R. Endometriosis and ovarian cancer: asystem-aticreview. **Obstetrics & Gynecology**. 2011.

SCHENKEL, E. P., et al. Plantas tóxicas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (ORG.) **Farmacognisia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: editora da universidade/UFRGS; Florianópolis; Editora da UFSC, p. 755-788, 2001.

SCHENKEN, R. S.; ASCH, R. H. Surgical induction of endometriosis in the rabbit: effects on fertility and concentrations of peritoneal fluid prostaglandins. **Fertility and Sterility**. v. 34, n. 6, p. 581-7, 1980.

SCHOR, E.; FREITAS, V.; SOARES JÚNIOR, J. E.; SIMÕES, M. J.; BARACAT, E. C. Endometriose: Modelo Experimental em Ratas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 21, n. 5, 1999.

SCHWEPPE, K. W.; WYNN, R. M.; BELLER, F. K. Ultra structural comparis of endometrio implants and eutopic endometrium. **American Journal of Obstetrics &Gynecology**. v. 148, p. 1024-39, 1984.

SELAKE, V.; FARQUHAR, C.; PRENTICE, A.; SINGLA, A. Danazol for pelvic pain associated with endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews**. v. 4, CD000068, 2007.

SHARPE-TIMMS, K. L. Basic research in endometriosis. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**. v. 24, p. 269-290, 1997.

SHIFREN, J. L.; TSENG, J. F.; ZALOUDEK, C. J.; RYAN, I. P.; MENG, Y. G.; FERRAR, A. N. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 81, p. 3112-3118, 1996.

SILVA JÚNIOR, A. A.; VIZZOTTO, V. J. Plantas medicinais, aromáticas e fitoprotetoras. **Agropecuária Catarinense**, v.9, n. 1, p. 5-8, 1996.

SILVA, J. C. R.; SILVA, A. C. J. S. R.; COLTRO, O. S.; GARCIA, S. B.; REIS, F. C.; NOGUEIRA, A. A. Modelo Experimental para Endometriose em Coelhas com Seguimento Evolutivo das Lesões. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. V. 26, n. 9, p. 715-719, 2004.

SIMÕES, M. J. **Aspecto morfológicos e morfométricos de endométrio de ratas da colônia 2 BAW, nas subfases intermediárias e final do estro e diestro**. 1979. 97p. Dissertação (Mestrado em Histologia) - Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1979.

SOLBERG, P. Examination of vaginal smears in the rat. Disponível em: <http://oslovet.veths.no/teaching/rat/oestrus/>. Acesso em 17 abr. 2014.

SOMIGLIANA, E.; VIGANO, P.; PARAZZINI, F.; STOPPELLI, S.; GIAMBATTISTA, E.; VERCELLINI, P. Association between endometriosis and cancer: a comprehensive review and a critical analysis of clinical and epidemiological evidence. **Gynecologic Oncology**. v. 101, p. 331-341, 2005.

SOMIGLIANA, E.; VIGANÒ, P.; ROSSI, G.; CARINELLI, S.; VIGNALI, M.; PANINABORDIGNON, P. Endometrial ability to implant in ectopic sites can be prevented by interleukin-12 in a murine model of endometriosis. **Human Reproduction**. 1999; v. 14, n. 12, p. 2944-50, 1999.

STOR, Y. L.; KENNED, Y. S. Animal Studies in Endometriosis: A Review. **ILAR Journal**. v. 45, n. 2, p. 132-1388, 2004.

TORTORA, G. J. **Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TOYA, M.; SAITO, H.; OHTA, N.; SAITO, T.; KANEKO, T.; HIROI, M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. **Fertility and Sterility**. v. 73, p. 344-350, 2000.

VERNON, M. W.; WILSON, E. A. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. **Fertility and Sterility**. v. 44, p. 684-694, 1985.

WANNMACHER, L.; BREDEMEIER, M. Anti-inflamatórios não esteróides: uso indiscriminado de inibidores seletivos de cicloxigenase-2. **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**. Brasília, v. 1, n. 2, p. 1-6, 2004.

WITZ, C.A.; MONOTOYA-RODRIGUEZ, I.A.; SCHENKEN R.S. Whole explants of peritoneum and endometrium: a novel model of the early endometriosis lesion. **Fertility and Sterility**, v.71, n.1, p.56-60, 1999.

ZAMAH, N. M.; DODSON, M. G.; STEPHENS, L. C.; BUTTRAM, V. C.; BESCH, P. K.; KAUFMAN, R. H. Transplantation of normal and ectopic human endometrial tissue into athymic nude mice. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**. V.149, n. 6, p. 591-7, 1984.

CAPÍTULO II

EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *BUMELIA SARTORUM* MART. SOBRE NÍVEIS HORMONAIS, HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E APOPTOSE DE IMPLANTES ENDOMETRIAIS EM RATAS

Mariano, A. F. S.¹, Silva, M. W. F.², D'assunção, C. G.¹, Ramos, C. S.³, Wanderley-Teixeira, V.⁴, Teixeira, A. A. C.^{4*}

1. *Aluna do programa de pós-graduação em Biociência Animal, nível de Mestrado, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.*
2. *Aluno de graduação em Licenciatura em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.*
3. *Professor adjunto do Departamento de Compostos Moleculares da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.*
4. *Professores associados da Área de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.*

*Autor para correspondência: Professor Doutor Álvaro Aguiar Coelho Teixeira. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil. Tel.: (81) 33206389.
E-mail: alvaro@dmfa.ufrpe.br

Resumo

A pesquisa objetivou avaliar o efeito do extrato etanólico da casca de *Bumelia sartorum* na regressão de implantes endometriais em ratas. Utilizou-se 25 ratas albinas, divididas em cinco grupos: **I**– ratas induzidas a endometriose (controle); **II**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com álcool 20% por 15 dias (placebo); **III**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato por 5 dias; **IV**– ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato por 10 dias; **V** – ratas induzidas a endometriose, tratadas com extrato por 15 dias. O extrato foi administrado por gavagem, numa concentração de 32 mg/mL/rata. Morfologicamente, os implantes do GI, GII e GIII apresentaram grandes cistos, infiltrado leucocitário e presença intensa de fibras colágenas. Nos grupos IV e V houve redução dos cistos, do infiltrado leucocitário e presença de macrófagos. A análise do extrato etanólico por CLAE/EM, Infravermelho e UV/Vis mostrou a presença da catequina/epicatequina e seus dímeros e trímeros. Houve redução dos níveis de estrógeno e aumento da progesterona apenas nas ratas do grupo V e os níveis de prolactina não diferiram entre os grupos experimentais. Os grupos III, IV e V apresentaram os maiores índices apoptóticos, enquanto que apenas os grupos IV e V mostraram redução de glândulas e vasos sanguíneos nos implantes. Assim, conclui-se que o extrato etanólico bruto de *B. sartorum* é rico em compostos fenólicos, que pode promover uma regressão dos implantes endometriais, quando utilizado por 15 dias numa concentração de 32 mg/mL. Entretanto, experimentos adicionais com os fracionados do extrato etanólico bruto devem feitos para esclarecer melhor os mecanismos de ação envolvidos na atividade antiinflamatória na endometriose.

Palavras-chaves: endometriose, fitoterapia, *Bumelia sartorum*, ratas, níveis hormonais, histoquímica, histologia, apoptose.

1. Introdução

A endometriose é classicamente definida como a presença de tecido endometrial localizado fora da cavidade uterina. Este tecido costuma ser encontrado na região pélvica, mas pode ser encontrado em outras regiões do abdômen, onde as principais manifestações são dor pélvica e infertilidade (ESKENAZI; WARNER, 1997). Pesquisas revelam uma prevalência de até 20% das mulheres em idade reprodutiva (BRICOU; BATT; CHAPRON, 2008) e de 30 a 50% das mulheres inférteis que apresentam tal patologia (JACOBSON et al., 2002).

O tratamento é clínico e/ou cirúrgico, e a preferência é pela prescrição de medicamentos que interferem no ciclo menstrual, bloqueando a secreção de estrogênio pelos ovários bem como de agentes antiinflamatórios não esteroidais, proporcionando benfeitorias clínicas. No entanto, estes tipos de tratamento não gera uma cura efetiva, pois os sintomas costumam retornar após a suspensão da medicação, o que justifica a busca experimental de novas opções de tratamento (OLIVER; PRITTS, 2001; NETO et al., 2010).

A endometriose é associada com alterações no eixo hipotálamo-hipófise-ovário com conseqüentes alterações nas concentrações dos hormônios estrógeno, progesterona e prolactina (LIMA; MOURA, 2006). As células do estroma do tecido endometriótico são estrógeno-dependentes e as do ovário apresentam a capacidade de sintetizar estrogênios a partir do colesterol, pois expressam as enzimas esteroidogênicas. Algumas evidências sugerem que a endometriose é caracterizada por resistência à ação de progesterona, cuja ação, antagonica aos estrogênios, leva à atrofia do endométrio (NÁCUL; SPRITZER, 2010). O estrógeno estimula a secreção de prolactina, o que pode explicar o aumento da prolactina em pacientes portadoras de endometriose (KARASEK; MPAWLIKOWSKI; LEWIŃSKI, 2006).

Segundo Carvalho et al. (2004) a endometriose pode ser considerada um processo inflamatório crônico, com função alterada de células do sistema imunológico, diminuição da atividade fagocítica (SHARPE-TIMMS et al., 1998) e número aumentado de macrófagos no

fluido peritoneal, os quais secretam vários fatores de crescimento e citocinas (AGIC et al., 2006; DE LIMA; ROSA; SILVA, 2006).

Compostos naturais podem ser utilizados para o tratamento da inflamação (ARAÚJO-NETO et al., 2010). Neste contexto, *Bumelia sartorum* Mart, uma planta da família Sapotaceae, nativa da Caatinga, popularmente conhecida como quixaba no Brasil, é amplamente utilizada na medicina popular e na produção comercial de produtos fitoterápicos (ALBUQUERQUE et al., 2007).

A casca é usada para dores em geral, úlcera duodenal, gastrite, azia, inflamação crônica, lesão genital, cólicas, problemas renais, problemas cardíacos, diabetes, cura e como expectorante (FILIPOY, 1994; ALBUQUERQUE et al., 2007). Todas as partes da planta também são usada no tratamento de inflamações do ovário e diabetes (BELTRÃO et al., 2008; ARAÚJO-NETO et al., 2010).

Embora esta erva medicinal seja de grande utilização na medicina popular, ainda não há relatos na literatura a respeito da utilização da referida planta em implantes endometrióticos e nem se apresentam efeito fitoestrogênico. Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo obter o perfil químico do extrato etanólico bruto da casca de *B. sartorum*, avaliar o efeito desse extrato na histologia, histoquímica e no índice apoptótico de implantes endometriais em ratas, bem como verificar os níveis dos hormônios estrógeno, progesterona e prolactina.

2. Material e métodos

2.1 Aquisição do material botânico

As cascas secas do caule de *B. sartorum* são amplamente comercializadas em feiras livres, sendo estas as mais utilizadas pela população. Diante disso, as cascas foram adquiridas através da empresa de ervas medicinais Chá e Cia Ervas Medicinais e devidamente identificadas pelo laboratório Quimer Insumos Vegetais – São Paulo.

2.2 Obtenção do Extrato Bruto

Após a aquisição, as cascas da *B. sartorum* foram encaminhadas ao Laboratório de Ecoquímica e Síntese Orgânica (LEQSO) do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foram secadas em estufa por 48h a 40°C e em seguida 1 Kg dessas cascas foram trituradas para obtenção dos extratos brutos em um moinho de facas. O material vegetal seco e macerado, em pó, foi submetido à extração exaustiva com álcool absoluto (3x de 500 mL), pelo método de maceração a frio por 72h. O material extraído passou por uma filtração a vácuo e o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo (40°C, $\pm$ 120rpm) obtendo-se 62,022g do extrato bruto etanólico das cascas, o qual foi diluído 32 mg para cada 1 mL de álcool 20%, sendo acondicionado em refrigerador a 10°C até sua utilização.

2.3 Análise do extrato etanólico da *B. sartorum* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE/EM)

Para a análise dos extratos brutos etanólico das cascas de *B. sartorum* em CLAE/EM, 2 mg do extrato foi previamente diluído em 1 mL de MeOH e tratado em cartucho de extração

em fase sólida (SPE) de sílica de fase reversa C18 (Sep-Pak) como etapa de pré-purificação. Em seguida, o extrato bruto etanólico foi analisado em aparelho Bruker Esquire 3000 Plus Ion Trap Daltonics MicroTOF, operando em modo positivo, voltagem do cone de 25 V, probe do electrospray 3,5kV e nitrogênio como gás nebulizador. O volume de injeção foi de 10µL com a concentração da amostra de 2mg/mL em Cromatógrafo líquido analítico/semipreparativo Shimadzu modelo LC-10, equipado com bomba ternária e detector UV e fluorescência munido de injetor automático SIL-10A. A coluna utilizada para análise no cromatógrafo líquido foi de fase reversa RP-18 Supelco (5 µm d.i., 4 x 250 mm), eluída em um gradiente inicialmente com metanol/água 3:7 por 2 min; aumentado a 90% de metanol em 32 min, mantendo por 5 min metanol a 90%, com detecção em 280 e 254 nm, com fluxo de 2 mL/min.

2.4 Infravermelho

A análise de infravermelho foi realizada em equipamento Varian modelo 640 FTIR com 32 *scan* e resolução de 4 cm. As medidas foram realizadas na região de 4000 a 400 cm⁻¹.

2.5 Ultravioleta Visível (UV/Vis)

As análises de UV foram realizadas em um espectrofotômetro UV-Vis Diode-array (HP, Modelo 8453) medidas na região do UV/Vis. As amostras foram diluídas em etanol na concentração de 0,2 mg/mL.

2.6 Manutenção dos animais e formação dos grupos experimentais

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram utilizadas 25 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*), com 90 dias de idade, virgens, pesando aproximadamente 200 ± 30g, da linhagem Wistar, procedentes do Biotério do

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da mesma Universidade. Os animais foram confinados em gaiolas e mantidos com alimentação e água *ad libitum*, permanecendo no biotério numa temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes modelo luz do dia, 40W, para um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 06:00 às 18:00 horas. Após a adaptação ao novo ambiente, foram realizados esfregaços vaginais das ratas para a determinação do ciclo estral. As fêmeas que apresentaram três ciclos estrais regulares foram divididas, aleatoriamente, em cinco grupos, cada um constituído por cinco animais:

Grupo I – ratas induzidas a endometriose e avaliadas após 21 dias do pós-operatório (controle);

Grupo II – ratas induzidas a endometriose, tratadas após 21 dias do pós-operatório com placebo (álcool 20%) por 15 dias, e avaliadas no dia seguinte ao término do tratamento;

Grupo III – ratas induzidas a endometriose, tratadas após 21 dias do pós-operatório com extrato da *B. sartorum* por 05 dias, e avaliadas no dia seguinte ao término do tratamento;

Grupo IV – ratas induzidas a endometriose, tratadas após 21 dias do pós-operatório com extrato da *B. sartorum* por 10 dias, e avaliadas no dia seguinte ao término do tratamento;

Grupo V – ratas induzidas a endometriose, tratadas após 21 dias do pós-operatório com extrato da *B. sartorum* por 15 dias, e avaliadas no dia seguinte ao término do tratamento.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais Institucional (CEUA/UFRPE, nº 23082.011435/2014-26).

2.7 Procedimento cirúrgico para indução da endometriose

Para a indução da endometriose, utilizou-se a técnica preconizada por Vernon; Wilson (1985), a qual já é consolidada pelo presente grupo de pesquisa. Os animais foram anestesiados com hidrocloridrato de quetamina (80 mg/kg) e xilazina (6,0 mg/kg) por via intramuscular, conforme descrito por Andrade; Pinto; Oliveira (2002). Posteriormente, realizou-se a tricotomia da região abdominal.

Após estes procedimentos foi feita a abertura da cavidade abdominal por incisão longitudinal na linha alba de mais ou menos 2cm, para a identificação dos cornos uterinos. Uma vez individualizados, foi ressecado aproximadamente 1cm do terço médio do corno uterino direito e realizada a ligadura dos vasos. O segmento uterino retirado foi imediatamente imerso em soro fisiológico, aberto longitudinalmente, e em seguida fragmentado medindo aproximadamente 1cm de cada lado. Estes fragmentos foram fixados, com fio de sutura de nylon 5.0, na musculatura da parede anterior da cavidade abdominal, sempre sobre vasos sanguíneos, tomando-se o cuidado para que a porção do endométrio mantivesse o contato com a musculatura. Após estes procedimentos foi realizada a sutura da cavidade abdominal e, em seguida, da pele.

2.8 Tratamento com extrato etanólico de *B. sartorum*

Segundo o teste de toxicidade realizado com o extrato etanólico da *B. sartorum* por Almeida; Barbosa-Filho; Naik em 1985, pode-se utilizar 187 mg desse extrato em ratos. O fato de já ter sido utilizado 32 mg/mL do extrato de *Uncaria tomentosa* com resultado positivo no tratamento de implantes endometrióticos, despertou o interesse em investigar se 32 mg/mL de *B. sartorum* também apresenta resultados positivos na regressão dos implantes endometriais.

Dessa forma, após 21 dias de pós-operatório, período necessário para o desenvolvimento dos implantes e plena recuperação dos animais do processo cirúrgico, foi iniciado o tratamento com o extrato etanólico da *B. sartorum*, onde foram diluídos 32 mg do extrato bruto para 1 mL do veículo, no caso o álcool 20%, sendo esta concentração (32mg/mL) administrada em cada animal por via oral, através de gavagem. Também se iniciou a administração via oral de 1 mL de álcool 20%, apenas no grupo placebo.

2.9 Dosagem hormonal

O sangue foi coletado, por punção da veia caudal lateral, 21 dias após a indução (grupo controle) e após o término dos tratamentos (grupos II, III, IV e V), sendo centrifugado, e o soro foi acondicionado a -20°C para as análises dos níveis dos hormônios estrógeno, progesterona e prolactina os quais foram dosados em triplicata, utilizando-se o método *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), através de kits comerciais. Em seguida, os dados foram submetidos ao teste de Wilcoxon e comparados pelo teste de Mann-Whitney ao nível de 0,05% de significância utilizando o programa Statistica 10.1®.

2.10 Análise histológica e histoquímica dos implantes endometriais

Os implantes foram coletados em fase de estro, pois é a fase que apresenta o maior nível de estrógeno. Para isso as fêmeas foram anestesiadas com hidrocloridrato de quetamina (80 mg/kg) e xilazina (6,0 mg/kg) por via intramuscular. Em seguida, realizou-se uma incisão na pele, de aproximadamente 4 cm, para perfeita visualização e retirada dos implantes, que foram clivados longitudinalmente e mergulhados em formaldeído a 10%, permanecendo neste fixador por 48 horas. Após a coleta dos materiais foram realizados os procedimentos da eutanásia, utilizando o aprofundamento da anestesia.

Os fragmentos foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Posteriormente, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustados para 5µm. Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada a 37 °C, durante 24 horas, para secagem. Os cortes foram submetidos às técnicas de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) – para verificar características histológicas do desenvolvimento da endometriose – e pelo Tricrômico de Mallory – para verificar a presença de fibras colágenas sendo posteriormente analisados em microscópio de luz, marca OLYMPUS BX-49, e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

2.11 Análise morfométrica de vasos sanguíneos e glândulas endometriais nos implantes

Para a realização desse procedimento utilizou-se uma ocular de 10X contendo internamente um retículo de WEIBEL com 25 pontos (WEIBEL; KISTLER; SCHERLE, 1966). Foram utilizadas cinco lâminas por grupo através das quais foram contados quatro campos, todos aleatórios e em sentido horário, levando-se em consideração apenas os pontos que incidiram sobre as glândulas e vasos sanguíneos presentes nos implantes endometriais. Este procedimento foi realizado utilizando-se a objetiva de 40X, obtendo-se um aumento final de 400X. Foram contados 100 pontos por animal (lâmina) totalizando 500 pontos por grupo. A observação foi realizada através da microscopia de luz da marca OLYMPUS BX-49. Em seguida, os dados foram submetidos ao Proc ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa Statistica 10.1®.

2.12 Análise do teor de colágeno

Para a determinação da quantidade de colágeno nos implantes, foram utilizadas as imagens das lâminas coradas por tricômico de Mallory. Essas imagens foram submetidas ao programa editor de imagens GIMP® 2.0 para obtenção da medida dos pixels. Os resultados dos teores de colágeno foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade, para análise da quantidade de fibras colágenas, onde os dados foram submetidos ao Proc ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade usando o programa SAS (SAS Institute, 2001).

2.13 Índice apoptótico (IA)

Foi utilizado o método TUNEL como indicador de apoptose. Os cortes foram inicialmente desparafinados e hidratados, em seguida incubados em PBS por 5 minutos à temperatura ambiente. Após, a Proteinase K foi aplicada sobre as lâminas por 15 minutos. As lâminas foram lavadas em água destilada e incubadas em peróxido de hidrogênio por 5 minutos em temperatura ambiente. Os cortes foram lavados em PBS e incubados em tampão de equilíbrio por 60 minutos a 4°C. Depois, os cortes foram incubados em TdT a 37° por 1 hora em câmara úmida. Foi aplicada a solução stop por 10 minutos em temperatura ambiente, em seguida, as lâminas foram lavadas em PBS e incubadas em anti-digoxigenina. As lâminas foram enxaguadas em PBS e os cortes revelados com substrato cromogênico diaminobenzidina (DAB, Dako Cytomation™) (± 20 minutos), sendo contracorados com hematoxilina por 20 a 30 segundos. Após as lâminas foram lavadas em água corrente, desidratadas em concentrações crescentes de álcool e colocadas em xilol para serem montadas e observadas em microscópio de luz.

O índice apoptótico foi determinado pela contagem da percentagem de células positivas a partir de, pelo menos, pelo menos 500 núcleos subdivididos em 10 campos

escolhidos aleatoriamente utilizando-se a objetiva de 40x (LOSA et al., 2000; WU et al., 2013). Em seguida, os dados foram submetidos ao teste de Wilcoxon e comparados pelo teste de Mann-Whitney ao nível de 0,05% de significância utilizando o programa Statistica 10.1®.

-.

3. Resultados

3.1 Análise do extrato etanólico da *B. sartorum* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE/EM)

A análise do extrato etanólico da *B. sartorum* por CLAE/EM/EM indicou a presença da catequina/epicatequina e seus dímeros e trímeros (Figuras 2-4). A análise do cromatograma fornecido pela CLAE em comprimento de onda em 280 nm indicou a quantidade relativa de 60, 11 e 3 % para dímero, catequina/epicatequina e trímero, respectivamente (Figura 1).

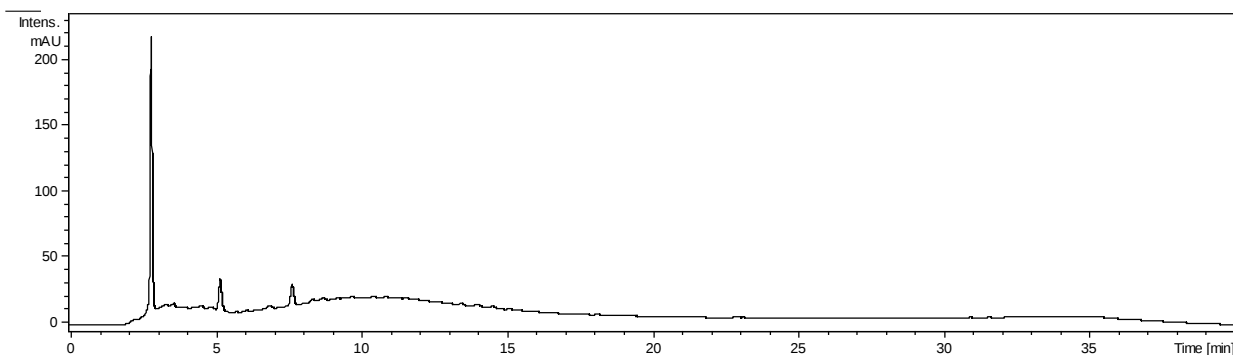


Figura 1. Cromatograma do extrato etanólico bruto de *Bumelia sartorum*.

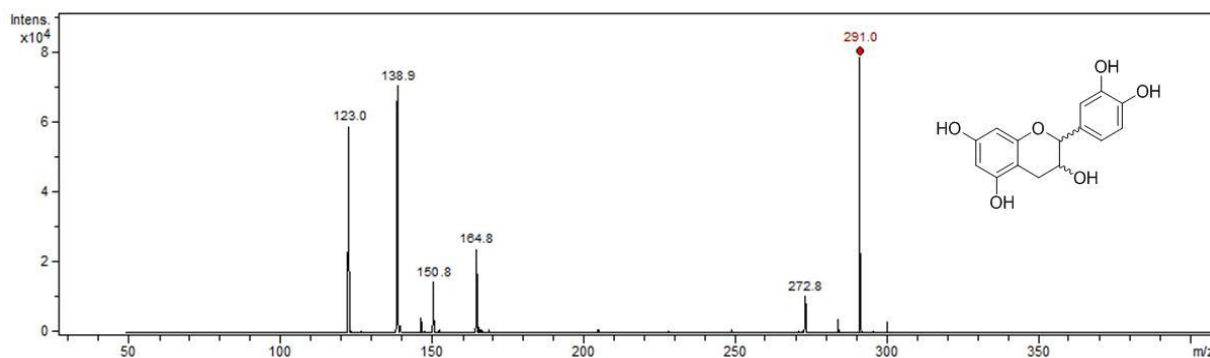


Figura 2. Espectro de massas da catequina/epicatequina obtido por CLAE/EM, electrospray” – ESI ($M + 1$)⁺.

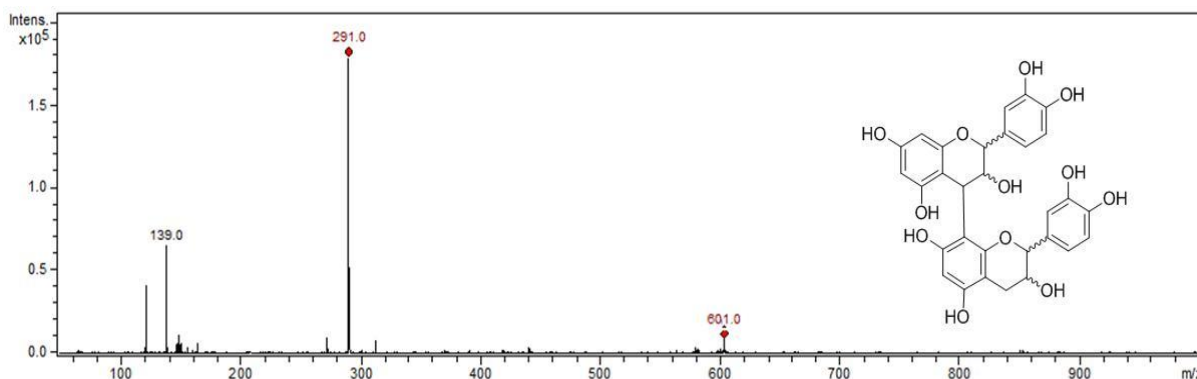


Figura 3. Espectro de massas do dímero da procianidina obtido por CLAE/EM, electrospray⁺ – ESI (M + Na)⁺.

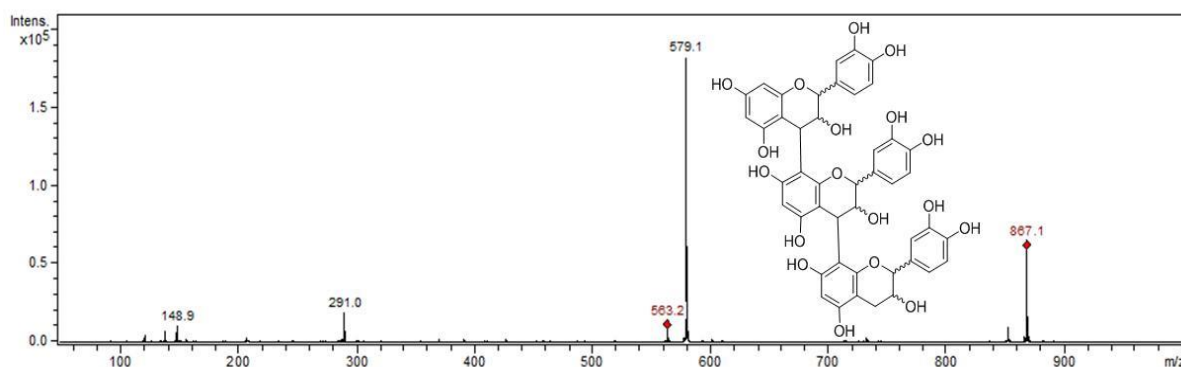


Figura 4. Espectro de massas do trimero da procianidina obtido por CLAE/EM, electrospray⁺ – ESI (M1 + 1)⁺.

3.2 Infravermelho

O espectro de infravermelho do extrato etanólico bruto da *B. sartorum* apresentou uma banda larga e intensa em 3410 cm⁻¹ referente às vibrações de deformação axial de grupo hidroxila, confirmando a presença de fenol na amostra. O espectro também apresentou bandas intensas na faixa de 1200 e 1000 cm⁻¹, características de grupo C-O e bandas de vibrações de deformação axial para hidrocarbonetos aromáticos C=C entre 1600 e 1400 cm⁻¹. O conjunto de dados obtidos pela análise de infravermelho indica a presença de compostos aromáticos com hidroxilas (Figura 5).

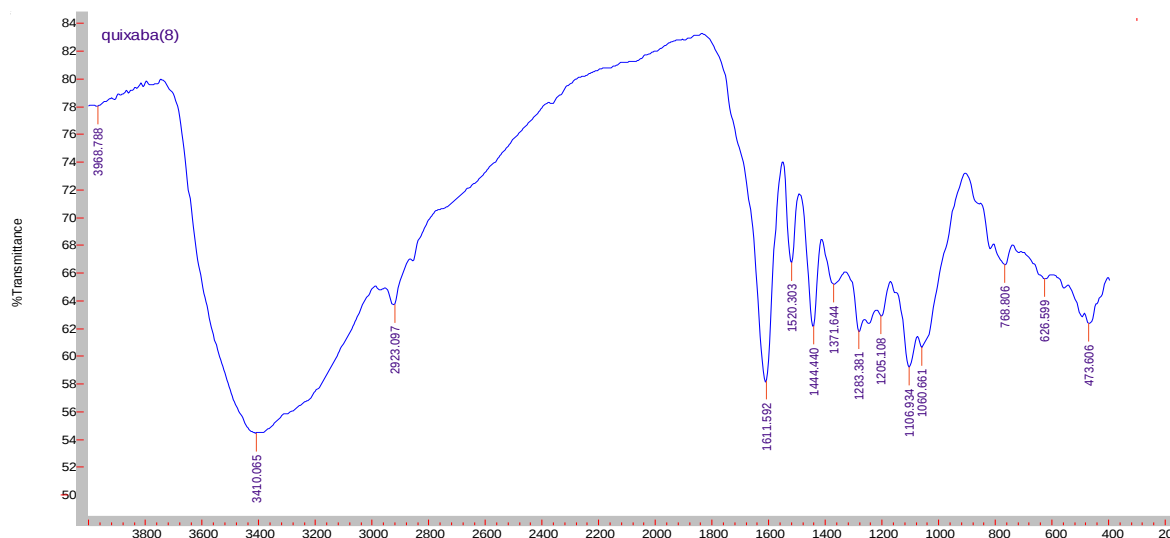


Figura 5. Espectro de infravermelho do extrato etanólico das casca de *B. sartorum* em KBr

3.3 Ultravioleta Visível (UV/Vis)

O Espectro de UV-Visível da amostra apresentou um perfil químico idêntico ao espectro do composto catequina com bandas em comprimento de onda que apresentaram pico máximo em torno de 280 nm, conforme mostra a figura 6.

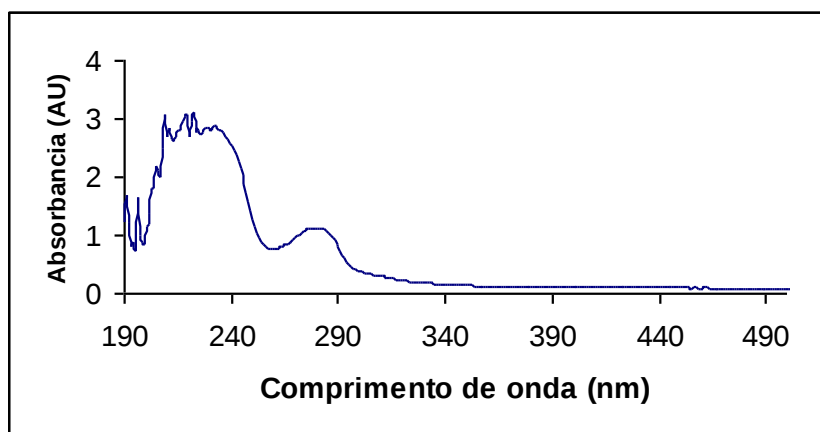


Figura 6. Espectro de UV do extrato etanólico das casca de *B. sartorum* em diluída em etanol a 0,2 mg/mL.

Com base na interpretação dos dados das análises CLAE/EM, IV e UV é possível identificar catequinas na amostra com alto teor.

3.4 Dosagem hormonal

As análises dos níveis séricos dos hormônios demonstraram que houve uma redução significativa do estrógeno e aumento da progesterona apenas nas fêmeas tratadas com extrato etanólico da *B. sartorum* por 15 dias consecutivos. Os níveis de prolactina não diferiram entre os grupos experimentais (Tabela 1).

Tabela 1. ¹Médias ($\pm$ Erro padrão) dos níveis séricos (ng/mL) de estradiol, progesterona e prolactina nas fêmeas após tratamento

Grupos	Estrógeno	Progesterona	Prolactina
I	687,43 $\pm$ 8,05a	443,14 $\pm$ 4,66b	1,16 $\pm$ 0,14a
II	674,66 $\pm$ 5,22a	439,90 $\pm$ 6,55b	0,89 $\pm$ 0,24a
III	683,41 $\pm$ 8,97a	448,29 $\pm$ 7,04b	1,20 $\pm$ 0,43a
IV	669,77 $\pm$ 9,56a	445,49 $\pm$ 5,87b	1,05 $\pm$ 0,52a
V	542,88 $\pm$ 7,34b	496,18 $\pm$ 3,73 ^a	0,97 $\pm$ 0,33a
P	0,0033	0,0122	0,1435

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ao nível de 0,05% de significância.

3.5 Análise Histológica e histoquímica dos implantes endometriais

Os animais do grupo controle (GI) apresentaram implantes endometriais com cistos e aderidos à camada muscular da parede abdominal (Figura 7A), bem como a presença de infiltrado leucocitário e alguns macrófagos (Figura 7B). O implante endometrial nos animais tratados com placebo (GII) também se mostrou bem aderido à camada muscular da parede abdominal (Figura 7C). Em ambos os grupos, observou-se leucócitos no lúmen dos cistos (Figura 7D).

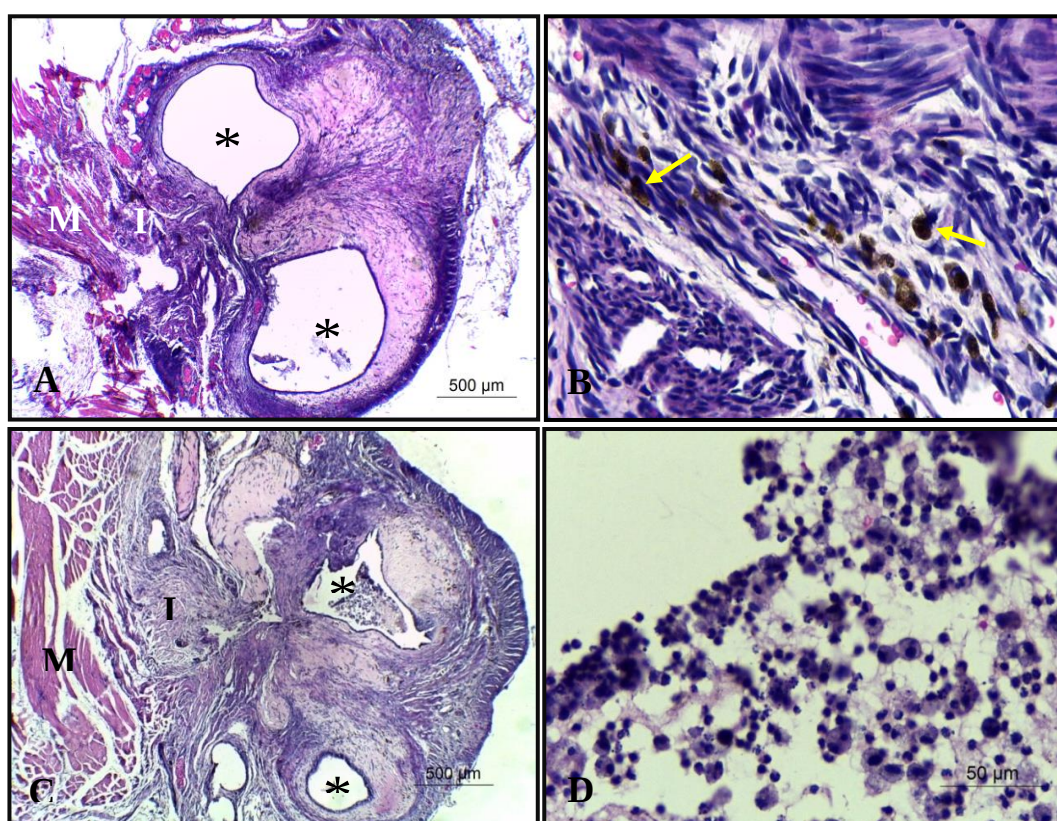


Figura 7. Fotomicrografia de implantes endometriais. GI, A: Notar implante (I) aderido a musculatura abdominal (M), bem como a presença de cistos (asteriscos). B: Infiltrado leucocitário e a presença de macrófagos (setas) GII, C: Observar implante (I) totalmente aderido à camada muscular (M), bem como os cistos (asteriscos). D: Leucócitos presentes no interior dos cistos. H.E.

Os aspectos histológicos observados nos implantes endometriais das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *B. sartorum* por 5 dias consecutivos (GIII), mostraram que estes também estavam totalmente aderidos à musculatura abdominal com a presença de cisto (Figura 8A). Observou-se também infiltrado leucocitário (Figura 8B).

Foi possível notar nos implantes das fêmeas tratadas com o extrato etanólico de *B. sartorum* por 10 dias consecutivos (G IV) ainda a presença de cistos, porém com pouco infiltrado leucocitário (Figuras 8C e 8D). Entretanto, nas fêmeas do grupo tratado com o extrato etanólico de *B. sartorum* por 15 dias consecutivos (G V) houve redução do implante caracterizada pela ausência de cisto, do infiltrado leucocitário, porém com a presença de vários macrófagos (Figuras 8E e 8F) e poucos vasos sanguíneos.

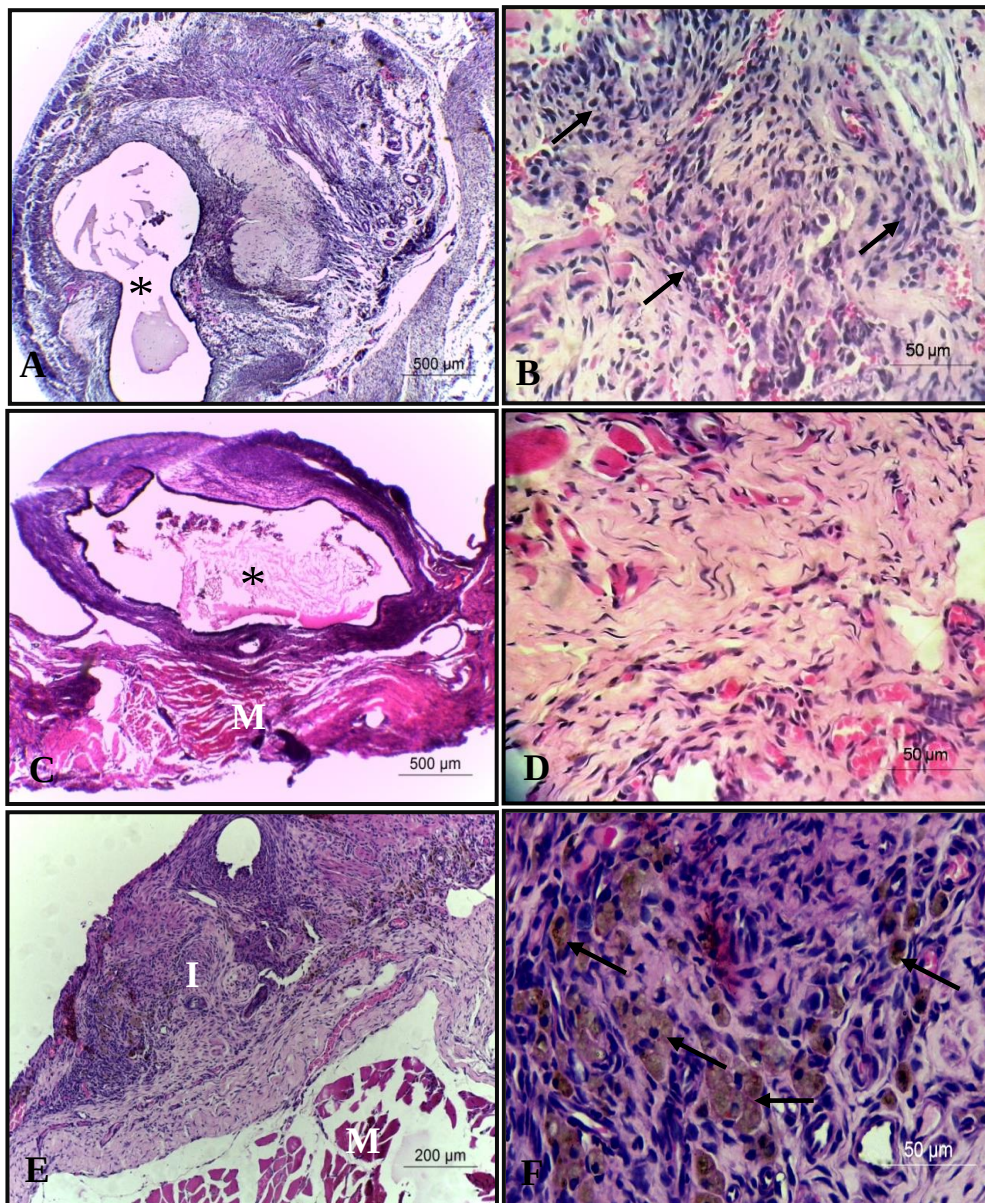


Figura 8. Fotomicrografia de implantes endometriais. GIII, A: Observar um grande cisto (asterisco). B: Infiltrado leucocitário (setas). GIV, C: Notar presença de cisto (asterisco) aderido a camada muscular (M). D: Observar pouco infiltrado leucocitário. GV, E: Observar implante reduzido (I) sem cisto e em F: Estroma com vários macrófagos (setas). H.E.

A análise histoquímica dos grupos I (controle) e II (placebo) pelo tricômico de Mallory foi positiva, principalmente no grupo II, na região de adesão dos implantes com a parede abdominal, demonstrando assim a presença de fibras colágenas, além de um estroma bastante celular. Nos grupos III, IV e V a reação também foi positiva, porém, menos intensa, principalmente neste último (Figura 9).

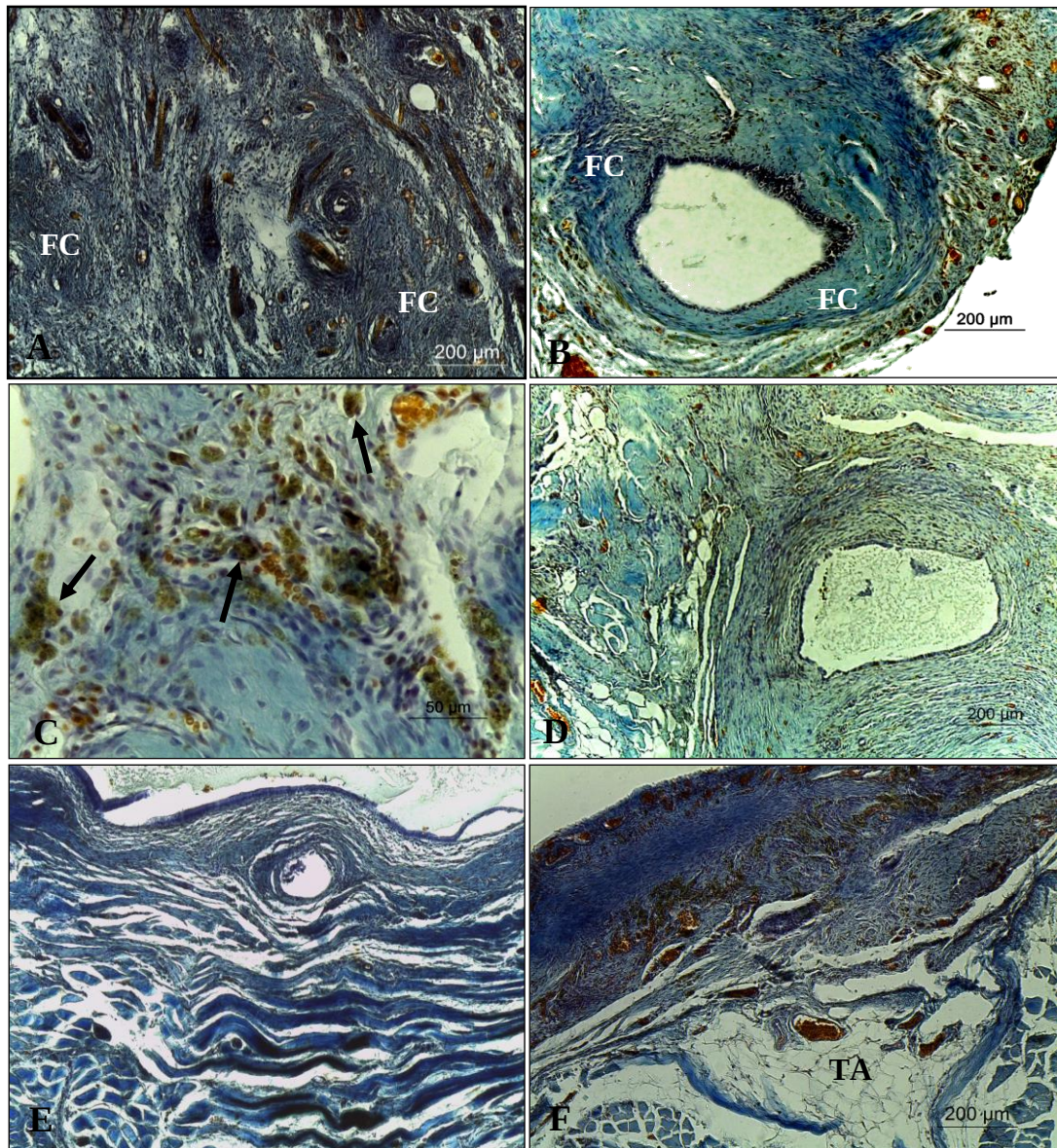


Figura 9. A: Histoquímica dos implantes endometriais. GI, A: Observar as fibras colágenas (FC). GII, B: Notar a presença de fibras colágenas (FC) circundando o cisto. C: Macrófagos (setas) no implante. GIII, D: Implante endometrial. GIV, E: Implante endometrial. GV, F: Notar o tecido adiposo (TA). Tricômico de Mallory.

3.6 Análise morfométrica de vasos sanguíneos e glândulas endometriais nos implantes

A análise morfométrica revelou uma redução significativa da área ocupada pelas glândulas e vasos sanguíneos nos implantes que receberam o tratamento com o extrato etanólico de *B. sartorum* por 10 e 15 dias, conforme mostra a tabela 2.

Tabela 2.¹Médias ($\pm$ Erro Padrão) do percentual da área ocupada por glândulas e vasos sanguíneos nos implantes endometriais.

	Controle	Placebo	Gp 5 dias	Gp 10 dias	Gp 15 dias	F ^P
Nº de Vasos sanguíneos	6,4 $\pm$ 0,7 ^a	6,1 $\pm$ 0,4a	5,1 $\pm$ 0,3ab	3,7 $\pm$ 0,3cb	2,5 $\pm$ 0,3c	13,58 ^{0,0001}
Nº de Glândulas	3,1 $\pm$ 0,3 ^a	3,5 $\pm$ 0,4a	2,6 $\pm$ 0,2ab	1,8 $\pm$ 0,2bc	1,1 $\pm$ 0,1c	13,72 ^{0,0001}

¹Médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 0,05% de significância.

3.7 Análise do teor de colágeno

A análise da quantificação de colágeno revelou que não houve diferença significativa entre os grupos controle e tratados com o extrato etanólico de *B. sartorum*, conforme mostra a tabela 3.

Tabela 3.¹Médias ($\pm$ Erro Padrão) da quantidade média de pixels para fibras colágenas.

Controle	Placebo	Gp 5 dias	Gp 10 dias	Gp 15 dias	F ^P
146.60 $\pm$ 12.0a	169.25 $\pm$ 28.8a	129.50 $\pm$ 36.3a	156.60 $\pm$ 12.4a	165.55 $\pm$ 22.0a	0.44 ^{0.7784}

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 0,05% de significância.

3.8 Índice Apoptótico (IA)

O ensaio pelo teste de TUNEL foi positivo em todos implantes analisados, entretanto foi mais significativo nos implantes dos animais tratados com o extrato etanólico da *B. sartorum*, os quais apresentaram os maiores IA (Figuras 10 ,11 e 12).

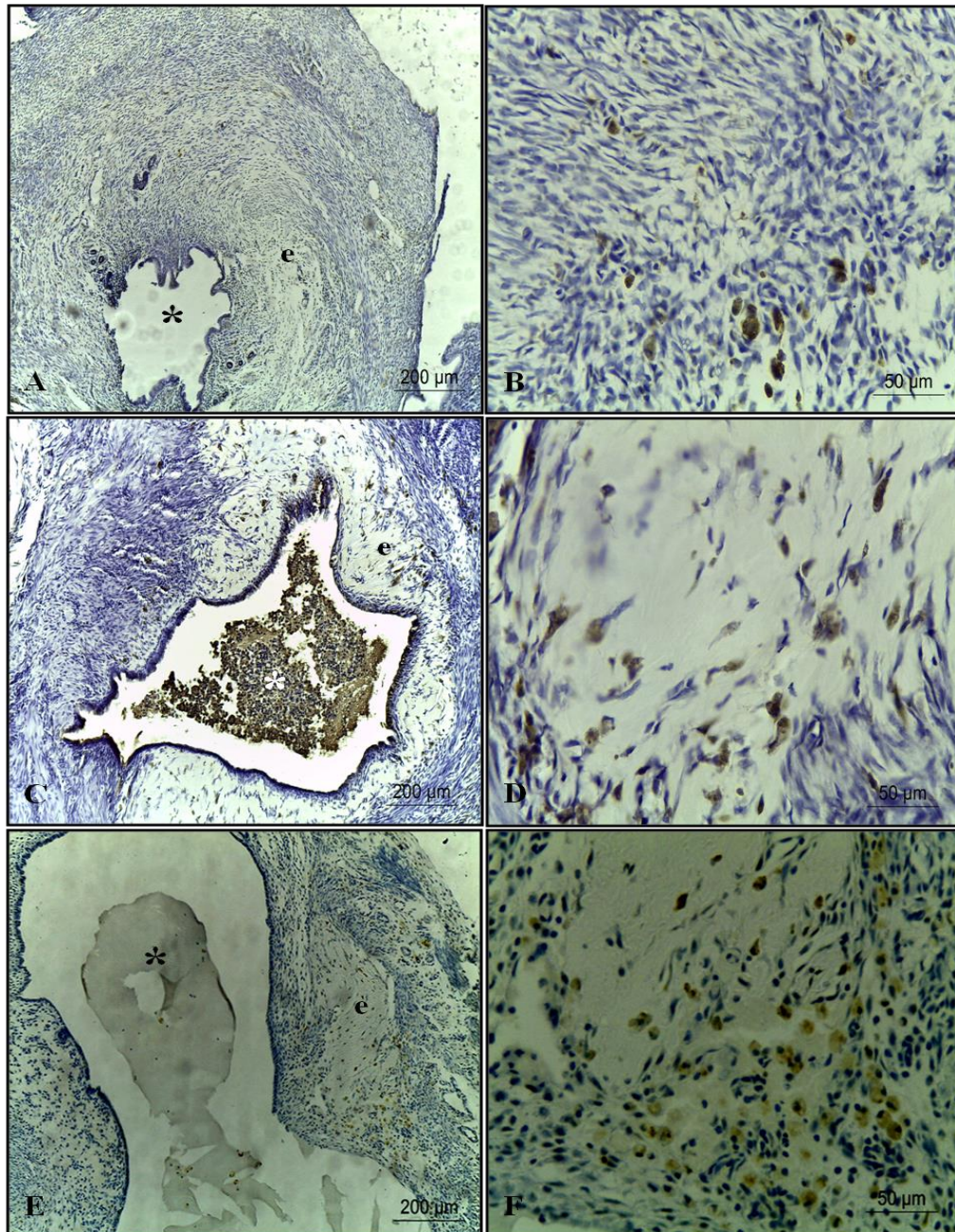


Figura 10. Implantes endometriais e detalhe do estroma mostrando células Túnel-positivas dos grupos G I (A-B), G II (C-D) e G III (E-F), respectivamente. Contra-Coloração H.E. Asterisco - cisto, e - estroma.

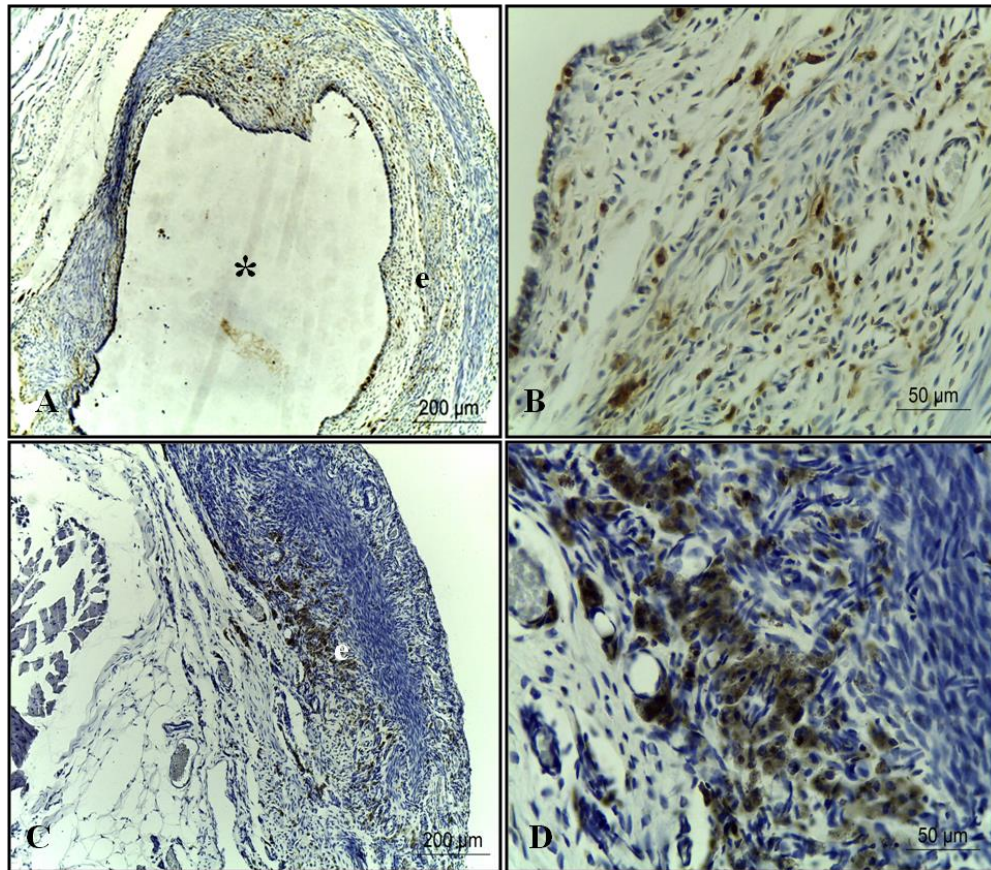


Figura 11. Implantes endometriais e detalhe do estroma mostrando células Túnel-positivas dos grupos G IV (A-B) e G V, respectivamente. Contra-Coloração H.E. Asterisco - cisto, e - estroma.

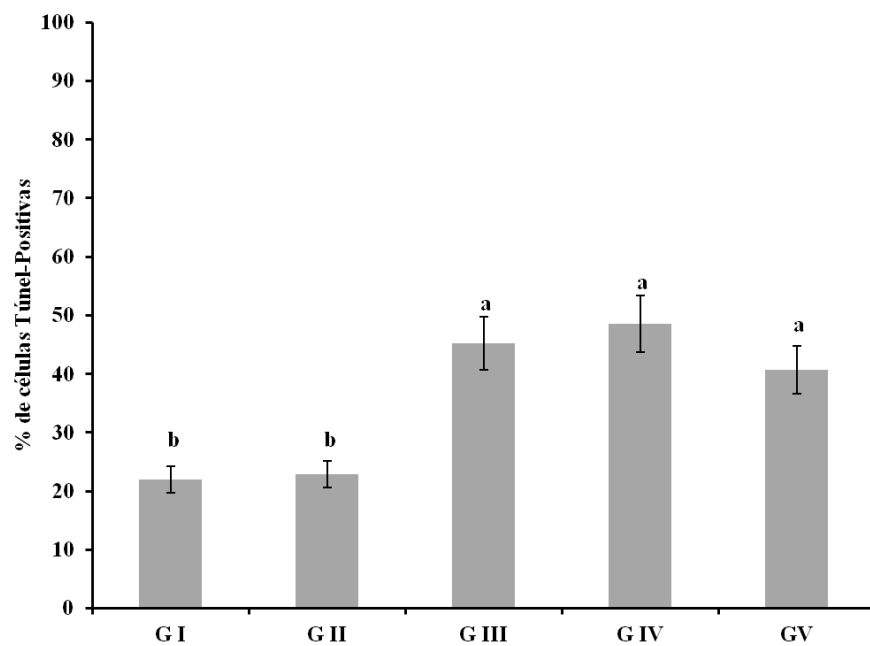


Figura 12. Índice apoptótico (IA) no estroma dos implantes endometriais. Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

4. Discussão

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma importante técnica de separação, uma vez que consegue separar misturas que contêm um grande número de compostos similares. A Espectometria de Massa (EM) é considerada uma das técnicas mais importantes de análise molecular devido ao seu potencial em fornecer informações de massa molecular, bem como sobre a estrutura do analito (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). Os resultados obtidos no nosso estudo, em relação a análise química do extrato etanólico bruto das cascas de *B. sartorum*, assemelham-se aos encontrados por Ruela et al. (2011), onde as catequinas e as procianidinas também foram identificadas no extrato metanólico das cascas dos caules *B. sartorum*, coletadas na cidade de Cabrobó-PE.

A espectroscopia de infravermelho é um método de análise que fornece informações quanto aos grupos funcionais dos compostos, e que juntamente com a absorbância obtida através do Ultravioleta visível, permite uma melhor caracterização dos compostos (QUEIROZ, 2009). O conjunto de dados obtidos pelas análises de infravermelho e UV indicam a presença de compostos aromáticos com hidroxilas, bem como de bandas em comprimento de onda que apresentaram pico máximo em torno de 280 nm. Estes resultados também foram encontrados por Verza et al. (2006), quando analisou as variáveis analíticas dos métodos de determinação do teor de taninos totais.

Alterações nas concentrações hormonais foram relatadas por vários autores em diferentes pesquisas, tentando relacionar as alterações existentes com o desenvolvimento da endometriose. Com relação a isso, foram encontradas anormalidades nos níveis de estrógeno, progesterona e prolactina, porém os dados na literatura são conflitantes. Os estágios iniciais da endometriose podem estar associados a níveis plasmáticos aumentados de estrógeno em comparação com mulheres sem a doença (PROVINCIALI et al., 1995). A ausência de

diferenças significativas nos níveis de progesterona entre pacientes com e sem endometriose também foi relatada (TIZINGOUNIS; MAGHIORACOS, 1985). Por outro lado, resultados opostos têm sido observados por outros estudos, os quais verificaram que alterações séricas de estradiol e progesterona estão diminuídas em mulheres com endometriose pélvica e que concentrações de progesterona também estão reduzidas no fluido peritoneal de mulheres com endometriose (KUSUHRA, 1992; CUNHA-FILHO ET AL., 2003). Em adição, outros estudos verificaram diminuição das concentrações de estradiol e progesterona bem como a hiperprolactinemia em mulheres com endometriose e que isso estava associada à infertilidade (CUNHA-FILHO et al., 2001, 2002, 2003). No presente estudo, observamos que ao comparar o grupo controle com os grupos tratados, os níveis séricos de estrógeno diminuíram e os de progesterona aumentaram apenas no grupo tratado com o extrato por 15 dias e que não houve diferença significativa nos níveis de prolactina.

Está bem estabelecido que os estrógenos estimulam diretamente o crescimento e desenvolvimento do tecido endometriótico (DE LIMA; ROSA; SILVA, 2006). Os flavonóides, tais como as catequinas, epicatequinas e procianidinas, são considerados fitoestrógenos, os quais podem atuar de maneira agonista ou antagonista aos receptores de estrógeno (RICHARDS, 2003.), deixando-nos sugerir que o tratamento por um longo período com o extrato etanólico de *B. sartorum* pode levar a um efeito antiestrogênico, causando diminuição do nível sérico de estrógeno, fato observado apenas no grupo V, e que contribuiu para a regressão dos implantes. Pesquisas mostram que os fatores que determinam qual resposta um fitoestrógeno produzirá são muito complexos. Além disso, sabe-se que os fitoestrógenos competem pelos receptores de estrógeno (RICHARDS, 2003).

A análise histológica mostrou que os implantes endometriais dos grupos I e II apresentaram-se totalmente aderidos à camada muscular, com grande quantidade de infiltração leucocitária e presença de glândulas, adquirindo formato de cistos, bem como da

presença de macrófagos. Estes aspectos também foram observados no trabalho de Batista, et al (2009). Sabe-se que a presença de infiltrado leucocitário é um indicativo do estabelecimento de um processo inflamatório crônico e, segundo alguns estudos, uma inflamação crônica caracteriza-se por dano tecidual persistente, em que os leucócitos polimorfonucleados são escassos ou podem estar ausentes, predominando os mononucleados, como macrófagos e linfócitos (BOUCHER; LEMAY; AKOUM; 2000).

Nos grupos tratados com o extrato etanólico de *B. sartorum*, foi evidente a redução do processo inflamatório nos implantes endometriais, confirmada pela análise morfométrica, sugerindo uma eficiência do tratamento em comparação com os grupos controle e placebo. Estudos mostraram que diversos compostos fenólicos, tais como as catequinas e epicatequinas, apresentam atividade antiinflamatória significativa (MUÑOZ-VELÁZQUEZ, ET AL. 2012). Logo, sugere-se que estes compostos podem ter se comportado como um antiinflamatório não-esteroidal, o qual tem a capacidade de inibir a ciclooxigenase-2 (COX 2), enzima que está envolvida na regulação de processos inflamatórios. Uma vez inibida, bloqueia a via de síntese das Prostaglandinas (PG), as quais amplificam o processo inflamatório causando aumento da permeabilidade vascular, edema, migração celular, dentre outros aspectos inflamatórios (CARVALHO; CARVALHO; SANTOS, 2004).

Sabe-se que os fibroblastos, responsáveis diretos pela síntese de colágeno, aumentam sua síntese em situações de elevados níveis estrogênicos, sendo, portanto, células estrógeno-dependentes (MEDEIROS et al., 2003; TEIXEIRA et al., 2002). Isto pode justificar os resultados obtidos pela análise histoquímica dos grupos I, II, III, IV, onde a análise do teor de fibras colágenas através de pixels mostrou que não houve diferença significativa. Deixando-nos sugerir que a redução dos níveis séricos de estrógeno, ocorridos no grupo V, não foi suficiente para reduzir a produção de colágeno.

Vários estudos têm demonstrado que a apoptose é menos frequente nas pacientes portadoras de endometriose do que nas pacientes sem a doença e que essa relação se mantém mesmo após as mudanças hormonais durante o ciclo menstrual (GEBEL et al., 1998.; MERESMAN et al., 2000; MENDONÇA; PAULA; MORO, 2013) o que corrobora com os resultados observados nos grupos I e II desta pesquisa. Outros estudos relatam que a utilização de antiinflamatórios não-esteroidais podem interferir na via intrínseca de ativação da apoptose, levando a uma supra-expressão das proteínas pró- apoptóticas BAK e BAX e a um aumento da atividade da caspase 3 (GONÇALVES et al., 2009), o que explicaria o aumento da apoptose nos grupos de tratamento com a *B. sartorum*.

5. Conclusão

Diante do exposto, conclui-se que o extrato etanólico bruto de *B. sartorum* é rico em compostos fenólicos, os quais utilizados por um período de 15 dias na dosagem de 32 mg/mL, pode favorecer a regressão do processo inflamatório em ratas induzidas a endometriose, diminuindo a secreção de estrógeno, a quantidade de vasos sangíneos e de glândulas endometriais. Além disso, foi capaz de induzir os processos apoptóticos, os quais também contribuíram para a visível regressão dos implantes endometrióticos. Entretanto, experimentos adicionais com os fracionados do extrato etanólico bruto e com os compostos isolados devem ser realizados para esclarecer melhor os mecanismos de ação envolvidos na atividade fitoestrogênica e antiinflamatória relacionados à endometriose.

4. Referências

- AGIC, A.; XU, H. O. N. G.; FINAS, D.; BANZ, C., DIEDRICH, K., HORNUNG, D. Is endometriosis associated with systemic subclinical inflammation?. **Gynecologic and obstetric investigation**, v. 62, n. 3, p. 139-147, 2006.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v.110, p.76-91, 2007.
- ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. 1.ed. Rio de Janeiro – Editora FIOCRUZ, 388p., 2002.
- ARAÚJO NETO, V.; BOMFIM, R. R.; OLIVEIRA, V. O. B.; PASSOS, A. M. P. R.; OLIVEIRA, J. P. R.; LIMA, C. A.; MENDES, S. S.; ESTEVAM, C. S.; THOMAZZI, S. M. Therapeutic benefits of *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. ex Roem. & Schult.) T.D. Penn., Sapotaceae, in experimental models of pain and inflammation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n. 6, p. 933-938, 2010.
- BATISTA, A. P. C.; DE MEDEIROS, P. L.; TEIXEIRA, Á. A. C.; TEIXEIRA, V. W. Análises histoquímica e morfométrica de lesões endometrióticas induzidas em ratas e tratadas com dexametasona. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 45, n. 2, p. 147-153, 2009.
- BELTRÃO, A. E. S.; TOMAZ, A. C. A.; BELTRÃO, F. A. S.; MARINHO, P. In vitro biomass production of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem & Schult). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.696-698, 2008.
- BOUCHER, A.; LEMAY, A.; AKOUM, A. Effect of hormonal agents on monocyte chemotactic protein-1 expression by endometrial epithelial cells of women with endometriosis. **Fertility and sterility**, v. 74, n. 5, p. 969-975, 2000.
- BRICOU, A.; BATT, R. E.; CHAPRON, C. Peritoneal fluid flow influences 1. anatomical distribution of endometriotic lesions: why Sampson seems to be right. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. v.138, n.2, p. 127-34, 2008.
- CARVALHO, C. V.; D'AMOTA, P.; SATO, H.; GIRÃO, M. J. B. C. Polimorfismo do gene do receptor de progesterona (PROGINS) em mulheres com endometriose pélvica. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia** [online]. v.26, n.8, p. 613-617, 2004.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; SANTOS, F. R. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 54, n. 3, p. 448-464, 2004.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 452p. 2006.

COSTA, G. D. **Correlação entre os níveis de BNDF e melatonina na endometriose**. Dissertação (Mestrado em Medicina: Ciências Médicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 90 p., 2012.

CUNHA-FILHO, J. S.; GROSS, J. L.; LEMOS, N.A.; DIAS, E.C.; VETTORI, D.; SOUZA, A.C. Prolactin and growth hormone secretion after thyrotrophic – releasing hormone infusion and dopaminergic (DA2) blockade in infertile patients with minimal/mild endometriosis. **Human Reproduction**. V. 17, n. 4, p. 960-965, 2002.

CUNHA-FILHO, J. S.; GROSS, J.L.; BASTOS DE SOUZA, C.A.; LEMOS, N.A.; GIUGLIANI, C.; FREITAS, F. Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**. V. 20, n. 3, p. 117-121, 2001a.

CUNHA-FILHO, J. S.; GROSS, J.L.; LEMOS, N.A.; BRANDELLI, A.; CASTILLOS, M.; PASSOS, E. P. hyperprolactinemia and luteal insufficiency in infertile patients with mild and minimal endometriosis. **Hormone and Metabolic Research**. V. 33, n. 4, p. 216-220, 2001b.

CUNHA-FILHO, J.S.L.; SOUZA, C.; ALBUQUERQUE, L.; GUIGLIANI, C.;FREITAS, F.; PASSOS, E.P. Physiopatologycal aspect of corpus luteum defect of infertile patient with endometriosis. *J Assist Reprod Genet*. v. 20, n. 3, p. 117-121, 2003.

DE LIMA, A. P.; ROSA, A. A. M.; SILVA, M. D. M. Concentrações de FSH, LH, estradiol, progesterona e histamina no soro, no fluido peritoneal e no fluido folicular de mulheres com e sem endometriose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 11, p. 643-651, 2006.

ESKENAZI, B.; WARNER, M. L. Epidemiology of endometriosis. **Obstetrics and gynecology clinics of North America**, v. 24, n. 2, p.235-258, 1997.

FILIPOY, A. Medicinal plant of the Pilage of Central Chaco. **Journal of Ethnopharmacology**.v. 44, p. 181-193, 1994.

GEBEL, H. M.; BRAUN, D. P.; TAMBUR, A.; FRAME, D.; RANA, N.; DMOWSKI, W. P. Spontaneous apoptosis of endometrial tissues impaired in women with endometriosis. **Fertility and Sterility**. v.6, p. 1042-1047, 1998.

GONÇALVES, C. A. P.; BOTTEON, P. D. T. L.; ALVES, G. E. S.; FALEIROS, R. R.; LEME, F. D. O. P.; MENDES, H. M. F.; VASCONCELOS, A. C. **Apoptose de células epidermais lamelares em eqüinos com laminite induzida e tratados com anti-inflamatórios não esteroidais**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. 55 p. 2009.

JACOBSON, T. Z.; BARLOW, D. H.; KONINCKX, P. R.; OLIVE, D.; FARQUHAR, C. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews**, v. 4, 2002.

KARASEK, M.; PAWLIKOWSKI, M.; LEWIŃSKI, A. Hyperprolactinemia: causes, diagnosis, and treatment. **Endokrynologia Polska**. v.57, n.6, p.656-662, 2006.

KUSUHRA, K. Luteal function in infertile patients with endometriosis. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**. V.167, n.1, p274-277, 1992.

LIMA, A. P. D.; MOURA, M. D. D. FSH, LH, estradiol, progesterone, and histamine concentrations in serum, peritoneal fluid and follicular fluid of women with and without endometriosis. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v.28, n.11, p.643-651, 2006.

LOSA, M.; BARZAGHI, R. L. A.; MORTINI, P.; FRANZIN, A.; MANGILI, F.; TERRENI, M. R.; GIOVANELLI, M. Determination of the proliferation and apoptotic index in adrenocorticotropin-secreting pituitary tumors. **American Journal of Pathology**. v. 156, n. 1, p. 245-251, 2000.

MEDEIROS, J. P. et al. Ultrastructural analysis of pinealectomy and lack of light influence over collagen in the endometrium of rats. **Revista Chilena de Anatomia**, v. 21, n. 3, p. 231-5, 2003.

MENDONÇA, M.; PAULA, L. B.; MORO, L. Apoptose no endométrio: humano e endometriose. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 101, n. 6, 2013.

MERESMAN, G. F., VIGHI, S., BUQUET, R. A., CONTRERAS-ORTIZ, O., TESONE, M., & RUMI, L. S. Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. **Fertility and Sterility**. v. 74, p. 760-766, 2000.

MUÑOZ-VELÁZQUEZ, E. E.; RIVAS-DÍAZ, K.; LOARCA-PIÑA, M.; FLAVIA, G.; MENDOZA-DÍAZ, S.; REYNOSO-CAMACHO, R.; RAMOS-GÓMEZ, M. Comparación del contenido fenólico,

capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, Jun 2012, vol.3, no.3, p.481-495.

NÁCUL, A. P.; SPRITZER, P. M. Aspectos atuais do diagnóstico e tratamento da endometriose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 32, n. 6, p. 298-307, 2010.

NETO, J. N.; COELHO, T. M.; AGUIAR, G. C.; CARVALHO, L. R.; DE ARAÚJO, A. G. P.; GIRÃO, M. J. B.; SCHOR, E. Experimental endometriosis reduction in rats treated with *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extract. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v.154, n.2, p. 205-208, 2010.

OLIVER, D. L.; PRITTS, A. E. Treatment of endometriosis. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n.4, p. 266-75, 2001.

PODGAEC, S. **Padrões de resposta imune em pacientes com endometriose**. Tese (Doutorado em Medicina), Universidade de São Paulo, São Paulo, 87 p. 2006.

PROVINCIALI, M.; DI STEFANO, G; MUZZIOLI, M; GARZETTI, G.G; CIAVATTINI, A; FABRIS, N. Relationship between 17-beta-estradiol and prolactin in the regulation of natural killer cell activity during progression of endometriosis. **Journal of Endocrinological Investigation** . v. 18, n. 8, p. 645-652, 1995.

QUEIROZ, G. S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. Monografia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 56 p. 2009.

RICHARDS, E. S. Los metabolitos de las plantas y las células cancerosas I. Los flavonoides. **Revista de Educación Bioquímica**. V.22, n.4, p. 191-197, 2003.

RUELA, H.; LEAL, I.C.R.; ALMEIDA, M.R.A.; SANTOS, K.R.N.; WESSJOHANN, L.A.; KUSTER, R.M. Antibacterial and antioxidant activities and acute toxicity of *Bumelia sartorum*, a Brazilian medicinal plant. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 86-91, 2011.

SAS Institute. SAS/STAT User's Guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute,Cary, NC, USA. 2001

SHARPE-TIMMS, K. L.; PIVA, M.; RICKE, E. A.; SUREWICZ, K.; ZHANG, Y. L.; ZIMMER, R. L. Endometriotic lesions synthesize and secrete a haptoglobin-like protein. **Biology of reproduction**, v. 58, n. 4, p. 988-994, 1998.

TEIXEIRA, A. A. C.; SIMÕES, M. J.; EVÊNCIO NETO, J., WANDERLEY-TEIXEIRA, V. Morphologic aspects of the endometrium, in the estrus phase, of pinealectomized rats. **Revista Chilena de Anatomia**. v.20, n.2, p.145-149, 2002.

TIZINGOUNIS, V.; MAGHIORACOS, P. Luteal insufficiency and endometriosis. Comparative study of plasma progesterone and of the evolutionary satage. **Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology** (Paris). V. 14, n.4, p. 455-458, 1985.

VERNON, M. W.; WILSON, E. A. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. **Fertility and Sterility**. v. 44, p. 684–694, 1985.

VERZA, S. S.; MATOS, C. A. O.; GARCIA, M. G.; NAGAMOTO, N. S. Attractiveness of citrus pulp and range albedo extracts370. XVIII Simpósio de Mirmecologia Biológico, São Paulo, v.69, suplemento 2, p.369-370, 2007 to Atta sexdens rubropilosa (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v.47, n.2, p.391-399, 2006.

WEIBEL, E. R.; KISTLER, G. S.; SCHERLE, W. F. Practical stereological methods for morphometric cytology. **The Journal of cell biology**, v. 30, n. 1, p. 23-38, 1966.

WU, X.; CHENG, B.; CAI, Z. D.; LOU, L. M. Determination of the apoptotic index in osteosarcoma tissue and its relationship with patients prognosis. **Cancer Cell International**., v. 13, n. 56, p. 1-4, 2013.

ZHOU, X.M.; WONG, B.C.Y.; FAN, X.M.; ZHANG, H.B.; LIN, M.C.M.; KUNG, H.F.; FAN, D.M. ; LAM, S.K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs induce apoptosis in gastric cancer cells through up-regulation of bax and bak. **Carcinogenesis**. v.22, n.9, p. 1393 – 1397, 2001.