

Apoptose no endométrio humano e endometriose

MARCOS MENDONÇA

Professor adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

LIV BRAGA DE PAULA

Mestranda em Saúde da Mulher no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

LUCIANA MORO

Médica veterinária. Professora adjunta do Departamento de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Resumo

A apoptose tem papel fundamental na manutenção da homeostase tissular e na eliminação de células geneticamente alteradas ou que albergam vírus. No ciclo menstrual, a apoptose atua contribuindo para a homeostase celular do endométrio, eliminando as células da camada funcional endometrial durante as fases secretora e menstrual do ciclo. A família do oncogene Bcl-2 tem sido extensamente estudada no tecido endometrial e endometriótico. O endométrio eutópico de mulheres com a endometriose apresenta diferenças fundamentais ao ser comparado com o endométrio de pacientes sem endometriose. Essas diferenças podem ser responsáveis pela sobrevivência das células endometriais advindas do fluxo menstrual retrógrado na cavidade peritoneal e no desenvolvimento da endometriose. Este artigo consiste numa revisão da literatura sobre a importância da morte celular via apoptose no endométrio normal e no endométrio de mulheres portadoras de endometriose.

Summary

Apoptosis is very important in the homeostasis of tissues. Its function consists in the elimination of the excessive or dysfunctional cells. In menstrual cycle, the role of apoptosis is the homeostasis of endometrium, eliminating all cells of the functional layer during secretory phase and menstruation. The oncogene Bcl-2 family has been studied in endometrium and endometriosis. Ectopic endometrium from women with endometriosis has differences from endometrium of patients without the disease. These differences can be responsible for the survival of endometrial cells regurgitated in peritoneal cavity and development of endometriosis. The apoptosis is being studied in the pathogenesis of endometriosis. This paper consists in a review of apoptosis, its role in the endometrium of patients with and without endometriosis.

Introdução

Endometriose é o termo que define a presença de tecido glandular ou estroma endometrial funcionante fora do útero. É uma afecção comum que ocorre em 5% a 15% das mulheres durante o período reprodutivo (1). As manifestações clínicas mais frequentes dessa alteração incluem: dor abdominal, dismenorrea, dispareunia e infertilidade (4).

Embora a primeira descrição de endometriose tenha sido feita no início do século passado, por Sampson em 1927, e de sua prevalência ser elevada, pouco se conhece sobre a etiologia e fisiopatologia desta doença (1).

Com relação à etiopatogenia, várias teorias têm sido propostas, tais como: o desenvolvimento do tecido endometrial através de metaplasia ou a partir de remanescentes müllerianos

Unitermos: Apoptose; ciclo menstrual; endometriose.

Keywords: Apoptosis; menstrual cycle; endometriosis.

e o crescimento endometrial após implante de células do endométrio presentes no fluxo menstrual retrógrado.

Vinatier, em 2001, sugeriu que além da presença das células endometriais ectópicas, outros fatores devem estar associados para o desenvolvimento da endometriose. Uma das alterações evidenciadas no endométrio ectópico e eutópico de pacientes com endometriose é a alteração na regulação da apoptose celular.

O objetivo deste artigo é abordar a importância da morte celular via apoptose no endométrio e sua implicação na etiopatogenia da endometriose.

Apoptose

A morte celular programada (apoptose) é um tipo de morte celular responsável pelo desenvolvimento e homeostase de vários tecidos, incluindo o endométrio (12). Sua importância baseia-se na sua participação no desenvolvimento embrionário e na organogênese, na renovação de células epiteliais, na involução cíclica dos órgãos reprodutivos, na hipotrofia induzida pela remoção de fatores de crescimento ou de hormônios, na involução de alguns órgãos (p. ex.: timo) e ainda na regressão de tumores (13).

A apoptose é um processo rápido (que se completa em torno de três horas) e assíncrono. Desse modo, se cerca de 2%-3% das células de um tecido estiverem morrendo via apoptose em um determinado momento, haverá regressão substancial do mesmo. Assim sendo, é um tipo de morte celular desejável programada e seletiva, que envolve células isoladas, sendo regulada intrínseca e extrinsecamente (13).

A morte celular programada pode ser dividida em pelo menos três fases: ativação (através de sinais de indução da apoptose), regulação e execução. Durante o processo ocorrem e alterações bioquímicas e estruturais celulares (1).

Com relação à indução, uma variedade de estímulos, tais como privação de fatores de crescimento, uso de glicocorticoides, danos no DNA, exposição à radiação ionizante, tratamentos utilizando drogas quimioterápicas e/ou estresse, pode ativar a apoptose (1).

O mecanismo do processo de apoptose pode ocorrer envolvendo múltiplas vias independentes, nas quais podem atuar intermediários de sinalização distintos. Na maio-

ria dos casos, essas vias convergem para a ativação de proteases de cisteína (caspases), conduzindo à proteólise de substratos celulares vitais.

As proteínas da família Bcl-2 funcionam como controle-chave da maquinaria efetora de morte celular. Os membros pré-apoptóticos da família Bcl-2 possuem a habilidade de formar canais iônicos nas membranas citoplasmáticas de mitocôndrias, no envelope nuclear e no retículo endoplasmático. Assim, ruptura na membrana mitocondrial resultaria em liberação de fatores indutores da apoptose (8).

Grande parte do avanço no entendimento dos eventos intracelulares reguladores da apoptose foi proporcionada pela identificação de alguns genes, como os da família Bcl-2 (do inglês: *B-cell lymphoma 2 gene*) (12).

O Bcl-2 localiza-se no cromossomo 18 e consiste em um proto-oncogene inibidor da apoptose — é a molécula melhor caracterizada do mecanismo de apoptose e considerada um repressor da morte celular (1, 11). Atualmente já foram descritos pelo menos 10 genes pertencentes à família Bcl-2. Com base na sua função podemos dividi-los em dois grupos: os inibidores da apoptose Bcl-2, Bcl-x longo, Bcl-w e Mcl-1, e os indutores da apoptose como Bax, Bcl-x curto, Bak e Bad (5). Os membros da família Bcl-2 interagem através de associação homodimérica e heterodimérica; ou seja, a suscetibilidade de uma célula a um estímulo apoptótico é determinada pela proporção de membros pró-apoptóticos e antiapoptóticos presentes nas células naquele momento (5).

À microscopia de luz, as células apoptóticas apresentam-se isoladas, têm forma irregular, tipicamente circundadas por um halo claro (anoíquia). Tais células apresentam cromatina condensada e basofílica com citoplasma retraído e acidófilo. O núcleo apresenta-se retraído, fortemente basófilo, com cromatina condensada, algumas vezes compactada na carioteca sob a forma de crescente. Os corpos apoptóticos são principalmente visíveis quando contêm fragmentos do núcleo (ver Figura) (10, 13).

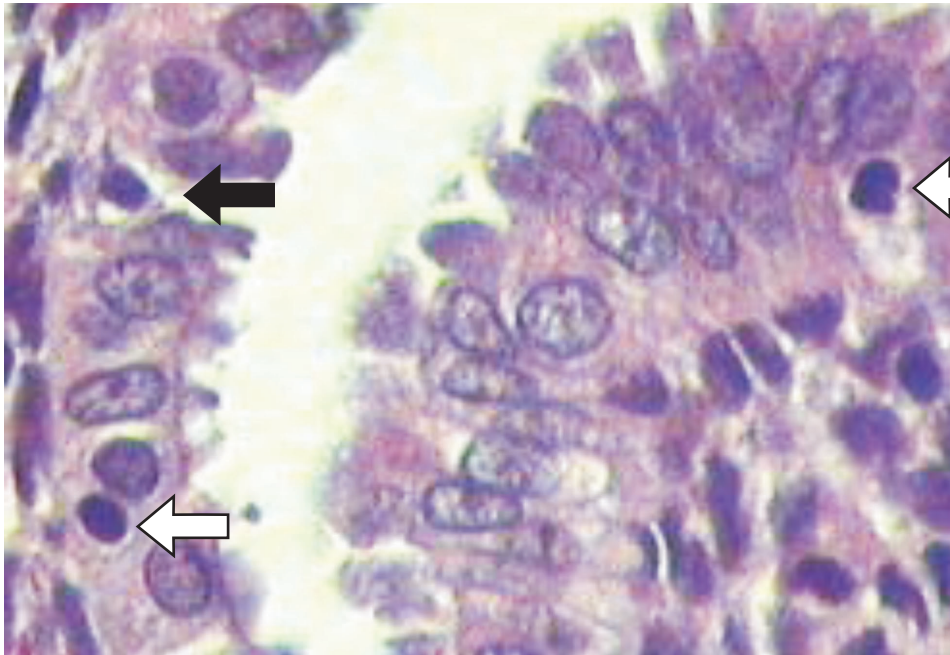
Várias alterações moleculares podem ser observadas quando a célula entra em apoptose e muitas delas têm sido utilizadas para detectar esse tipo de morte celular. Entre essas, ressalta-se a clivagem do DNA genô-

Pontos-chave:

> A morte celular programada (apoptose) é um tipo de morte celular responsável pelo desenvolvimento e homeostase de vários tecidos, incluindo o endométrio;

> É um processo rápido (que se completa em torno de três horas) e assíncrono;

> Envolve células isoladas, sendo regulada intrínseca e extrinsecamente.



As evidências sugerem que a apoptose auxilia na manutenção da homeostase celular durante o ciclo menstrual, eliminando as células da camada funcional do endométrio nas fases secretoras tardia e menstrual.

Figura: Apoptose no endométrio. Corte de endométrio corado em hematoxilina-eosina, mostrando a presença de células em apoptose em microscopia óptica com aumento de 40x. Notam-se, nas setas brancas, os núcleos retraídos com cromatina condensada e as células com aspecto irregular, isoladas e de halo claro pericelular (seta preta).

mico em fragmentos múltiplos de 180-200 pares de bases, que é um quadro típico de apoptose em vários sistemas celulares. Na apoptose, como consequência da atividade de endonucleases, o DNA sofre fragmentação internucleossômica, sem nenhuma especificidade de sequência, porém mais intensa na cromatina em configuração aberta. Essa fragmentação característica do genoma é facilmente visualizada laboratorialmente pela eletroforese de DNA em gel de agarose, produzindo o clássico padrão em escada.

Todavia, esse método não provê informação sobre a localização histológica das células em apoptose. Esse problema pode ser solucionado marcando-se, *in situ*, as extremidades 3'-OH do DNA fragmentado. Para tanto, utiliza-se a enzima transferase de deoxinucleotídeo terminal (Tdt), que incorpora nucleotídeos marcados às extremidades livres do genoma. Esse método é denominado técnica de TUNEL — marcação *in situ* da fragmentação do genoma com transferase de deoxinucleotídeo terminal (13).

Apoptose no endométrio normal

Hopwood & Levinson (14) realizaram o primeiro estudo sobre a apoptose no endomé-

trio humano e identificaram alterações morfológicas características de apoptose no endométrio que variam de acordo com a fase do ciclo menstrual. Concluíram que há uma considerável perda de tecido epitelial glandular com formação de corpos apoptóticos na fase secretora tardia, pré-menstrual e menstrual, e em menor extensão, na fase proliferativa.

As evidências sugerem que a apoptose auxilia na manutenção da homeostase celular durante o ciclo menstrual, eliminando as células da camada funcional do endométrio nas fases secretoras tardia e menstrual. (1).

McLaren *et al.* (4), ao investigar a relação entre Bcl-X/Bax no endométrio, observaram que estes são encontrados predominantemente nas células epiteliais glandulares e que a expressão de Bcl-2 é mais intensa na fase proliferativa do ciclo menstrual (9).

A apoptose foi detectada no epitélio glandular nas fases secretora e menstrual, entretanto, muito pouco deste fenômeno pode ser observado nas fases proliferativa ou secretora inicial. Considerando-se a natureza cíclica da apoptose no endométrio, parece razoável supor que o estrogênio e a progesterona possam regular os fatores apoptóticos no endométrio. Alguns autores sugerem que os es-

teroides ovarianos podem alterar a apoptose através da regulação da expressão dos oncogenes Bcl-2 e Bax.

Apoptose e endometriose

O endométrio eutópico e ectópico das pacientes portadoras de endometriose apresenta diferenças fundamentais em relação ao endométrio das mulheres sem a doença. Dentre estas podemos observar as anomalias estruturais, componentes imunes, moléculas de aderência, enzimas proteolíticas e seus inibidores, produção de citocinas, expressão genética e produção proteica (2).

Essas alterações podem contribuir na sobrevivência das células advindas do fluxo menstrual retrógrado na cavidade abdominal e no desenvolvimento da endometriose. Um dos mecanismos que tem recebido grande atenção atualmente é a apoptose no endométrio eutópico e ectópico das pacientes portadoras de endometriose.

McLaren *et al.* (4) analisaram o endométrio de 10 pacientes portadoras de endometriose e 10 pacientes sem endometriose para investigação da expressão do Bcl-2 e Bax. A obtenção da amostra do endométrio foi realizada através da dilatação do colo uterino com vela de Hegar nº 8 e posterior curetagem. Foi observada maior expressão do Bcl-2 e Bax nas pacientes com endometriose.

Gebel *et al.* (3) realizaram um estudo avaliando a apoptose em endométrio tópico de 20 mulheres, sendo 10 delas portadoras de endometriose e 10 do grupo controle. Foram incluídas pacientes submetidas à videolaparoscopia que apresentavam implantes endometriais exofíticos, das quais os fragmentos de endométrio foram obtidos utilizando-se cureta de Novak. A análise da apoptose foi realizada através da detecção de morte celular baseado em ELISA. Como resultado, demonstrou-se que a apoptose foi menos frequente nas pacientes portadoras de endometriose do que nas pacientes sem a doença. Essa relação se manteve mesmo após a estratificação da fase do ciclo menstrual. Com base nos resultados, os autores descreveram que há uma diminuição da suscetibilidade do endométrio à apoptose que pode contribuir para a etiopatogenia da doença.

Meresman *et al.* (2) avaliaram e compararam a apoptose e a expressão do Bcl-2 e

Bax no endométrio eutópico de 14 pacientes com endometriose e de 16 pacientes sem a doença. As amostras de endométrio foram coletadas através de curetagem com cureta de Novak e as células apoptóticas detectadas com o uso da técnica do TUNEL. A análise da expressão do Bcl-2 e Bax foi obtida através da realização da imuno-histoquímica. Observou-se que a apoptose no endométrio eutópico foi menos frequente nas pacientes com endometriose quando comparado ao grupo-controle — independente da fase do ciclo menstrual. Foi evidenciado aumento na expressão da proteína Bcl-2 na fase proliferativa do ciclo menstrual de mulheres com endometriose e houve aumento na expressão do Bax na fase secretora de ambos os grupos. Concluiu-se que as mulheres com endometriose apresentam menor número de células apoptóticas no tecido tópico e que a sobrevivência anormal destas células pode resultar no seu crescimento em localizações ectópicas.

Dmowski, em 2001, demonstrou que o índice apoptótico no epitélio glandular do endométrio foi significativamente menor nas pacientes com endometriose quando comparadas ao grupo-controle.

Jones *et al.* (11) selecionaram 30 pacientes com diagnóstico de endometriose e 30 sem a doença e avaliaram a expressão do Bcl-2 e a apoptose no endométrio tópico de ambos os grupos. As células apoptóticas foram detectadas utilizando a técnica do TUNEL e a expressão do Bcl-2 foi demonstrada com utilização de imuno-histoquímica. Foi evidenciado que as células apoptóticas eram raras no tecido endometrial do grupo-controle e não foi identificada diferença entre esse grupo e o grupo de pacientes com endometriose. A expressão do Bcl-2 encontrava-se significativamente ($p < 0,05$) aumentada na fase secretora tardia do endométrio de pacientes com endometriose.

Considerações finais

A diminuição da ocorrência da apoptose pode resultar em sobrevivência anormal das células endometriais, sendo um dos fatores associados à patogênese da endometriose.

Pontos-chave:

> O endométrio eutópico e ectópico das pacientes portadoras de endometriose apresenta diferenças fundamentais em relação ao endométrio das mulheres sem a doença;

> Dentre estas podemos observar as anomalias estruturais, componentes imunes, moléculas de aderência;

> Também enzimas proteolíticas e seus inibidores, produção de citocinas, expressão genética e produção proteica.

Referências

1. HARADA, T.; KAPONIS, A. *et al.* — Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum. Reprod. Update*, 10: 29-38, 2004.
2. MERESMAN, F.G.; VIGHI, S. *et al.* — Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil. Steril.*, 74: 760-6, 2000.
3. GEBEL, M.H.; BRAUN, D.P. *et al.* — Spontaneous apoptosis of endometrial tissues impaired in women with endometriosis. *Fertil. Steril.*, 69: 1042-7, 1998.
4. MCLAREN, J.; PRENTICE, A. *et al.* — Immunolocalization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2 and Bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hum. Reprod.*, 12: 146-52, 1997.
5. TAO, X.J.; SAYEGH, R.A. *et al.* — Elevated expression of the proapoptotic Bcl-2 family member, Bak, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil. Steril.*, 70: 338-43, 1998.
6. ORAZI, V.D.; COSSON, M. & DUFOUR, P. — Theories of endometriosis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 96: 21-34, 2001.
7. TIMMS, K.L. — Endometrial anomalies in women with endometriosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 943: 131-47, 2001.
8. O'REILLY, L.A. & STRASSER, A. — Apoptosis and autoimmune disease. *Inflamm. Res.*, 48: 5-21, 1999.
9. GOMPEL, A.; SABOURIN, J.C. *et al.* — Bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle. *Am. J. Pathol.*, 6: 1195-202, 1994.
10. SILVA, M.B. — *Ultra-estrutura do endométrio de rata após castração: Autofagocitose e apoptose*. Tese de Mestrado. Belo Horizonte, Faculdade de Medicina, UFMG, 1998.

Obs.: As oito referências restantes que compõem este artigo se encontram na Redação, à disposição dos interessados.

Endereço para correspondência:

Marcos Mendonça
Rua Gustavo Pena, 44 —
4º andar — Bairro Horto
31015-060
Belo Horizonte-MG
mendonça@medicina.ufmg.br

Consulte o DEF na internet

O mais completo guia de
medicamentos do país em versão
on-line e com acesso gratuito

(área restrita a profissionais de saúde)

www.def.com.br

- Mesmo conteúdo do DEF impresso
- Busca por produtos, laboratórios, indicações terapêuticas, grupos farmacológicos e nomes químicos/genéricos



DEF Web – consulta fácil, dinâmica e atualizada.

Um produto da Editora de Publicações Científicas Ltda.