

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Regiane Faia

**AVALIAÇÃO DA PRESCRIÇÃO NUTRICIONAL E DA ATIVIDADE FÍSICA NO  
CONTROLE DA ENDOMETRIOSE E NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA  
INTESTINAL**

Juiz de Fora  
2023

Regiane Faia

**AVALIAÇÃO DA PRESCRIÇÃO NUTRICIONAL E DA ATIVIDADE FÍSICA NO  
CONTROLE DA ENDOMETRIOSE E NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA  
INTESTINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Imunologia e Doenças Infectoparasitárias.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vânia Lúcia da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Barbosa Ferreira Machado

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Faia, Regiane .

Avaliação da prescrição nutricional e atividade física no controle da endometriose e na modulação da microbiota intestinal / Regiane Faia. -- 2023.

95 p.

Orientadora: Vânia Lúcia da Silva

Coorientadores: Cláudio Galuppo Diniz, Alessandra Barbosa Ferreira Machado

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2023.

1. Endometriose. 2. Microbiota intestinal. 3. Atividade Física. 4. Alimentação. I. da Silva, Vânia Lúcia, orient. II. Galuppo Diniz, Cláudio, coorient. III. Barbosa Ferreira Machado, Alessandra, coorient. IV. Título.

REGIANE FAIA

Avaliação da prescrição nutricional e atividade física no controle da endometriose e na modulação da microbiota intestinal.

Dissertação  
apresentada  
ao Programa DE Pós-  
graduação em  
ciências Biológicas  
da Universidade  
Federal de Juiz de  
Fora como requisito  
parcial à obtenção do  
título de Mestre em  
Ciências Biológicas.  
Área de  
concentração:  
Imunologia e  
Doenças  
Infectoparasitárias.

Aprovada em 06 de setembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

**Professora Doutora Vânia Lúcia da Silva** - Orientadora  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Professor Doutor Cláudio Galuppo Diniz** - Coorientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Professora Doutora Alessandra Barbosa Ferreira Machado** - Coorientadora  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Professor Doutor Thiago César Nascimento**

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Professora Doutora Carolina dos Santos Fernandes da Silva**

Centro Universitário Presidente Antônio Carlos (UNIPAC)

Juiz de Fora, 09/08/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Barbosa Ferreira Machado, Professor(a)**, em 06/09/2023, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carolina dos Santos Fernandes da Silva, Usuário Externo**, em 06/09/2023, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Cesar Nascimento, Professor(a)**, em 06/09/2023, às 16:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vania Lucia da Silva, Professor(a)**, em 06/09/2023, às 16:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudio Galuppo Diniz, Professor(a)**, em 06/09/2023, às 16:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1399951** e o código CRC **D351BDFB**.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA, MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA  
CENTRO DE ESTUDOS EM MICROBIOLOGIA (CEMIC)

### **COLABORAÇÃO**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Cordeiro Dias  
Centro de Estudos em Microbiologia - ICB/UFJF

Melina Gabriela Monteiro  
Mestranda do Programa de Pós-graduação e Saúde Coletiva/UFJF

Dr<sup>a</sup>. Luzia Nasser Salomão  
Dr. José Carlos Dias Júnior  
Instituto Médico Dias Júnior – Clínica Even, Juiz de Fora/MG

### **APOIO FINANCEIRO**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG  
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq  
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

*“Jamais se desespere em meio as sombrias aflições de sua vida, pois das nuvens  
mais negras cai água límpida e fecunda.”*

Provérbio Chinês

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por todos os acontecimentos em minha vida, sejam os momentos bons e, até mesmo, os ruins, pois foi nesses em que eu mais cresci como ser humano. Agradeço por Ele ter colocado em minha vida pessoas divinas com as quais posso dividir este momento tão especial.

É, também, com grande satisfação, que expresso meus mais sinceros agradecimentos às diversas pessoas que fizeram este sonho se tornar uma realidade: aos meus professores Cláudio Galuppo, Alessandra Ferreira e Vanessa Dias, pelo apoio e disponibilidade de sempre. À minha orientadora Vânia Silva, por toda paciência ao transmitir seus nobres conhecimentos para a construção deste trabalho.

À minha grande amiga Camila Couto, presente que o mestrado me deu, pelas conversas e apoio nas madrugadas geladas que passamos no laboratório monitorando nossos experimentos.

Aos meus professores da graduação que acreditaram no meu potencial desde o início, incentivando-me para que eu realizasse a inscrição para a seleção do mestrado. Em especial, agradeço à professora Danielle Zimmermann e à professora/coordenadora Alessandra Antunes.

À minha sogra Helena, por dividir seu freezer para que não fosse preciso interromper os momentos de coleta durante a pesquisa e, também, por apoiar e amar a minha filha nos momentos que eu não pude estar presente.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e me mostraram que o melhor caminho é o dos estudos e que, por mais que fosse difícil, juntos conseguiríamos.

Agradecimento especial à minha Mãe, que abdicou de seus momentos de descanso para me acolher e acolher a minha filha, dando sempre todo o apoio nos momentos mais difíceis da minha vida. Eu te amo!

Em especial, agradeço ao meu marido, o meu eterno companheiro que, com toda a paciência e a calma do mundo, ajudou-me a passar pelas dificuldades durante este trabalho. Se não fosse você, Leonardo, tenho certeza que não chegaria até aqui! Obrigada, meu amor!

Agradeço, também, à minha grande incentivadora: minha filha Fernanda, mesmo sendo ainda tão pequena, não faz ideia do quanto você me incentiva e apoia com seus sorrisos e sua alegria. Mamãe te ama muito!

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DA PRESCRIÇÃO NUTRICIONAL E DA ATIVIDADE FÍSICA NO CONTROLE DA ENDOMETRIOSE E NA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL

A endometriose é uma doença debilitante, caracterizada por uma inflamação crônica, com reflexos em aspectos sociais, ocupacionais e psicológicos, definida como a presença de glândulas endometriais funcionais e estroma fora da cavidade uterina. De maneira geral, essa doença não tem cura, sendo que as alterações imunológicas identificadas nas mulheres com endometriose contribuem para o entendimento da fisiopatologia da inflamação e, conseqüentemente, de sua manifestação clínica. Estudos têm sugerido que a sua diversidade da microbiota intestinal e o seu equilíbrio podem estar relacionados às condições de saúde e de doença. Diversos estudos sugerem, ainda, que o treinamento físico em intensidade moderada pode estar associado à modulação da microbiota intestinal, dado que em indivíduos fisicamente ativos e atletas, essa microbiota parece apresentar maior diversidade e riqueza de espécies, em comparação com a de indivíduos sedentários. O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a estrutura global da microbiota intestinal de mulheres com endometriose sintomática, antes e durante protocolo clínico de controle da doença, relacionado à prescrição nutricional e atividade física. A população amostrada foi composta de 22 mulheres com diagnóstico clínico positivo para endometriose em serviços de ginecologia parceiros em Juiz de Fora/MG. O exame mais utilizado para o diagnóstico clínico da endometriose nas participantes foi o de ressonância magnética da pelve. Na primeira consulta, após diagnóstico clínico, foram prescritas condutas terapêuticas que envolveram o controle nutricional e a atividade física. Após 3 meses, as participantes retornaram ao consultório para nova avaliação clínica. Nos dois momentos, foram coletados espécimes fecais para análise da microbiota e foram registrados os dados clínicos e nutricionais das participantes, sendo que as características sociodemográficas foram registradas no primeiro momento. As análises realizadas, até o presente momento, foram de mulheres na faixa etária de 18 a 50 anos, com predominância entre 26 a 35 anos; com renda salarial

predominante de um a três salários mínimos (77,3%). Das participantes, 54,5% eram não praticantes de atividade física e 77,3% nunca fizeram acompanhamento profissional em relação à dieta. Em relação ao peso, foi observada diminuição global entre o primeiro e o segundo momento da consulta. A grande maioria das participantes apresentou diminuição do percentual de gordura (dobras e bioimpedância), com melhora no percentual de massa magra. O DNA metagenômico foi extraído das amostras fecais e a análise da estrutura das comunidades microbianas será realizada pela técnica de REP-PCR. A técnica utilizada não possui sensibilidade suficiente para discriminar entre grupos microbianos a partir de metagenoma complexo, porém permite avaliar a modulação da comunidade microbiana, considerando-se a comparação de cada paciente entre os dois momentos avaliados, com diferentes proporções de alteração. Estudos atuais demonstraram que a microbiota pode influenciar no metabolismo do estrógeno e este, na microbiota intestinal. A observação da alteração na qualidade de vida das mulheres com endometriose relacionam-se com o controle clínico da doença e com a alteração da microbiota residente intestinal sem estabelecer relação de causalidade ou consequência.

**Palavras chaves:** Endometriose; Microbiota Intestinal; Atividade Física; Alimentação.

## ABSTRACT

Endometriosis is a debilitating disease characterized by chronic inflammation with repercussions on social, occupational and psychological aspects. It is defined as the presence of functional endometrial glands and stroma outside the uterine cavity. Generally, endometriosis has no cure and clinical treatment aims to reduce endometriotic foci, alleviating pain in an attempt to improve the patient's quality of life. The immune system alterations identified in women with endometriosis contribute to the understanding of the pathophysiology of inflammation triggered by these lesions and consequently, to the clinical manifestations. Considering the recognized role of the resident microbiota, especially the intestinal resident microbiota, as a factor associated with host health, studies have suggested that its diversity and balance may be linked to health and disease conditions. Among various factors, including microbial groups acquired at birth, age, sex, physiological and hormonal conditions, host genotype, social behavior and habits linked to geography and diet, the latter is considered a key factor in the diversity of the intestinal microbiota. Several studies suggest that moderate-intensity physical training may also be associated with the modulation of the intestinal microbiota. In physically active individuals and athletes, this microbiota may exhibit greater diversity and species richness compared to sedentary individuals. The aim of the study was to assess the overall structure of the intestinal microbiota in women with symptomatic endometriosis, before and during a clinical protocol for disease management, involving nutritional prescription and physical activity. The sample population consisted of 22 women with a positive clinical diagnosis of endometriosis, from partner gynecology services in Juiz de Fora, MG. The most commonly used diagnostic method for endometriosis among the participants was pelvic magnetic resonance imaging. In the initial consultation following the clinical diagnosis, therapeutic approaches were prescribed, involving nutritional management and physical activity. After 3 months, these patients returned to the clinic for a follow-up clinical assessment. At both time points, fecal specimens were collected for microbiota analysis and participants' clinical and nutritional data were recorded. Sociodemographic characteristics were documented at the first time point. The analyses conducted up to the present moment included women aged between 18 to 50 years, with a predominant age group of 26 to 35 years. The predominant income range was 1 to 3 minimum wages (77.3%), with 54.5% of participants being non-

practitioners of physical activity, and 77.3% had never received professional dietary guidance. Regarding weight, a general decrease was observed between the first and second consultations. The vast majority of participants exhibited a decrease in body fat percentage (skinfold measurements and bioimpedance), with an improvement in lean mass percentage. Metagenomic DNA was extracted from fecal samples, and the analysis of microbial community structure will be conducted subsequently using the REP-PCR technique.

**Keywords:** Endometriosis; Intestinal Microbiota; Physical Activity; Nutrition.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Diferentes padrões de microbiota intestinal e reflexos sobre a saúde humana .....	29
Figura 2 - Distribuição dos gêneros microbianos em cada local do copo de acordo com a abundância relativa mediana.....	30
Figura 3 - Visão esquemática de potenciais locais de interação entre as adaptações biológicas ao exercício e à microbiota.....	38
Figura 4 - Eletroferogramas representativos de fragmentos de DNA pela técnica de REP-PCR da comunidade bacteriana a partir do DNA metagenômico fecal na primeira avaliação e 3 meses após prescrição nutricional e de atividade.....	53
Figura 5 - Dendograma de similaridade por UPGMA, coeficiente de Dice, a partir de matriz binária de presença ou ausência de bandas obtidas por REP-PCR representativo de microbiota intestinal de pacientes com diagnóstico clínico de endometriose antes e após prescrição nutricional e de atividade física.....	54
Figura 6 - Análise de correspondência múltipla para avaliação da relação entre a estrutura global da microbiota do trato gastrintestinal nos momentos de abordagem das participantes e as características físicas e cognitivas relacionadas às dimensões avaliadas pelos questionários de Questionários de Qualidade de Vida (SF-36), índice da Função Sexual Feminina (FSFI), dados antropométricos e nutricionais e o Coeficiente de Proximidade do perfil da microbiota.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aspectos epidemiológicos e sociocomportamentais das mulheres avaliadas .....	53
Tabela 2 - Parâmetros de qualidade de vida, antropométricos e nutricionais das mulheres avaliadas .....	55
Tabela 3 - Coeficiente de proximidade da estrutura global da microbiota intestinal representativa no metagenoma de espécimes fecais de mulheres com diagnóstico clínico de endometriose, no momento do diagnóstico e prescrição de tratamento não farmacológico e depois de três meses de dieta e atividade física.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA -125 - Cancer antigen (Marcador Bioquímico)

CD Células Dendríticas

DII Doenças Inflamatórias Intestinais

DNA Ácido desoxirribonucleico

IL17 Interleucina 17 humana

ER -  $\beta$  Receptor de estrogênio hipometilado

GALT Células do tecido linfóide associado a mucosa intestinal

IFN- Gama - Interferon gama

IL-8 Interleucina 8

LPS Lipopolissacarídeo

PCBs Bifenilas policloradas

PGE2 Fator pró inflamatório

RERG Inibidor de crescimento regulado por estrogênio

RONS Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio

TCDD Tetrachlorodibenzo-p-dioxina

TGI Trato Gastrointestinal

TNF- $\alpha$  Fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1	ENDOMETRIOSE .....	17
2.1.1	FISIOPATOLOGIA DA ENDOMETRIOSE .....	21
2.1.2	CLASSIFICAÇÕES DA ENDOMETRIOSE .....	22
2.1.3	DIAGNÓSTICO DA ENDOMETRIOSE .....	23
2.2	MICROBIOTA INTESTINAL .....	25
2.3	RELAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E ENDOMETRIOSE .....	29
2.3.1	MICROBIOTA INTESTINAL, ENDOMETRIOSE E ALIMENTAÇÃO .....	35
2.3.2	MICROBIOTA INTESTINAL, ENDOMETRIOSE E ATIVIDADE FÍSICA .....	39
3.	OBJETIVOS.....	42
3.1	OBJETIVO GERAL .....	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	42
4.	MATERIAL E MÉTODO.....	43
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	43
4.2	GRUPO AMOSTRAL .....	45
4.3	INQUÉRITO SOCIODEMOGRÁFICO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA.....	46
4.4	AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E ANTROPOMÉTRICA .....	47
4.5	INDICAÇÃO DE DIETA E ATIVIDADE FÍSICA .....	48
4.6	EXTRAÇÃO DE DNA METAGENÔMICO A PARTIR DOS ESPÉCIMES FECAIS .....	49
4.7	AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA .....	50
4.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	51
5.	RESULTADOS .....	52
5.2	ESTRUTURA GLOBAL DA MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL NOS MOMENTOS DE ABORDAGEM DAS PARTICIPANTES .....	56
5.3	CORRELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA GLOBAL DA MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL NOS MOMENTOS DE ABORDAGEM DAS PARTICIPANTES EAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E NUTRICIONAIS .....	60
6.	DISCUSSÃO .....	61
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	67
8.	CONCLUSÕES .....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69
	ANEXOS .....	81

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A endometriose é uma doença caracterizada por inflamação crônica, por vezes debilitante, com reflexos em aspectos sociais, ocupacionais e psicológicos, sendo definida como a presença de glândulas endometriais funcionais e estroma fora da cavidade uterina. Os focos de células endometriais, estimulados por hormônios ovarianos, implantam-se em diversos locais, como ovários, reto, bexiga, tuba uterina e ureteres, sendo o mais comum, o peritônio, desenvolvendo um suprimento vascular capaz de possibilitar o seu crescimento no local em que o tecido se implanta.

Trata-se de doença hormônio dependente, principalmente do estrógeno, e pode ser classificada, considerando a profundidade dos implantes e os tipos de aderência no tubo ovariano, em Estágio I (mínima), Estágio II (leve), Estágio III (moderada) e Estágio IV (severa).

De maneira geral, a endometriose não tem cura, sendo o tratamento clínico direcionado para a diminuição dos focos endometrióticos, na tentativa de aliviar as dores e melhorar a qualidade de vida da portadora da doença. O método ouro para o seu diagnóstico é a videolaparoscopia, por permitir que as lesões sejam visualizadas em seus diferentes estágios, aspectos e evoluções.

O marcador laboratorial biológico mais utilizado para o diagnóstico e monitoramento da endometriose é o CA-125, uma glicoproteína de origem epitelial, podendo ser encontrada no epitélio normal ou neoplásico de origem endometrial, na endocérvice, nas tubas uterinas e em células cancerosas no ovário. Porém, apenas os níveis elevados de CA-125 isoladamente não podem garantir o diagnóstico, uma vez que o marcador também se mostra elevado em outras patologias.

Nas últimas décadas, vários estudos têm reportado a importância de se ampliar o conhecimento sobre os fatores ambientais relacionados ao estilo de vida de mulheres portadoras de endometriose, tais como dieta, idade ou localização geográfica. Existem fortes evidências de uma associação entre a ruptura do equilíbrio homeostático envolvendo a microbiota intestinal e diferentes doenças locais e sistêmicas, como doenças inflamatórias, incluindo aquelas cuja condição inflamatória poderia estar relacionada com doenças autoimunes, como a endometriose.

A microbiota intestinal é constituída de microrganismos residentes que estão presentes no intestino e cuja composição varia ao longo do trato gastrintestinal, formando um ecossistema complexo. Os microrganismos que colonizam o intestino, quando em equilíbrio, protegem o hospedeiro, sendo capazes de formar uma barreira contra microrganismos exógenos, contribuindo, desse modo, aos mecanismos locais de defesa do hospedeiro.

Acredita-se que a composição da microbiota intestinal, bem como sua diversidade e riqueza de espécies, sejam influenciadas, ao longo da vida, por fatores comportamentais e ambientais, como hábitos alimentares e atividade física. Diferentes tipos de alimentos têm demonstrado interferência na composição da microbiota, oferecendo diferentes substratos para a proliferação bacteriana. Modificações na ingestão de três dos principais macronutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras) podem afetar, significativamente, a composição e a qualidade da microbiota, com impactos evidentes nos seus efeitos moduladores locais e sistêmicos.

A dieta tem impacto significativo sobre a composição e a função da microbiota, podendo influenciar no desenvolvimento de doenças metabólicas e imunomediadas. Devido ao fato de o organismo estar cada vez mais exposto a agentes agressores (alimentar, ambiental e estresse), os processos inflamatórios podem promover, ao longo da vida, um número cada vez maior de pessoas que podem adquirir um estado subclínico inflamatório.

Por outro lado, alguns estudos realizados em seres humanos sugeriram que há diferenças na composição da microbiota intestinal entre os indivíduos que praticam atividade física regularmente e os sedentários, sendo que os primeiros e os atletas apresentam maior diversidade e riqueza de espécies em comparação com os segundos. De maneira geral, o treinamento físico é recomendado com o objetivo de promover benefícios ao organismo, causando adaptações positivas ao funcionamento dos sistemas e tecidos, principalmente, muscular, adiposo, no metabolismo oxidativo, no sistema nervoso central e periférico, hormonal e cardiorrespiratório.

Do exposto, infere-se que pode existir uma relação da microbiota intestinal humana com a manutenção ou persistência da condição clínica associada à endometriose, cuja modulação poderia contribuir com o prognóstico da doença.

Sugere-se que o comportamento que inclui a rotina de atividade física e dieta pode estar fortemente relacionado com a modulação da microbiota intestinal e com o reestabelecimento da homeostase, pelo seu papel no estímulo inflamatório sistêmico e interferência nos níveis de estrógeno na circulação.

Dessa forma, no presente estudo, buscou-se avaliar aspectos sociodemográficos, nutricionais, de qualidade de vida e da estrutura global da microbiota no trato gastrointestinal de mulheres com diagnóstico clínico de endometriose, antes e após três meses de tratamento da doença, por meio de abordagem não farmacológica e prescrição de dieta e atividade física.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 ENDOMETRIOSE**

A endometriose é uma condição histologicamente caracterizada pela presença de glândulas endometriais e estroma fora da cavidade uterina, como no peritônio, nos ovários e no intestino, sendo uma doença debilitante, causada por uma inflamação crônica, com reflexos em aspectos sociais, ocupacionais e psicológicos (Arablou; Kolahdouz-Mohammadi, 2018). De maneira geral, não tem cura, sendo o tratamento clínico direcionado para a diminuição dos focos endometrióticos, na tentativa de aliviar as dores e melhorar a qualidade de vida da portadora da doença. É uma doença que afeta de 6% a 10% das mulheres em idade reprodutiva (Laschke; Menger, 2016). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que a doença afeta 190 milhões de mulheres em todo o mundo, sendo mais de sete milhões somente no Brasil (World Health Organization, 2023).

As características histológicas da endometriose mais comuns são a presença de células do estroma endometrial ou células epiteliais, sangramento crônico e sinais de inflamação. Essas lesões podem ocorrer isoladamente ou em combinação e estão associadas ao aumento do risco de infertilidade ou dor pélvica crônica. A inflamação envolvida na endometriose pode estimular as terminações nervosas na pelve e, assim, causar dor e prejudicar a função das tubas uterinas, além de diminuir a receptividade do endométrio (Serdar; Bulun, 2009).

A endometriose foi descrita inicialmente por Carl von Rokitansky, em 1860 e até

hoje permanece como uma doença de fisiopatologia não totalmente esclarecida. Porém, é frequentemente encontrada na prática ginecológica, pois determina múltiplos sintomas, com destaque para dor pélvica e infertilidade (Clapauch, 2017). Múltiplas teorias são utilizadas para a descrição dos seus eventos fisiopatológicos, mas nenhuma delas consegue explicar, por completo, todos os modos de sua manifestação.

Redwine (1988) tem defendido, com frequência, a relação da “mulleriose” na etiologia da endometriose. Essa teoria pressupõe que algum segmento do peritônio pélvico, na medida em que é derivado do mesotélio celômico, é capaz, sobre certas circunstâncias, de sofrer metaplasia ou reversão para o tecido mulleriano primitivo (Clapauch, 2017).

Mulleriose refere-se a um defeito do desenvolvimento na diferenciação ou migração de qualquer componente celular no sistema de ductos para componente celular no sistema de ductos de Muller. Ductos de Muller são ductos do embrião que descem a partir da porção lateral da crista urogenital até à eminência Mülleriana, no seio urogenital primitivo. Nas mulheres, desenvolvem-se para formar as tubas uterinas, o útero, o cérvix e um terço superior da vagina, desaparecendo nos homens, podendo ser endometrial, miometrial, tubário, cervical ou vaginal (fórnice posterior) (Signorile *et al.*, 2009).

A teoria da menstruação retrógrada foi descrita por Sampson em 1927, alegando que o refluxo do sangue menstrual pelas tubas uterinas seria fator determinante para o implante de células endometriais na cavidade abdominal. As obstruções ao fluxo menstrual e o seu aumento poderiam ser fatores de risco para o desenvolvimento da endometriose, pois ocasionariam maior refluxo menstrual (Leyendecker *et al.*, 2006). A teoria da indução, semelhante à metaplasia celômica, propõe que alguns fatores biológicos e/ou hormonais induzem a diferenciação de células indiferenciadas em tecido endometrial. Já a disseminação linfática ou vascular pode explicar osurgimento de tecido endométrico em localidades incomuns, como por exemplo, as lesões extra-abdominais (Clapauch, 2017).

Outra teoria relatada para o desenvolvimento da endometriose seria a das alterações imunológicas. Após a presença de células endometriais no peritônio pélvico, é necessária uma permissibilidade imunológica para adesão, infiltração e proliferação celular. Já foi descrita menor atividade das células *natural killers*, com citotoxicidade reduzida nas células endometriais ectópicas, tendo maior presença de

leucócitos e macrófagos no líquido peritoneal, os quais determinam grande secreção de citocinas e fatores de crescimento. A secreção de citocinas advém das células inflamatórias e do tecido endometrial ectópico, ocasionando proliferação dos implantes (Lebovic; Mueller; Taylor, 2001).

Alguns autores supõem que as alterações imunológicas identificadas nas mulheres com endometriose contribuem para o entendimento da fisiopatologia da inflamação desencadeada por essas lesões e, conseqüentemente, na manifestação clínica (dor, fibrose, aderência), sendo possível que essas mulheres estejam mais susceptíveis às doenças autoimunes (Clapauch, 2017).

Alguns fatores de risco são reconhecidos para endometriose. Alguns autores relatam acometimento familiar em 4% a 6% dos casos. O acometimento familiar pode ocorrer não só pelo caráter genético, mas também pelo estilo de vida (Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, 2010). O estudo do endométrio de mulheres com e sem endometriose tem identificado múltiplas expressões gênicas: há diferenciação na expressão de interleucina-15, glicodelina, aromatase, receptor de progesterona e fatores angiogênicos. Muitos outros genes têm sido identificados e relacionados à doença, porém, ainda não há indicação prática para estudos genéticos em famílias com membros portadores de endometriose (Kao *et al.*, 2003).

Todos os fatores que aumentam o volume ou a frequência menstrual são imputados como de risco para endometriose. A nuliparidade, ciclos menstruais encurtados, menarca precoce, menopausa tardia e menstruação excessivas são exemplos (Missmer *et al.*, 2004). As obstruções ao fluxo menstrual constituem importante fator de risco para o desenvolvimento da endometriose, que podem ser congênitas ou adquiridas. Há um maior refluxo sanguíneo para a cavidade pélvica, provável fator facilitador para o desenvolvimento da doença. Os septos vaginais transversos, agenesias do colo uterino, hímem imperfurado, cornos uterinos rudimentares e não comunicantes são exemplos de causas congênitas (Cardoso *et al.*, 2011).

Entre possíveis fatores desencadeadores da endometriose estão os ambientais. Sabe-se que a poluição pode desencadear inúmeras doenças, principalmente, as respiratórias, no entanto, cada vez mais, tem-se observado que também podem causar outras doenças ou, ainda, funcionarem como fatores concausais (Bellelis; Podgaec; Abrão, 2014).

Muitos dos poluentes ambientais são persistentes, podendo se acumular no meio ambiente e influenciar negativamente desde a gestação até a vida adulta. Uma análise do *Environmental Working Group* revelou a presença de 287 agentes químicos diferentes no cordão umbilical humano, apesar de nem todas as crianças terem sido expostas a todos os poluentes detectados (Bellelis; Podgaec; Abrão, 2014).

Os compostos semelhantes à dioxina (tetraclorodibenzo-p-dioxina - TCDD, considerado o poluente ambiental mais tóxico ao homem) são frequentemente relacionados à endometriose (Acién; Velasco, 2013). Esse composto tem capacidade de ativação de receptores pertencentes à superfamília de receptores, que englobam os receptores hormonais, ocasionando a transcrição de múltiplos genes. Assim, os compostos semelhantes à dioxina poderiam estimular a endometriose devido a maior produção de interleucinas, de enzimas do citocromo P-450 e ocasionamento de maior remodelação tecidual (Clapauch, 2017).

É possível uma ação conjunta com o estrógeno na estimulação tecidual e no bloqueio do receptor da progesterona (Rier; Foster, 2003). As bifenilas policloradas (PCBs) também são apontadas como produtos tóxicos de relevância. Apesar de ainda não estar definido seu real papel no desenvolvimento da endometriose, algumas hipóteses podem ser consideradas. Certos PCBs apresentam toxicidade biológica similar ao TCDD e, portanto, também podem agir comprometendo a função reprodutiva (Bellelis; Podgaec; Abrão, 2011).

Pacientes com dor ou disfunção de órgãos decorrentes da endometriose podem receber medicações para o alívio dos sintomas, dado que tais medicações impedem, na maioria das vezes, a descamação do endométrio ectópico, evitando assim, a agudização do processo inflamatório desencadeado durante o período menstrual. Nas pacientes inférteis, o tratamento clínico não demonstra benefício em relação às taxas de gravidez e atrasa o seu surgimento (Clapauch, 2017).

A cirurgia laparoscópica tornou-se o padrão ouro no tratamento cirúrgico da endometriose em praticamente todos os grandes centros de referência nacional e mundial, devido às suas conhecidas e consagradas vantagens sobre a laparotomia (Gylfason *et al.*, 2010).

### 2.1.1 FISIOPATOLOGIA DA ENDOMETRIOSE

Desde a menarca, a cada ciclo menstrual, o endométrio eutópico sofre influência estrogênica, cresce e descama, sendo eliminado ao meio exterior através das vias genitais inferiores, caracterizando a menstruação (Clapauch, 2017). O estrógeno também estimula o endométrio ectópico (endometriose) que cresce e descama a cada ciclo, porém, a característica tecidual do peritônio parietal ou visceral não confere proteção.

Assim, há início de processo de agressão tecidual inflamatória, com imediata e progressiva resposta à inflamação, caracterizada na forma de lise tecidual, produção de mediadores inflamatórios que promovem aumento da permeabilidade capilar e quimiotaxia, produzindo mais mediadores químicos, além dos contidos no fluido descamado pelo endométrio ectópico. Com isso, a resposta é caracterizada por exsudação, neovascularização, fibrose e retração (nódulo, aderência, distorções anatômicas) e, talvez, em situações próprias, pelo surgimento de fenômenos metaplásicos (metaplasia muscular) (Clapauch, 2017).

O tratamento da endometriose é recomendado quando há dores somáticas ou viscerais em conjunto com infertilidade. A hiperalgesia é o fenômeno de dor intensa quando um estímulo, normalmente não doloroso, é aplicado. Alguns exemplos são clássicos: dispareunia de profundidade, dor à defecação e dor intensa durante o toque vaginal (Vercellini *et al.*, 2014). Os sintomas dolorosos têm forte correlação com a localização da lesão: quanto maior a quantidade de terminações nervosas na região, maior será a sua probabilidade (Fauconnier; Chapron 2005).

O conceito atual de infertilidade na endometriose é multifatorial, com muitas formas possíveis de interferência na reprodução. Na cavidade pélvica, há mudanças inflamatórias no fluido peritoneal, decorrentes da proliferação de macrófagos e disfunção dos fagócitos, liberação de fatores pró inflamatórios e angiogênicos, que podem afetar a interação do espermatozóide com o oócito. No útero, ocorre ativação no fator 1 da esteroidogênese e na aromatase, aumentando a resistência à progesterona e às mudanças diretas sobre o endométrio, interferindo na nidação. Os ovários podem ter a reserva tecidual reduzida pelo endometrioma ou cirurgias, além da função ovulatória alterada. A tuba pode sofrer distorções anatômicas, obstrução, dilatação com acúmulo de secreção (hematossalpinge), interferindo negativamente

não somente nas taxas de gestação espontânea, como nos procedimentos de reprodução assistida (Ziegler; Borghese; Chapron, 2010).

Ainda que existam diferentes teorias sobre etiologia e patologia da endometriose, os mecanismos exatos da doença ainda não foram totalmente compreendidos. Vários parâmetros, incluindo mediadores inflamatórios, aspectos imunológicos, estresse oxidativo e fatores genéticos são discutidos como fatores de influência (Macer; Taylor, 2012).

Estudo relacionado ao genoma demonstrou que a superexpressão de ER- $\beta$  (receptor de estrogênio hipometilado) e a sinalização pró-inflamatória via PGE2 (prostaglandinas E2) na endometriose levam a uma superexpressão do gene RERG (inibidor de crescimento regulado por estrogênio). Os autores identificaram que o gene RERG é transcricionalmente regulado pelo estrógeno e pós-transcricionalmente modificado pelo fator pró-inflamatório, PGE2. Observou-se que ER $\beta$ , via RERG, contribui para a patogênese da endometriose, promovendo a proliferação de células estromais endometrióticas. Com isso, a endometriose é uma condição dependente de estrogênio. Na fase reprodutiva, a estimulação estrogênica resulta principalmente da secreção ovariana (Kaur; Allahbadia, 2016).

A mulher com endometriose pode apresentar um quadro clínico variável, desde assintomático até manifestações clínicas de intensidade variada. Nesse caso, é associado ao quadro clínico a dor pélvica, que é o sintoma mais comum, dismenorrea, dispareunia, dor ovulatória, fadiga e problemas intestinais durante a fase menstrual. Essas manifestações tendem a aparecer durante os períodos menstrual e pré-menstrual, havendo normalmente melhoras após o término da menstruação (Barbosa; Oliveira, 2015).

### **2.1.2 CLASSIFICAÇÕES DA ENDOMETRIOSE**

Várias classificações para a endometriose foram propostas, porém, nenhuma delas preenche as necessidades vinculadas ao prognóstico de melhora da dor. De maneira geral, a endometriose não tem cura, sendo o tratamento clínico direcionado a uma diminuição dos focos endometrióticos, aliviando as dores na tentativa de melhorar a qualidade da vida da portadora da doença (Nácul; Spritzer, 2010).

A classificação mais utilizada é a da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva, que permite avaliação tridimensional das lesões e diferenciação entre lesões superficiais e profundas, sendo realizada conforme os estágios da doença: Estágio I (mínima), Estágio II (leve), Estágio III (moderada) e Estágio IV (grave). As lesões também devem ser descritas como brancas, vermelhas ou pretas (*American Society for Reproductive Medicine*, 1997).

Alguns autores categorizam a doença endometriótica em três tipos: peritoneal superficial, peritoneal profunda e ovariana. A endometriose superficial tem um papel duvidoso na infertilidade, restando apenas uma influência nos sintomas dolorosos. A endometriose profunda é, arbitrariamente, definida como a infiltração do peritônio maior do que 5mm.

Já a endometriose ovariana pode acometer a superfície da gônada ou, na sua forma profunda, formar um pseudocisto a partir da invaginação do epitélio celômico ovariano, denominado de endometrioma. Essas lesões estão frequentemente associadas à infertilidade, maior intensidade da dor, distorções anatômicas e disfunção do órgão ou estrutura acometida (Clapauch, 2017).

Outra forma utilizada para a classificação da doença subdivide os achados morfológicos em endometriose peritoneal superficial, endometriose ovariana (endometrioma) e endometriose infiltrativa profunda. Endometriose profunda é definida como a infiltração dos implantes de endometriose além de 5mm da superfície peritoneal, com fibrose e hiperplasia muscular (Nisolle; Donnez, 1997).

### **2.1.3 DIAGNÓSTICO DA ENDOMETRIOSE**

A dor é o sintoma preponderante na endometriose. A dor no hipogástrico, repentina, tipo pontada, de caráter paralisante, de curta duração e que cede espontaneamente, é comum. As pacientes podem queixar-se de dismenorreia progressiva ou não, dor pélvica crônica que se intensifica nos períodos pré e menstrual, lombalgia cíclica, constipação crônica, aumento do número de evacuações e diarreia (fezes líquidas), distensão abdominal, sangramento uterino anormal (escapes pré e pós-menstrual), dispareunia de profundidade, movimentos peristálticos dolorosos, cólicas que aliviam com a evacuação ou eliminação de gases, proctalgia, tenesmo com ou sem muco, reflexo gastrocólico doloroso e alterações cíclicas da

micção (disúria, polaciúria, dor ao final da micção, dor vesical com a bexiga cheia ou noctúria) (Clapauch, 2017).

Além do diagnóstico clínico, o diagnóstico por imagem tem apresentado grande evolução nas últimas décadas (ultrassonografia transvaginal, ultrassonografia abdominal, ecoendoscopia, ressonância magnética da pelve e videolaparoscopia) (Gylfason *et al.*, 2010). Já em relação à endometriose profunda, a ultrassonografia transvaginal, principalmente com preparo intestinal e complementada com a transabdominal, a ressonância magnética da pelve e a ecocolonosopia têm promovido uma verdadeira revolução no diagnóstico, mapeamento das lesões e planejamento terapêutico, principalmente o cirúrgico.

A ultrassonografia transvaginal é considerada um bom exame para detecção de endometriomas ovarianos, com excelente especificidade e sensibilidade. Entretanto, apresenta limitações na avaliação da endometriose superficial e de aderências pélvicas (Moore *et al.*, 2002). A ressonância magnética da pelve é um excelente exame para avaliar endometriose ovariana e, com profissionais experientes, permite a adequada avaliação da endometriose profunda, muito próxima ao ultrassom, determinando ótima correlação com os achados laparoscópicos e proporcionando a melhor avaliação da endometriose profunda, dado que atinge o assoalho pélvico e plexo lombossacro (Chamié *et al.*, 2011).

O método padrão ouro para o diagnóstico, entretanto, é a videolaparoscopia, considerada a mais acurada na determinação da patologia em adolescentes e mulheres adultas. Mas, por ser uma técnica diagnóstica invasiva, o procedimento deve ser feito sob orientação e critérios estabelecidos pelo médico. A multiplicidade de lesões faz com que a experiência do examinador seja fundamental ao diagnóstico, pois, por esse método, as lesões podem ser vistas em seus diferentes estágios, aspectos e evoluções (Laschke; Menger, 2016).

Os marcadores bioquímicos séricos, como o CA-125, são utilizados na prática para auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de mulheres após a ressecção cirúrgica da endometriose. Considera-se elevado um valor superior a 35 UI/ml. A elevação de seus níveis é mais encontrada na endometriose moderada e grave. Apresenta limitações no seu uso clínico, pois outras lesões ginecológicas podem ocasionar seu aumento, como miomas uterinos, doença inflamatória pélvica, carcinoma ovariano, dentre outras (Clapauch, 2017; Lopetuso *et al.*, 2014).

## 2.2 MICROBIOTA INTESTINAL

A microbiota intestinal é constituída de microrganismos que estão presentes no trato gastrointestinal, cuja composição varia ao longo do intestino, formando um complexo ecossistema, em que as bactérias constituem o grupo com maior diversidade e abundância (Lopetuso *et al.*, 2014). Estudos descrevem mais de 50 filos presentes na comunidade microbiana do intestino humano, no entanto, dois destes são mais prevalentes: os filos Bacteroidetes e Firmicutes (Jiménez *et al.*, 2008). A mucosa intestinal é colonizada por mais de 1000 espécies bacterianas, podendo conter, também, fungos e protozoários, além de vírus (Bull; Plummer, 2014). A colonização do trato gastrointestinal (TGI) humano tem seu início ao nascimento, após o parto. Isso ocorre devido ao fato de o neonato passar pelo canal vaginal e ser exposto aos microrganismos que colonizam a mucosa vaginal materna (Santos, 2018).

No estômago e no intestino delgado, o número de bactérias é relativamente menor, uma vez que o ambiente é desfavorável para a colonização e a proliferação, em decorrência da ação bactericida do suco gástrico, da bile e da secreção pancreática, bem como, ao intenso peristaltismo do intestino delgado (Machado *et al.*, 2021). No cólon, as bactérias encontram condições favoráveis para sua proliferação, em razão da ocorrência de peristaltismo lento e do abundante suprimento nutricional. As bactérias presentes no lúmen intestinal também podem diferir daquelas incorporadas na camada de muco, assim como nas imediações do epitélio (Montalto *et al.*, 2009; Sekirov *et al.*, 2010).

Os microrganismos que dominam a microbiota intestinal são anaeróbios, que incluem os gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Enterobacteriaceae*, residentes ou transitórios (Samuelson; Welsh; Shellito, 2015). Linhagens residentes têm uma longa associação com o hospedeiro e formam uma população estável em uma determinada região do intestino. Os microrganismos transitórios são adquiridos principalmente através dos alimentos ingeridos e do ecossistema oral. É difícil determinar se um microrganismo é um residente verdadeiro. Contudo, as bactérias transitórias não persistem no ecossistema e são detectáveis apenas por um período limitado (Walter, 2008).

A mucosa intestinal é o principal local onde os microrganismos e os antígenos interagem com o hospedeiro. O sistema imunológico inato reconhece os

microrganismos potencialmente patogênicos, que podem desencadear forte reação inflamatória, daqueles microrganismos comensais, os quais induzem a um processo inflamatório autolimitado (estado de inflamação fisiológico), sem danos aos tecidos, resultando em um estado de tolerância imunológica (Ley *et al.*, 2006; Montalto *et al.*, 2009).

As células do tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT) inclui as células apresentadoras de antígeno, linfócitos B e T, células epiteliais e outras, que estão em contínuo contato com a microbiota intestinal (Geuking *et al.*, 2014). Os antígenos que são provenientes da microbiota intestinal estimulam o desenvolvimento dos órgãos linfóides associados às mucosas (GALT). Dessa maneira, a microbiota intestinal é uma fonte importante de antígenos e possui a capacidade de manutenção de um estado de homeostasia no hospedeiro.

A mucosa intestinal é a porta de entrada de inúmeros antígenos e é capaz de impedir a colonização do trato gastrointestinal (TGI) por outros microrganismos que são potencialmente patogênicos, além de também estimular a resposta imunológica em nível de mucosa (Zeuthen *et al.*, 2010). Isso pode afetar as respostas imunológicas sistêmicas por meio da modulação na expansão extra-intestinal dos linfócitos T, levando ao desenvolvimento de tolerância oral e controle da inflamação (Kieper *et al.*, 2005; Samuelson, Welsh, Shellito, 2015).

Descobertas recentes indicam que os fungos, mesmo presentes em número muito menor do que as bactérias, são componentes importantes da microbiota humana, influenciando processos que vão desde a digestão até o comportamento humano. O crescente entendimento da importância dos fungos dentro da microbiota humana levou à difusão do termo micobiota, que vem sendo usado para se referir exclusivamente à comunidade de fungos que vivem em um determinado sítio do corpo humano. Os fungos possivelmente contribuem com metabólitos únicos para a microbiota, já tendo sido demonstrado que eles são capazes de afetar a composição da comunidade bacteriana (Machado *et al.*, 2021).

Estudos demonstraram que os fungos apresentam uma função complexa e multifacetada no TGI, influenciando diretamente a saúde e a doença do hospedeiro, por meio de interações com as bactérias, com outros fungos e com o hospedeiro. Os fungos representam o mais abundante grupo de eucariotos residentes no intestino humano, com implicações na manutenção da saúde e no desenvolvimento de doenças em seres humanos (Borges *et al.*, 2014).

A microbiota intestinal estabelece uma relação de mutualismo com o hospedeiro, pois o TGI humano serve de habitat para estes microrganismos. Essa relação mutualística é favorecida pela temperatura corporal do hospedeiro e a disponibilidade de nutrientes. No entanto, os microrganismos comensais auxiliam na quebra de nutrientes na produção de vitaminas essenciais. Desse modo, há benefício tanto para o hospedeiro quanto para os microrganismos (Hudault; Guignot; Servin, 2001; Nuding; Antoni; Stange, 2013).

A endometriose parece estar associada a níveis elevados dos grupos microbianos Proteobacteria, Enterobacteriaceae, Streptococcus e Escherichia coli. O filo Firmicutes e o gênero *Gardnerella* parecem ter também uma associação na patologia, embora alguns estudos demonstrem-se conflitantes (Ata *et al.*, 2019). Em nível de filo, Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria e Verrucomicrobia foram identificados em alguns estudos como sendo significativamente maiores na linha de coorte de endometriose, em comparação com os grupos controles (Shan *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2018).

Em outro estudo, o grupo de Beta-Proteobacteria foi relatado como sendo significativamente maior na população de camundongos com endometriose. As populações de *Bifidobacteriales* e *Burkholderiales* também foram significativamente maiores no grupo de camundongos com endometriose, enquanto *Bacteroidales* predominaram no grupo controle. Verificou-se, também, que *Staphylococaceae* e *Streptococcaceae* estavam significativamente aumentados em mulheres com endometriose que foram tratadas com o agonista do hormônio liberador de gonadotrofina, em comparação com os grupos controles (Khan *et al.*, 2016).

Em particular, um estudo relatou um aumento significativo nos níveis de *E. colino* sangue menstrual de mulheres com endometriomas ovarianos e lesões peritoneais, quando comparados com mulheres com endometriomas ovarianos isolados (Khan *et al.*, 2010). No entanto, o desenvolvimento da endometriose em modelos de primatas não humanos é raro, pois a patologia progride lentamente. Uma das principais limitações dos modelos de camundongos é que eles não menstruam e, portanto, necessitam de intervenção cirúrgica de endométrio (Bailey; Coe, 2002).

Outros estudos sugerem, ainda, que as bactérias intestinais podem influenciar o sistema imunológico e a inflamação em várias condições de saúde. Em um estudo em camundongos, foi induzida a endometriose, transplantando tecido endometrial autólogo para a parede peritoneal. Os camundongos foram tratados com antibióticos

de amplo espectro (vancomicina, neomicina, metronidazol e ampicilina) e foi observado que a progressão das lesões endometrióticas foi significativamente reduzida. Os resultados também mostraram que a composição da microbiota intestinal era diferente em camundongos com endometriose em comparação com aqueles sem a patologia. Camundongos com endometriose tinham mais bactérias do gênero *Bacteroides* e menos *Firmicutes* no intestino (Bailey; Coe, 2002).

Os autores sugerem que as bactérias intestinais poderiam influenciar a inflamação e o crescimento das lesões endometrióticas. As lesões em camundongos tratados com antibióticos tiveram menos células inflamatórias e níveis mais baixos de citocinas pró-inflamatórias nas cavidades peritoneais. Além disso, foi demonstrado que a antibioticoterapia, como por exemplo, a administração de metronidazol, um antianaeróbio clássico que atua especificamente nas bactérias do gênero *Bacteroides*, reduziu o crescimento das lesões endometrióticas (Chadchan *et al.*, 2019).

A literatura sugere também a associação entre a endometriose e a composição da microbiota intestinal, bem como suas implicações na saúde gastrointestinal. Como já citado, a endometriose é uma doença inflamatória e dependente de estrogênio. Além dos sintomas ginecológicos, até 90% das mulheres com endometriose apresentam sintomas gastrointestinais, como inchaço, náuseas, constipação, diarreia e vômitos.

Um estudo comparou 66 mulheres com endometriose a 198 mulheres consideradas como grupos controles saudáveis. As amostras fecais foram coletadas e a microbiota intestinal foi identificada por meio de sequenciamento de rRNA 16S. As análises mostraram que a diversidade geral da microbiota intestinal era significativamente maior nos grupos controles em comparação com as pacientes com endometriose. Porém, o estudo não conseguiu estabelecer uma correlação entre a abundância de bactérias e os sintomas gastrointestinais ou o tratamento hormonal das pacientes. A presença de endometriose pode afetar a microbiota intestinal, mas também pode ser afetada por fatores como tratamento hormonal e sintomas gastrointestinais (Svensson *et al.*, 2021).

Sendo assim, observa-se que os microrganismos que compõem a microbiota intestinal promovem estímulos ao sistema imune do hospedeiro e isso favorece a colonização, pois ambas as partes se beneficiam desta inter-relação (Santos, 2018).

### 2.3 RELAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E ENDOMETRIOSE

O impacto das bactérias na fisiologia humana e na etiologia das doenças inflamatórias intestinais (DII) é bem estabelecido. O interesse em determinar quais microrganismos compõem a microbiota, em que proporção e o que produzem ou como interagem com as células do hospedeiro decorre da percepção de que interações hospedeiro-microbiota podem influenciar o *status* saúde *versus* doença (Machado *et al.*, 2021).

O TGI é exposto a um incontável número de antígenos. Além de substâncias ingeridas via alimentação, o TGI e outras superfícies mucosas e epiteliais estão expostos a milhares de células microbianas (Tlaskalová-Hogenová *et al.*, 2004). O hospedeiro precisa se proteger da ação de agentes externos patogênicos potencialmente nocivos e precisa, também, tolerar microrganismos residentes que auxiliam na absorção e na utilização de nutrientes.

Diante disso, o sistema imune do hospedeiro desenvolveu-se para proteger os tecidos dos microrganismos e simultaneamente manter os benefícios da simbiose a partir da microbiota. Para essa tarefa complexa, o TGI é equipado de estratégias de segurança em múltiplos níveis, dependentes de mecanismos imunológicos e não imunológicos, incluindo a função de barreira da mucosa gastrintestinal. A mucosa gastrintestinal apresenta mais células linfóides que o baço, os linfonodos periféricos e o sangue (Machado *et al.*, 2021).

A microbiota intestinal tem potencial de influenciar o estado de saúde geral do hospedeiro por meio de interações com o sistema imunológico do trato gastrintestinal. Os desequilíbrios, principalmente na atividade imunológica, os quais podem ser desencadeados por alterações na composição ou na atividade metabólica da microbiota, têm o potencial de induzir processos inflamatórios locais e sistêmicos envolvidos com doenças infecciosas ou inflamatórias e doenças autoimunes, como no caso da endometriose (Tlaskalová-Hogenová *et al.*, 2004).

Os dados epidemiológicos da endometriose sugerem uma predisposição genética, mas muitos estudos realizados até o momento não conseguiram identificar um único gene ou uma sequência de genes (Anglesio *et al.*, 2017). Perturbações imunológicas independentemente ou em associação com mudanças epigenéticas poderiam desempenhar um papel no desenvolvimento da doença (Gylfason *et al.*,

2010).

Estudos recentes apresentam fortes evidências de uma associação entre desequilíbrio da microbiota, ou seja, ruptura do equilíbrio homeostático envolvendo a microbiota intestinal e diferentes doenças locais e sistêmicas, como doenças inflamatórias, incluindo aquelas cuja condição inflamatória pode estar associada com a obesidade, doenças autoimunes e até alguns tipos de câncer, especialmente o câncer do cólon (Conlon; Bird, 2014).

Nesse contexto de modulação de estímulo inflamatório local e sistêmico, tem sido sugerido que a desequilíbrio da microbiota no trato genital ou na microbiota intestinal pode estar associada à endometriose (Ata *et al.*, 2019). Os focos endometrióticos ectópicos estão mais comumente presentes na pelve, mas também são encontrados em outros locais, incluindo, intestino, diafragma e cavidade pleural, dentre outros (Flores *et al.*, 2012).

A desequilíbrio da microbiota intestinal tem sido abordada tanto como causa quanto como consequência da inflamação. A caracterização da microbiota na ocorrência de DII revela uma tendência a aumento de microrganismos aeróbicos, menor diversidade, menor abundância de bactérias Gram-positivas anaeróbias obrigatórias e aumento concomitante das bactérias anaeróbias facultativas, como *Enterococcus* e *Streptococcus*. A redução de *Faecalibacterium prausnitzii*, espécie produtora de butirato, é um marcador da fase ativa da doença (Stecher, 2015).

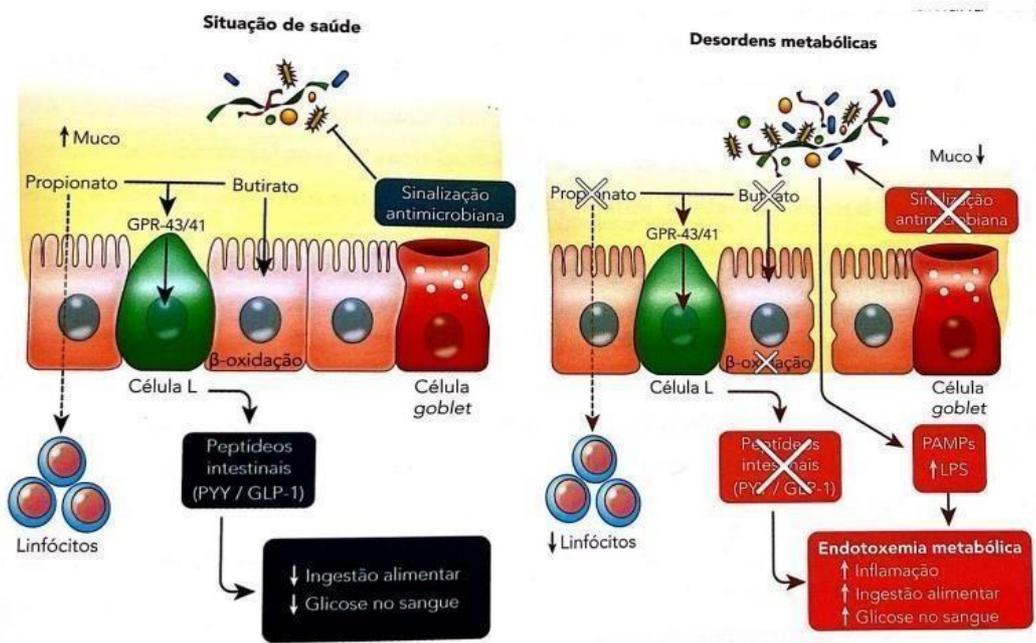
Cada espécie de bactéria presente no intestino utiliza substratos específicos para sua manutenção e reprodução. As reações metabólicas bacterianas geram metabólitos característicos de cada espécie. Dependendo do tipo de metabólito microbiano liberado no intestino, a resposta metabólica do organismo favorece ou desfavorece a saúde humana. O butirato e o propionato são exemplos desses metabólitos (Postler; Ghosh, 2017).

O butirato é a principal fonte de energia dos colonócitos humanos, as células de revestimento do cólon (porção final do intestino grosso), que pode induzir apoptose de células cancerígenas do cólon, além de ativar a gliconeogênese intestinal, gerando efeitos benéficos sobre a homeostase de glicose e energia. O butirato é essencial para que as células epiteliais possam consumir grandes quantidades de oxigênio, gerando um estado que mantém o equilíbrio de oxigênio no intestino e prevenindo a disbiose intestinal. O propionato, por sua vez, migra do intestino para fígado, sendo

responsável por regular a gliconeogênese e a sinalização da saciedade por meio da interação com os receptores de ácidos graxos do intestino (Valdes *et al.*, 2018).

Quando o organismo apresenta distúrbios metabólicos, a microbiota intestinal associa-se a um quadro caracterizado por uma camada de muco menos espessa, menor defesa antimicrobiana e produção reduzida de butirato e propionato. Como consequência, as células L secretam menos peptídeos intestinais. A deficiência de butirato provoca o aumento da quantidade de oxigênio disponível para a microbiota na proximidade da mucosa e acelera a proliferação de bactérias da família *Enterobacteriaceae*. A diminuição do propionato também contribui para reduzir a quantidade de linfócitos T específicos na lâmina própria do intestino. Com a diminuição desses metabólitos, pode ser desencadeada uma inflamação de baixo grau (Figura 01) (Cani, 2018).

Figura 1 - Diferentes padrões de microbiota intestinal e reflexos sobre a saúde humana



GLP: peptídeo semelhante ao glucagon; GPR: receptor acoplado à proteína G; LPS: lipopolissacarídeo; PAMP: padrão molecular associado a patógeno; PYY: peptídeo YY. Fonte: Pereira; Gouveia (2019)

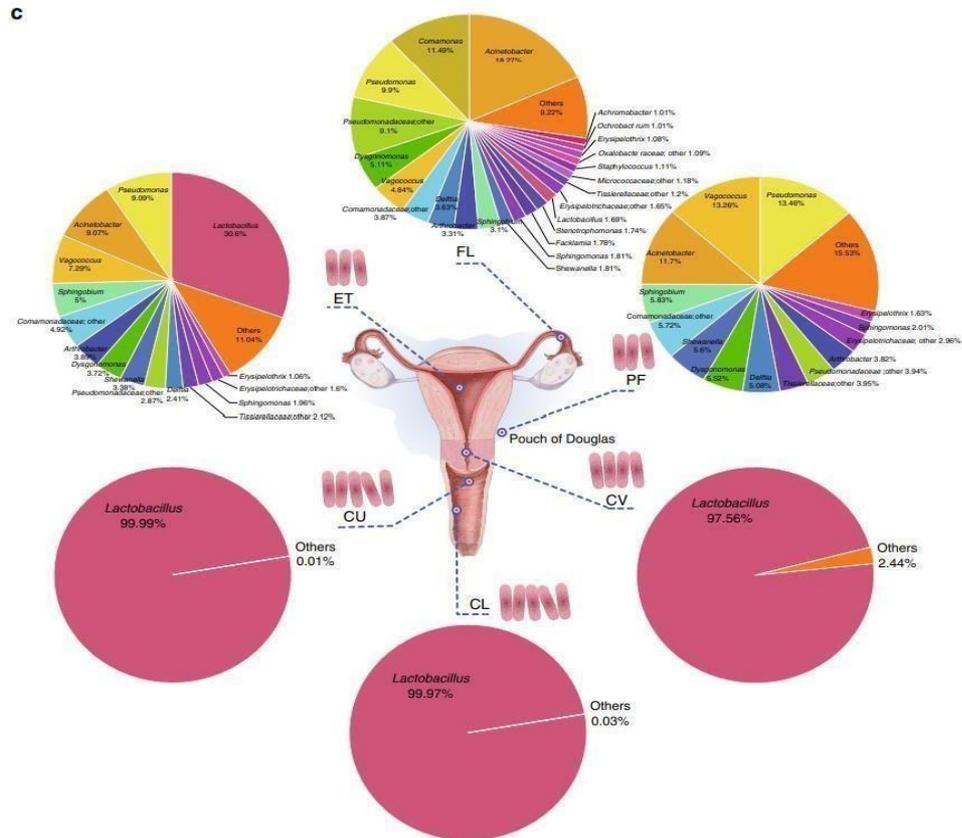
O aumento da permeabilidade intestinal, também, conhecida como “*leaky gut*” (alguns autores denominam intestino “vazado”), é uma característica frequente nos quadros de desequilíbrio da microbiota intestinal. A consequência desse fenômeno é

o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e radicais livres, prejudicando o funcionamento de diversos órgãos, promovendo o aparecimento de alterações metabólicas, endotoxemia e inflamação de baixo grau. O aumento da permeabilidade intestinal e o desequilíbrio microbiano no intestino têm sido associados a uma série de distúrbios metabólicos e em diversas doenças autoimunes (Zhao *et al.*, 2018).

Um estudo realizado com mulheres chinesas em idade reprodutiva demonstrou, sistematicamente, a microbiota do trato reprodutor superior em seis locais anatômicos diferentes. As bactérias foram identificadas por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA, utilizando qPCR em tempo real, além da culturabacteriana convencional. Os resultados indicaram uma continuidade do microbioma vaginal-uterino, com uma distinta tendência dentro do mesmo indivíduo.

Participantes do estudo com adenomiose (presença anormal de tecido endometrial dentro do miométrio) mostraram depleção ou enriquecimento de muitas bactérias em todo o trato reprodutivo, sendo que algumas das quais se sobrepuseram às bactérias associadas à anemia. O estudo também avaliou modelos baseados na microbiota que contibuíram para distinguir as participantes com e sem infertilidade atribuída à endometriose, permitindo, assim, sugerir que a composição da microbiota vagino-uterina pode ser usada para detectar várias doenças comuns em mulheres em idade reprodutiva (Figura 02) (Chen *et al.*, 2017).

Figura 2 - Distribuição dos gêneros microbianos em cada local do copo de acordo com a abundância relativa mediana



Os gêneros que ocuparam menos de 1% da microbiota foram rotulados juntos como 'outros'. Uma haste rosa representa cerca de 10<sup>2</sup> cópias/amostra, de acordo com os resultados de qPCR. CL – Terço inferior da vagina; CU – Fórnice posterior; CV – muco cervical retirado do canal do colo; ET – tecido endométrico; FL – Trompa de Falópio; PF – fluido peritoneal do saco de Douglas.

Fonte: Chen *et al.* (2017)

Em geral, a elevada carga bacteriana não causa doença ao hospedeiro quando permanece dentro do lúmen intestinal em uma relação comensal. Porém, a translocação de microrganismos viáveis ou de partes de suas estruturas celulares (como LPS, flagelina ou peptidoglicano), a partir do TGI, desencadeia respostas imunológicas, que, quando exacerbadas, podem causar prejuízos à fisiologia do hospedeiro (Machado *et al.*, 2021).

O estabelecimento inicial das lesões endometrióticas está associado à ativação do sistema imunológico inato (Laux-Biehlmann *et al.*, 2015). A resposta inata é rápida e tipicamente identifica patógenos com base em receptores que detectam componentes imutáveis de patógenos, os chamados padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) ou padrões moleculares associados a microrganismos (MAMP). De modo geral, a imunidade inata corresponde às barreiras físicas (muco e células epiteliais) ou secretadas (peptídeos antimicrobianos) e à atividade celular desempenhada por células mielóides/granulócitos, como macrófagos, células dendríticas (CD), basófilos, mastócitos, neutrófilos e eosinófilos (Machado *et al.* 2021).

Ferro e grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio que surgem de resíduos menstruais, por exemplo, podem contribuir ainda mais para a ativação de macrófagos, neutrófilos e mastócitos. Consequentemente, essas células secretadas no fluido peritoneal, as citocinas pró-inflamatórias e os fatores de crescimento angiogênicos promovem a formação de lesões endometrióticas vascularizadas e seu progressivo espalhamento dentro da cavidade peritoneal (Capobianco; Rovere-Querini, 2013).

Além dos neutrófilos, os macrófagos peritoneais podem ser marcadamente influenciados por alterações inflamatórias no intestino e a permeabilidade intestinal aumentada. Emani *et al.* (2015) descobriram que o vazamento de produtos bacterianos do intestino resulta em um maior número de macrófagos na cavidade peritoneal. Portanto, sugere-se que tal preparação de macrófagos peritoneais por sinais microbianos derivados do intestino podem também afetar sua capacidade de fagocitar restos endometriais e atacar lesões endometrióticas em desenvolvimento recente.

Outro estudo avaliou que a concentração de IL-17 foi significativamente mais elevada no fluido peritoneal de mulheres com endometriose mínima a leve em comparação com aquelas com endometriose moderada a grave e aquelas sem a

doença. A IL-17 estimula a produção de citocinas pró-angiogênicas, como IL-8. Portanto, os autores propuseram que a IL-17 poderia desempenhar um papel crucial no início da endometriose por hipervascularização da superfície peritoneal, que facilita a sobrevivência (Zhang *et al.*, 2005).

O desequilíbrio da microbiota intestinal pode aumentar os níveis de circulação de estrogênio, que marcadamente pode estimular o crescimento e o sangramento cíclico de lesões endometrióticas (Flores *et al.*, 2012). Nesse sentido, poderia-se supor que a microbiota intestinal teria potencial para influenciar, não apenas nos processos inflamatórios, mas também em outros mecanismos essenciais na patogênese da endometriose.

### **2.3.1 MICROBIOTA INTESTINAL, ENDOMETRIOSE E ALIMENTAÇÃO**

A capacidade das bactérias intestinais em atuarem na recuperação de energia da dieta, na geração de carboidratos digeríveis, ácidos graxos de cadeia curta, aminoácidos, vitaminas e na modificação de ácidos biliares ilustra a participação da microbiota em diversas vias metabólicas do hospedeiro (Wikoff *et al.*, 2009). No entanto, o entendimento de como a dieta do hospedeiro pode alterar a composição da microbiota é muito complexo (Machado *et al.*, 2021). A composição da dieta é fundamental para direcionar a evolução de novas espécies na microbiota intestinal. Mudanças qualitativas e quantitativas no fornecimento de substratos para a microbiota intestinal ocorrem por alterações no padrão dietético. O tempo necessário para observar mudanças na microbiota pode ser inferior a um mês (Li *et al.*, 2009).

A dieta é considerada um contribuinte chave para a modulação da diversidade da microbiota intestinal (Huërou-Luron; Blat; Boudry., 2010). Diferentes tipos de alimentos têm demonstrado influenciar a composição da microbiota, oferecendo diferentes substratos para a proliferação bacteriana. Modificações na ingestão de três dos principais macronutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras) podem afetar significativamente a composição e qualidade da microbiota, com impactos evidentes nos seus efeitos moduladores locais e sistêmicos (Bianchi *et al.*, 2014).

As populações apresentam diferentes hábitos alimentares dado que têm acesso distinto aos alimentos e esse fato pode determinar diferenças significativas na composição taxonômica da microbiota intestinal. A dieta tipicamente ocidental, além

de hiperlipídica, possui baixo consumo de fibras, podendo alterar a microbiota intestinal, uma vez que aumenta o risco de desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais (Wu *et al.*, 2011).

Já a dieta mediterrânea, comum na cultura mediterrânea ocidental, denominada por alguns autores como “dieta agrária”, é considerada como padrão alimentar nutricionalmente recomendado e caracterizado por alto consumo de fibras, frutas, vegetais, legumes, nozes e cereais minimamente processados, consumo moderado/alto de peixe, baixo consumo de gordura saturada, carne e laticínios e consumo regular/baixo de álcool. A dieta mediterrânea, reconhecida pela Unesco como patrimônio cultural imaterial, é um estilo alimentar pronunciado, mas não exclusivamente vegetariano, que demonstrou ser benéfico para o tratamento de diversas doenças inflamatórias, exercendo influência no enriquecimento de metabólitos anti-inflamatórios da microbiota intestinal e diminuindo a incidência de doenças associadas a inflamações múltiplas (Filippis *et al.*, 2015).

Estudos em modelos animais geralmente englobam análises mais complexas do que apenas a avaliação da microbiota. Em modelo de obesidade induzido por padrão de dieta ocidental (rica em gordura e açúcar), no qual os animais eram geneticamente idênticos e herdaram microbiotas semelhantes, a relação entre dieta e representantes microbianos (assim como genes no microbioma) é dinâmica e ajustável, impactando a capacidade da microbiota em promover a adiposidade no hospedeiro (Machado *et al.*, 2021).

Percebe-se, então, que a dieta ocidental pode estimular o crescimento de microrganismos das classes *Mollicutes* (filó Firmicutes), os quais, posteriormente, foram reduzidos por subseqüentes manipulações dietéticas para limitar o ganho de peso (Turnbaugh *et al.*, 2008). As dietas ocidentais costumam ter alto teor de energia e baixo teor nutricional (alta ingestão de alimentos refinados, *fast food* e baixo consumo de frutas, vegetais e grãos inteiros) (Halpern, 2009).

A dieta tem importância significativa sobre a composição e a função da microbiota por meio da síntese de moléculas (butirato e propionato) que possuem um importante impacto na fisiologia do hospedeiro, podendo influenciar no desenvolvimento de doenças metabólicas e imunomediadas (Holmes *et al.*, 2012). Estudos que

administraram dietas, com diferentes teores de carboidrato, por quatro semanas, para indivíduos obesos, indicaram, claramente, as mudanças na composição da microbiota e na produção de ácidos graxos de cadeia curta.

A restrição do fornecimento de carboidratos reduziu a abundância de bactérias produtoras de butirato, assim como, o conteúdo fecal desses ácidos graxos de cadeia curta (Schumann *et al.*, 2005). A quantidade de ácidos graxos de cadeia curta pode influenciar o pH colônico, o qual influencia a competição entre grupos bacterianos filogeneticamente e funcionalmente diferentes na microbiota intestinal (Duncan *et al.*, 2007).

Fatores como ansiedade, estresse, poluição, sedentarismo estilo de vida, toxinas ambientais, pesticidas, dioxinas e ftalatos, bifenilas policloradas (PCB's) e xenobióticos, entre outros, geram desequilíbrios no organismo, pois eles aumentam os radicais livres circulantes, favorecendo o estresse oxidativo com o aumento da demanda nutricional (Halpern; Schor; Kopelman 2015). A dieta da atualidade, considerada dieta ocidental, apresenta deficiência em nutrientes, estabelecendo um desequilíbrio nutricional e contribuindo para o aparecimento ou agravamento de doenças, como endometriose, abortos espontâneos recorrentes, menopausa prematura, infertilidade, dentre outras (Halpern, 2009).

Muitas evidências sugerem que o estresse oxidativo está envolvido tanto na patogênese quanto na fisiopatologia da endometriose e, ainda, que fatores genéticos, ambientais e o estilo de vida parecem estar associados ao desenvolvimento e manutenção da doença (Augoulea *et al.*, 2012). Dados relatados na literatura sugerem que o estresse oxidativo pode desempenhar um papel no desenvolvimento e na progressão da endometriose. A evidência mostra uma maior concentração de marcadores de peroxidação lipídica no sangue periférico e no fluido peritoneal de mulheres com endometriose. Essas concentrações mais altas podem aumentar o crescimento e adesão de células endometriais na cavidade peritoneal (Landendonck; Casanas-Rou; Donnez, 2002).

Os marcadores de peroxidação lipídica mais elevados observados em mulheres com endometriose têm sido relacionados a um meio pró-inflamatório, uma consequência da ativação de macrófagos peritoneais devido à presença de apoptose e células ectópicas endometriais não digeridas. Após a ativação, ocorre a liberação de macrófagos peritoneais e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONS), também conhecidas como radicais livres (Mier-Cabrera *et al.*, 2002).

Outro fator é o aumento da exposição de estrógeno, fazendo elo comum entre vários fatores de risco conhecidos para endometriose. A produção local de estrógeno juntamente com o estrógeno circulante estimula a proliferação de tecido endometriótico ectópico, levando potencialmente à endometriose (Bulun, 2009). A dieta pode ter um papel na etiologia da endometriose por meio de sua influência sobre os níveis hormonais de esteróides, entre outros mecanismos potenciais. Alguns estudos observacionais têm mostrado que dietas à base de plantas e as ricas em fibras aumentaram a excreção de estrógeno e diminuíram as concentrações de estrógeno biodisponível, podendo, contribuir, assim, para a diminuição do risco de endometriose (Trabert *et al.*, 2009).

Outro fator demonstrado em alguns estudos foi o excesso de consumo de carnes vermelhas. Essas estão associadas às concentrações mais altas de estradiol e sulfato de estrona e o seu consumo em excesso poderia contribuir para o aumento dos níveis de esteróides circulantes, colaborando com a manutenção e progressão da endometriose. A carne vermelha é um alimento que contém ácido araquidônico (ômega 6) que, em excesso, aumenta as substâncias pró-inflamatórias, além de conter dioxinas – xenobióticos que atuam como desreguladores endócrinos (Parazzini *et al.*, 2004).

O ferro pode ser um nutriente potencial capaz de promover os efeitos observados da carne vermelha no risco de endometriose e constitui um dos principais componentes responsáveis pelos efeitos negativos, pois esse elemento, em excesso, pode causar estresse oxidativo e danos ao DNA (Simmen; Kelley, 2018). O glúten é uma rede proteica composta pela mistura de duas outras proteínas, a gliadina e a glutenina, e está presente em cereais como o trigo, o centeio, a aveia e a cevada, podendo ser altamente prejudicial, contribuindo para a progressão da endometriose (Biesiekierski, 2016).

A ingestão de alimentos considerados agressores por indivíduos geneticamente suscetíveis pode ocasionar um desequilíbrio na microbiota intestinal. A gliadina ingerida na dieta com alimentos contendo glúten, quando não digerida adequadamente, pode provocar a liberação de zonulina, que é uma proteína que regula, reversivelmente, a permeabilidade intestinal através da modulação das *tight junctions* das células epiteliais do intestino delgado (Sturgeon; Fasano, 2016).

A dieta sem glúten por um mês foi outro padrão dietético que demonstrou alterar a composição da microbiota em indivíduos saudáveis. Tal perfil de dieta apresenta

menor proporção de polissacarídeos e resultou em diminuição da proporção de *Bifidobacterium*, *Clostridium lituseburense*, *Faecalibacterium prausnitzii* e *Lactobacillus*, e o aumento de linhagens de representantes da família *Enterobacteriaceae*, como *Escherichia coli*. A estimulação de células mononucleares do sangue periférico com amostras fecais antes e depois da dieta sem glúten levou à menor produção de citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), interferon-gama (IFN  $\gamma$ ) e interleucina-8 (IL-8), indicando que a dieta sem glúten pode contribuir para reduzir os sinais pró-inflamatórios no intestino por meio de modificações na microbiota (Palma *et al.*, 2009).

Yamamoto e colaboradores (2018) observaram que o tratamento da endometriose poderia ir além dos tratamentos cirúrgicos e farmacológicos, sugerindo que uma mudança nos hábitos alimentares, junto com a diminuição do consumo de carne vermelha, podem estar associadas a um risco diminuído de endometriose, o que foi confirmado por laparoscopia.

### **2.3.2 MICROBIOTA INTESTINAL, ENDOMETRIOSE E ATIVIDADE FÍSICA**

Muitos estudos consideram que o sedentarismo e a dieta não balanceada, o consumo de álcool, tabaco e outras drogas, além do estresse da vida cotidiana, são condicionantes das doenças modernas, como o caso da endometriose (DIAS *et al.*, 2010). A prática de exercícios físicos diários melhora o sistema imunológico e, por consequência, o corpo elimina com maior facilidade os coágulos de endometriose. Outro fator importante relacionado à atividade física, é a diminuição da secreção do estrogênio, o qual favorece a progressão da doença. Uma vida estressante e agitada pode ser fator de risco para o desenvolvimento da doença (Lorençatto *et al.*, 2002).

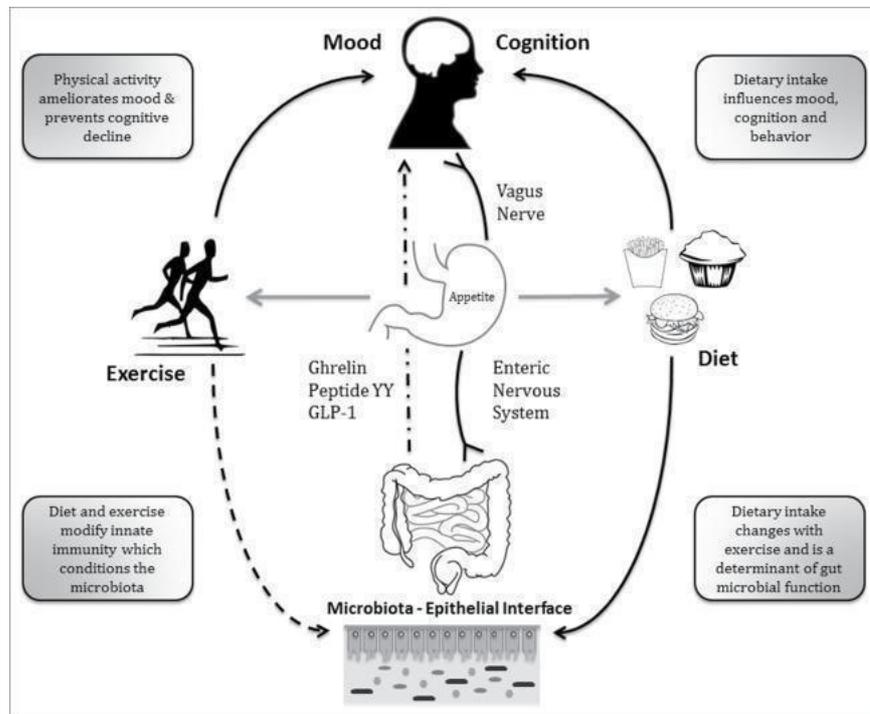
O exercício físico regular parece ter efeitos protetores contra doenças que envolvem processos inflamatórios, uma vez que induz aumento nos níveis sistêmicos de citocinas com propriedades antiinflamatórias e antioxidantes e também atua reduzindo os níveis de estrogênio. As evidências sugerem que os sintomas associados à endometriose resultam de uma reação inflamatória peritoneal local causada por implantes endometriais ectópicos (Bonoche *et al.*, 2014). Um estudo apontou a possibilidade de que o efeito protetor do exercício físico em pacientes com endometriose resulte do fato de as mulheres sintomáticas não se sentirem bem o

suficiente para a prática de exercícios. Mulheres que exercitaram 4 horas por semana ou mais reduziram em 65% o risco de endometriose em comparação com mulheres que se exercitaram por menos de 4 horas por semana (Signorello *et al.*, 1997). Assim, é possível sugerir que a prática de atividades físicas tem efeitos benéficos nos sintomas da endometriose (Bonocher *et al.*, 2014).

Em relação à microbiota intestinal, diversos estudos utilizando modelo animal demonstraram que animais de laboratório que passaram por treinamento físico em intensidade moderada exibiram perfil de microbiota intestinal alterado em comparação àqueles não treinados (Campbell *et al.*, 2016; Welly *et al.*, 2016). Estudos realizados em seres humanos corroboram com esses dados, sugerindo que há diferenças na composição da microbiota intestinal entre os indivíduos treinados e os sedentários, sendo que os indivíduos fisicamente ativos e atletas apresentam maior diversidade e riqueza de espécies em comparação aos sedentários (Yang *et al.*, 2014; Bressa *et al.*, 2017).

Vários mecanismos potenciais pelos quais a atividade física e o condicionamento físico possam modificar a microbiota podem ser considerados, como demonstrado na representação esquemática a seguir (Figura 03), em que a interação entre as adaptações biológicas ao exercício e a microbiota intestinal destina-se a ser representativo e não abrangente. O exercício físico está ligado a uma diversidade de respostas biológicas, incluindo uma influência modificadora no eixo cérebro-intestino-microbiota, interações metabólicas dieta-microbiota-hospedeiro, interações neuroendócrinas e neuroimunes. Sabe-se que o exercício físico aumenta o tônus vagal, que pode representar um meio indireto pelo qual condiciona a composição da microbiota intestinal (Sullivan *et al.*, 2015).

Figura 3 - Visão esquemática de potenciais locais de interação entre as adaptações biológicas ao exercício e à microbiota



Fonte: Sullivan *et al.* (2015)

A atividade física regular é o tratamento reconhecido para várias condições inflamatórias. O efeito antiinflamatório do exercício regular resulta em melhora de citocinas inflamatórias em diversas patologias, como, por exemplo: com exercício aeróbico combinado e treinamento de resistência em pacientes diabéticos tipo 2, ocorre uma diminuição nas citocinas pró-inflamatórias IL-1b, IL-6, TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$ , bem como um aumento de moduladores anti-inflamatórios IL-4 e IL-10 (Ho *et al.*, 2013).

De maneira geral, o treinamento físico é recomendado com o objetivo de promover benefícios ao organismo, causando adaptações positivas no funcionamento dos sistemas e tecidos, principalmente, muscular, adiposo, metabolismo oxidativo, sistema nervoso central e periférico, hormonal e cardiorrespiratório (Yang *et al.*, 2014; Myers *et al.*, 2015). Além disso, indivíduos fisicamente ativos tendem a possuir melhor perfil inflamatório, caracterizado por menor circulação de citocinas pró-inflamatórias clássicas, tais como, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 com concomitante aumento da IL-10, redução da circulação da proteína C reativa e menor concentração no plasma de LPS, endotoxina

liberada por bactérias Gram-negativas da microbiota intestinal (Calder *et al.*, 2013; Lira *et al.*, 2010).

O eixo cérebro-intestino é uma via bidirecional estabelecida de sinalização entre 2 órgãos, ambos influenciados pelo exercício. Várias linhas de evidências estenderam essa via para incluir a microbiota. A troca de informações ao longo do eixo cérebro-intestino-microbiota é conectada pelo nervo vago, mediadores neuroendócrinos, incluindo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e uma variedade de neurotransmissores e hormônios locais, alguns dos quais também são produzidos pela microbiota. Esse mecanismo regula vários processos homeostáticos, incluindo o apetite, a saciedade e a digestão (Grenham *et al.*, 2011).

A prescrição de exercícios é cada vez mais reconhecida como um tratamento seguro e eficaz para distúrbios que vão desde a depressão e síndrome do intestino irritável à doença inflamatória intestinal, acrescentando mais suporte para a influência potencial do exercício no eixo cérebro-intestino-microbioma (Sullivan *et al.*, 2015).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a estrutura global da microbiota intestinal de mulheres com endometriose sintomáticas, antes e durante o protocolo clínico de controle da doença relacionado à prescrição nutricional específica e atividade física, pelo período de três meses.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Registrar, em consulta no serviço de nutrição, características sociodemográficas, clínico-epidemiológicas e de qualidade de vida de mulheres diagnosticadas com endometriose atendidas em serviços de ginecologia de Juiz de Fora - MG, que aceitaram ser submetidas a protocolo terapêutico envolvendo dieta e atividade física;

- Avaliar as características antropométricas e nutricionais das participantes no início e após três meses de tratamento;

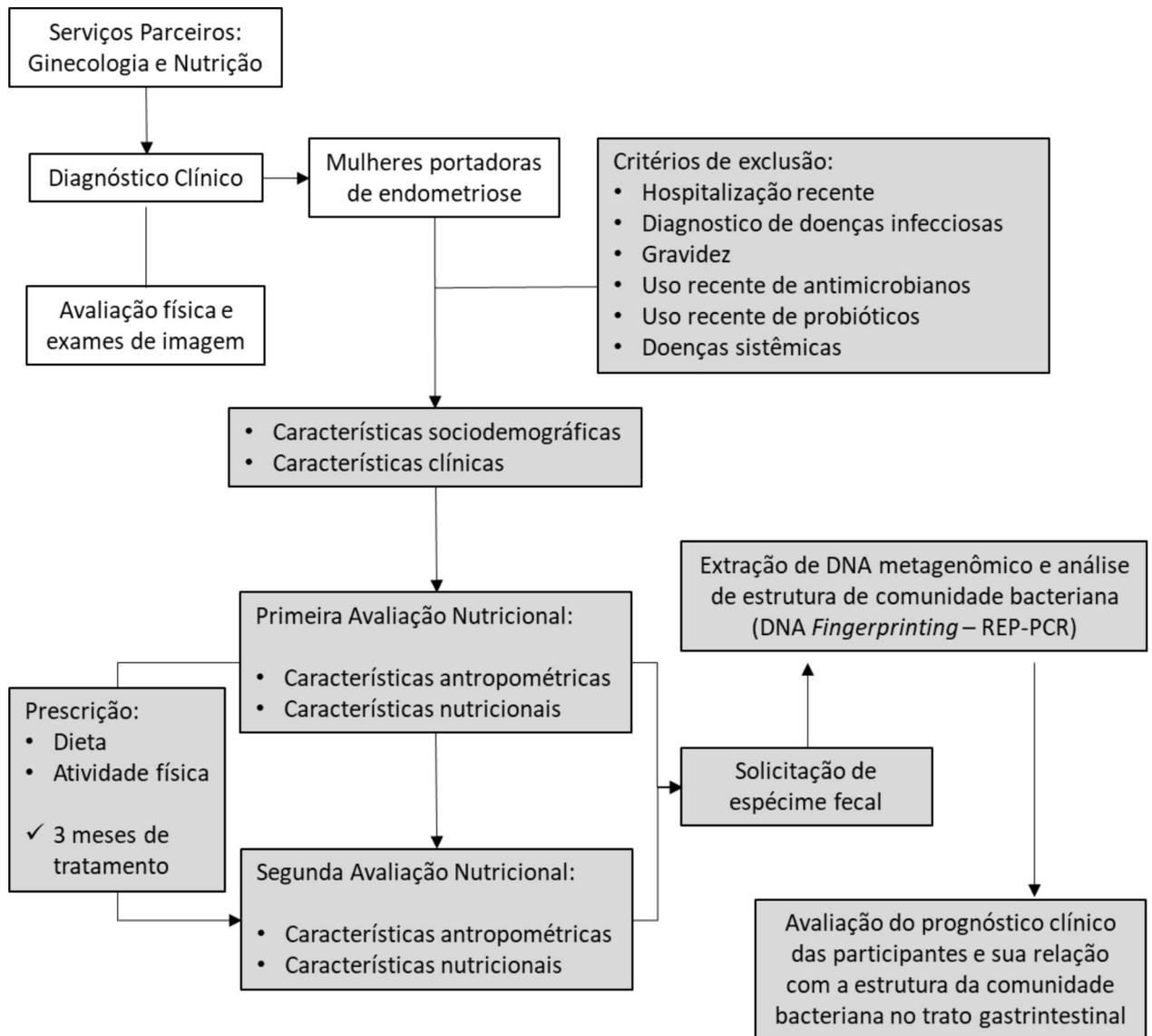
- Avaliar qualitativamente a estrutura global da microbiota intestinal humana, a partir de espécimes fecais fornecidos pelas participantes no início e após os três meses de tratamento, pela técnica de REP-PCR (*fingerprinting* da comunidade bacteriana);
- Correlacionar alterações qualitativas da estrutura da comunidade microbiana antes e após três meses de tratamento com o protocolo nutricional e de atividade física;
- Correlacionar os aspectos sociodemográficos, clínico-epidemiológicos e de qualidade de vida das participantes com as possíveis alterações globais da comunidade microbiana intestinal antes e após o tratamento.

## **4. MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

Este é um estudo prospectivo, longitudinal e de intervenção, para o qual mulheres com diagnóstico clínico para endometriose foram abordadas em dois momentos distintos, em serviços de ginecologia na cidade de Juiz de Fora (Fluxograma 01).

Fluxograma 01. Delineamento experimental do protocolo de estudo envolvendo as etapas clínicas e laboratoriais.



Em cinza, etapas desenvolvidas dentro do projeto de Mestrado. A etapa de abordagem das participantes foi realizada na clínica de Nutrição e a etapa laboratorial no Centro de Estudos em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Na primeira abordagem (primeira consulta), foram convidadas a participar desse estudo mulheres com diagnóstico clínico de endometriose. Dessas pacientes, foram coletados dados sociodemográficos, clínico-epidemiológicos e nutricionais. Além disso, a partir da análise dos dados coletados, foi proposta uma abordagem não farmacológica, experimental, para o controle da endometriose, que

consistiu em prescrição nutricional e atividade física.

Na reavaliação das pacientes (segunda consulta), três meses após a prescrição nutricional e atividade física, essas pacientes foram novamente avaliadas quanto aos parâmetros sociodemográficos, clínico-epidemiológicos e nutricionais. Os dados foram tabulados para avaliação da qualidade de vida e de alteração de hábitos nutricionais, que foram relacionados ao controle da endometriose. Nos dois momentos de abordagem das pacientes, foi solicitada coleta de espécimes fecais para estudo comparativo da composição da microbiota intestinal por método qualitativo de *fingerprint* microbiano. A alteração na composição global da microbiota intestinal nas diferentes amostras fecais foi relacionada com os dados clínico-epidemiológicos e nutricionais. Em conjunto, essas características foram relacionadas ao controle da endometriose por abordagem não farmacológica.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora, sob parecer 4.728.652. As participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. As participantes passaram por avaliação antropométrica, nutricional, orientação quanto à atividade física adequada e coleta de espécimes clínicos fecais.

## **4.2 GRUPO AMOSTRAL**

Foram recrutadas mulheres na faixa etária de 18 a 50 anos, com diagnóstico clínico positivo para endometriose. Não foram realizadas intervenções na rotina médica e nem na relação entre os ginecologistas e as participantes. O diagnóstico clínico da endometriose envolveu avaliação de laudo médico baseado em exames de imagem, como ultrassonografia transvaginal e ressonância magnética da pelve. Os exames foram realizados no Hospital Universitário da UFJF.

Como critérios de inclusão, foram observadas pacientes que não tinham histórico de hospitalização, nem diagnóstico clínico ou laboratorial de doenças infecciosas que tenham requerido o uso de drogas antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias nos últimos 90 dias. Em relação aos critérios de exclusão, considerou-se as mulheres grávidas; as que estavam em terapia antibacteriana, antifúngica ou antiparasitária; as que fizeram uso de terapia probiótica nos últimos 90 dias; as

portadoras de doenças sistêmicas, como resistência à insulina, diabetes, síndrome metabólica e, também, as que não consentiram a participação no estudo ou ceder o espécime fecal.

Considerando a natureza longitudinal da proposta, as participantes foram abordadas em dois momentos, sendo que na primeira consulta, após o diagnóstico clínico, foram direcionadas condutas terapêuticas que envolveram prescrição nutricional e atividade física. A segunda consulta, considerada consulta de retorno e acompanhamento clínico, ocorreu três meses após a prescrição nutricional e atividade física. Nos dois momentos, foram coletados espécimes fecais e foram registrados dados clínicos, antropométricos e nutricionais das participantes, sendo que as características sociodemográficas foram registradas no primeiro momento.

### **4.3 INQUÉRITO SOCIODEMOGRÁFICO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DEVIDA**

As características sociodemográficas foram coletadas em entrevista, utilizando-se questionário estruturado de coleta de dados sobre idade, estado civil, escolaridade, renda e hábitos de vida (Anexo 2). Além disso, foram coletados dados relacionados à qualidade de vida das mulheres, utilizando o questionário SF-36– Questionário de qualidade de vida (Ciconelli *et al.*, 1999), validado e traduzido para a Língua Portuguesa (Anexo 5).

Foi aplicado, ainda, o Índice da Função Sexual Feminina – FSFI, validado em Língua Portuguesa, e que abrange cinco domínios da resposta sexual, como desejo e estímulo subjetivo, lubrificação, orgasmo, satisfação e dor ou desconforto, segundo Thiel e colaboradores, 2008 (Anexo 6). Os questionários de qualidade de vida e índice da função sexual foram aplicados nos dois momentos da pesquisa, na primeira consulta e na reavaliação.

#### 4.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E ANTROPOMÉTRICA

Para estimar a ingestão dietética habitual das participantes, aplicou-se um questionário quantitativo de frequência alimentar (QQFA) adaptado (Anexo 4). Para cada item do QQFA, validado por Cardoso e Stocco (2000), as voluntárias informaram a frequência média de consumo habitual (diária, semanal ou mensal) relativa aos últimos seis meses e o tamanho da porção ingerida. Para auxiliar as participantes na estimativa das porções, foi utilizado álbum fotográfico elaborado por Sales, Costa e Silva (2004). A análise de consumo alimentar habitual foi realizada utilizando as tabelas de composição de alimentos de TACO Nepa-Unicamp (2011), Philippi (2013) e Pacheco (2011).

Para estimativas das quantidades de macronutrientes ingeridos (carboidratos, lipídios, proteínas) e fibras, bem como calorias totais, utilizou-se como fonte de referência as Ingestões Dietéticas de Referências – *Dietary Reference Intakes* (DRI), que são recomendações empregadas tanto para a avaliação quanto para o planejamento de dietas de indivíduos e grupos (IOM, 2005). Também foi analisada a distribuição relativa dos macronutrientes da dieta em relação ao Valor Energético Total (VET), tendo como referência os valores recomendados de AMDR (*Acceptable Macronutrients Distribution Range*) (Institute of Medicine, 2005).

Sendo assim, foi considerada adequada uma dieta que forneça entre 45% e 65% calorias advindas de carboidratos. Já para as proteínas, a distribuição ideal é entre 10% e 35% das calorias e de 20% a 35% do total de calorias da dieta de origem lipídica. Para as fibras totais da dieta, foram considerados os valores de recomendação: 25g e 21g para mulheres de 19 a 50 anos e acima de 51 anos, respectivamente.

Foram utilizados na avaliação antropométrica, o peso atual (Kg), altura (cm), as medidas de índice de massa corporal (IMC), a circunferência da cintura (CC), abdominal (CA) e quadril (CQ) e o percentual de gordura corporal (Anexo 3). O peso das participantes foi aferido em balança digital com a participante em posição central, reta, descalça, com os pés juntos e usando o mínimo de roupa possível. A altura foi verificada utilizando-se um estadiômetro vertical fixo à balança, também com a participante descalça e ereta, com calcanhares unidos, a cabeça livre de adereços e olhando para o horizonte. O IMC foi calculado a partir da relação peso (kg)/altura (m<sup>2</sup>) e avaliado de acordo com o proposto pela Organização Mundial de Saúde (World

Health Organization, 2000).

As aferições das circunferências foram feitas usando fita métrica flexível e inextensível de 150 cm de comprimento, estando no plano horizontal e no mesmo nível em todas as partes, com a participante em pé, ereta, braços estendidos ao longo do corpo e sem comprimir os tecidos. A CC foi aferida a 2 dedos acima da cicatriz umbilical e com a roupa afastada, sendo analisada segundo os pontos de WHO, 2008, onde  $CC \geq 80$  cm indica risco cardiovascular para mulheres. Já a CA foi medida na altura da cicatriz umbilical também com a roupa afastada e a CQ foi aferida na área de maior proeminência da região glútea. A relação cintura quadril (RCQ) foi obtida pela divisão da circunferência da cintura pela circunferência do quadril, sendo usado para análise com valores de corte considerados pela OMS (1995), em que  $RCQ > 0,85$  para mulheres são indicativos de obesidade e risco aumentado de doenças metabólicas relacionadas com a obesidade.

O percentual de gordura corporal foi avaliado por duas abordagens diferentes: (i) medida de dobras cutâneas utilizando adipômetro modelo *Prime Med*; (ii) avaliação por bioimpedância utilizando aparelho modelo *Inbody 230*.

#### 4.5 INDICAÇÃO DE DIETA E ATIVIDADE FÍSICA

Para o cálculo do protocolo nutricional, tanto de macronutrientes quanto de micronutrientes, foi utilizado o programa *Web Diet* versão 2.0. O protocolo dietético aplicado na amostra estudada foi calculado de forma individualizada a partir dos dados antropométricos e da anamnese realizada durante o primeiro encontro (primeira consulta), tendo como base de cálculo a taxa metabólica basal (TMB) de cada participante. A taxa metabólica basal (TMB) é definida como a quantidade mínima de energia expressa em quilocalorias (Kcal) necessária para manter as funções vitais do organismo em condições basais, ou seja, a TMB é a quantidade de energia (calorias) que o corpo humano precisa para manter suas funções básicas enquanto está em repouso absoluto. Essas funções incluem a circulação sanguínea, a regulação da temperatura corporal e a atividade celular, podendo ser aferida em calorias por unidade de tempo, geralmente por dia (Brunetto *et al.*, 2010).

O protocolo de atividade física aplicado na amostra foi determinado através do

gasto energético total (GET). O GET significa a quantidade total de energia que uma pessoa utiliza durante um determinado período de tempo para realizar todas as atividades, incluindo suas funções metabólicas em respiração, a digestão dos alimentos e as atividades físicas exercidas. Além disso, a TMB representa aproximadamente 50% do GET em pessoas ativas e, aproximadamente, 70% do GET em sedentários (Kruger *et al.*, 2014). No presente estudo, estabeleceu-se a caminhada como padrão ouro para todas as participantes, devido ao período pandêmico no momento da realização da pesquisa.

#### **4.6 EXTRAÇÃO DE DNA METAGENÔMICO A PARTIR DOS ESPÉCIMESFECAIS**

Foram obtidos espécimes clínicos fecais das participantes nos dois momentos da consulta (início e após os três meses de tratamento), entregues em tubos próprios para coleta e armazenados sob refrigeração até o momento do processamento. O DNA metagenômico foi extraído a partir de alíquota de 200 mg de espécime fecal de cada participante, utilizando o método de digestão química pelo fenol/clorofórmio.

Brevemente, uma alíquota de 200 mg do espécime fecal foi centrifugada com tampão salina-fosfato, a 6000 rpm, até que as fibras alimentares fossem removidas. O sobrenadante resultante foi centrifugado a 14000 rpm, descartado, e a massa celular bacteriana solubilizada em 500 µL de tampão de lise bacteriana (sacarose, 25%; tris-HCl pH 8,0, 50 mM; EDTA, 10 mM; lisozima, 2,5 mg/mL). O sistema foi incubado a 37°C durante 60 minutos. Em seguida, foi adicionado 50 µL de solução de SDS 20% e as amostras foram homogeneizadas em agitador do tipo vórtex e incubadas à temperatura ambiente durante 30 minutos. Após, foram adicionados 500 µL de fenol saturado com Tris pH 8,0 e 500 µL de solução de clorofórmio/álcool isoamílico 29:1, seguido de agitação em vórtex.

Em seguida, os tubos foram centrifugados a 14000 rpm, durante 5 minutos. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo, onde foi adicionado 50 µL de acetato de potássio 5 M e 1,2 mL de álcool etílico absoluto gelado, seguido de delicada homogeneização manual. O DNA foi precipitado a -20 °C durante 30 minutos, seguido de centrifugação em centrífuga refrigerada a 4 °C (30 min, 14000 rpm). O DNA obtido

foi solubilizado em 200  $\mu$ L de tampão TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0).

A concentração e a pureza do DNA foi determinada por espectrofotometria usando NanoDrop 2000c, utilizando-se a relação 260/280 nm, para estimar a pureza do DNA, estabelecendo-se o valor de 1.75 como referência mínima. A integridade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% em tampão TBE (Tris-HCl-Borato-EDTA) e visualizado em transiluminador ultravioleta (*GE Healthcare*, Reino Unido). Os extratos de DNA foram armazenados em freezer a -80 °C, para experimentos futuros.

#### 4.7 AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA

A técnica de rep-PCR, que produz um *fingerprint* ou “impressão digital” do genoma bacteriano foi utilizada para avaliação da estrutura global da comunidade microbiana. As reações de rep-PCR foram realizadas em volumes de 25  $\mu$ L, contendo 12,5  $\mu$ L de PCR Master Mix (*Promega, Madison, WI, USA*) e 2  $\mu$ L a 3  $\mu$ L de DNA (~20 ng/ $\mu$ L). O oligonucleotídeo utilizado foi (GTG)<sub>5</sub> (GABER et al., 2015), com volume de 2  $\mu$ L e completou-se com água o volume até 25  $\mu$ L. As reações foram realizadas em termociclador automatizado (*Biometra T1 Thermocycler, Gttingen, Alemanha*).

Após a reação de rep-PCR, realizou-se eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% com uma relação acrilamida/bis-acrilamida de 29:1 em TBE (solução de Tris-borato EDTA com ureia). A corrida eletroforética foi feita em tampão TBE, usando-se uma fonte de eletroforese (*Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NY*), ajustada para 300 V, por 6 horas, em média. O gel de poliacrilamida foi corado com brometo de etídio e visualizado em transiluminador ultravioleta (*GE Healthcare*, Reino Unido). Foi utilizado o padrão de peso molecular 100 bp DNA ladder (*Promega, Madison, WI, USA*), para visualização das bandas no gel.

O padrão de bandeamento obtido pela visualização das bandas de fragmentos de DNA amplificados nas reações de rep-PCR foi considerado para avaliação do perfil estrutural da microbiota representativa do trato gastrointestinal das pacientes nos 2 momentos de avaliação. As análises foram feitas utilizando-se inspeção visual dos géis de amplificação e construção de uma matriz binária de presença e ausência de bandas, considerando-se bandas majoritárias no gel de poliacrilamida.

## 4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para tratamento estatístico dos dados obtidos neste estudo, foi utilizado o Teste de Shapiro-Wilk para verificação da distribuição. As variáveis com distribuição similar à Normal foram analisadas pelo Teste t para amostras pareadas (a) e as demais foram analisadas pelo teste de Wilcoxon (b), onde  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

Na avaliação do perfil da comunidade microbiana a partir do DNA metagenômico extraído dos espécimes fecais, a matriz binária foi avaliada utilizando-se o programa XLSTAT 2022.3.1.1340 (Addinsoft, França), pelo método de *Agglomerative Hierarchical Clustering* (AHC). Posteriormente, foi construído um dendrograma de similaridade, considerando-se o coeficiente de Dice, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*) e um *bootstrap* de 1000x para análise de agrupamentos (De Paula *et al.*, 2018). Da avaliação da matriz binária, foi obtido, ainda, um coeficiente de proximidade do perfil microbiano, que variou de zero (100% de alteração no perfil microbiano) a um (100% de semelhança no perfil microbiano).

Para análise da correlação entre as variáveis sociodemográficas, clínicas e nutricionais avaliadas e o perfil da estrutura da comunidade bacteriana, foi feita avaliação de Correspondência Múltipla, com auxílio do programa PAST 3.0., considerando-se a razão dos valores obtidos nos parâmetros dos Questionários de Qualidade de Vida (SF-36), Índice da Função Sexual Feminina (FSFI), dados antropométricos e nutricionais e o Coeficiente de Proximidade do perfil da microbiota, considerando-se os 2 momentos de coleta de dados e espécime fecal. Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 CARACTERÍSTICAS SOCIOCOMPORTAMENTAIS, CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS**

A população amostrada foi composta de 22 mulheres com diagnóstico clínico de endometriose, atendidas nos serviços de ginecologia parceiros em Juiz de Fora/MG. Para o diagnóstico de endometriose dessas participantes, foram realizados exames de imagem, tais como ultrassonografia transvaginal e ressonância magnética da pelve, sendo este último padrão-ouro para diagnóstico da patologia.

Em relação às características sociodemográficas, essas pacientes foram estratificadas de acordo com o apresentado na tabela 01. A partir dos dados sociodemográficos das 22 participantes do estudo, observou-se que a maioria está na faixa etária dos 18 a 50 anos, tendo predominância de mulheres com idade entre 26 a 35 anos (45,5%), com renda salarial predominante de 1 a 3 salários mínimos (77,3%), 54,5% das mulheres não praticantes de atividade física e 77,3% nunca fizeram acompanhamento profissional em relação à dieta (Tabela 01).

Tabela 1 - Aspectos epidemiológicos e sociocomportamentais das mulheres avaliadas

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores absolutos (n)</b>	<b>%</b>
<b>Idade</b>		
18 a 25 anos	1	4,5
26 a 35 anos	10	45,5
36 a 45 anos	8	36,4
> 46 anos	3	13,6
<b>Autodeclaração de cor ou raça<sup>a</sup></b>		
Preta	1	4,5
Parda	11	50,0
Branca	10	45,5
<b>Estado civil</b>		
Solteira	8	36,4
Casada	13	59,1
Outro	1	4,5
<b>Declaração de Escolaridade</b>		
< Educação Fundamental	2	9,1
Educação Fundamental	3	13,6
Educação Média	7	31,8
Educação Superior	8	36,4
Pós-Graduação	2	9,1
<b>Renda (salários-mínimos)<sup>b</sup></b>		
Sem renda declarada	3	13,6
Renda de 1 a 3 salários-mínimos	17	77,3
Renda de 4 a 6 salários-mínimos	1	4,5
Renda de 7 a 10 salários-mínimos	1	4,5
<b>Prática de atividade física regular</b>		
Sim	12	45,5
Não	10	54,5
<b>Acompanhamento profissional em relação aos hábitos e comportamento alimentar</b>		
Sim	4	18,2
Não	17	77,3
<b>Faz uso de alimentos orgânicos</b>		
Sim	4	18,2
Não	17	77,3
<b>Faz uso de adoçantes</b>		
Sim	2	9,1
Não	19	86,4
<b>Faz uso de suplementos alimentares</b>		

Sim	6	27,3
Não	15	68,2
Faz uso de probióticos		
Sim	6	9,1
Não	19	86,4

<sup>a</sup>Autodeclaração de cor ou raça de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, com base na autodeclaração; <sup>b</sup>Renda em salários-mínimos de acordo com o valor referencial no Brasil na coleta dos dados (R\$ 1.100,00 em 2020).

Em relação às características relacionadas à qualidade de vida, antropométricas e nutricionais das participantes, observou-se, de maneira geral, melhora nos parâmetros avaliados, o que refletiu no controle da endometriose pela abordagem proposta, não farmacológica, baseada na dieta e atividade física. Os domínios avaliados pela aplicação da Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida SF-36 (Magno, Fontes-Pereira & Nunes, 2011) foram traduzidos em valores *Raw Scale*, comparando-se os dois momentos abordados.

Com exceção dos parâmetros “Estado Geral de Saúde” e “Dor”, todos os outros parâmetros avaliados mostraram uma melhora significativa ( $p > 0,05$ ). Entretanto, para os parâmetros cujos valores não tenham sido significativos, dada a heterogeneidade do grupo amostral, é observada uma tendência de melhora (valores médios *Raw Scale*, entre os momentos avaliados) na reavaliação.

Em relação aos dados antropométricos, foi observada diminuição geral do peso corporal (kg), do percentual de gordura (%G) e do Índice de Massa Corporal (IMC) das participantes tendo uma relação significativa ( $p < 0,05$ ). Apesar disso, as medidas de ganho de massa magra no período avaliado não foram significativas.

Em relação aos dados nutricionais, observa-se que as participantes aderiram ao protocolo prescrito, percebendo um aumento da ingestão hídrica, diminuição no consumo médio de calorias, aumento na ingestão de proteína e na ingestão de fibras. A ingestão lipídica e de carboidratos, embora tenha sido diminuída na reavaliação, tal como prescrita na dieta, não foi significativa pelos critérios de avaliação, baseado no questionário quantitativo de frequência alimentar aplicado (QQFA) (Tabela 02).

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade de vida, antropométricos e nutricionais das mulheres avaliadas

Parâmetros	Valores absolutos médios (Desvio padrão)		p
	Avaliação Inicial	Reavaliação	
<b>Clínicos</b>			
Saúde Menta	44,73 (13,27)	57,09 (10,91)	<0,001 <sup>a</sup>
Limitação Aspectos Emocionais <sup>c</sup>	45,73 (36,17)	87,91 (26,31)	<0,001 <sup>b</sup>
Aspectos Sociais <sup>c</sup>	51,05 (9,14)	57,23 (10,6)	0,045 <sup>b</sup>
Vitalidade <sup>c</sup>	42,05 (13,33)	53,18 (7,49)	0,001 <sup>a</sup>
Estado Geral de Saúde <sup>c</sup>	50,91 (5,22)	52,45 (2,63)	0,195 <sup>b</sup>
Dor <sup>c</sup>	63,05 (8,18)	66,59 (7,61)	0,134 <sup>b</sup>
Limitação por Aspectos Físicos <sup>c</sup>	33,45 (38,43)	87,5 (24,09)	<0,001 <sup>b</sup>
Capacidade Funcional <sup>c</sup>	65,27 (29,19)	90,91 (9,59)	<0,001 <sup>b</sup>
Índice de Libido e função sexual <sup>d</sup>	19,47 (3,55)	22,31 (2,50)	< 0,001 <sup>a</sup>
<b>Antropométricos</b>			
Massa Corporal (kg)	69,17 (11,79)	67,34 (10,78)	0,045 <sup>a</sup>
Massa Magra (%)	63,30 (8,40)	64,82 (7,38)	0,051 <sup>b</sup>
Gordura (%)	35,09 (6,64)	32,77 (6,65)	< 0,001 <sup>b</sup>
Índice de massa corporal (IMC)	26,46 (4,001)	25,78 (3,687)	0,001 <sup>b</sup>
<b>Nutricionais</b>			
Ingesta hídrica (L)	0,96 (0,57)	1,84 (0,80)	< 0,001 <sup>b</sup>
Ingestão calórica (kcal/dia)	2381,25 (724,64)	1727,68 (599,13)	0,001 <sup>a</sup>
Ingestão de Proteína (%)	16,01 (2,51)	21,32 (5,31)	0,001 <sup>a</sup>
Ingestão de Carboidratos (%)	48,28 (8,89)	44,05 (8,19)	0,104 <sup>a</sup>
Ingestão de Lipídios (%)	35,71 (8,51)	34,62 (6,01)	0,587 <sup>a</sup>
Ingestão de Fibras (g)	21,18 (7,63)	28,08 (11,89)	0,021 <sup>a</sup>

Teste Shapiro-Wilk. Variáveis com distribuição similar à Normal analisadas pelo Teste t para amostras pareadas (<sup>a</sup>) e, as demais, pelo Wilcoxon (<sup>b</sup>).  $p < 0,05$  considerado significativo. <sup>c</sup>Domínios avaliados pela aplicação da Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida SF-36 (Magno; Fontes-Pereira; Nunes, 2011) com resultado em valores *Raw Scale*. <sup>d</sup>Índice da Função Sexual Feminina (FSFI) validado em português, abrangendo cinco domínios da resposta sexual, como desejo e estímulo subjetivo, lubrificação, orgasmo, satisfação e dor ou desconforto (Thiel *et al.*, 2008).

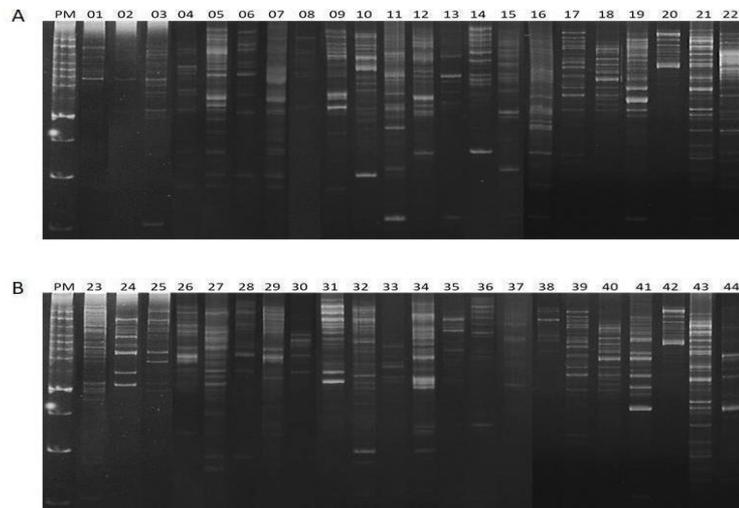
## 5.2 ESTRUTURA GLOBAL DA MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL NOS MOMENTOS DE ABORDAGEM DAS PARTICIPANTES

Foram obtidos perfis de bandeamento por REP-PCR da estrutura global da microbiota residente a partir de amostras fecais das participantes. Os perfis de bandeamento são representativos de três réplicas técnicas experimentais, usando-se as mesmas condições de amplificação e corrida eletroforética (Figura 04A). As imagens obtidas representam o componente bacteriano da microbiota intestinal a partir dos espécimes fecais das participantes antes e 3 meses após a prescrição de dieta e atividade física como abordagem não farmacológica no controle da endometriose.

Ao comparar os perfis de bandeamento (*fingerprints*), observa-se uma heterogeneidade microbiana tanto na abordagem inicial, quanto na reavaliação das participantes. Em geral, a heterogeneidade representa as diferenças na estrutura da microbiota, tal como esperado, considerando-se as características sociodemográficas e clínicas das participantes.

Na segunda avaliação, embora perceba-se ainda grande heterogeneidade nos *fingerprints* obtidos por REP-PCR, evidencia-se, ao comparar as mesmas participantes, alterações no perfil microbiano, ao considerar-se o *fingerprint* inicial (Figura 04B).

Figura 4 - Eletroferogramas representativos de fragmentos de DNA pela técnica de REP-PCR da comunidade bacteriana a partir do DNA metagenômico fecal na primeira avaliação e 3 meses após prescrição nutricional e de atividade

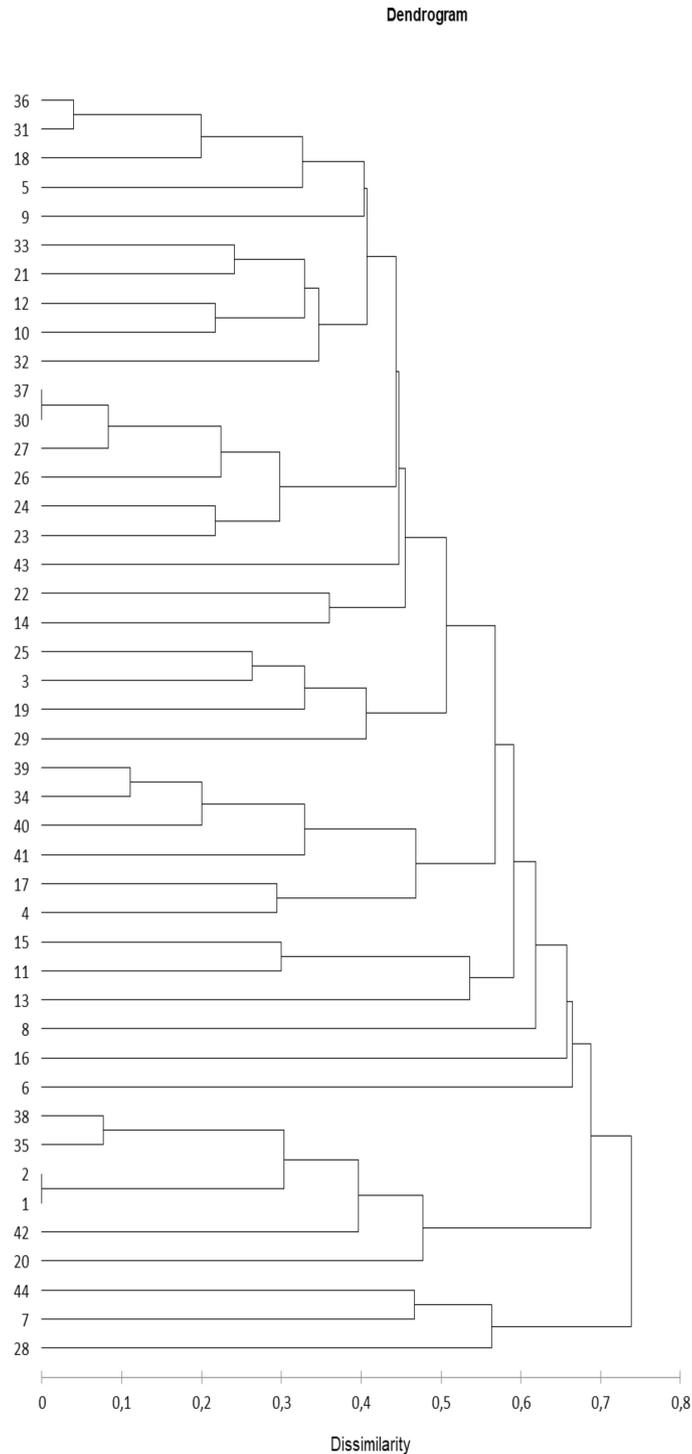


PM = padrão de peso molecular 1kb DNA Ladder; Canaletas de 01 a 22 (Figura 04A) REP-PCR na primeira avaliação; Canaletas 23 a 44 (Figura 04B) REP-PCR na segunda avaliação. As amostras estão pareadas no posicionamento sendo 1-23; 2-24; 3-25... até 22-44.

Afim de melhor avaliar a distribuição dos *fingerprints* de DNA obtidos, representativos da estrutura global da microbiota das participantes, foi construído um dendrograma de similaridade, considerando-se o coeficiente de Dice, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*) para a análise de agrupamento (Figura 05). Para definição do agrupamento final das pacientes, considerando-se o perfil de bandejamento, foram realizados testes de reavaliação (1000 repetições – *bootstrap*), a fim de delinear um intervalo de confiança para o agrupamento obtido.

Os dados obtidos confirmaram o padrão visual mostrado pelos eletroferogramas, destacando heterogeneidade no perfil de *fingerprint* bacteriano das participantes nos dois momentos de avaliação, com destaque para a alteração global da microbiota, ao considerar-se uma dada participante nos momentos amostrados, se na primeira avaliação ou após três meses de tratamento com prescrição nutricional e de atividade física. Entretanto, pela avaliação do dendrograma, a alteração da microbiota foi desigual nas participantes, em decorrência da dieta e treinamento físico.

Figura 5 - Dendrograma de similaridade por UPGMA, coeficiente de Dice, a partir de matriz binária de presença ou ausência de bandas obtidas por REP-PCR representativo de microbiota intestinal de pacientes com diagnóstico clínico de endometriose antes e após prescrição nutricional e de atividade física.



Amostras por participantes estão pareadas no posicionamento na imagem, sendo 1-23; 2-24; 3-25... até 22-44. *Bootstrap* 1000x.

A fim de quantificar se a alteração na estrutura global da microbiota intestinal amostrada pelo DNA metagenômico, a partir de espécimes fecais das participantes, considerando-se a avaliação de variação desigual nos *fingerprints* de DNA entre o momento de avaliação inicial e após três meses de prescrição nutricional e atividade física, foi obtido, a partir da matriz binária de presença e ausência de bandas de amplificação de DNA nos experimentos de REP-PCR, um coeficiente de proximidade do perfil microbiano, que variou de zero (100% de alteração no perfil microbiano) a um (100% de semelhança no perfil microbiano) (Tabela 03).

Tabela 3 - Coeficiente de proximidade da estrutura global da microbiota intestinal representativa no metagenoma de espécimes fecais de mulheres com diagnóstico clínico de endometriose, no momento do diagnóstico e prescrição de tratamento não farmacológico e depois de três meses de dieta e atividade física.

Paciente na 1º abordagem	Paciente na 2º abordagem	Coeficiente de proximidade
7	29	0,125
16	38	0,125
6	28	0,182
13	35	0,182
18	40	0,25
22	44	0,333
8	30	0,353
11	33	0,381
1	23	0,444
4	26	0,5
19	41	0,5
2	24	0,533
15	37	0,545
5	27	0,571

20	42	0,6
17	39	0,632
9	31	0,636
14	36	0,64
10	32	0,667
12	34	0,667
21	43	0,71
3	25	0,737

Coeficiente de proximidade baseado na matriz binária de presença e ausência de bandas de amplificação de DNA nos experimentos de REP-PCR. Coeficiente = 0 indica 100% de alteração na microbiota; Coeficiente = 1 indica 100% de semelhança na microbiota.

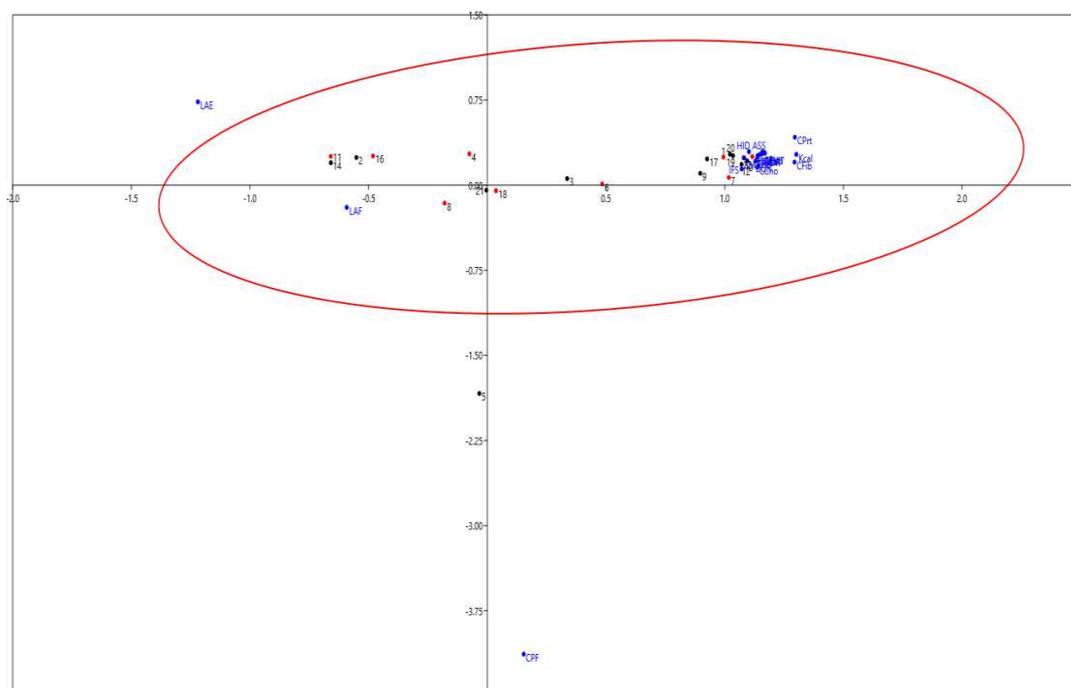
### **5.3 CORRELAÇÃO ENTRE ESTRUTURA GLOBAL DA MICROBIOTA DO TRATO GASTRINTESTINAL NOS MOMENTOS DE ABORDAGEM DAS PARTICIPANTES EAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E NUTRICIONAIS**

A correlação entre a estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal nos momentos de abordagem das participantes e as características clínicas e nutricionais foi realizada pela análise de correspondência múltipla (Figura 06). As participantes foram abordadas em relação às características físicas e cognitivas relacionadas às dimensões avaliadas pelos questionários de Questionários de Qualidade de Vida (SF-36), Índice da Função Sexual Feminina (FSFI), dados antropométricos e nutricionais e o Coeficiente de Proximidade do perfil da microbiota, considerando-se os dois momentos de coleta de dados e espécime fecal. Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%.

Observou-se que todas as participantes apresentaram perfil global da microbiota no trato gastrointestinal alterado em relação ao momento inicial da avaliação, coincidente com alteração em praticamente todos os parâmetros avaliados. A exceção diz respeito à correlação entre os parâmetros observados e alteração na microbiota que se contradizem em Capacidade Funcional (CPF) e limitação por aspectos funcionais (LAE), embora tenha se observado alteração nos valores nos dois momentos

avaliados. Em geral, embora a alteração global na microbiota não tenha seguido um padrão de agrupamento, todos os outros parâmetros se correlacionaram dentro de um intervalo de confiança de 95% de probabilidade.

Figura 6 - Análise de correspondência múltipla para avaliação da relação entre a estrutura global da microbiota do trato gastrointestinal nos momentos de abordagem das participantes e as características físicas e cognitivas relacionadas às dimensões avaliadas pelos questionários de Questionários de Qualidade de Vida (SF-36), índice da Função Sexual Feminina (FSFI), dados antropométricos e nutricionais e o Coeficiente de Proximidade do perfil da microbiota



Os dados foram considerados significativos dentro do intervalo de confiança de 95%.

## 6. DISCUSSÃO

A endometriose é considerada atualmente uma doença resultante da implantação e crescimento de tecido endometrial ectópico associado a uma reação inflamatória (Stephan *et al.*, 2017), que pode afetar uma em cada 10 mulheres em idade reprodutiva (Somigliana *et al.*, 2008).

Brevemente, a doença pode ser caracterizada por lesões de tecido semelhante ao

endométrio fora do útero, levando a sintomas como dor pélvica crônica, dispareunia profunda e infertilidade. A causa exata da endometriose não é clara, mas vários fatores, como resposta imunológica desregulada e genéticos podem estar envolvidos (Leonardi *et al.*, 2019).

Nesse processo inflamatório, acredita-se que a microbiota intestinal possa ter influência nos processos regulatórios, como um dos fatores relacionados à integração do ecossistema humano. Nesse sentido, nas últimas décadas, vários estudos têm reportado a importância de ampliar o conhecimento sobre os fatores ambientais relacionados ao estilo de vida do hospedeiro humano, tais como dieta, idade ou localização geográfica, os quais poderiam influenciar na modulação da microbiota intestinal (Tyakht *et al.*, 2013).

Acredita-se que a composição da microbiota intestinal, bem como sua diversidade e riqueza de espécies seja influenciada ao longo da vida por fatores comportamentais e ambientais, como os hábitos alimentares e a atividade física (Fernandes *et al.*, 2014; Cerdá *et al.*, 2016). A relação entre dieta e composição da microbiota intestinal tem reflexos tanto no metabolismo microbiano quanto no metabolismo do hospedeiro (Vrieze *et al.*, 2010).

Embora a doença seja de ampla distribuição entre as mulheres a partir da maturidade sexual, na população amostrada, percebe-se que as mulheres jovens são as mais acometidas e que a falta de acompanhamento médico regular pode ser identificada como uma característica predominante e que tem reflexos em diferentes aspectos físicos, sociais e psicológicos das pacientes, como saúde mental, aspectos emocionais, sociais e vitalidade em geral, com repercussão na capacidade funcional e na atividade sexual.

Neste estudo, o protocolo nutricional aplicado tinha como base a exclusão de alimentos possivelmente inflamatórios. Foi recomendado que as pacientes excluíssem/evitassem alimentos contendo açúcares em excesso, glúten, bebidas industrializadas e gaseificadas, consumo de álcool, alimentos ultraprocessados e excesso de consumo de carnes vermelhas.

Estudos demonstram que fatores como ansiedade, estresse, poluição, sedentarismo, estilo de vida não saudável, toxinas ambientais, pesticidas, dioxinas e ftalatos, bifenilos policlorados (PCB's) e xenobióticos, entre outros, geram desequilíbrios no organismo, pois eles aumentam os radicais livres circulantes, favorecendo a oxidação e o estresse metabólico, que podem ocorrer com o aumento

da demanda nutricional de alimentos inflamatórios . Uma dieta deficiente de nutrientes pode gerar o desequilíbrio e contribuir para o aparecimento ou agravamento de doenças, como endometriose, abortos espontâneos recorrentes, menopausa prematura e até infertilidade (Halpern, 2009). O consumo exagerado de carnes vermelhas pode estar associado a concentrações mais altas de estradiol e sulfato de estrona e pode, ainda, contribuir para o aumento dos níveis de esteróides circulantes, colaborando com a manutenção dos sintomas da doença (Parazzini, 2004).

Em geral, observou-se uma melhora da percepção de controle da endometriose nas participantes do estudo, tanto nos aspectos clínicos como nos nutricionais.. Foi percebido, também, resposta positiva em relação à atividade física junto com o protocolo alimentar aplicados na manutenção da massa corporal (kg), diminuição no percentual de gordura (%G), diminuição do índice de massa corporal (IMC) e aumento da massa magra (%MM) na maioria das mulheres.

É consenso em vários estudos que a atividade física tem uma forte relação com a saúde. Alguns estudos têm abordado o efeito da atividade/exercício físico sobre o sistema imunológico (Brunelli *et al.*, 2014), o qual é responsável pela defesa do organismo contra bactérias, vírus e fungos, além de combater o crescimento anormal de células cancerosas (Mcardle *et al.*, 2011). O sistema imune responde de forma aguda ao exercício aeróbio moderado, aumentando as funções imunes naturais por algumas horas (Gleeson, 2007).

No mesmo sentido, os efeitos crônicos desse tipo de exercício implicam na melhora da imunidade, pois aumentam a atividade citotóxica das células *Natural Killer* (NK) e atenuam a redução das funções das células T relacionadas com a idade e na produção associada de citocinas (Mackinnon, 2000). Porém, as mudanças que acometem mulheres na menopausa acarretam uma série de disfunções, inclusive a atenuação da resposta imune, e são escassas as informações a respeito dos efeitos dos diferentes tipos de exercícios físicos sobre a imunomodulação nessa população (Freitas *et al.*, 2016).

De maneira geral, acredita-se que pacientes com diagnóstico clínico de endometriose possam ter a doença apresentada de maneira superficial, ovariana ou profunda, dependendo da etnia (Gordts *et al.*, 2017). De qualquer maneira, as consequências clínicas, sociais e fisiológicas se confundem, relacionando-se com uma diminuição na qualidade de vida como um todo, com reflexo marcante na infertilidade (Bougie *et al.*, 2019).

Por outro lado, o sistema imunológico tem papel importante na configuração da microbiota, compreendendo um conjunto de células, tecidos, órgãos e secreção de substâncias responsáveis pelo combate de agentes ou moléculas estranhas ao organismo, com a finalidade de manter sua homeostase. Seu funcionamento consiste na resposta coletiva e coordenada de seus elementos constitutivos diante do contato com agentes estranhos (Sturgeon; Fasano, 2016).

É aceito que a modulação de microbiota pode resultar em regulação inflamatória sistêmica por vários fatores, como, por exemplo, aumento da permeabilidade da mucosa intestinal com o rompimento das *tight junctions*, possibilitando a instalação de um quadro de alergia ou sensibilidade alimentar (Sturgeon; Fasano, 2016). O aumento da permeabilidade intestinal facilita ainda a endotoxemia plasmática (aumento de endotoxinas no plasma), o que promove a ativação do sistema inflamatório do epitélio de revestimento intestinal (Sturgeon; Fasano, 2016).

Como na endometriose, as doenças autoimunes são caracterizadas por aumento da permeabilidade intestinal secundária a *tight junctions* disfuncionais, que permitem a passagem de antígenos do lúmen intestinal, desafiando o sistema imunológico a produzir uma resposta imune que pode atingir qualquer órgão ou tecido em indivíduos geneticamente predispostos (Fasano, 2012).

Alguns autores defendem a hipótese de que a microbiota possa estar envolvida na patogênese da endometriose. Uma resposta imune disfuncional parece ter um papel significativo e há algumas evidências que sugerem que a microbiota pode modular a resposta imune na endometriose. A hipótese da contaminação bacteriana sugere que os patógenos microbianos ativam a resposta imune, ligando-se aos receptores *Toll-like*.

O LPS é uma endotoxina bacteriana e marcador de inflamação encontrada na parede celular de bactérias Gram-negativas, que demonstrou promover o desenvolvimento e progressão das lesões de endometriose via ligação com o receptor *Toll-like* (Khan *et al.*, 2018). Estudos relacionados a essa temática mostraram unidades taxonômicas pertencentes ao filo Proteobacteria que foram significativamente aumentadas em coortes de endometriose (Ata *et al.*, 2019). De fato, o filo Proteobacteria é caracterizado por bactérias Gram-negativas, reforçando, nesse sentido, o papel do lipopolissacarídeos (Rizzatti *et al.*, 2017).

Dados da literatura sobre a relação entre microbiota e a endometriose sugerem diferenças na composição da microbiota em mulheres com e sem endometriose

(Leonardi *et al.*, 2019). Observa-se, por exemplo, relação da microbiota nas mulheres com endometriose com o aumento da produção de citocinas pró- inflamatórias, anticorpos, fatores de crescimento, estresse oxidativo, diminuição da reatividade das células T e *natural killer*, aumento da ativação e presença de macrófagos peritoneais, células B, produção de vetores e angiogênese. Em conjunto, sugere-se que esses fatores podem contribuir para um ambiente imunossupressor que permite o crescimento de células endometriais ectópicas fora do útero, sendo provavelmente uma hipótese de definição de que algumas mulheres desenvolvem a endometriose após a menstruação retrógrada, enquanto outras, não (Gama *et al.*, 2018).

Além disso, a influência da microbiota na imunomodulação e no desenvolvimento de várias doenças inflamatórias está bem elucidada na literatura e muito se sabe sobre como o ecossistema intestinal atua na integridade do revestimento epitelial gastrointestinal, bem como na homeostase do sistema imune, impedindo a translocação bacteriana, que pode causar inflamação sistêmica de baixo grau (Blaser, 2014; Belkaid; Hand, 2014). Em contrapartida, pouco se sabe sobre a presença e a composição da microbiota ao longo do sistema reprodutor do trato feminino e seu papel no desenvolvimento de endometriose ou outras condições ginecológicas.

Considerando o estado inflamatório alterado da patologia, é plausível pressupor que a microbiota possa estar interagindo e contribuindo para o desenvolvimento da doença. Outro estudo recente descreveu a existência de comunidades bacterianas únicas ao longo do trato reprodutivo feminino, desde a vagina até os ovários (Chen *et al.*, 2017). É importante ressaltar que neste estudo, como reflexos sociais e comportamentais individuais, não foi possível estabelecer relações de semelhança na microbiota das participantes tanto na primeira quanto na segunda avaliação.

É plausível admitir que a técnica utilizada, embora capaz de mostrar a estrutura global bacteriana no momento da análise, não possui sensibilidade suficiente para discriminar entre grupos microbianos a partir de metagenoma complexo, como aqueles representados pelos espécimes fecais coletados das pacientes. Entretanto, a técnica permitiu a avaliação de modulação da comunidade microbiana, considerando-se a comparação de cada mulher participante entre os dois momentos avaliados, em diferentes proporções de alteração.

Estudos atuais demonstraram que a microbiota pode influenciar no metabolismo do estrogênio e este, na microbiota intestinal. Considerando que a endometriose é uma condição estrogênio-dominante, o desequilíbrio da microbiota intestinal pode levar a

níveis anormais de estrogênio circulante, podendo, assim, contribuir potencialmente para o desenvolvimento desta doença. Dentro do microbioma intestinal existe o estroboloma, que encapsula os genes microbianos entéricos, cujos produtos têm a capacidade de metabolizar estrogênios no intestino, podendo aumentar a reabsorção de estrógeno livre e também elevar os níveis circulantes (Baker, Al-Nakkash, Herbst-Kralovetz, 2017).

Um estudo relatou que os níveis do gênero *Escherichia* foram significativamente mais altos nas fezes de pacientes com endometriose, em comparação com o grupo controle (ATA *et al.*, 2019). O papel do estroboloma e bactérias secretoras de  $\beta$ -glucuronidase na endometriose é atualmente desconhecido. No entanto, sugere-se que uma microbiota intestinal alterada pode contribuir para um ambiente hiperestrogênico que promove, assim, a progressão da doença (Baker; Al-Nakkash; Herbst- Kralovetz, 2017).

Em outra abordagem, foi relatado que a etnia e a localização geográfica têm um grande impacto na composição taxonômica das comunidades microbianas. No entanto, não está claro se o impacto da etnia se deve à variabilidade genética ou aos resultados de práticas culturais (Gaulke; Sharpton, 2018). Uma meta-análise da influência da raça e etnia na prevalência da endometriose constatou que, em comparação com mulheres brancas, as mulheres negras são menos propensas a serem diagnosticadas com endometriose, enquanto as mulheres asiáticas são mais propensas a receber o diagnóstico. Surpreendentemente, todos os estudos em humanos que relataram microbiota significativamente diferente entre mulheres com e sem endometriose, originaram-se de países asiáticos, mais especificamente, do Japão, da China e da Turquia (Bougie *et al.*, 2019).

Pouco se sabe sobre a relação da microbiota intestinal, atividade física e endometriose. Entretanto, como relatado, percebe-se que houve uma diferença da microbiota intestinal das participantes pela abordagem empregada, considerando-se suas limitações. Novos estudos são necessários para uma melhor abordagem deste tema. De maneira controversa, alguns estudos defendem o tratamento com antibióticos, probióticos, alimentação e prática de atividade física, mostrando efeitos positivos na restauração do equilíbrio da microbiota e melhora nos resultados reprodutivos em pacientes com endometriose. A terapia hormonal também pode influenciar a microbiota vaginal e intestinal. Outra relação entre a microbiota e a dor crônica é explorada, sugerindo que a microbiota intestinal pode influenciar

acomunicação entre o intestino e o Sistema Nervoso Central, afetando a percepção de dor (Zizolfi *et al.*, 2023).

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Do exposto, é importante reafirmar a importância da relação entre o sistema imunológico e a configuração da microbiota residente, sobretudo no trato gastrointestinal. Assim, a compreensão dessa relação é crucial na definição dos impactos diretos e indiretos da imunidade na saúde e nas doenças desencadeadas por inflamação e disbiose.

Nesse sentido, os dados gerados neste estudo permitem inferir que, em se tratando de estratégias não farmacológicas e de longo prazo, a possibilidade da modulação da microbiota intestinal pela dieta associada à prática regular de atividade física pode ter reflexo, não apenas na transformação de hábitos alimentares saudáveis, mas no estilo de vida como um todo em direção à vida ativa, como forma de controle da inflamação sistêmica. Esse controle de inflamação pode gerar uma resposta positiva na melhora dos sintomas, devolvendo qualidade de vida às mulheres com endometriose.

Como desdobramentos futuros decorrentes dessas observações, questiona-se a possibilidade de outras estratégias dietéticas, além da prescrição de consumo alimentar, como a suplementação nutricional com compostos dos tipos probióticos e prebióticos no sentido de potencializar o controle da inflamação sistêmica. Ainda, outros estudos são necessários para entender melhor os impactos da atividade física na modulação microbiana e controle da endometriose, tema já discutido em outras áreas, como a fisiologia esportiva, em que relações entre otimização energética e microbiota já vêm sendo discutidas na literatura.

## **8. CONCLUSÕES**

- Mulheres jovens em idade reprodutiva com alta escolaridade e que não possuem hábitos de prática regular de atividade física, figuram como principal grupo de mulheres com endometriose na região amostrada.
- Em geral, as mulheres com endometriose não dispõem de acompanhamento

nutricional e possuem hábitos alimentares que incluem alta ingestão de carboidratos e gorduras, alimentos que podem impactar o manejo de doenças inflamatórias.

- A associação de prescrição nutricional e de prática de atividade física mostrou relação com a modulação da estrutura global da microbiota residente intestinal em mulheres com endometriose;

- A observação da alteração na qualidade de vida e na função sexual das mulheres com endometriose relacionam-se com o controle clínico da doença e com a alteração da microbiota residente intestinal, não se estabelecendo, neste momento, relação de causalidade ou consequência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACIÉN, P., VELASCO, I. Endometriosis: a disease that remains enigmatic. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, p. 1-12, 2013.

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE.. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis. **Fertil Steril**. v. 67,n.5, p. 817-821,1997.

ANGLESIO, M. S.; PAPADOPOULOS, N.; AYHAN, A.; NAZERAN, T.M.; NOE, M.; HORLINGS, H.M.; LUM, A.; JONES, S.; SENZ, J.; SECKIN, T.; HO, J.; WU, R.; LAC, V.; OGAWA, H.; TESSIER-CLOUTIER, B.; ALHASSAN, R.; WANG, A.; WANG, Y.; COHEN, J. D.; WONG, F.; HASANOVIC, A.; ORR, N.; ZHANG, M.; POPOLI, M.; MAHON, W.; WOOD, L.D.; MATTOX, A.; ALLAIRE, C.; SEGARS, J.; WILLIAMS, C.; TOMASETTI, C.; BOYD, N.; KINZLER, K. W.; GILKS, C.B.; DIAZ, L.; WANG, T.; VOLGESTEIN, B.; YONG, P. J.; HUNTSMAN, D. G.; SHIH, I. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. **The New England Journal of Medicine**, v.376, p.1835-1837, 2017.

ARABLOU, T.; KOLAHDOUZ-MOHAMMADI, R. Curcumin and endometriosis: review on potential roles and molecular mechanisms. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.97, p. 91-97, 2018.

ATA, B.; YILDIZ, S.; TURKGELDI, E.; BROCAL, V. P.; DINLEYCI, E. C.; MOYA, A.; URMAN, B. The endobiota study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. **Scientific Reports**, v.9, n.2204, p.1-9, 2019.

AUGOULEA, A.; ALEXANDROU, A.; CREATSA, M.; VRACHNIS, N.; LAMBRINOUDAKI, I. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v.286,p. 99-103, 2012.

BAKER, J.M.; AL-NAKKASH, L.; HERBST-KRALOVETZ, M.M. Estrogen–gut microbiome axis: physiological and clinical implications. **Maturitas**, v.103, p.45-53.

BARBOSA, D. A. S.; OLIVEIRA, M. A. Endometriose e seu impacto na fertilidadefeminina. **Saúde e Ciência em ação**, v.1, n. 01, p. 43-53,2015.

BELKAID, Y.; HAND, T.W. Role of the microbiota in immunity andinflammation. **Cell**,v. 157, p. 121-141, 2014.

BELLELIS, P.; POGDAEC, S.; ABRÃO, M. S. Environmental factors and Endometriosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.57, n.54, p.448-452, 2011.

\_\_\_\_\_. Fatores ambientais e endometriose: um ponto de vista. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 36, n. 10,p. 432-435, 2014.

BIANCHI, F.; ROSSI, E. A.; SAKAMOTO, I.K.; ADORNO, M.A.T.; WIELE, T. V.; SIVIERI, K. Beneficial effects of fermented vegetal beverages on human gastrointestinal microbial ecosystem in a simulator. **Food research international**, v.64, p. 43-52, 2014.

BIESIEKIERSKI, J. R. What is gluten? **Journal of Gastroenterology and hepatology**, v.32, n.25, p.78-81, 2017.

BLASER, M.J. The microbiome revolution. **Journal of Clinical Investigation**, v.124,p.4162-4165, 2014.

BONOCHE, C.M.; MONTENEGRO, M.L.; SILVA, J.R.; FERRIANI, R.A.; MEOLA, J. Endometriosis and physical exercises: a systematic review. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.2, n.4, p.1-5, 2014.

BORGES, F. M.; PAULA, T. O.; GAMERO, J.; SILVA, V. L.; DINIZ, C. G. Papel da microbiota na modulação da homeostase dos hospedeiros: correlação entre micobioma intestinal e obesidade. **HU Revista**, v. 40,n. 1e 2, p. 107-116, 2014.

BOUGIE, O.; YAP, M.; SIKORA, L.; FLAXMAN, T.; SINGH, S. Influence of race/ethnicity on prevalence and presentation of endometriosis: a systematicreview andmeta-analysis. **BJOG**, v.126, n.9, p.115-116, 2019.

BRESSA, C.; BAILÉN-ANDRINO, M.; PÉREZ-SANTIAGO, J.; GONZÁLEZ-SOLTERO, R.; PÉREZ, M.; MONTALVO-LOMINCHAE, M. G.; MATÉ- MUÑOZ, J.L.; DOMÍNGUEZ, R.; MORENO, D.; LARROSA, M. Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. **Plos One**, vol. 12, n. 2, p. e0171352, 2017.

BRUNELLI, D.T.; CARAM, K.; NOGUEIRA, F.R; LIBARDI, C.A. PRESTES J,CAVAGLIERI CR. Immune responses to an upper body tri-set resistance training session. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 34, n.1, p.64-71,2014.

BRUNETTO, B. C.; GUEDES, D. P.; BRUNETTO, A. F. Taxa metabólica basal em universitários: comparação entre valores medidos e preditos. **Revista de Nutrição**,v. 23, n. 3, p.369-377, 2010.

BULL, M. J.; PLUMMER, N. T. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health andDisease. **Integrative Medicine (Encinitas)**, v.13, n. 6, p.17-22, 2014.

BULUN, S. E. Endometriosis. **The New England Journal ofMedicine**, v. 360, p.268-279, 2009.

CALDER, P.C.; AHLUWALIA, N.; ALBERS, R.; BOSCO, N.; BOURDET- SICARD, R.;HALLER, D.; HOLTGATE, S.T.; JONSSON, L.S.; LATULIPPE, M.E.; MARCOS, A.; MOREINES, J.; RINI, C. M.; MULLER, M.; PAWELEC, G.; NEERVEN, R. J. J.; WATZL, B.; ZHAO, J. A Consideration of Biomarkers tobe usedfor Evaluation of Inflammation in Human Nutritional Studies. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n.1, p.1-34, 2013.

- CAMPBELL, S.C.; WISNIEWSKI, P. J.; NOJI, M.; GUINNESS, L. R.; HÄGGBLUM, M.M.; LIGHFOOT, A. A.; JOSEPH, L. B. KERKHOFF, L.J. The effect of diet and exercise on intestinal and microbiota diversity in mice. **Plos One**, v.11, n.3, p.1-17, 2016
- CANI, P. D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. **Gut**, v.67,p.1716-1725, 2018.
- CAPOBIANCO, A.; ROVERE-QUERINI, P. Endometriosis, a disease of the macrophage. **Frontiers in Immunology**, v.4, n.9, p.1-14, 2013.
- CARDOSO, E. P. S.; ANSELMO, N. M.; MIGUEL, K. J.; SILVA, A. B. C. Endometriose em diferentes faixas etárias: perspectivas atuais no diagnóstico e tratamento da doença. **Ciência et Praxis**, v.4., n.8, 2011.
- CARDOSO, M.A.; STOCCO, P. R. Development of a dietary assessment method for people of Japanese descent living in São Paulo, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n.1, p.107-114, 2000.
- CERDÁ, B.; PÉREZ, M.; PÉREZ-SANTIAGO, J. D.; TORNERO-AGUILERA, J. F.; GONZÁLES-SOLTERO, R.; LARROSA, M. Gut microbiota modification: Another piece in the puzzle of the benefits of physical exercise in health? **Frontiers in Physiology**, vol. 7, n. 51, p.1-11, 2016.
- CHADCHAN, S. B.; CHENG, M.; PARNELL, L. A.; SCHRIEFER, A.; MYSOREKAR, I. U. Antibiotic therapy with metronidazole reduces endometriosis disease progression in mice: a potential role for gut microbiota., *Human Reproduction*, Vol.34,No.6, pp. 1106–1116, 2019.
- BAILEY., M.T.; COE, C.L. Endometriosis is associated with an altered profile of intestinal microflora in female rhesus monkeys. **Human Reproduction**, v.17, n.7,p.1704-1708, 2002.
- CHAMIÉ, L. P.; BLASBALG, R.; PEREIRA, R. M. A.; WARMBRAND, G. Findings of pelvic endometriosis at transvaginal US, MR imaging, and laparoscopy. **Radiographics**, v31, p.77-100, 2011.
- CHEN, C.; SONG, X.; WEI, W.; ZHONG, H.; DAI, J.; LAN, Z.; LI, F.; FENG, Q.; WANG, Z.; XIE, H.; CHEN, X.; ZENG, C.; WEN, B.; ZENG, L.; DU, H.; TANG, H.; XU, C.; XIA, Y.; XIA H.; YANG, H.; WANG, J.; WANG, J.; MADSEN, L.; BRIX, S.; KRISTIANSEN, K.; XU, X.; LI, J.; WU, R.; JIA, H. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. **Nature Communications**, v 8, n.875, p.1-11, 2017.
- CICONELLI, R.M.; FERRAZ, B.M.; SANTOS, W.; MEINÃO, I.; QUARESMA, M.R. Tradução para língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.39, p.143-150,1999.

CLAPAUCH, R. **Endocrinologia feminina e andrologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

CONLON, M. A.; BIRD, A. R. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. **Nutrients**, v.7, p.17-44, 2014.

DUNCAN, S.H.; BELENGUER A.; HOLTROP, G.; JOHNSTONE, A.M.; FLINT, H. J.; LOBLEY, G.E. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n.4, p. 1073-1078, 2007.

FASANO, A. Leaky gut and autoimmune diseases. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v.42, n.1, p. 71-78, 2012.

FAUCONNIER, A.; CHAPRON, C. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications. **Human Reproductive Update**, v.11, p.595-606, 2005.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. **Manual de Orientação em Endometriose**. São Paulo: FEBRASGO, 2010.

FERNANDES, J.; SU, W.; RAHAT-RAZENBLOOM, S.; WOLEVER, T. M. S.; COMELLI, E. M. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. **Nutrition & Diabetes**, v. 4, p. e121-e128, 2014.

FILIPPIS, F.; PELLEGRINI, N.; VANNINI, L.; JEFFERY, I.B.; STORIA, A.; LAGHI, L.; SERRANAZETTI, D.; CAGNO, R.; FERROCINO, I.; LAZZI, C.; TURRONI, S.; COCOLIN, L.; BRIGIDI, P.; NEVIANI, E.; GOBBETTI, M.; TOOLE, P.W.; ERCOLINO, D. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. **Gut microbiota**, v.65, p.1812-1821, 2015.

FLORES, R.; SHI, J.; FUHRMAN, B.; XU, X.; VEENSTRA, T. D.; GAIL, M. H.; GAJER, P.; RAVEL, J.; GOEDERT, J.J. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: a cross-sectional study. **Journal of Translational Medicine**, v.10, n. 253, p. 1-12, 2012.

FREITAS, M.P.; STEFANELLO, FM.; GONZALES, G.N.; HAFELE, C.A.; ROMBALDI, A.J. Efectos del ejercicio físico sobre el sistema inmune en mujeres posmenopáusicas: revisión sistemática. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.22, n.5, 2016.

GABER, A.; HASSAN, M. M.; EL-DOSOKY, E.; ATTIA, O. In vitro Antimicrobial Comparison of Taif and Egyptian Pomegranate Peels and Seeds Extracts. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v.3, n.2, p.12-17, 2015.

GAMA, C.R.L.; SANTULLI, P.; MARCELLIN, L.; ABRÃO, M.S.; BATTEUX, F.; CHAPRON, C. Immunology of endometriosis. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v.50, p. 39-49, 2018.

GAULKE, C.A.; SHARPTON, T.J. The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition. **Nature Medicine**, v.24, p. 1495- 1496, 2018.

GEUKING, M. B.; KÖLLER, Y.; RUPP, S.; MCCOY, K.D. The interplay between the gut microbiota and the immune system. **Gut Microbes**, v.5, n.33, p.411-418, 2014.

GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.103, n.2, p. 693-699, 2007.

GORDTS, S.G; KONINCKX, P.; BROSENS, I. Pathogenesis of deep endometriosis. **Fertility and Sterility**, v.108, n.6, p. 871-885, 2017.

GRENHAM, S.; CLARKE, G.; CRYAN, J.F.; DINAN, T.G. Comunicação cérebro-intestino-micróbio na saúde e na doença. **Frontiers in physiology**, v.2, n.94, 2011.

GYLFASON, J. T.; KRISTJANSSON, K. A.; SVERRISDOTTIR, G.; JONSDOTTIR, K. R.; RAFNSSON, V.; GEIRSSON, R. T. Pelvic Endometriosis Diagnosed in an Entire Nation Over 20 years. **American Journal of Epidemiology**, v.172,n.3, p.237-243, 2010.

HALPERN, G. Nutrição e (In) fertilidade. In: MELAMED, R.M; SEGER, L.; BORGES, J. E. **Psicologia e reprodução humana assistida – uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo: Gen, 2009.

HALPERN, G.; SCHOR, E.; KOPELMAN, A. Nutritional aspects related to endometriosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.61, n.6, p. 509-523, 2015.

HO, S.S.; DHALIWAL, S. S.; HILLS, A.P.; PAL, S. Effects of chronic exercise training on inflammatory markers in Australian overweight and obese individuals in a randomized controlled trial. **Inflammation**, v.36, p. 625-632, 2013.

HOLMES, E.; LI, J.V.; MARCHESI, J.R.; NICHOLSON, J.K. Gut microbiota composition and activity in relation to host metabolic phenotype and disease risk. **Cell metabolism**, v. 16, n.5, p.559-564, 2012.

HUDAULT, S.; GUIGNOT, J.; SERVIN, A.L. Escherichia coli strains colonising the gastrointestinal tract protect germ-free mice against Salmonella typhimurium infection. **Gut**, v.49, p. 47-55, 2001.

HUËROU-LURON, I.; BLAT, S.; BOUDRY, G. Breast-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. **Nutrition Research Reviews**, v.23, n.01, p.23-36, 2010.

JIMÉNEZ, E.; MARÍN, M. L.; MARTÍN, R.; ODRIOZOLA, J. M.; OLIVARES, M.; XAUS, J.; FERNANDEZ, L.; RODRIGUEZ, J.M. Is meconium from healthy new borns actually sterile? **Research Microbiology**, v.159, n.3, p.187-193, 2008.

KAO, L.C.; GERMEYER, S.; TULAC, S.; LOBO, S.; YANG, J. P. TAYLOR, R. N.; OSTEN, K.; LESSEY, B. A.; GIUDICE, L. C. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. **Endocrinology**, v.144, n.7, p. 2870-2881, 2003.

KAUR, K. K.; ALLAHBADIA, G. An update on pathophysiology and medical management of endometriosis. **Advances in Reproductive Sciences**, v.4, n.2, p.53-73, 2016.

KHAN, K.N; KITAJIMA, M.; HIRAKI, K.; YAMAGUCHI, N.; KATAMINE, S.; MATSUYAMA, T.; NAKASHIME, M.; FUJISHITA, A.; ISHIMARU, T.; MASUZAKI, H. Escherichia coli contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis. **Fertil Steril**, v.94, p.2860-2863, 2010.

KHAN, K. N.; FUJISHITA, A.; MASUMOTO, H.; MUTO, H.; KITAJIMA, M.; MASUZAKI, H.; KITAWAKI, J. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v.199, p.69–75, 2016.

KHAN, K.N.; FUJISHITA, A.; HIRAKI, K.; KITAJIMA, M.; NAKASHIMA, M.; FUSHIKI, S. Bacterial contamination hypothesis: a new concept in endometriosis. **Reproductive Medicine and Biology**, v.17, p.125-133, 2018.

KIEPER, W.C.; TROY, A.; BURGHARDT, J. T.; RAMSEY, C.; LEE, J. Y.; JIANG, H.; DUMMER, W.; SHEN, H.; CEBRA, J.J.; SURH, C. D. Recent immune status determines the source of antigens that drive homeostatic T cell expansion. **The Journal of Immunology**, v.174, p.3158–3163, 2005.

KRUGER, R. L.; LOPES, A. L.; GROSS, J. S.; MACEDO, R. C. O.; TEIXEIRA, B. C.; OLIVEIRA, A. R. Validation of predictive equations for basal metabolic rate in eutrophic and obese subjects. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v.17, n.1, p.73-81, 2015.

LANDENDONCKT, A.; CASANAS-ROUX, F.; DONNEZ, J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. **Fertil Steril**, v.77, p.861-870, 2002.

LASCHKE, M. W.; MENGER, M. D. The gut microbiota: a puppet master in the pathogenesis of endometriosis? **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.215, n.1, p. 68.e1-68.e4, 2016.

LAUX-BIEHLMANN, A.; D'HOOGHE, T.; ZOLLNER, T.M. Menstruation pulls the trigger for inflammation and pain in endometriosis. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.36, p.270-276, 2015.

LEBOVIC, D.I.; MUELLER, M. D.; TAYLOR, R. N. Immunobiology of endometriosis. **Fertil Steril**, v.75, v.1, p.1-10, 2001.

LEONARDI, M.; HICKS, C.; EI-ASSAAD, F.; EL-OMAR, E.; CONDOUS, G. Endometriosis and the microbiome: a systematic review. **BJOG**, v.127, n.2,p. 239-249.

LEY, R. E.; TURNBAUGH, P.J.; KLEIN, S.; GORDON, J. I. Microbial ecology: humangut microbes associated with obesity. **Nature**, v.444, n. 7122, p.1022-1023, 2006.

LEYENDECKER, G.; KUNZ G.; HERBERTZ, M.; BEIL, D.; HUPPERT, P.; MALL, S. K.; KISSLER, S.; NOE, M.; WILDT, L. Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**,v.1034, n. 1, p.338-355, 2006.

LI, F.; HULLAR, M. A. J.; SCHWARZ, Y.; LAMPE, J.W. Human gut bacterial communities are altered by additon of cruciferous vegetables to a controlled fruit-and vegetable-free diet. **The Journal of Nutrition**, v. 139, n.9, p.1685- 91, 2009.

LIRA, F.S.; ROSA, J. C.; PIMENTEL, G. D.; SOUZA, H. A.; CAPERUTO, E. C.; CARNEVALI, L .C.; SEELAENDER, M.; DAMASO, A.R.; OYAMA, L. M.; MELLO, M.T.; SANTOS, RO. V. Endotoxin levels correlate positively with asedentary lifestyle and negatively with highly trained subjects. **Lipids in health and disease**, v.9, p.82,2010.

LOPETUSO, L. R.; SCALDAFERRI, F.; FRANCESCHI, F.; GASBARRINI, A. The gastrointestinal microbiome e Functional interference between stomach and intestine. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 28, p.995-1002,2014.

LORENÇATTO, C.; VIEIRA, M. J. N.; PINTO, C. L. B. P.; PETTA, C.A.; Avaliação da freqüência de depressão em pacientes com endometriose e dor pélvica. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.48, n.3, p.217-221, 2002.

MACER, M. T.; TAYLOR, H.S. Endometriosis and infertility: areview of thepathogenesis and treatment of endometriosis associated infertility. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v.39, n.4, p.535-549, 2012.

MACHADO, A. B .F .M.; MOREIRA, A. P. B.; ROSA, D. D.; PELUZIO, M.C.G.; TEIXEIRA,T. F. S. **Microbiota gastrointestinal**: evidências de sua influência na saúde e na doença. 2ªed. Rio de Janeiro: Rubio, 2021.

MACKINNON, L.T. Chronic exercise training effects on immune function. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.32, n.7, p.369-376, 2000.

MAGNO, L. D. P.; FONTES-PEREIRA, A. J.; NUNES, E. F. C. Avaliação Quantitativa da função sexual feminina correlacionada com a contração dos músculosdo assoalho pélvico. **Revista Pan-Amazônica e Saúde**, v.2, n.4,p.39-46, 2011.

MCARDLE, W.D; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fisiologia do Exercício**: nutrição, energia e desempenho humano. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MIER-CABRERA, J.; ABURTO-SOTO, T.; BURROLA-MÉNDEZ, S.; ZAMUDIO, L. J.; TOLENTINO, M. C.; CASANUEVA, E.; GUERRERO, C. H.

Women with endometriosis improved their peripheral antioxidant markers after the application of a high antioxidant diet. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.7, n.54, p.1-11, 2009.

MISSMER, S. A.; HANKINSON, S.; SPIEGELMAN, D.; BARBIERI, R. L.; MALSPEIS, S. S. M.; WILLETT, W. C.; HUNTER, D. J. Reproductive history and endometriosis among premenopausal women. **Obstetrics & Gynecology**, v.104, n.5, p. 965-974, 2004.

MOORE, J.; COPLEY, S.; MORRIS, D.; LINDSELL, S.; GOLDING, S.; KENNEDY, S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v.20, n.6, p.630-634, 2002.

MONTALTO, M.; D'ONOFRIO, F.; GALLO, A.; CAZZATO, A.; GASBARRINI G. Intestinal microbiota and its functions. **Digestive and Liver Disease Supplements**, v3, n.2, p.30-34, 2009.

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

NEPA–UNICAMP. **TACO** - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4 ed. São Paulo: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, 2011.

NISOLLE, M.; DONNEZ, J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are there different entities. **Fertil Steril**, v68, n.4, p. 585-596, 1997.

NUDING, S.; ANTONI, L.; STANGE, E. F. The Host and the Flora. **Digestive Diseases**, v.31, p.286-292, 2013.

PALMA G.; NADAL, I.; COLLADO, M. C.; SANZ, Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans subjects. **Journal of Nutrition**, v. 102, n.8, p.1154-1160, 2009.

PAULA, A.C.L.; MEDEIROS, J.D.; AZEVEDO, A.C.; CHAGAS, J.M.A; SILVA, V.L.; DINIZ, C.G. Antibiotic Resistance Genetic Markers and Integrons in White Soft Cheese: Aspects of Clinical Resistome and Potentiality of Horizontal Gene Transfer. **Genes**, v.9, n.106, p.1-11, 2018.

PARAZZINI, F.; CHIAFFARINO, F.; SURACE, M.; CHATENOU, L.; CIPRIANI, S.; CHIANTERA, V.; BENZI, G.; FEDELE, L. Selected food intake and risk of endometriosis. **Human Reproductive**, v. 19, p.1755-1759, 2004.

PEREIRA, M.; GOUVEIA, F. **Modulação intestinal: fundamentos e estratégias práticas**. 1ª ed. São Paulo: Editora Trato, 2019.

PHILIPPI, S.T. **Redesenho da Pirâmide Alimentar Brasileira para uma alimentação saudável.** São Paulo, 2013.

POSTLER, T.S.; GHOSH, S. Understanding the holobiont: how microbial metabolites affect human health and shape the immune system. **Cell Metabolism**, v.26, n.1, p.110-130, 2017.

RIER, S.; FOSTER, W. G. Environmental dioxins and endometriosis. **Seminars in Reproductive Medicine**, v.21, n.2, p. 145-154, 2003.

RIZZATTI, G.; LOPETUSO, L. R.; GIBIINO, G.; BINDA, C.; GASBARRINI, A. Proteobacteria: a common factor in human diseases. **Bio Med Research International**, v.2017, p.1-7, 2017.

RODENAS, C. Neonatal antibiotic treatment alters gastrointestinal tract developmental gene expression and intestinal barrier transcriptome. **Physiological Genomics**, v.23, n.2, p. 235-245, 2005.

SALES, R.L.; SILVA, M.M.S.; COSTA, N.M.B.; EUCLYDES, M.P.; ECKHARDT, V.F.; RODRIGUES, C.M.A.; TINOCO, A.L.A. Desenvolvimento de um inquérito para avaliação da ingestão alimentar de grupos populacionais. **Revista de Nutrição**, v.19, n.5, p.39-52, 2006.

SAMUELSON, D. R.; WELSH, D. A.; SHELLITO, J. E. Regulation of lung immunity and host defense by the intestinal microbiota. **Frontiers Microbiology**, v.6, n.1085, p. 1-14, 2015.

SANTOS, L. A. A microbiota intestinal e sua relação com o sistema imunológico. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v.16, n.2, p.1-9, 2018.

SCHUMANN, A.; NUTTEN, S.; DONNOCOLA, D.; COMELLI, E. M.; MANSOURIAN, R.; CHERBUT, C.; CORTHESEY-THEULAZ, I.; GARCIA-TURNBAUGH, P. J.; BACKHED, F.; FULTON, L.; GORDON, J. I. Diet – induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. **Cell Host & Microbe**, v. 3, n. 4, p. 213-223, 2008.

SEKIROV, I.; RUSSELL, S. L.; ANTUNES, L. C. M.; FINLAY, B.B. Gut microbiota in health and disease. **Physiological Reviews**, v. 90, n. 3, p.859-904, 2010.

SERDAR, E.; BULUN, M. D. Review article: mechanisms of disease Endometriosis. **The New England Journal of Medicine**, v.360, n.3, 2009.

SHAN, J.; SUN, S.; CHENG, W.; ZHAI, D.; ZHANG, D.; YAO, R. T44: the intestinal flora characteristics of endometriosis and the intervention of traditional Chinese medicine. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.80, p. 37-37, 2018.

SIGNORELLO, L.B.; HARLOW, B. L.; CRAMER, D. W.; SPIEGELMAN, D.; HILL, J.A. Epidemiologic determinants of endometriosis: a hospital-based case

controlstudy. **Annals of Epidemiology**, v.7, n.4, p.267-274, 1997.

SIGNORILE, P. G.; BALDI, F.; BUSSANI, R.; D'ARMIENTO, M.; FALCO, M.; BALDI, Ectopic endometrium in human foetuses is a common event and sustains the theory of mullerianosis in the pathogenesis of endometriosis, a disease that predisposes to cancer. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v.28, p. 49-53, 2009.

SIMMEN, R. C. M.; KELLEY, A. S. Seeing red: diet and endometriosis risk. **Annals of Translational Medicine**, v.219, p.1-4, 2018.

STECHER, B. The Roles of inflammation, nutrient availability and the commensal microbiota in enteric pathogen infection. **Microbiology Spectrum**, v.3, n.3, 2015.

STURGEON, C.; FASANO, A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. **Tissue Barriers**, v.4, n.4, p.1-19, 2016.

SULLIVAN, O.O.; CRONIN, O.; CLARKE, S.F.; MURPHY, E. F.; MOLLOY, M.G.; SHANAHAN, F.; COTTER, P. D. Exercise and the Microbiota. **Gut Microbes**, v.6, n.2, p.131-136, 2015.

SVENSSON, A.; BRUNKWALL, L.; ROTH, B.; ORHO-MELANDER, M.; OHLSSON, A. Associations Between Endometriosis and Gut Microbiota. **Reproductive Sciences**, v.28, p.2367-2377, 2021.

THIEL, R.R.C.; DAMBROS, M.; PALMA, P.C.R.; THIEL, M.; RICCETTO, C.L.Z.; RAMOS, M.F. Translation into Portuguese, cross-national adaptation and validation of the Female Sexual Function Index. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.30, n.10, p.504-510, 2008.

TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ. H.; HUDCOVIC, T.; TUCKOVÁ, L.; CUKROWSKA, B.; LODINOVÁ-ZÁDNÍKOVÁ, L.; KOZÁKOVÁ, H.; ROSSMANN, P.; BÁRTOVÁ, J.; SOKOL, D.; FUNDA, D. P.; BOROVSÁ, D.; REHÁKOVÁ, Z.; SINKORA, J.; HOFMAN, J.; DRASTICH, P.; KOKESOVÁ, A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. **Immunology Letters**, v. 93, p.97-108, 2004.

TRABERT, B.; PETERS, U.; ROOS, A.J.; SCHOLE, D.; HOLT, V.L. Diet and risk of endometriosis in a population-based case-control study. **British journal of nutrition**, v.105, p.459-467, 2009.

TYAKHT, A. V.; KOSTRYUKOVA, E. S.; POPENKO, A.S.; BELENIKIN, M.S.; PAVLENKO, A. V.; LARIN, A.K.; KARPOVA, I.Y.; SELEZNEVA, O.V.; SEMASHKO, T. A.; OSPANOVA, E.A.; BABENKO, V.V.; MAEV, I.V.; CHEREMUSHKIN, S. V.; KUCHERYAVYY, Y.A.; SHCHERBAKOV, S. U.; GRINEVICH, V.B.; EFIMOV, O. I.; SAS, E.T.; ABDULKHAKOV, S. R.; LYALYUKOVA, A.R.; LIVZAN, M.A. VLASSOV, V.V., SAGDEEV, R. Z.; GOVORUN, A.M. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. **Nature**

**communications**, v. 4,n.2469, p.1-9, 2013.

VALDES, A. M.; WALTER, J.; SEGAL, E.; SPECTOR, T. D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. **The BMJ**, v.361, p.36-44, 2018.

VERCELLINI, P.; SOMIGLIANA, E.; VIGANO, P.; ABBIATI, A.; DAGUATI, R.; CROSIGNANI, P. G. Endometriosis: current and future medical therapies. **Best Practice e Research Clinical Obstetrics e Gynecology**, v.22, n.2, p.275-306, 2008.

VERCELLINI, P.; VIGANO, P.; SOMIGLIANA, E.; FEDELE, L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. **Nature Reviews Endocrinology**, v.10, p. 261-275, 2014.

VRIEZE, A.; HOLLEMAN, F.; ZOETENDAL, E; VOS, W. M.; NIEUWDORP, M.; BIESIEKIERSKI, J.R. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. **Diabetologia**, v.53, n.4, p.606-613, 2010.

WALTER, J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. **Applied Environmental Microbiology**, V.74, n.16, p.4985-4996, 2008.

WELLY, R. J.; LIU, T.; ZIDON, T. M.; ROWLES, J.L.; PARK, Y.; SMITH, N.; SWANSON, K. S.; PADILLA, J.; VIEIRA-POTTER, V. J. Comparison of diet vs. exercise on metabolic function & gut microbiota in obese rats. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 48, n. 9, p.1688-1698, 2016.

WIKOFF, W. R.; ANFORA A.T.; LIU, J.; SCHULTZ, P. G.; LESLEY, S. A.; PETERS, E.C; SIUZDAK. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microglora on mammalian blood metabolites. **PNAS**, v.106, n.10, p. 3698-3703, 2009.

WU, G.D; CHEN, J.; HOFFMANN, C.; BITTINGER, K.; CHEN, Y. KEILBAUGH, S.A.; BEWTRA, M.; KNIGHTS, D.; WALTERS, W.A.; KNIGHT, R.; SINHA, R.; GILROY, E.; GUPTA, K.; BALDASSANO, R.; NESSEL, L.; LI, H.; BUSHMAN, F.D.; LEWIS, J.D. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. **Science**, v.334, n. 6052, p. 105-108, 2011.

YAMAMOTO, A.; HARRIS, H. R.; VITONIS, A. F.; CHAVARRO, J. E.; MISSMER, S. A. A prospective cohort study of meat and fish consumption and endometriosis risk. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.219 n.178, p.1-10, 2018.

YANG, Z., SCOTT, C.A., MAO, C., TANG, J., FARMER, A.J. Resistance exercise versus aerobic exercise for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, vol. 44, n. 4, p. 487-499, 2014.

YUAN, M.; LI, D.; ZHANG, Z.; SUN, H.; AN, M.; WANG, G. Endometriosis induces gut microbiota alterations in mice. *Human Reproduction*, v.33, n.4,p. 607-616, 2018.

ZEUTHEN, L. H.; FINK, L. N.; METZDORFF, S. B.; KRISTENSEN, M. B.; LICHT, T. R.; NELLEMAN, C.; FROKIAER, H. Lactobacillus acidophilus induces a slow but more sustained chemokine and cytokine response in naïve foetal enterocytes compared to commensal Escherichia coli. **BMC Immunology**, v.11, n.2, p. 1-10, 2010.

ZHANG, X.; XU, H.; LIN, J.; QIAN, Y.; DENG, L. Peritoneal fluid concentrations of interleukin-17 correlate with the severity of endometriosis and infertility of this disorder. **BJOG**, v.112, p.1153-1155, 2005.

ZHAO, F., FENG, J.; LI, J.; ZHAO, L.; LIU, Y.; CHEN, H.; JUN, Y.; ZHU, B.; WEI, Y. Alterations of the gut microbiota in Hashimoto's thyroiditis patients. **Thyroid**, v.28, n.2, p. 175-186, 2018.

ZIEGLER, D.; BORGHESE, B.; CHAPRON, C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. **The Lancet**, v.376, n. 9742, p.730-7388, 2010.

ZIZOLFI, B.; FORESTE, V.; GALLO, A.; MARTONE, S.; GIAMPAOLINO, P.; DI SPIEZIO, S. A. Endometriosis and dysbiosis: State of art. **Frontiers Endocrinology**, v.14, n.20, p.1-6, 2023.

## ANEXOS

### ANEXO 1 – Termo de consentimento



#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/BIORREPOSITÓRIO**

Gostaríamos de convidar você a participar como voluntária da pesquisa **"Estrutura da microbiota intestinal de mulheres portadoras de endometriose sintomáticas, antes e durante tratamento nutricional e atividade física"**. O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é que acreditamos na associação da rotina de atividade física e dieta na modulação dos microrganismos intestinais para diminuir estímulo inflamatório e interferir nos níveis de estrogênio na circulação. Nesta pesquisa pretendemos avaliar a diversidade dos microrganismos do intestino e estabelecer possíveis correlações entre composição microbiana e o tratamento da endometriose. Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o armazenamento, a utilização e o descarte do material biológico humano FEZES, que será utilizado exclusivamente neste projeto de pesquisa. Caso você concorde em participar, vamos fazer as seguintes atividades com você: após recrutamento na consulta ginecológica, a Sra. responderá a um questionário de dados clínicos e sócio-demográficos, será submetida à avaliação de dados como peso atual, altura, índice de massa corporal, circunferência da cintura, relação entre as circunferências da cintura e do quadril, circunferência do braço, circunferência muscular do braço e percentual de gordura corporal, e também fará uma avaliação nutricional, pela aplicação de um questionário de frequência alimentar. A Sra. também nos fornecerá material fecal (fezes), em coletores universais que lhe serão fornecidos, e que ficarão guardadas em geladeira até o processamento. Após a utilização e processamento das fezes, estas serão descartadas por incineração. Esta pesquisa tem alguns riscos, que são: eventuais desconfortos físicos ou emocionais, que serão minimizados, uma vez que os dados serão obtidos durante consulta individual com uma nutricionista e as fezes serão coletadas em seu domicílio. A pesquisa pode ajudar para levantar discussões sobre a dieta e o treinamento físico como condutas terapêuticas de controle da endometriose com reflexo no prognóstico e qualidade de vida das pacientes portadoras da doença.

Para participar deste estudo você não vai ter nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, se você tiver algum dano por causadas atividades que fizermos com você nesta pesquisa, você tem direito a indenização. Você terá todas as informações que quiser sobre esta pesquisa e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Mesmo que você queira participar agora, você pode voltar atrás ou parar de participar a qualquer momento. Pode retirar o consentimento de guarda e utilização das fezes, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária e o fato de não querer participar não vai trazer qualquer penalidade ou mudança na forma em que você é atendida. O pesquisador não vai divulgar seu nome. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Os dados coletados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo as legislações brasileiras (Resoluções Nº 466/12 e Nº 441/11 e a portaria 2.2011 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Declaro que concordo em participar da pesquisa utilizando as minhas fezes, e que me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Nome do Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz  
Endereço: Avenida Lourenço Kelmer, s/n – Campus Universitário – ICB, CEP: 36036-900 / Juiz de Fora – MG  
Email: [claudio.diniz@icb.ufjf.br](mailto:claudio.diniz@icb.ufjf.br), Telefone: (32) 2102-3213 |

## ANEXO 2 – Formulário para coleta de dados clínicos-epidemiológicos



Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia – Setor de Microbiologia - ICB

### **PROJETO DE PESQUISA:**

ESTRUTURA DA MICROBIOTA INTESTINAL DE MULHERES PORTADORAS DE ENDOMETRIOSE SINTOMÁTICAS, ANTES E DURANTE TRATAMENTO NUTRICIONAL E ATIVIDADE FÍSICA.

### **FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Participante Nº |\_\_|\_\_|\_\_| Data: \_\_/\_\_/\_\_ Endometriose de grau [ ] Obs: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Idade (anos): \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Telefones: \_\_\_\_\_

1. Estado civil: [ ] solteiro(a) [ ] casado(a) [ ] outro
2. Cor: [ ] branca [ ] preta [ ] parda [ ] amarela [ ] outra
3. Renda (salários mínimos): [ ] sem renda [ ] 1 a 3 [ ] 4 a 6 [ ] 7 a 10 [ ] mais de 10
4. Número de pessoas que vivem dessa renda? \_\_\_\_\_
5. Nível de escolaridade: [ ] < fundamental [ ] ensino fundamental [ ] ensino médio [ ] superior [ ] PG
6. Ocupação profissional: \_\_\_\_\_
7. Você pratica alguma atividade física? [ ] não  
[ ] sim. Qual atividade? \_\_\_\_\_ Quanto tempo por sessão? \_\_\_\_\_ Qual frequência? \_\_\_\_\_
8. Em média, quanto tempo por dia você gasta assistindo TV ou fica no computador? \_\_\_\_\_
9. Tipo de Dieta: [ ] vegana [ ] ovo-lacto vegetariana [ ] onívora Tempo que segue essa dieta: \_\_\_\_\_
10. Já teve acompanhamento profissional em relação à sua dieta: [ ] sim, que tipo: \_\_\_\_\_ [ ] não
11. Utiliza alimentos orgânicos: [ ] sim, tempo que consome orgânicos: \_\_\_\_\_ [ ] não
12. Utiliza adoçante? [ ] sim, há quanto tempo? \_\_\_\_\_ Quais tipos, lembra o nome? \_\_\_\_\_ [ ] não
13. Utiliza suplementos alimentares (polivitamínicos, ferro, B12, D, C): [ ] sim [ ] não  
Descrever: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
14. Utiliza probióticos e/ou prebióticos: [ ] sim [ ] não  
Descrever: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

15. Você costuma consumir bebida alcoólica? [  ] Nunca [  ] Diariamente [  ] Pelo menos 1 vez por semana  
[  ] 2 a 3 vezes por semana [  ] 1 ou menos vez por mês [  ] 2 a 4 vezes por mês
16. Quantas doses de bebida alcoólica você consome tipicamente quando está bebendo?  
[  ] 1 dose [  ] 2 a 4 doses [  ] 5 a 7 doses [  ] 8 a 10 doses [  ] mais de 10 doses
17. Que tipo de bebida alcóolica você consome?  
[  ] Cerveja [  ] Vinho [  ] Destilados (cachaça, vodca, licor, whisky)  
[  ] Compostas (ice, coquetéis, etc)
- 
18. Características clínicas
- Diabetes: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Doenças do coração: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Pressão alta: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Doenças renais: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Doenças hepáticas: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Doenças na tireóide: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Depressão: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Doença na tireóide: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Imunossupressão: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Seropositivo(a) para HIV: \_\_\_\_\_ [  ] sim [  ] não [  ] não sabe
- Outras doenças: \_\_\_\_\_
19. Faz uso de medicamentos suplementares? [  ] Não [  ] Anti-hipertensivo [  ] Hipoglicemiante oral  
[  ] Antidepressivo [  ] Dislipidêmicos [  ] Imunossupressores [  ] Insulina  
Outros: \_\_\_\_\_
20. Antibióticos nos últimos 30 dias:  
Antifúngico [  ] sim [  ] não Antibacteriano [  ] sim [  ] não Antiprotozoário [  ] sim [  ] não
21. Exames utilizados no diagnóstico da endometriose:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## ANEXO 3 – FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA



Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia – Setor de Microbiologia - ICB

### PROJETO DE PESQUISA:

ESTRUTURA DA MICROBIOTA INTESTINAL DE MULHERES PORTADORAS DE ENDOMETRIOSE SINTOMÁTICAS, ANTES E DURANTE TRATAMENTO NUTRICIONAL E ATIVIDADE FÍSICA.

### FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Participante N°     Data:  /  /

Nome: \_\_\_\_\_ Idade (anos): \_\_\_\_\_

Característica	Observação
1. Peso (kg)	
2. Altura (cm)	
3. IMC	
4. Classificação	Referencia: - Baixo peso (IMC < 18,5), - Eutrofia (18,5 ≤ IMC < 25), - Pré-obesidade (25 ≤ IMC < 30), - Obesidade (IMC ≥ 30)
5. % de Gordura corporal	
6. % de Hidratação	
7. % de Musculatura	
8. % Massa Óssea	
9. Taxa de Metabolismo Basal	
10. Circunferência da cintura (cm)	
11. Circunferência abdominal (cm)	
12. Circunferência do quadril (cm)	
13. RCQ	

## ANEXO 4 – Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA)



Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia – Setor de Microbiologia – ICB

### PROJETO DE PESQUISA:

ESTRUTURA DA MICROBIOTA INTESTINAL DE MULHERES PORTADORAS DE ENDOMETRIOSE SINTOMÁTICAS, ANTES E DURANTE TRATAMENTO NUTRICIONAL E ATIVIDADE FÍSICA.

### QUESTIONÁRIO QUANTITATIVO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR

Nome: \_\_\_\_\_ Idade (anos): \_\_\_\_\_ Participante Nº [ ] [ ] [ ] [ ]

Prezado participante, informe a frequência média de consumo habitual (diária, semanal ou mensal) relativa aos últimos seis meses e o tamanho da porção ingerida. Para ajudá-lo na estimativa das porções há um álbum fotográfico (VANNUCCHI et al., 2007).

**ATENÇÃO:** Não altere sua rotina alimentar! A autenticidade da sua informação é fundamental. Os registros serão sigilosos!

Grupo do leite e derivados	Quantas vezes você come	Unidade 1 2 3	P(75)			CODIF.
			P(1)	M(2)	G(3)	
Leite integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Leite desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Leite semidesnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Leite vegetal:	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Iogurte natural desnatado	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Iogurte com frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100mL		250mL	
Queijo fresco ou ricota	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g		40g	
Queijo amarelo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g		30g	
Tofu	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g		30g	
Requeijão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	10g		40g	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M				
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M				
<b>Grupo dos pães e cereais matinais</b>						
Pão francês, forma, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	2g		75g	
Pão integral	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g		75g	
Pão doce, de queijo, croissant	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g		50g	
Biscritos doces/ salgados ou torradas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	14g		40g	
Aveia, granola, barra de cereais e <u>sucrilhos</u>	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g		50g	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g		50g	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M				
<b>Gorduras</b>						
Margarina comum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	2,5g		6 g	
Margarina <i>light</i>	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	2,5g		6 g	
Manteiga	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	3g		7 g	
Creme vegetal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	3g		7 g	
Maionese	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	7g		30g	
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	7g		30g	

Cereais, Tubérculos e Massas						
Arroz branco	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60g	145g		
Batata, mandioca, polenta (fritas)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	100g		
Batata, mandioca, polenta (não fritas)	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	140g		
Milho verde	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60g	145g		
Batata-doce	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	120g		
Massas, macarrão, lasanha, nhoque	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	45g	200g		
Salgados e tortas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	40g	150g		
Pizza	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	300g		
Farofa, farinha de milho, outros:	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g	30g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M				
Grupo das frutas						
Laranja, mexerica, poncã	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	125g	360g		
Banana	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	120g		
Maçã, pêra	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60g	130g		
Mamão papaia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100g	170g		
Melancia, melão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g	150g		
Uva, abacaxi, goiaba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	40g	150g		
Abacate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	80g	215g		
Manga, caqui	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	45g	180g		
Suco de laranja natural	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	165mL	250 mL		
Jaca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	45g	180g		
Suco de outras frutas :	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200mL	600mL		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M				
Outras frutas:	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	75g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	75g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	75g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	75g		
Grupo das leguminosas						
Feijão roxo, carioca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g	140g		
Ervilha, lentilha, grão de bico, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g	60g		
Feijoada	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	150g	300g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g	140g		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	55g	140g		
Grupo de verduras/legumes						
Alface, escarola, agrião, rúcula, almeirão	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g	40g		
Repolho, acelga, couve, espinafre	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	75g		
Couve-flor, brócolis	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	80g		
Cenoura, abóbora	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	12g 50g	48g 120g		
Tomate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	80g		
Berinjela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	30g	80g		
Beterraba	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	80g		

Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia – Setor de Microbiologia - ICB

Vagem, chuchu, abobrinha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g	65g
Sopas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	290g	780g
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	290g	780g
<b>Grupo das carnes e ovos</b>				
Carne bovina sem gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
Carne bovina com gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
Carne de porco com gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	77,5g	255g
Carne de porco sem gordura	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	77,5g	255g
Bacon, toucinho, torresmo, pururuca	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	77,5g	255g
Carne de frango ou de outras aves sem pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	65g	135g
Carne de frango ou de outras aves com pele	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	65g	135g
Peixes	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	100g	230g
Miúdos, dobradinha, fígado, coração	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	6g	130g
Camarão, frutos-do-mar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	150g
Linguiça, salsicha	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	40g	120g
Ovo cozido	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	100g
Ovo frito	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	100g
Presunto, mortadela	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g	30g
<b>Grupo das proteínas vegetais</b>				
Proteína <u>texturizada</u> de soja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
Presunto vegetal	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g	30g
<u>Scitan</u>	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
Cogumelos	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	75g	120g
<b>Grupo das bebidas</b>				
Café amargo	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50mL	100 mL
Café com açúcar	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50mL	100 mL
Café com adoçante	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50mL	100 mL
Chá preto ou mate	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	150mL	300 mL
Chá de ervas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	150mL	300 mL
Água	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	120mL	360 mL
Cerveja	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	300mL	600 mL
Pinga, destilados	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	45mL	90 mL
Vinho	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	60mL	200 mL
Sucos artificiais	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200mL	600 mL
Refrigerante <i>diet/light</i>	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200mL	350 mL
Refrigerante comum	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200mL	350 mL
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200mL	350 mL
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
<b>Grupo de doces e miscelâneas</b>				
Bolos, tortas, pavês	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	150g
Chocolates, brigadeiro	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	15g	50g
Mel ou geléia	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	9g	18g
Sorvetes, picolés, <i>milk shake</i>	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	70g	160g

Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia – Setor de Microbiologia - ICB

Pudins, doces com leite	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	150g
Doces de frutas	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	20g	50g
Castanhas e oleaginosas, amendoins	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	25g	100g
Açaí	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	200g	500g
Pipoca, chips, outros	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	50g	150g
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		
	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M		

	Quantas vezes você come?	Unidade	CODIF.
Com que frequência você usa gordura ou óleo no preparo de suas refeições?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Quantas porções de vegetais (verduras e legumes) você costuma comer, sem incluir batatas ou saladas de maionese?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	
Quantas porções de frutas você costuma comer, sem incluir sucos de frutas?	N 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	D S M	

## ANEXO 5 – Questionário de qualidade de vida SF - 36

### QUESTIONÁRIO DE QUALIDADE DE VIDA SF – 36

Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida -SF-36

1- Em geral você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito Boa	Boa	Ruim	Muito Ruim
1	2	3	4	5

2- Comparada há um ano atrás, como você se classificaria sua idade em geral, agora?

Muito Melhor	Um Pouco Melhor	Quase a Mesma	Um Pouco Pior	Muito Pior
1	2	3	4	5

3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. Devido à sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?

Atividades	Sim, dificulta muito	Sim, dificulta um pouco	Não, não dificulta de modo algum
a) Atividades Rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos.	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d) Subir vários lances de escada	1	2	3
e) Subir um lance de escada	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g) Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h) Andar vários quarteirões	1	2	3
i) Andar um quarteirão	1	2	3
j) Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades.	1	2
d) Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra).	1	2

5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como se sentir deprimido ou ansioso)?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.	1	2

6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?

De maneira alguma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

9- Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime de maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.

	Todo Tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Algum a parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a) Quanto tempo você tem se sentindo cheio de vigor, de vontade, de força?	1	2	3	4	5	6
b) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa?	1	2	3	4	5	6
c) Quanto tempo você tem se sentido tão	1	2	3	4	5	6

deprimido que nada pode anima-lo?						
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranqüilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo você tem se sentido com muita energia?	1	2	3	4	5	6
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10- Durante as últimas 4 semanas, quanto de seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?

Todo Tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a) Eu costumo obedecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

## ANEXO 6 – Questionário de Índice da função sexual feminina

### ASSINALE APENAS UMA ALTERNATIVA POR PERGUNTA

Suas respostas serão mantidas em absoluto sigilo. Para responder as questões use as seguintes definições:

- Atividade sexual pode incluir afagos, carícias preliminares, masturbação (“punheta” / “siririca”) e ato sexual.
- Ato sexual é definido quando há penetração (entrada) do pênis na vagina.
- Estímulo sexual inclui situações como carícias preliminares com um parceiro, auto-estimulação (masturbação) ou fantasia sexual (pensamentos).
- Desejo sexual ou interesse sexual é um sentimento que inclui querer ter atividade sexual, sentir-se receptiva a uma iniciativa sexual de um parceiro(a) e pensar ou fantasiar sobre sexo.
- Excitação sexual é uma sensação que inclui aspectos físicos e mentais. Pode incluir sensações como calor ou inchaço dos genitais, lubrificação (sentir-se molhada/ “vagina molhada” / “tesão vaginal”), ou contrações musculares

### PERGUNTAS

PERGUNTAS	OPÇÕES DE RESPOSTA E PONTUAÇÃO
1- Nas últimas 4 semanas com que frequência (quantas vezes) você sentiu desejo ou interesse sexual?	5 = Quase sempre ou sempre 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo) 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo) 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo) 1 = Quase nunca ou nunca
2- Nas últimas 4 semanas como você avalia o seu grau de desejo ou interesse sexual?	5 = Muito alto 4 = Alto 3 = Moderado 2 = Baixo 1 = Muito baixo ou absolutamente nenhum
3- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você se sentiu sexualmente excitada durante a atividade sexual ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Quase sempre ou sempre 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo) 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo) 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo) 1 = Quase nunca ou nunca
4- Nas últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau de excitação sexual durante a atividade ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Muito alto 4 = Alto 3 = Moderado 2 = Baixo 1 = Muito baixo ou absolutamente nenhum

5- Nas últimas 4 semanas, como você avalia o seu grau de segurança para ficar sexualmente excitada durante a atividade sexual ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Segurança muito alta 4 = Segurança alta 3 = Segurança moderada 2 = Segurança baixa 1 = Segurança muito baixa ou Sem segurança
6- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você ficou satisfeita com sua excitação sexual durante a atividade sexual ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Quase sempre ou sempre 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo) 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo) 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo) 1 = Quase nunca ou nunca
7- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você teve lubrificação vaginal (ficou com a vagina "molhada") durante a atividade sexual ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Quase sempre ou sempre 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo) 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo) 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo) 1 = Quase nunca ou nunca
8- Nas últimas 4 semanas, como você avalia sua dificuldade em ter lubrificação vaginal (ficar com a vagina "molhada") durante o ato sexual ou atividades sexuais?	0 = Sem atividade sexual 1 = Extremamente difícil ou impossível 2 = Muito difícil 3 = Difícil 4 = Ligeiramente difícil 5 = Nada difícil
9- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você manteve a lubrificação vaginal (ficou com a vagina "molhada") até o final da atividade ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Quase sempre ou sempre 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo) 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo) 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo) 1 = Quase nunca ou nunca
10- Nas últimas 4 semanas, qual foi sua dificuldade em manter a lubrificação vaginal (vagina "molhada") até o final da atividade ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 1 = Extremamente difícil ou impossível 2 = Muito difícil 3 = Difícil 4 = Ligeiramente difícil 5 = Nada difícil
11- Nas últimas 4 semanas, quando teve estímulo sexual ou ato sexual, com que frequência (quantas vezes) você atingiu o orgasmo ("gozou")?	0 = Sem atividade sexual. 1 = Quase sempre ou sempre. 2 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo).

	3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo).
	4 = Poucas vezes (menos da metade do tempo). 5 = Quase nunca ou nunca
12- Nas últimas 4 semanas, quando você teve estímulo sexual ou ato sexual, qual foi sua dificuldade em você atingir o orgasmo (“clímax/ “gozou”)?	0 = Sem atividade sexual 1 = Extremamente difícil ou impossível 2 = Muito difícil 3 = Difícil 4 = Ligeiramente difícil 5 = Nada difícil
13- Nas últimas 4 semanas, o quanto você ficou satisfeita com sua capacidade de atingir o orgasmo (“gozar”) durante atividade ou ato sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Muito satisfeita 4 = Moderadamente satisfeita 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita 2 = Moderadamente insatisfeita 1 = Muito insatisfeita
14- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita com a proximidade emocional entre você e seu parceiro(a) durante a atividade sexual?	0 = Sem atividade sexual 5 = Muito satisfeita 4 = Moderadamente satisfeita 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita 2 = Moderadamente insatisfeita 1 = Muito insatisfeita
15- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita com o relacionamento sexual entre você e seu parceiro(a)?	5 = Muito satisfeita 4 = Moderadamente satisfeita 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita 2 = Moderadamente insatisfeita 1 = Muito insatisfeita
16- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita com sua vida sexual de um modo geral?	5 = Muito satisfeita 4 = Moderadamente satisfeita 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita 2 = Moderadamente insatisfeita 1 = Muito insatisfeita
17- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você sentiu desconforto ou dor durante a penetração vaginal?	0 = Não tentei ter relação 1 = Quase sempre ou sempre. 2 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo). 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo). 4 = Poucas vezes (menos da metade do tempo). 5 = Quase nunca ou nunca
18- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você sentiu desconforto ou dor após a penetração vaginal?	0 = Não tentei ter relação 1 = Quase sempre ou sempre. 2 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo).

	3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo).
	4 = Poucas vezes (menos da metade do tempo). 5 = Quase nunca ou nunca
19- Nas últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau de desconforto ou dor durante ou após a penetração vaginal?	0 = Não tentei ter relação 5 = Muito alto 4 = Alto 3 = Moderado 2 = Baixo 1 = Muito baixo ou absolutamente nenhum

DOMINIO	QUESTÕES	FATOR DE MULTIPLICAÇÃO
DESEJO	1,2	0,6
EXCITAÇÃO	3,4,5,6	0,3
LUBRIFICAÇÃO	7,8,9,10	0,3
ORGASMO	11,12,13	0,4
SATISFAÇÃO	14,15,16	0,4
DOR	17,18,19	0,4