

Polimorfismos nos genes *VEGF* e *KDR* no desenvolvimento da endometriose: revisão sistemática

Jessica Vilarinho Cardoso ¹
Daniel Escorsim Machado ²
Renato Ferrari ³
Mayara Calixto da Silva ⁴
Plínio Tostes Berardo ⁵
Jamila Alessandra Perini ⁶

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Osvaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

^{2,4,6} Laboratório de Pesquisa de Ciências Farmacêuticas. Unidade de Farmácia. Centro Universitário Estadual da Zona Oeste. Av. Manoel Caldeira de Alvarenga, 1203. Campo Grande. Rio de Janeiro, RJ, Brasil. CEP: 23.070-200. E-mail: jAMILAPERINI@yahoo.com.br

³ Serviço de Ginecologia. Hospital Moncorvo Filho. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁵ Serviço de Ginecologia. Hospital Federal dos Servidores do Estado. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

Objetivos: revisar os trabalhos que utilizaram o delineamento caso-controle para verificar a associação de polimorfismos nos genes *VEGF* e *KDR* no desenvolvimento da endometriose.

Métodos: revisão sistemática que pesquisou nas bases de dados PubMed, MEDLINE, BVS, SciELO os artigos publicados até o dia 1 de setembro de 2015, considerando os descritores: endometriosis and ("polymorphism" or "SNP" or "genetic polymorphism") and ("*VEGF*" or "*Vascular endothelial growth factor*" or "*VEGFR-2*" or "*Vascular endothelial growth factor-2*" or "*KDR*" or "*Kinase Insert Domain Receptor*").

Resultados: identificou-se 106 artigos, sendo 11 considerados elegíveis. Observou-se resultados discrepantes quanto aos polimorfismos no gene *VEGF* no desenvolvimento da endometriose, podendo ser explicados pelas diferenças metodológicas, pelo tamanho amostral, pelo tipo de controle elegível, pela utilização da estimativa de risco não ajustada e pela heterogeneidade das populações estudadas. Apenas um estudo investigou polimorfismos no gene *KDR* no desenvolvimento da endometriose, contudo não foi elegível nesta revisão.

Conclusões: para evitar as discrepâncias dos resultados observados sugerimos que o grupo controle ideal deva ser formado por mulheres férteis e livres de doenças ginecológicas. Estudos multicêntricos com delineamento adequado, envolvendo diferentes populações, além da análise combinada de polimorfismos nos genes *VEGF* e *KDR* ainda são necessários para contribuir no entendimento desta doença que é um problema social, clínico e econômico.

Palavras-chave Endometriose, *VEGF*, *KDR*, Polimorfismos, Infertilidade

Introdução

A endometriose é uma doença ginecológica, caracterizada pela presença de tecido endometrial funcional fora da cavidade uterina, representando um dos distúrbios ginecológicos benignos mais comuns.¹ O real perfil das pacientes com endometriose é impreciso, embora haja consenso de que ela esteja presente em pelo menos 10% das mulheres em idade reprodutiva,^{2,3} 30 a 50% das mulheres inférteis⁴ e 3 a 5% das mulheres na pós-menopausa.⁵

As mulheres portadoras de endometriose podem ser assintomáticas (10,7%), no entanto, a maioria apresenta sintomas, em diferentes intensidades, sendo os principais: dismenorreia (52-97%), dor pélvica crônica (22-69%), infertilidade (25-59%), dispareunia de profundidade (44-71%) e sintomas intestinais (71%) e urinários cíclicos (60%).⁶⁻⁸ A endometriose acarreta consequências físicas, mentais e sociais na mulher, tendo em vista que sua psique e suas relações interpessoais e conjugais são afetadas pelos problemas decorrentes dos sintomas, em especial, pela dificuldade de gerar filhos.⁹

Várias são as teorias para explicar o surgimento da endometriose, entretanto sua etiologia ainda não está clara. A teoria mais aceita até hoje é a proposta por Sampson,¹⁰ que descreveu que o tecido endometrial, por fluxo menstrual retrógrado, retorna pelas tubas uterinas e adere à cavidade peritoneal. Para que isso ocorra, o processo de angiogênese, caracterizado pelo crescimento de novos vasos a partir de vasos pré-existentes, é essencial.¹¹ Dentre os fatores pró-angiogênicos destaca-se o fator de crescimento edotelial vascular (*VEGF*), que assume um importante papel no desenvolvimento da endometriose.¹¹ Em 2008, nosso grupo observou um aumento da distribuição de *VEGF* e seu receptor, *VEGFR-2*, em amostras de endometriose de ovário, bexiga e no reto sigmóide, quando comparadas ao seu controle, sendo que a maior distribuição de *VEGF* e *VEGFR-2* foi observada na endometriose do reto-sigmóide, considerada a mais grave.¹²

O *VEGF* é codificado por um gene com o mesmo nome, localizado no cromossomo 6p21.3, composto por oito *éxons*,¹³ enquanto que o seu receptor, *VEGFR-2*, é codificado pelo gene *KDR* (receptor do domínio de inserção da cinase), localizado no cromossomo 4q11-q12, sendo composto por trinta *éxons*.¹⁴ Ambos os genes são polimórficos, destacando-se no estudo da endometriose cinco polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) no gene *VEGF* (rs699947, rs833061, rs1570360, rs2010963 e rs3025039) e três no gene *KDR* (rs1870377,

rs2305948 e rs2071559), em virtude da alta frequência em que ocorrem nas diferentes populações, além de todos interferirem de forma significativa na atividade ou expressão da enzima.¹⁵⁻¹⁸

Recentemente, nosso grupo observou uma associação positiva para o SNP *VEGF* rs1570360 no desenvolvimento da endometriose (OR: 1,90; IC95%: 1,23 – 2,97) em mulheres brasileiras.⁸ Diversos estudos do tipo caso-controle também já investigaram a influência de SNPs no gene *VEGF* ou *KDR* no desenvolvimento da endometriose.^{8,17,19-37} Entretanto, os resultados das análises ainda são controversos. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi revisar todos os trabalhos que utilizaram o delineamento de estudo do tipo caso-controle para investigar a magnitude de associação de SNPs dos genes *VEGF* e/ou *KDR* na susceptibilidade de desenvolver a endometriose, com o intuito de discutir as possíveis causas dos resultados controversos já descritos.

Métodos

Para identificar todos os estudos publicados até o dia 1 de setembro de 2015, sobre as associações entre SNPs de *VEGF* e/ou *KDR* e o desenvolvimento da endometriose foi realizada uma avaliação dos títulos e dos resumos (abstracts) dos estudos encontrados por dois pesquisadores, de forma independente e “cegada”, na base de dados do PubMed, MEDLINE, BVS e SciELO, utilizando os seguintes descritores: (“*endometriosis*” OR “endometriose”) AND (“*polymorphism*” OR “polimorfismo” OR “SNP” OR “*genetic polymorphism*” OR “polimorfismos genéticos”) AND (“*VEGF*” OR “Vascular endotelial growth factor” OR “Fator de crescimento endotelial vascular” OR “*VEGFR-2*” OR “Vascular endotelial growth fator-2” OR “Fator de crescimento endotelial vascular-2” OR “*KDR*” OR “*Kinase Insert Domain Receptor*” OR “Receptor do domínio de inserção da cinase”). Os estudos foram selecionados seguindo os critérios de inclusão e exclusão, pré-selecionados, conforme descritos a seguir.

Como critério de inclusão para esta revisão foram selecionados estudos que utilizaram um desenho do tipo caso-controle e que avaliaram associações entre polimorfismos do gene *VEGF* e/ou *KDR* e o desenvolvimento da endometriose. Quanto ao período de publicação foram incluídos artigos publicados até setembro de 2015, sem restrição de idioma.

Os critérios de exclusão dos estudos foram: (i) ausência de uma população controle; (ii) dados de associações incompletos; (iii) dados em duplicata;

(iv) meta-análise, revisão, cartas, comentários ou artigos editoriais; (v) aqueles que não analisaram SNPs no *VEGF* e/ou *KDR*; (vi) os que não incluíram pacientes com endometriose; (vii) e aqueles aos quais não tivemos acesso ao texto na íntegra.

Depois de realizada a estratégia de busca na base de dados do PubMed, MEDLINE, BVS e SciELO dos artigos que estudaram SNPs nos genes *VEGF* e/ou *KDR* com o desenvolvimento da endometriose, as seguintes informações foram extraídas: primeiro autor; ano de publicação; revista; país em que o estudo foi realizado; número de casos e controles; média de idade dos casos e controles com seus respectivos desvios de padrão e/ou intervalo; critérios de seleção/elegibilidade e exclusão dos casos de endometriose e dos controles; estadiamento da endometriose; fonte dos controle; tipo de SNP; técnica de genotipagem utilizada para identificação dos SNPs estudados; dados de frequência alélica e genotípica dos SNPs e dado estatístico da razão de chances (OR), com seus respectivos intervalos de confiança 95% (IC95%).

Avaliação da qualidade dos estudos incluídos

Dois revisores, independentemente, avaliaram a qualidade metodológica dos 19 estudos incluídos nesta revisão, utilizando os critérios do instrumento STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology).³⁸ Vinte e dois itens de avaliação receberam uma pontuação de 0 a 1. Esses itens referem-se ao título e resumo do artigo (item 1), à introdução (itens 2 e 3), aos métodos (itens de 4 a 12), aos resultados (itens de 13 a 17), à discussão (itens de 18 a 21) e à informação sobre o financiamento (item 22). Depois da avaliação de todos os critérios, cada artigo recebeu uma nota de 0 a 22 de cada pesquisador. Para a pontuação final foi realizada uma média das duas notas, sendo transformada em percentual para melhor avaliar a qualidade dos artigos. Os revisores definiram, previamente, que os artigos que atingissem um percentual superior a 50% seriam considerados satisfatórios.

Resultados

A Figura 1 apresenta o fluxograma da seleção dos artigos para esta revisão. A estratégia de busca identificou 100 publicações para o gene *VEGF* e 6 publicações para o *KDR*, não tendo sido encontrado nenhum artigo que avaliasse simultaneamente a influência de SNPs em ambos os genes com o desenvolvimento da endometriose. Após a remoção de

artigos duplicados, 34 foram selecionados para a leitura dos títulos e resumos. No entanto, foram excluídos 14 estudos: 5 porque eram meta-análises, 2 porque eram trabalhos de revisão, um porque era uma crítica a uma meta-análise publicada anteriormente, um porque explorou SNPs no gene *IL-10*, em vez de polimorfismos nos genes *VEGF* e/ou *KDR*, 4 porque estudaram pacientes com adenomiose e um porque avaliou mulheres com pterígio em vez de pacientes com endometriose. Após a seleção dos resumos, um trabalho foi excluído em função do texto não estar disponível na íntegra.¹⁹ Depois da leitura completa dos 19 artigos elegíveis para esta revisão, foram avaliados os critérios de inclusão e exclusão dos casos e controles, sendo, ainda, excluídos 8 estudos: 5, que utilizaram casos de endometriose sem confirmação histopatológica da doença;^{20,25,28,30,34} 2, que incluíram controles que não realizaram procedimento cirúrgico (laparoscopia e/ou laparotomia) para confirmação do diagnóstico negativo de endometriose;^{22,29} e 1, que incluiu controles que haviam realizado apenas a ultrassonografia para diagnóstico negativo da doença.¹⁷ Sendo assim, foram incluídos nesta revisão 11 estudos caso-controle, que avaliaram SNPs apenas no gene *VEGF* na susceptibilidade de desenvolver endometriose, no período de 2005 a 2015.^{8,21,23,24,26,27,31-33,36,37} Em relação à avaliação da qualidade dos 11 estudos selecionados para esta revisão, todos os artigos atingiram percentuais maiores que 50%³⁸ e a pontuação média variou entre 12 a 21 pontos (55-96%). Os estudos que tiveram a menor e a maior pontuação, segundo os critérios do STROBE, foram Kim *et al.*²⁴ e Perini *et al.*,⁸ respectivamente (Tabela 1).

Nesta revisão foram incluídos dados de 4205 mulheres (2096 com endometriose e 2109 controles) de países da Ásia,^{21,24,27,32} América do Norte,³³ América do Sul,⁸ Europa,^{23,26,37} Euro-asiáticos³¹ e África.³⁶

A Tabela 1 descreve os critérios de inclusão e exclusão do grupo de casos de endometriose, ressaltando que todos os estudos consideraram elegíveis as mulheres que tiveram o diagnóstico cirúrgico da doença com confirmação histopatológica. Considerando o estadiamento da doença, verificamos que 4 (36,3%) estudos incluíram pacientes com estágio I, II, III ou IV;^{24,31,33,36} 3 (27,3%) agruparam em estadiamento I-II ou III-IV;^{8,23,26} 2 (18,2%) incluíram apenas mulheres com estágio I e II;^{32,37} um (9,1%) incluiu pacientes apenas com estadiamento III e IV²¹ e outro (9,1%) não apresentou informação quanto ao estadiamento cirúrgico da doença.²⁷ Em relação aos critérios de

Figura 1

Fluxograma da seleção de artigos incluídos na revisão.

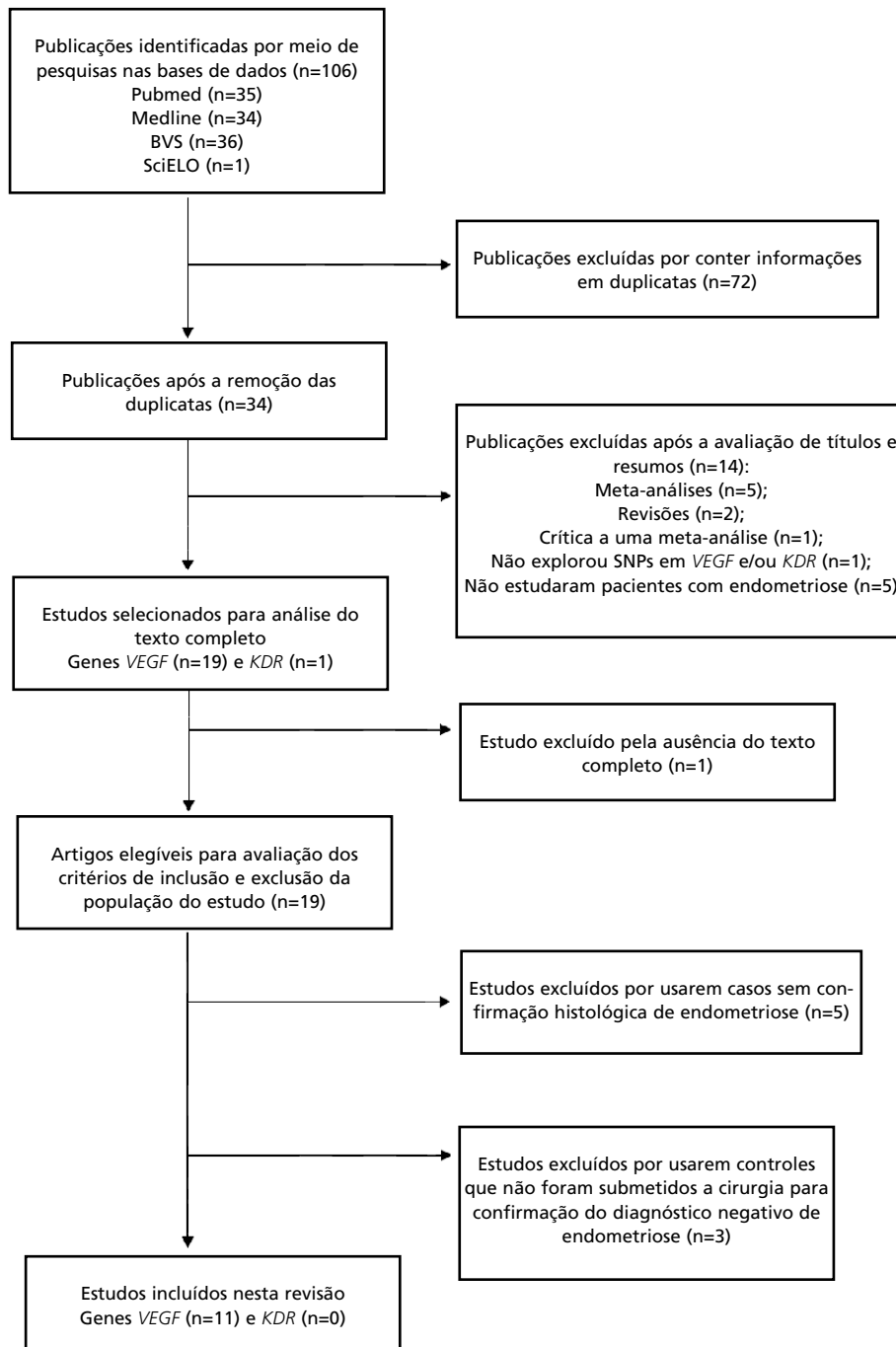


Tabela 1

Descrição dos critérios de inclusão e exclusão do grupo de casos de endometriose, estabelecidos pelos estudos elegíveis para esta revisão.

Referência, ano	População (N)*	Cirurgia**	Estadiamento da Endometriose**** (N)	Crítérios de exclusão	Pontuação de qualidade Strobe (%)
Kim <i>et al.</i> ²¹ 2005	Coreana (215)	Laparoscopia ou Laparotomia	III = 65 IV = 150	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, psoríase, doença de Behçet e endometriose I-II.	19 (86%)
Gentilini <i>et al.</i> ²³ 2008	Italiana (203)	Laparoscopia	I-II = 78 III-IV = 125	Doença inflamatória pélvica.	18 (82%)
Kim <i>et al.</i> ²⁴ 2008	Coreana (105)	Laparoscopia	I = 20; II = 41 III = 11; IV = 33	Amenorreia, cirurgia anterior de endometriose ou outra patologia pélvica, como por exemplo mioma.	12 (55%)
Cosin <i>et al.</i> ²⁶ 2009	Espanhola (186)	Laparoscopia	I-II = 19 III-IV = 167	Suspeita de endometriose, mas sem confirmação histopatológica da doença, menorrágia, hipermenorreia, que engravidou ou amamenta nos últimos 6 meses.	20 (91%)
Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009	Chinesa (344)	Laparoscopia ou Laparotomia	Sem informação	Sem informação	19 (86%)
Altinkaya <i>et al.</i> ³¹ 2011	Turca (98)	Sim***	I = 4; II = 18 III = 41; IV = 35	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, psoríase ou doença de Behçet.	17 (77%)
Emamifar <i>et al.</i> ³² 2012	Iraniana (480)	Sim	I-II	Terapia endócrina antes da cirurgia.	15 (68%)
Rotman <i>et al.</i> ³³ 2013	Americana (24)	Laparoscopia	I = 3; II = 2 III = 2; IV = 17	Sem informação	13 (59%)
Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014	Brasileira (182)	Laparoscopia ou Laparotomia	I-II = 71, III-IV = 110, Sem informação = 1	Histórico de câncer ou adenomiose.	21 (96%)
Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015	Tunisiana (105)	Laparoscopia	I = 27; II = 36, III = 18; IV = 24	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, câncer de mama, doença de Behçet, leiomioma, adenomiose, mioma, carcinoma in situ do colo uterino ou câncer de ovário.	17 (77%)
Szczepeńska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	Polonesa (154)	Laparoscopia	I = 83 II = 71	Distorção mecânica da cavidade endometrial por miomas, oclusão tubária bilateral e fator de infertilidade masculina.	17 (77%)

ACG = arterite de células gigantes; *N é o número de casos de endometriose incluídos em cada artigo; **Tipo de cirurgia para o diagnóstico da endometriose; ***Sim = não especificado o tipo de cirurgia realizada; ****Classificação do estadiamento da endometriose descrito pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (1996, 1997), Sociedade Americana de Fertilidade (1985, 1997).

exclusão do grupo de casos de endometriose, 2 (18,2%) estudos não informaram nenhum critério,^{27,33} enquanto que os demais, num total de 9 (81,8%), consideraram pacientes que apresentaram histórico de doenças angiogênese-dependentes ou que poderiam estar associadas a polimorfismos do *VEGF*, além de mulheres que apresentaram adenomiose, doença inflamatória pélvica, oclusão

tubária bilateral e mioma.

Para o grupo controle (Tabela 2), todos os estudos incluíram mulheres com o diagnóstico cirúrgico negativo de endometriose, sendo que 3 (27,3%) incluíram mulheres submetidas à cirurgia de ligadura tubária,^{8,26,32} 3 (27,3%) incluíram mulheres submetidas à cirurgia para retirada de cisto de ovário;^{8,21,23} 2 (18,2%) incluíram mulheres

submetidas à cirurgia para retirada de mioma;^{8,23} 2 (18,2%) incluíram mulheres submetidas à histerec-tomia^{21,27} e 6 (54,5%) incluíram mulheres que se submeteram à cirurgia por causa de problemas diversos como, apendicite, carcinoma *in situ* do colo uterino, cistos dermóides, cistos parovários, cistos serosos e mucinosos, dismenorreia, dor pélvica, fibroma ovariano, hemorragia uterina disfuncional, hidrossalpinge, infertilidade, malformações uterinas e pelve normal.^{8,21,23,27,31,37} Como critério de exclusão para o grupo controle, um (9,1%) estudo não informou nenhum critério de exclusão.³³ Os demais, 10 (90,9%) consideraram praticamente os mesmos critérios de exclusão do grupo de casos de endometriose.^{8,21,23,24,26,27,31,32,36,37}

Na Tabela 3 são apresentadas as características dos SNPs investigados nos estudos elegíveis para esta revisão. Foram estudados 5 SNPs no gene *VEGF*, sendo genotipados pelas técnicas de PCR-RFLP (81,8%) e PCR em tempo real (18,2%). O SNP rs699947 foi avaliado em 2 (18,2%) estudos e a frequência do alelo *VEGF* -2578A variou entre 19-40% e 26-34% nos casos e controles, respectivamente, sendo que Liu *et al.*²⁷ observou uma associação negativa com a endometriose, enquanto Perini *et al.*⁸ não encontrou associação com a doença (Tabela 4). O SNP rs833061 foi avaliado em 8

(72,7%) estudos e a frequência do alelo *VEGF* -460C variou entre 3-53% nos casos e 1-51% nos controles, porém nenhum trabalho encontrou associação deste SNP com o desenvolvimento da doença.^{8,21,26,27,31,32,36,37} Três (27,3%) estudos avaliaram o SNP rs1570360 e a frequência do alelo *VEGF* -1154A variou entre 16-28% e 16-27% nos casos e controles, respectivamente (Tabela 3). Contudo, Liu *et al.*²⁷ e Perini *et al.*⁸ observaram efeitos opostos, enquanto Rotman *et al.*³³ não encontrou associação com o desenvolvimento da endometriose (Tabela 4). O SNP rs2010963 foi investigado em 8 (72,7%) estudos e a frequência do alelo *VEGF* +405C variou entre 33-56% nos casos e 31-95% nos controles (Tabela 3), sendo que 4 estudos (Tabela 4) não encontraram associação com endometriose,^{8,26,36,37} 1 estudo observou associação positiva na presença do alelo *VEGF* +405G31 e, contrariamente, 3 estudos verificaram associação positiva na presença do alelo ou genótipo +405C.^{21,23,32} Seis estudos (54,5%) avaliaram o SNP rs3025039 e a frequência do alelo *VEGF* +936T variou entre 13-25% e 10-17% nos casos e controles, respectivamente (Tabela 3), todavia 4 estudos não encontraram associação^{8,23,27,37} e 2 verificaram associação positiva com a endometriose na presença do alelo +936T.^{26,36}

Tabela 2

Descrição dos critérios de inclusão e exclusão do grupo controle, estabelecidos pelos estudos elegíveis para esta revisão.

Referência, ano	Controle (N)	Fonte dos Controles	Cirurgia* (N)	Motivo da cirurgia		Critérios de exclusão
				Laqueadura(N)	Outros*** (N)	
Kim <i>et al.</i> ²¹ 2005	219	Base hospitalar	Laparoscopia ou Laparotomia	Não	Sim (219)	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, psoríase, doença de Behçet, endometriose I-II, leiomioma, adenomiose, carcinoma <i>in situ</i> do colo uterino ou câncer do ovário.
Gentilini <i>et al.</i> ²³ 2008	140	Base hospitalar	Laparoscopia	Não	Sim (140)	Doença inflamatória pélvica.
Kim <i>et al.</i> ²⁴ 2008	101	Base hospitalar	Laparoscopia	Não	Sem informação	Amenorreia, cirurgia anterior de endometriose ou outra patologia pélvica, como por exemplo mioma.
Cosin <i>et al.</i> ²⁶ 2009	180	Base hospitalar	Laparoscopia	Sim (180)	Não	Menorragia, hipermenorreia, que engravidou ou amamenta nos últimos 6 meses
Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009	360	Base populacional	Laparoscopia ou Laparotomia	Não	Sim (sem informação)	Doença maligna ou endometriose.

continua

ACG = arterite de células gigantes; *Tipo de cirurgia realizada; **Sim = não especificado o tipo de cirurgia realizada; ***Outras razões para realização de procedimento cirúrgico incluem apendicite, carcinoma *in situ* do colo uterino, cistos dermóides, cistos parovários, cistos serosos e mucinosos, dismenorreia, dor pélvica, fibroma ovariano, hemorragia uterina disfuncional, hidrossalpinge, infertilidade, malformações uterinas e pelve normal.

Tabela 2 conclusão
 Descrição dos critérios de inclusão e exclusão do grupo controle, estabelecidos pelos estudos elegíveis para esta revisão.

Referência, ano	Controle (N)	Fonte dos Controles	Cirurgia* (N)	Motivo da cirurgia		Critérios de exclusão
				Laqueadura(N)	Outros***(N)	
Altinkaya <i>et al.</i> ³¹ 2011	94	Base hospitalar	Laparoscopia	Não	Sim (94)	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, psoríase e doença de Behçet.
Emamifar <i>et al.</i> ³² 2012	600	Base hospitalar	Sim**	Sim (600)	Não	Terapia endócrina antes da cirurgia, endometriose, doença inflamatória e mioma.
Rotman <i>et al.</i> ³³ 2013	18	Base hospitalar	Laparoscopia	Sem informação	Sem informação	Sem informação
Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014	112	Base hospitalar	Laparoscopia ou Laparotomia	Sim (51)	Sim (61)	Histórico de câncer ou adeniose
Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015	150	Base hospitalar	Laparoscopia	Sem informação	Sem informação	Artrite reumatoide, ACG, retinopatia diabética, câncer de mama, doença de Behçet, leiomioma, adeniose, mioma, carcinoma in situ do colo uterino ou câncer de ovário.
Szczepańska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	135	Base hospitalar	Laparoscopia	Não	Sim (135)	Sinais de inflamação, passado ou presente, anormalidades pélvicas e oclusão tubária bilateral.

ACG = arterite de células gigantes; *Tipo de cirurgia realizada; **Sim = não especificado o tipo de cirurgia realizada; ***Outras razões para realização de procedimento cirúrgico incluem apendicite, carcinoma *in situ* do colo uterino, cistos dermóides, cistos parovários, cistos serosos e mucinosos, dismenorreia, dor pélvica, fibroma ovariano, hemorragia uterina disfuncional, hidrossalpinge, infertilidade, malformações uterinas e pelve normal.

Tabela 3
 Características dos polimorfismos do gene *VEGF*, analisados nos estudos elegíveis desta revisão.

rs	Local do gene	Técnica de genotipagem	Referência, ano	Frequência do alelo variante	
				Caso	Controle
rs699947	RP	TaqMan - PCR em tempo real	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014	40	34
		PCR-RFLP	Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009	19	26
rs833061	RP	TaqMan - PCR em tempo real	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014	43	40
		PCR-RFLP	Kim <i>et al.</i> ²¹ 2005	28	26
		PCR-RFLP	Cosin <i>et al.</i> ²⁶ 2009	47	49
		PCR-RFLP	Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009	23	21
		PCR-RFLP	Altinkaya <i>et al.</i> ³¹ 2011	3	1
		PCR-RFLP	Emamifar <i>et al.</i> ³² 2012	33	31
		PCR-RFLP	Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015	40	42
PCR em tempo real	Szczepańska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	53	51		

RP = região promotora; 5'UTR = região 5' não traduzida; 3'UTR = região 3' não traduzida; PCR-RFLP = Reação em cadeia da polimerase - polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição.

continua

Tabela 3 conclusão
 Características dos polimorfismos do gene *VEGF*, analisados nos estudos elegíveis desta revisão.

rs	Local do gene	Técnica de genotipagem	Referência, ano	Frequência do alelo variante	
				Caso	Controle
					-1154A
rs1570360	RP	TaqMan - PCR em tempo real	Perini et al. ⁸ 2014	27	16
		PCR-RFLP	Liu et al. ²⁷ 2009	16	22
		PCR-RFLP	Rotman et al. ³³ 2013	28	27
					+405C
rs2010963	5'UTR	TaqMan - PCR em tempo real	Perini et al. ⁸ 2014	33	40
		PCR-RFLP	Kim et al. ²¹ 2005	44	40
		PCR-RFLP	Gentilini et al. ²³ 2008	40	31
		PCR-RFLP	Cosin et al. ²⁶ 2009	34	31
		PCR-RFLP	Altinkaya et al. ³¹ 2011	55	95
		PCR-RFLP	Emamifar et al. ³² 2012	56	34
		PCR-RFLP	Henidi et al. ³⁶ 2015	44	37
		PCR em tempo real	Szczepańska et al. ³⁷ 2015	26	28
					+936T
rs3025039	3'UTR	TaqMan - PCR em tempo real	Perini et al. ⁸ 2014	15	15
		PCR-RFLP	Kim et al. ²¹ 2005	20	Sem informação
		PCR-RFLP	Cosin et al. ²⁶ 2009	16	10
		PCR-RFLP	Liu et al. ²⁷ 2009	17	17
		PCR-RFLP	Henidi et al. ³⁶ 2015	25	13
		PCR em tempo real	Szczepańska et al. ³⁷ 2015	13	17

RP = região promotora; 5'UTR = região 5' não traduzida; 3'UTR = região 3' não traduzida; PCR-RFLP = Reação em cadeia da polimerase - polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição.

Tabela 4

Descrição dos resultados referentes à magnitude de associação dos polimorfismos do gene *VEGF* com a endometriose, segundo os estudos elegíveis desta revisão.

Gene/SNP	Referência, ano	Associação	Alelo ou genótipo associado	OR (IC95%)
<i>VEGF</i> -2578C>A (rs699947)	Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009*	Sim	AA	0,34 (0,17 – 0,70)
	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014*	Não	-	-
<i>VEGF</i> -460T>C (rs833061)	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014*, Kim <i>et al.</i> ²¹ 2005, Cosín <i>et al.</i> ²⁶ 2009*, Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009*, Altinkaya <i>et al.</i> ³¹ 2011, Emamifar <i>et al.</i> ³² 2011, Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015 e Szczepańska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	Não	-	-
<i>VEGF</i> -1154G>A (rs1570360)	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014*	Sim	AA	6,17 (1,37 – 27,8)
	Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009*	Sim	AA	0,26 (0,11 – 0,67)
	Rotman <i>et al.</i> ³³ 2013	Não	-	-
<i>VEGF</i> +405G>C (rs2010963)	Kim <i>et al.</i> ²¹ 2005	Sim	CC	1,99 (1,20 – 3,28)
	Gentilini <i>et al.</i> ²³ 2008	Sim	C	1,80 (1,2 – 2,8)
	Altinkaya <i>et al.</i> ³¹ 2011	Sim	G	14,8 (7,38 – 29,7)
	Emamifar <i>et al.</i> ³² 2012	Sim	CC	3,78 (2,74 – 5,21)
	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014*, Cosín <i>et al.</i> ²⁶ 2009*, Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015 e Szczepańska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	Não	-	-
<i>VEGF</i> +936C>T (rs3025039)	Cosín <i>et al.</i> ²⁶ 2009*	Sim	T	1,75 (1,12 – 2,74)
	Henidi <i>et al.</i> ³⁶ 2015	Sim	T	2,19 (1,39 – 3,46)
	Perini <i>et al.</i> ⁸ 2014*, Kim <i>et al.</i> ²⁴ 2008, Liu <i>et al.</i> ²⁷ 2009* e Szczepańska <i>et al.</i> ³⁷ 2015	Não	-	-

(-) = não se aplica; OR = Razão de chances; IC = Intervalo de confiança; *Utilizaram métodos estatísticos para calcular o OR ajustado.

Discussão

Esta revisão apresenta uma descrição detalhada dos trabalhos que utilizaram o delineamento de estudo do tipo caso-controle para investigar a magnitude de associação de SNPs do gene *VEGF* e/ou *KDR* na susceptibilidade do desenvolvimento da endometriose. A angiogênese, via sinalização do *VEGF-KDR*, é um evento importante para o desenvolvimento da doença,^{11,12} já que lesões de endometriose são caracterizadas por uma vascularização densa e que requerem um fornecimento de sangue adequado

a sua sobrevivência.¹¹ Além disso, já foi observado um aumento da expressão de *VEGF* e *VEGFR-2* em amostras de mulheres com endometriose quando comparadas ao seu controle.¹²

A expressão dos genes *VEGF* e *KDR*, assim como a atividade destas proteínas podem ser alteradas pela presença de polimorfismos em regiões codificantes e não codificantes dos genes.¹⁶⁻¹⁸ Os SNPs que ocorrem nas regiões promotoras, 5'-UTR e 3'-UTR, afetam potenciais elementos reguladores, sensíveis à hipóxia e contribuem para a alta variabilidade da produção de *VEGF* nos tecidos.^{18,39,40} Os

SNPs rs699947, rs833061 e rs1570360, presentes na região promotora do gene *VEGF*, apresentam maior atividade de transcrição e estão associados com alto nível da proteína.⁴¹ O SNP rs2010963, localizado na região 5'-UTR do gene *VEGF*, afeta a eficiência da tradução e está relacionado com a produção de *VEGF* a partir de células mononucleadas do sangue periférico.⁴² Já o SNP rs3025039, na região 3'-UTR do gene *VEGF*, influencia na concentração de *VEGF* plasmático circulante.¹⁵ Os SNPs rs2305948 e rs1870377, localizados em *éxons* do gene *KDR*, diminuem a eficiência de ligação do *KDR* ao *VEGF*.¹⁸ O possível efeito do SNP rs7667298, localizado na região 5'-UTR do gene *KDR*, não está bem claro. No entanto, esse SNP está associado ao SNP rs2071559 (*KDR-604T>C*), localizado na região promotora. Já foi observado que a presença do alelo *-604C* reduz a atividade transcricional do *KDR*.¹⁸ Os SNPs rs1531289 e rs7692791, localizados nos *introns* do gene *KDR*, ainda não foram estudados em relação aos seus efeitos funcionais.

O papel do *VEGF-KDR* na fisiopatologia da endometriose, assim como a influência dos SNPs em modular os níveis e a atividade destas proteínas justificam o elevado número de estudos que buscaram descrever a magnitude de associação dos SNPs nos genes *VEGF* e *KDR* na susceptibilidade do desenvolvimento da endometriose.^{8,17,19-37} Em 2013, Li et al.,⁴³ realizaram um estudo de meta-análise, envolvendo 14 trabalhos, que investigaram a magnitude de associação de 5 SNPs do gene *VEGF* (rs699947, rs833061, rs1570360, rs2010963 e rs3025039) e a susceptibilidade da endometriose. O aumento do risco em desenvolver a endometriose foi observado na presença do SNP *VEGF +936C>T*, enquanto que os SNPs *VEGF -2578C>A* e *-1154G>A* foram fatores de proteção para o desenvolvimento da doença. Já os SNPs *VEGF -460T>C* e *+405G>C* não foram associados ao desenvolvimento da endometriose.⁴³ Para o *KDR*, apenas um estudo do tipo caso-controle avaliou a magnitude de associação entre cinco SNPs (rs1531289, rs2305948, rs1870377, rs7692791 e rs7667298) e o desenvolvimento da endometriose em mulheres chinesas, observando uma associação negativa na presença do alelo *1192T* (rs2305948).¹⁷ No entanto, este estudo foi excluído desta revisão, já que os controles incluídos realizaram apenas a ultrassonografia para diagnóstico negativo de endometriose e este método de imagem não descarta a presença de endometriose pélvica.^{44,45} Além disso, até o presente momento, não existem dados na literatura que avaliem de forma combinada SNPs nos genes *VEGF* e *KDR* e o desenvolvimento da endometriose.

Os resultados controversos observados nos estudos do tipo caso-controle podem ser explicados pelo tamanho amostral, pelas diferenças metodológicas delineadas em cada estudo, principalmente, pelo tipo de controle elegível, pela diferença da frequência dos SNPs nas diferentes populações e pela utilização da medida de associação, razão de chances (OR) não ajustada, utilizada para avaliar a magnitude de associação de SNPs nos genes *VEGF* e *KDR* no desenvolvimento da endometriose. As técnicas de estratificação e regressão múltipla são dois métodos estatísticos, que podem ser utilizados para excluir possíveis variáveis de confusão e, conseqüentemente, produzir ORs ajustados.^{46,47} Dentre os 11 estudos incluídos nesta revisão, apenas 3 (27,3%) utilizaram OR ajustado (Tabela 4) para avaliar a magnitude de associação de SNPs no gene *VEGF* e o desenvolvimento da endometriose.^{8,26,27} A maneira pela qual as variáveis são medidas pode inserir um viés e distorcer a estimativa da medida de efeito.⁴⁸ As variáveis de confusão ocorrem quando parte da associação encontrada é resultado da presença de uma terceira variável que está relacionada tanto com a doença quanto com a exposição de interesse, resultando em uma alteração na estimativa de risco.⁴⁹

Os estudos epidemiológicos analíticos observacionais do tipo caso-controle são aplicados para avaliar exposições entre grupos semelhantes, que apresentam (casos) ou não (controles) a doença.⁵⁰ São amplamente utilizados no estudo de doenças raras ou com longo período de indução e exposições frequentes,⁵¹ como no caso da endometriose. Além disso, os estudos do tipo caso-controle podem contribuir para encontrar achados importantes e eficientes em termos de tempo relativamente curto com poucos recursos financeiros.⁴⁸ Entretanto, estudos do tipo caso-controle tendem a ser mais suscetíveis a vieses que outros desenhos analíticos epidemiológicos e a forma como os indivíduos são recrutados para o estudo pode distorcer a estimativa da medida de efeito.⁵¹ A definição do grupo caso é um ponto crítico em um estudo caso-controle, sendo os critérios de diagnóstico e de elegibilidade, dois aspectos fundamentais para a seleção dos indivíduos. O objetivo é assegurar que todos os verdadeiros casos tenham igual probabilidade de entrar no grupo, e que nenhum falso caso seja selecionado, pois isso pode distorcer a estimativa da medida de associação na direção da hipótese nula.⁵² Em 19 estudos já publicados, que analisaram polimorfismos do *VEGF* e *KDR* na susceptibilidade do desenvolvimento da endometriose, foi observado que os casos de endometriose tiveram o diagnóstico cirúrgico da

doença.^{8,17,20-34,36,37} Apesar dos métodos de imagem disponíveis apresentarem uma boa acurácia no diagnóstico da endometriose, segundo consenso da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE) e da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM), o padrão ouro para o diagnóstico da endometriose é a videolaparoscopia com a inspeção direta da cavidade pélvica e visualização dos implantes, além da confirmação histopatológica da doença.^{53,54} Assim, foram incluídos nesta revisão os 11 artigos que utilizaram o "padrão-ouro" para a seleção dos casos (cirúrgica e confirmação histopatológica), sendo considerado um bom critério de diagnóstico e elegibilidade, assegurando que todas as 2096 mulheres incluídas fossem verdadeiros casos de endometriose.^{8,21,23,24,26,27,31-33,36,37}

A seleção do grupo controle requer um cuidado especial e talvez seja o principal desafio para a garantia da validade do estudo, considerando a complexidade da doença investigada (endometriose). O grupo controle dos estudos incluídos nesta revisão foi formado por mulheres que poderiam ter outras doenças, inclusive distúrbios ginecológicos associados ao desenvolvimento da endometriose, com o processo de angiogênese e/ou com polimorfismos no gene *VEGF*.^{17,39,55,56} Cerca de 82% (n=9) dos estudos incluídos nesta revisão utilizaram controles que apresentavam outras doenças ginecológicas ou não apresentavam informação sobre a razão da realização do procedimento cirúrgico, realizado pelo médico ginecologista (laparoscopia e/ou laparotomia), podendo assim fornecer baixas estimativas de risco, considerando que estas doenças e/ou a razão pela qual a mulher foi submetida à cirurgia possam estar associadas à exposição sob investigação (SNPs do gene *VEGF*). É fundamental que o grupo controle seja diretamente determinado pela definição e seleção do grupo de casos, sendo amostrados de uma mesma fonte.⁵⁷ Dentre os 11 estudos incluídos nesta revisão, cerca de 91% (n=10) utilizaram controles de base hospitalar (Tabela 2),^{8,21,23,24,26,31-33,36,37} Já está descrito na literatura que cerca de 11% das mulheres com endometriose não apresentam os sintomas da doença.^{6,7} Além disso, o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico definitivo de endometriose é extensamente longo, variando entre aproximadamente 7 a 12 anos.⁵⁸ Destacamos, que 4 artigos que foram excluídos desta revisão,^{22,25,29,30} utilizaram controles não adequados para avaliar a magnitude de associação de SNPs do gene *VEGF* e do desenvolvimento da endometriose. No estudo realizado por Zhao *et al.*²⁵ os controles eram mulheres que

relataram não serem portadoras de endometriose, sendo que apenas 27% tinham diagnóstico negativo de endometriose por laparoscopia ou histerectomia. Toktam *et al.*,³⁰ utilizaram controle de base hospitalar, contudo não informaram se as mulheres haviam realizado procedimento cirúrgico, apenas relataram que não apresentavam problemas ginecológicos. Lamp *et al.*²⁹ utilizaram mulheres saudáveis férteis (com pelo menos 2 filhos), sem suspeita clínica de endometriose e sem realizar procedimento cirúrgico para descartar a presença da doença. Ikuhashi *et al.*²² utilizaram cordão umbilical como controle material, obtido a partir de neonatos fêmeas.

As principais limitações dos estudos do tipo caso-controle são: a falta de validade devido ao viés de seleção; o recrutamento de controles não representativos da população sob risco; erros de medidas de associação, em função dos diferentes vieses de lembrança entre casos e controles e as variáveis de confusão que falseiam uma associação causal.⁵⁰ Diferenças no padrão da frequência alélica podem ser observadas em estudos com grupos étnicos heterogêneos, assim como fatores ambientais contribuem para diferentes respostas fenotípicas.⁵⁹ Além disso, deve-se levar em conta o tamanho amostral para evitar erros do tipo I, afirmando que o fator de risco está associado com a doença, mas, de fato, não está; ou erros do tipo II, afirmando que o fator de risco não está associado com a doença, mas, de fato, está.⁵⁰ Dentre os 11 artigos incluídos nesta revisão, apenas 3 (27%) deles informaram o cálculo amostral utilizado no estudo.^{21,23,26} Além disso, destacamos o número limitado de casos e controles incluídos no estudo de Rotman *et al.*³³ (24 casos e 18 controles) e Attar *et al.*²⁸ (52 casos e 60 controles), sendo que esse último foi excluído desta revisão por terem sido usados casos sem confirmação histológica de endometriose.

De acordo com Zondervan *et al.*,⁵⁷ a escolha do grupo controle ideal para o estudo da base genética da endometriose é o livre de doenças, que se submete à cirurgia para realização de laqueadura. Dentre os 11 estudos incluídos nesta revisão, cerca de 27% (n=3) utilizaram mulheres submetidas à laqueadura no grupo controle,^{8,26,32} sendo que apenas 2 (18%) estudos foram formados exclusivamente por um grupo controle de mulheres submetidas ao procedimento de laqueadura.^{26,32} Corroborando com esses achados, sugerimos também que o grupo controle ideal para realizar estudos do tipo caso-controle, que avaliam o perfil genético de mulheres com endometriose, deve ser formado por mulheres submetidas à laqueadura, já

que é possível fazer a inspeção direta da cavidade pélvica e excluir a presença das lesões endometrióticas.

Este trabalho de revisão teve o intuito de descrever e discutir os critérios de inclusão/exclusão utilizados para definir o grupo de casos com endometriose e, principalmente, dos controles, com o intuito de verificar diferenças metodológicas que pudessem contribuir para as discrepâncias dos resultados encontrados na literatura. Os estudos analíticos observacionais do tipo caso-controle, quando são cuidadosamente delineados, podem fornecer informações relevantes para a identificação dos fatores de risco, especialmente no caso da endometriose, que é uma doença complexa e multifatorial. As análises epidemiológicas que exploram o perfil molecular das mulheres com endometriose podem contribuir para as investigações etiológicas e para construir um instrumento para as ações e intervenções no âmbito da saúde pública.

Em conclusão, sugerimos que estudos mais

abrangentes, com delineamento metodológico correto, envolvendo diferentes populações, assim como a análise combinada de SNPs nos genes *VEGF* e/ou *KDR*, ainda são necessários em virtude do papel fundamental desses fatores no desenvolvimento da endometriose. Sugerimos que a seleção de um grupo controle de base hospitalar, sem histórico de infertilidade e distúrbios ginecológicos, como é o caso das mulheres submetidas ao procedimento de laqueadura, corresponde ao tipo de controle adequado para avaliar a magnitude de associação de SNPs nos genes *VEGF* e/ou *KDR* no desenvolvimento da endometriose.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ);

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

À Fundação do Câncer (Projeto Oncobiologia).

Referências

- Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *N Engl J Med*. 2010; 362: 2389-98.
- Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004; 364 (9447): 1789-99.
- Buck Louis GM, Hediger ML, Peterson CM, Croughan M, Sundaram R, Stanford J, Chen Z, Fujimoto VY, Varner MW, Trumble A, Giudice LC; ENDO Study Working Group. Incidence of endometriosis by study population and diagnostic method: the ENDO study. *Fertil Steril*. 2011; 96 (2): 360-5.
- Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004; 18: 177-200.
- Inceboz U. Endometriosis after menopause. *Womens Health (Lond Engl)*. 2015; 11 (5): 711-5.
- Fauconnier A, Staraci S, Roman Chh, Panel P, Descamps P. Comparison of patient- and physician-based descriptions of symptoms of endometriosis: a qualitative study. *Human Reprod*. 2013; 28: 2686-94.
- Moradi M, Parker M, Sneddon A, Lopez V, Ellwood D. Impact of endometriosis on women's lives: a qualitative study. *BMC Womens Health*. 2014; 14: 123.
- Perini JA, Cardoso JV, Berardo PT, Vianna-Jorge R, Nasciutti LE, Bellodi-Privato M, Machado DE, Abrão MS. Role of vascular endothelial growth factor polymorphisms (-2578C>A, -460 T>C, -1154G>A, +405G>C and +936C>T) in endometriosis: a case-control study with Brazilians. *BMC Womens Health*. 2014; 14:117.
- De Graaff AA, D'hooghe TM, Dunselman GA, Dirksen CD, Hummelshoj L, WERF EndoCost Consortium, et al. The significant effect of endometriosis on physical, mental and social wellbeing: results from an international cross-sectional survey. *Hum Reprod*. 2013; 28:2677-85.
- Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1927; 14: 422-69.
- Rocha ALL, Reis FM, Taylor RN. Angiogenesis and Endometriosis. *Obstet Gynecol Int*. 2013; 2013:859619.
- Machado DE, Abrão MS, Berardo PT, Takiya CM, Nasciutti LE. Vascular density and distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 (Flk-1) are significantly higher in patients with deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum. *Fertil Steril* 2008; 90: 148-55.
- Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation*. 1996; 93: 1493-5.
- Lu D, Kussie P, Pytowski B, Persaud K, Bohlen P, Witte L, Zhu Z. Identification of the residues in the extracellular region of KDR important for interaction with vascular endothelial growth factor and neutralizing anti-KDR antibodies. *J Biol Chem*. 2000; 275: 14321-30.
- Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res*. 2000; 37: 443-8.
- Jain L, Vargo CA, Danesi R, Sissung TM, Price DK, Venzon D, Venitz J, Figg WD. The role of vascular endothelial growth factor SNPs as predictive and prognostic markers for major solid tumors. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8: 2496-508.

17. Kang S, Shi YY, Li Y, Wang N, Lu YC, Zhou RM, Zhao XW. Association between genetic variants of the VEGFR-2 gene and the risk of developing endometriosis in Northern Chinese Women. *Gynecol Obstet Invest* 2013; 76:32-7.
18. Wang Y, Zheng Y, Zhang W, Yu H, Lou K, Zhang Y, Qin Q, Zhao B, Yang Y, Hui R. Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50: 760-7.
19. Hsieh YY, Chang CC, Tsai FI, Yeh LS, Lin CC, Peng CT. T allele for VEGF gene-460 polymorphism at the 5'-untranslated region: association with a higher susceptibility to endometriosis. *J Reprod Med*. 2004; 49: 468-72.
20. Bhanoori M, Arvind Babu K, Pavankumar Reddy NG, Lakshmi Rao K, Zondervan K, Deenadayal M, Kennedy S, Shivaji S. The vascular endothelial growth factor (VEGF) +405G>C 5'-untranslated region polymorphism and increased risk of endometriosis in South Indian women: a case control study. *Hum Reprod*. 2005; 20: 1844-9.
21. Kim SH, Choi YM, Choung SH, Jun JK, Kim JG, Moon SY. Vascular endothelial growth factor gene +405 C/G polymorphism is associated with susceptibility to advanced stage endometriosis. *Hum Reprod*. 2005; 20: 2904-8.
22. Ikuhashi Y, Yoshida S, Kennedy S, Zondervan K, Takemura N, Deguchi M, Ohara N, Maruo T. Vascular endothelial growth factor +936 C/T polymorphism is associated with an increased risk of endometriosis in a Japanese population. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007; 86: 1352-8.
23. Gentilini D, Somigliana E, Vigano P, Vignali M, Busacca M, Di Blasio AM. The vascular endothelial growth factor +405G>C polymorphism in endometriosis. *Hum Reprod*. 2008; 23: 211-5.
24. Kim JG, Kim JY, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Choi YM. Association between endometriosis and polymorphisms in endostatin and vascular endothelial growth factor and their serum levels in Korean women. *Fertil Steril*. 2008; 89: 243-5.
25. Zhao ZZ, Nyholt DR, Thomas S, Treloar SA, Montgomery GW. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and the risk of familial endometriosis. *Mol Hum Reprod*. 2008; 14: 531-8.
26. Cosin R, Gilbert-Estellés J, Ramón LA, España F, Gilbert J, Romeu A, Estellés A. Vascular endothelial growth factor polymorphisms (-460C/T, +405G/C, and 936C/T) and endometriosis: their influence on vascular endothelial growth factor expression. *Fertil Steril*. 2009; 92: 1214-2.
27. Liu Q, Li Y, Zhao J, Sun DL, Duan YN, Wang N, Zhou RM, Kang S. Association of polymorphisms -1154G/A and -2578C/A in the vascular endothelial growth factor gene with decreased risk of endometriosis in Chinese women. *Hum Reprod*. 2009; 24: 2660-6.
28. Attar R, Agachan B, Kuran SB, Toptas B, Eraltan IY, Attar E, Isbir T. Genetic variants of vascular endothelial growth factor and risk for the development of endometriosis. *In Vivo*. 2010; 24: 297-301.
29. Lamp M, Saare M, Laisk T, Karro H, Kadastik U, Metspalu A, Peters M, Salumets A. Genetic variations in vascular endothelial growth factor but not in angiotensin I-converting enzyme genes are associated with endometriosis in Estonian women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010; 153: 85-9.
30. Toktam M, Kioomars SN, Kourosh K, Adel S, Behrokh MM, Mohhammad Mehdi A, Hamid Reza KK. Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) +405G>C polymorphism with endometriosis in an Iranian population. *J Reprod Infertil*. 2010; 11: 33-7.
31. Altinkaya SO, Ugur M, Ceylaner G, Ozat M, Gungor T, Ceylaner S. Vascular endothelial growth factor +405 C/G polymorphism is highly associated with an increased risk of endometriosis in Turkish women. *Arch Gynecol Obstet* 2011; 283: 267-72.
32. Emamifar B, Salehi Z, Mehrafza M, Mashayekhi F. The vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms and the risk of endometriosis in northern Iran. *Gynecol Endocrinol* 2012; 28: 447-50.
33. Rotman C, Fischel L, Cortez G, Greiss H, Rana N, Rinehart J, Coulam CB. A search to identify genetic risk factors for endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2013; 69: 92-5.
34. Saliminejad K, Memariani T, Ardekani AM, Kamali K, Edalatkah H, Pahlevanzadeh Z, Khorram Khorshid HR. Association study of the TNF- α -1031T/C and VEGF +450G/C polymorphisms with susceptibility to endometriosis. *Gynecol Endocrinol*. 2013; 29: 974-7.
35. Ahmed MM, Khaled ARR, Hisham SH, Wael TE, Waleed SAE. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism as a risk factor of endometriosis. *Evidence Based Women's Health J*. 2014; 4 (2): 92-5.
36. Henidi B, Kaabachi W, Naouali A, Kaabachi S, Zhioua A, Haj Sassi F, Hamzaoui K. Vascular endothelial growth factor (-460 C/T, +405 G/C, and +936 C/T) polymorphisms and endometriosis risk in Tunisian population. *Syst Biol Reprod Med*. 2015; 61: 238-44.
37. Szczepańska M, Mostowska A, Wirstlein P, Skrzypczak J, Jagodziński PP. Involvement of vascular endothelial growth factor -460 C/T, +405 G/C and +936 C/T polymorphisms in the development of endometriosis. *Biomed Rep*. 2015; 3: 220-4.
38. Von EE. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Brit Med J*. 2007; 355 (7624): 806-8.
39. Awata T, Inoue K, Kurihara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K, Inoue I, Katayama S. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 1635-9.
40. Steffensen KD, Waldstrøm M, Brandslund I, Jakobsen A. The relationship of VEGF polymorphisms with serum VEGF levels and progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2010; 117: 109.
41. Brogan IJ, Khan N, Isaac K, Hutchinson JA, Pravica V, Hutchinson IV. Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Hum Immunol*. 1999; 60: 1245-9.
42. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*. 2000; 12: 1232-5.
43. Li YZ, Wang LJ, Li X, Li SL, Wang JL, Wu ZH, Gong L,

- Zhang XD. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms contribute to the risk of endometriosis: an updated systematic review and meta-analysis of 14 case-control studies. *Genet Mol Res.* 2013; 12: 1035-44.
44. Menakaya U, Reid S, Infante F, Condous G. Systematic evaluation of women with suspected endometriosis using a 5-domain sonographically based approach. *J Ultrasound Med.* 2015; 34 (6): 937-47.
45. Nisenblat V1, Bossuyt PM, Farquhar C, Johnson N, Hull ML. Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 Feb 26; 2: CD009591.
46. Fuchs SC, Paim BS. Revisão Sistemática de Estudos Observacionais com Metanálise. *Rev HCPA* 2010; 30: 294-301.
47. Camey SA, Torman VB, Hirakata VN, Cortes RX, Vigo A. Bias of using odds ratio estimates in multinomial logistic regressions to estimate relative risk or prevalence ratio and alternatives. *Cad Saúde Pública.* 2014; 30: 21-9.
48. Rego MAV. Aspectos históricos dos estudos caso-controle. *Cad Saúde Pública.* 2001; 17: 1017-24.
49. Luiz Rr, Struchiner CJ. Inferência causal em epidemiologia: o modelo de respostas potenciais [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2002. 112 p.
50. Schulz KF, Grimes DA. Case-control studies: research in reverse. *Lancet.* 2002; 359: 431-4.
51. Rêgo MAV. Estudos caso-controle: uma breve revisão. *Gazeta Médica da Bahia.* 2010; 79: 101-10.
52. Lasky T, Stolley PD. Selection of cases and controls. *Epidemiol Rev.* 1994;16:6-17.
53. ASRM - American Society for Reproductive Medicine. Revised American Fertility Society Classification Of Endometriosis: 1996. *Fertil Steril.* 1997.
54. ESHRE Guideline for the Diagnosis and Treatment of Endometriosis. <http://guidelines.endometriosis.org/> 2008.
55. Boiardi L, Casali B, Nicoli D, Farnetti E, Chen Q, Macchioni P, Catanoso MG, Pulsatelli L, Meliconi R, Salvarani C. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in giant cell arteritis. *J Rheumatol.* 2003; 30: 2160-4.
56. Salvarani C, Boiardi L, Casali B, Olivieri I, Cantini F, Salvi F, Malatesta R, La Corte R, Triolo G, Ferrante A, Filippini D, Paolazzi G, Sarzi-Puttini P, Nicoli D, Farnetti E, Chen Q, Pulsatelli L. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in Behçet's disease. *J Rheumatol.* 2004; 31: 1785-9.
57. Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy SH. What makes a good case-control study? Design issues for complex traits such as endometriosis. *Hum Reprod.* 2002; 17: 1415-23.
58. Arruda MS, Petta CA, Abrão MS, Benetti-Pinto CL. Time elapsed from onset of symptoms to diagnosis of endometriosis in a cohort study of Brazilian women. *Hum Reprod.* 2003; 18: 756-9.
59. Kennedy S: Genetics of endometriosis: a review of the positional cloning approaches. *Semin Reprod Med.* 2003, 21: 111-8.

Recebido em 4 de abril de 2016

Versão final apresentada em 2 de agosto de 2016

Aprovado em 9 de agosto de 2016