



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

CLÁUDIA SOFIA LEITÃO ÁLVARES

***Do endometrioma ao carcinoma do ovário – mecanismos  
biológicos***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GINECOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA MARIA MARGARIDA DE OLIVEIRA FIGUEIREDO DIAS

DOUTORA ANA FILIPA BATISTA COSTA E SOUSA

Fevereiro 2021

## Índice

1. Resumo.....	1
2. Abstract.....	2
3. Abreviaturas, Acrónimos e Siglas.....	3
4. Introdução .....	5
5. Metodologia.....	6
6. Discussão .....	7
6.1. Endometrioma – da epidemiologia ao diagnóstico .....	7
6.2. Contextualização epidemiológica e princípios anátomo-patológicos .....	8
6.3. Patogénese dos <i>endometriosis-associated ovarian carcinomas</i> (EAOC) .....	11
6.3.1. Alterações inflamatórias .....	12
6.3.2. Hiperestrogenismo .....	14
6.3.3. Stress oxidativo.....	15
6.3.4. Alterações Génicas .....	17
6.4. Suspeição diagnóstica de EAOC .....	22
6.5. Orientação clínica e terapêutica dos endometriomas.....	25
7. Conclusão .....	28
8. Agradecimentos .....	30
9. Bibliografia .....	31

## 1. Resumo

A possível transformação maligna que ocorre na endometriose está, à luz da evidência científica atual, maioritariamente limitada à endometriose ovárica, com origem em endometriomas. Estima-se que esta malignização ocorra em 0,3 a 1% dos casos de endometriose, ocorrendo 75% destes nos ovários. De facto, há um aumento da incidência de carcinoma do ovário nas mulheres com endometriose, os designados *endometriosis-associated ovarian carcinomas* (EAOC). Estes carcinomas são mais frequentemente dos subtipos carcinoma de células claras e carcinoma endometriode.

Existe evidência de um *continuum* ao longo do qual há uma progressão do endometrioma até à sua transformação maligna. Evidência histológica comprova a transição de endometrioma para endometrioma atípico, e deste para EAOC. Assim sendo, o endometrioma atípico é considerado como lesão precursora da maioria dos carcinomas do ovário de células claras e endometrioides, com origem em endometriomas.

O microambiente ovárico tem um papel fundamental na transformação maligna do endometrioma. Estudos moleculares recentes demonstram que o desenvolvimento dos EAOC tem por base fatores como alterações inflamatórias, stress oxidativo, hiperestrogenismo e alterações génicas.

Os EAOC tendem a ser diagnosticados em estadios mais precoces e em mulheres mais jovens comparativamente com os carcinomas do ovário não associados à endometriose.

Não existe, atualmente, um consenso a nível internacional sobre qual a conduta a adotar perante endometriomas de pequenas dimensões e sem características de suspeição. O tratamento deve ser individualizado tendo em conta a idade da doente, plano reprodutivo, características do endometrioma e antecedentes cirúrgicos.

**Palavras-chave:** endometriose, transformação maligna, carcinoma do ovário, carcinoma endometriode, carcinoma de células claras.

## 2. Abstract

According to current scientific evidence, the possible malignant transformation that occurs in endometriosis is mostly limited to ovarian endometriosis, originated in endometriomas. It is estimated that this malignancy occurs in 0.3 to 1% of the cases of endometriosis, 75% of which occurs in the ovaries. In fact, there is an increased incidence of ovarian carcinoma in women with endometriosis, the so-called endometriosis-associated ovarian carcinomas (EAOC). These carcinomas are more often of the clear cell and endometrioid carcinoma subtypes.

There is evidence of a continuum along which the endometrioma progresses into this malignant transformation. Histological studies have proved a transition from endometrioma to atypical endometrioma, and from this into EAOC. Therefore, atypical endometrioma is considered to be the precursor lesion of most clear cell and endometrioid ovarian carcinomas, originated in endometriomas.

The ovarian microenvironment plays a fundamental role in the malignant transformation of the endometrioma. Recent molecular studies demonstrate that the development of the EAOC is based on factors such as inflammatory changes, oxidative stress, hyperestrogenism and genetic changes.

The EAOC tend to be diagnosed at an earlier stage and in younger women when compared to ovarian carcinomas not associated with endometriosis.

There is currently no international consensus on what to do when facing small and unsuspected endometriomas. The treatment should be individualized considering the patient's age, her reproductive plan, characteristics of the endometrioma and surgical history.

**Keywords:** endometriosis; cell transformation; ovarian neoplasms; carcinoma, endometrioid; adenocarcinoma, clear cell.

### 3. Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

<b>17<math>\beta</math>-HSD</b>	17 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase
<b>AKT</b>	<i>Protein kinase B</i>
<b>ARID1A</b>	<i>AT-rich interactive domain-containing protein 1A</i>
<b>BAF250a</b>	<i>Brahma-related associated factor 250a</i>
<b>BRAF</b>	<i>v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B</i>
<b>CA 125</b>	<i>Cancer antigen 125</i>
<b>CDKN1A</b>	<i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A</i>
<b>COX-2</b>	<i>Cyclooxygenase-2</i>
<b>CTNNB1</b>	<i>Catenin <math>\beta</math>1</i>
<b>DNA</b>	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>EAOC</b>	<i>Endometriosis-associated ovarian carcinomas</i>
<b>ERO</b>	Espécies reativas de oxigénio
<b>ESR1</b>	<i>Estrogen receptor 1</i>
<b>ESR2</b>	<i>Estrogen receptor 2</i>
<b>FGF9</b>	<i>Fibroblast growth factor 9</i>
<b>HE4</b>	<i>Human epididymal secretory protein E4</i>
<b>HNF-1B</b>	<i>Hepatocyte nuclear factor-1<math>\beta</math></i>
<b>HO-1</b>	<i>Heme oxygenase-1</i>
<b>ICAM-1</b>	<i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
<b>IL-1</b>	Interleucina-1
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IL-8</b>	Interleucina 8
<b>KRAS</b>	<i>Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
<b>LFA-1</b>	<i>Lymphocyte function-associated antigen-1</i>
<b>MAPKs</b>	<i>Mitogen activated protein kinases</i>
<b>MDA</b>	<i>Malondialdehyde</i>
<b>MEK</b>	<i>Mitogen-activated ERK kinase</i>
<b>mRNA</b>	<i>messenger RNA</i>

<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	<i>Nuclear factor kappa B</i>
<b>Nrf2</b>	<i>Nuclear factor erythroid 2–related factor</i>
<b>PI3K</b>	<i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
<b>PIK3CA</b>	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit <math>\alpha</math></i>
<b>PGE<sub>2</sub></b>	<i>Prostaglandina-E<sub>2</sub></i>
<b>PPP2R1A</b>	<i>Protein phosphatase 2 scaffold subunit A<math>\alpha</math></i>
<b>PTEN</b>	<i>Phosphatase and tensin homolog</i>
<b>RANTES</b>	<i>Regulated on Activation, Normal T Expressed and Secreted</i>
<b>SMAD3</b>	<i>Mothers against decapentaplegic homolog 3</i>
<b>SOD</b>	<i>Superóxido dismutase</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<i>Fator de necrose tumoral <math>\alpha</math></i>
<b>VEGF</b>	<i>Vascular endotelial growth factor</i>

#### 4. Introdução

A endometriose é uma patologia ginecológica benigna caracterizada pela presença de tecido endometrial, incluindo glândulas e estroma, fora da cavidade uterina, sendo este reativo às flutuações hormonais do ciclo menstrual (1). Estima-se que afete cerca de 10% das mulheres em idade fértil. Ocorre, também, em cerca de 3 a 5% das mulheres pós-menopausa (2). A sua localização mais frequente é o ovário, sob a forma de implantes endometrióticos ou endometriomas (3).

Os endometriomas, presentes em até 44% das mulheres com endometriose, sãoquistos benignos do ovário de conteúdo hemorrágico espesso de coloração acastanhada (4).

As doenças malignas associadas à endometriose estão maioritariamente limitadas à endometriose ovárica, com origem em endometriomas. Estudos demonstram que doentes com endometriose apresentam um risco 1,2 a 1,8 vezes superior de desenvolver um carcinoma do ovário (5), podendo chegar a um aumento de 2,7 vezes se a endometriose se encontrar associada a infertilidade (1). Os carcinomas do ovário associados à endometriose designam-se por *endometriosis-associated ovarian carcinomas* (EAOC) e correspondem mais frequentemente aos subtipos carcinoma de células claras e carcinoma endometriode (6).

As razões que justificam o facto de a transformação maligna da endometriose se desenvolver principalmente a partir de endometriomas permanecem desconhecidas, mas o particular microambiente presente no ovário parece ter influência. A inflamação crónica, stress oxidativo, fatores hormonais e alterações génicas são apontados como possíveis fatores associados à carcinogénese (7).

Devido à considerável prevalência de endometriomas, é de grande interesse científico a realização de estudos que nos permitam entender a relação entre endometriomas e EAOC. Como apenas num pequeno grupo de mulheres ocorrerá esta progressão para a malignidade, identificar quais as doentes que se encontram em maior risco de desenvolver EAOC é essencial. Assim, torna-se importante compreender a fisiopatologia desta malignização, quais os respetivos fatores de risco e de que forma poderá ser evitada.

O objetivo deste trabalho é elaborar uma revisão narrativa a partir da literatura científica existente sobre a relação entre o endometrioma e EAOC. Será inicialmente analisada a patogénese dos EAOC, de seguida, as alterações clínicas e imagiológicas suspeitas, e por fim as propostas de possíveis estratégias preventivas.

## 5. Metodologia

Foi realizada uma pesquisa na base de dados *Pubmed*, utilizando como palavras-chave “ovarian cancer AND endometriosis”, “endometriosis-associated ovarian carcinoma” e pesquisa adicional usando os termos *Medical Subject Headings* (MeSH): “endometriosis”, “cell transformation”, “ovarian neoplasms”, “carcinoma, endometrioid”, “adenocarcinoma, clear cell”. Foram selecionados apenas artigos escritos em português ou inglês, publicados nos últimos 10 anos.

Analisaram-se os artigos resultantes, dando primazia a revisões sistemáticas, meta-análises e revisões narrativas existentes sobre o tema, tendo em consideração o título, a data de publicação, frequência e relevo da sua citação na literatura, objetivos e conclusões de interesse. Foram excluídos artigos sem texto completo disponível, que abordavam a malignização da endometriose, mas que não se focavam no caso dos endometriomas em particular ou cujos objetivos e conclusão do estudo não apresentavam relevância suficiente para ser incluídos neste trabalho.

Foram também analisados artigos referenciados pelos artigos selecionados primariamente e considerados efetivamente relevantes para este trabalho, mesmo que publicados anteriormente ao intervalo de tempo referido. Pontualmente foram, também, incluídos artigos do século XX devido à sua relevância histórica e científica.

Após a aplicação dos critérios de exclusão supracitados, foram selecionados 88 artigos, a partir dos quais foi elaborada a revisão literária que constitui este trabalho.



## 6. Discussão

### 6.1. Endometrioma – da epidemiologia ao diagnóstico

Os ovários são a localização mais frequente do tecido endometriótico, podendo manifestar-se sob a forma de implantes superficiais ou, mais frequentemente, formando quistos ováricos, que se designam por endometriomas (3).

Os endometriomas são quistos benignos do ovário de conteúdo hemorrágico espesso e coloração acastanhada (4). Afetam 17 a 44% das mulheres que sofrem de endometriose, representando 35% de todos os quistos benignos do ovário (8).

Clinicamente, as doentes com endometriomas podem apresentar infertilidade, dor pélvica crónica, dismenorreia e/ou dispáreunia (3).

O meio complementar de diagnóstico inicial, a realizar no contexto de suspeição de um endometrioma, é a ecografia transvaginal, encontrando-se amplamente disponível, sendo inócua e geralmente aceite pelas doentes, além de permitir a exploração da região pélvica (8). Este exame de diagnóstico tem uma sensibilidade de 93% e uma especificidade de 96% na identificação de endometriomas (9).

As características ecográficas dos endometriomas foram descritas em vários estudos (10,11). De acordo com Exacoustos C. *et al.* (10), o endometrioma apresenta-se tipicamente à ecografia como um quisto unilocular ou multilocular (uma a quatro locas) com ecos internos de baixa ecogenicidade, dispersos homogeneamente num padrão conhecido como “vidro fosco”. Não apresenta componentes sólidos, nem projeções papilares vascularizadas (protusões sólidas para o lúmen do quisto  $\geq 3$  mm), sendo detetável geralmente em mulheres pré-menopáusicas. Como os endometriomas são geralmente pouco vascularizados, o exame ecográfico com Doppler aumenta a acuidade diagnóstica.

Contudo, as características ecográficas dos endometriomas podem diferir entre os estados pré e pós-menopausa. Em mulheres pós-menopausa, é mais comum a presença de endometriomas multiloculares e com projeções papilares e outros componentes sólidos, enquanto a ecogenicidade em vidro fosco é menos comum, relativamente a mulheres mais jovens (11).

Na ausência de uma medida precisa que seja consensual entre as sociedades internacionais de ginecologia e radiologia, um dos *cut-off* referidos na literatura por Muzii L. *et al.* (12) para distinção entre endometrioma de pequenas e de grandes dimensões é o diâmetro máximo de 5 cm. Curiosamente, o diâmetro máximo do quisto não parece variar significativamente com a idade (11).

A ressonância magnética para avaliação de endometriomas é solicitada em casos selecionados se a ecografia transvaginal for inconclusiva, se existir a suspeita de

transformação maligna, ou ambos. A ressonância magnética apresenta uma grande especificidade para o diagnóstico de endometriomas (98%), devido à sua capacidade de caracterização do conteúdo hemorrágico (10). Os endometriomas traduzem-se habitualmente por lesões múltiplas hiperintensas nas sequências ponderadas em T1. Nas sequências ponderadas em T2, apresentam, por norma, um efeito de “*shading*” homogêneo, que se caracteriza pela perda de sinal em T2 num quisto do ovário hiperintenso nas sequências T1. Este hipossinal em T2 resulta da presença acumulada de ferro, elevada concentração de proteínas e viscosidade aumentada, resultante das hemorragias repetidas e degradação do conteúdo hemorrágico antigo. Este sinal de “*shading*” é característico, mas não específico dos endometriomas, pois pode ocorrer noutras lesões hemorrágicas. Por outro lado, nem todos os endometriomas apresentam este sinal, pois depende do seu tempo de evolução, concentração de hemossiderina e proteínas. Também pode ser visualizado um aspeto em camadas ou nível líquido-líquido hipointenso que corresponde aos componentes sanguíneos com diferentes tempos de evolução. Outro sinal que pode ser visualizado nos endometriomas é o “*T2 dark spot sign*”, que se caracteriza pela presença de pequenos focos marcadamente hipointensos em T2 no interior da lesão, sendo um sinal muito específico (13).

Para corroborar o diagnóstico de endometriomas pode ser solicitado o doseamento das concentrações séricas do *cancer antigen 125* (CA 125). Uma meta-análise que analisou 12 estudos caso-controlo concluiu que concentrações séricas aumentadas contribuem para o diagnóstico. Uma possível explicação para o aumento dos níveis séricos é a alteração da permeabilidade do endotélio ovárico devido a reações inflamatórias, permitindo que este biomarcador atinja a circulação sanguínea (14).

A laparoscopia, com possibilidade de realização de biópsias dirigidas para estudo anatomo-patológico e de localização de todas as lesões endometrióticas, permanece o “*gold standard*” no diagnóstico final de endometriose e da sua manifestação ovárica (8).

## **6.2. Contextualização epidemiológica e princípios anátomo-patológicos**

O primeiro investigador a admitir a hipótese de transformação maligna da endometriose foi Sampson, em 1925 (15). Após esta publicação, vários estudos têm documentado essa associação. Atualmente, a endometriose é considerada uma lesão *tumor-like* segundo a classificação de tumores do ovário da World Health Organization (16).

A possível transformação maligna que ocorre na endometriose está, à luz da evidência científica atual, maioritariamente limitada à endometriose ovárica, com origem em endometriomas (4). Estima-se que esta malignização ocorra em 0,3 a 1% dos casos de endometriose, ocorrendo 75% destes nos ovários (1).

O primeiro grande estudo epidemiológico, realizado em 1997, incluiu mais de 20.000 mulheres com endometriose e demonstrou um significativo aumento da incidência de carcinoma do ovário nestas doentes, relativamente às mulheres sem esta patologia (17). Estudos subsequentes também demonstraram esta relação, mas os números diferem, variando entre um risco 1,2 a 1,8 vezes maior (5), e podendo chegar a um risco 2,7 vezes superior naquelas com endometriose associada a infertilidade (1). Segundo Bulun SE *et al.* (18), é plausível que esta transformação decorra durante um longo período de tempo (anos).

Aproximadamente 9% dos carcinomas do ovário têm origem no contexto de endometriose simultânea (19). Os EAOC correspondem a tumores de células epiteliais. Dentro destes, os subtipos mais frequentemente encontrados são o carcinoma de células claras (40-55%) e o carcinoma endometriode (20-40%) (1). Mulheres com endometriomas têm um risco três vezes superior de desenvolver um carcinoma de células claras do ovário e risco duplamente aumentado de desenvolver um carcinoma endometriode (20), visto que a maioria destes carcinomas têm origem em endometriomas (21). Os subtipos mucinoso e seroso correspondem a menos de 10% dos casos de EAOC (22).

Corroborando os dados epidemiológicos apresentados, a endometriose e o carcinoma do ovário apresentam fatores de risco comuns como menarca precoce, menopausa tardia, interlúnios curtos e nuliparidade (23,24), fatores que aumentam a exposição aos estrogénios. Tanto os endometriomas como os EAOC estão intrínseca e similarmente relacionados com o número de ovulações e conseqüente menstruação existentes durante a vida reprodutiva da mulher. Assim, da mesma forma, um menor número de gravidezes, primeira gravidez numa idade tardia e curtos períodos de amamentação levam a um aumento da prevalência destas doenças (4).

Os fatores de proteção são também comuns. A laqueação tubária/salpingectomia bilateral, prevenindo o refluxo menstrual para a cavidade peritoneal, está associada a uma diminuição do risco de EAOC e, de forma semelhante, a histerectomia reduz o risco de carcinoma do ovário (4). Melin A. *et al.* (25) concluíram que mulheres com antecedentes de histerectomia ou em que o diagnóstico de endometriose é estabelecido aquando da realização desta não demonstraram um risco aumentado de carcinoma do ovário. Além disso, o risco de EAOC é reduzido através do uso de contraceção hormonal combinada, pois estes fármacos diminuem a exposição à ovulação durante a idade reprodutiva da mulher. De facto, a utilização prolongada de contraceção hormonal combinada durante mais de 10 anos foi associada a uma diminuição da incidência de carcinoma do ovário em 80% das mulheres com endometriose (19). Adicionalmente, o efeito protetor mantém-se décadas após a suspensão destes contracetivos. A redução do risco de carcinoma do ovário em doentes com endometriose refere-se apenas ao período pré-menopausa. Não existe justificação para o uso

destes tratamentos hormonais após a menopausa, seja de forma preventiva ou terapêutica (26).

Do ponto de vista histopatológico, o “endometrioma atípico” é considerado como lesão precursora da maioria dos carcinomas do ovário de células claras e endometrioides, tendo sido identificado contiguamente a estes subtipos histológicos tumorais. Endometriose ovárica citologicamente atípica foi identificada em 36% dos carcinomas de células claras e 23% dos carcinomas endometrioides (27). De acordo com os resultados de Anglesio M. *et al.*, 7 casos de carcinomas de células claras (incluindo 1 caso de carcinoma misto de células claras e endometriode) apresentavam até 98% de mutações somáticas em comum com focos de endometriose atípica adjacente (28).

O risco de transformação maligna de endometriomas atípicos é cerca de 4 vezes superior ao de endometriomas sem atipia (4). Existe evidência histológica que comprova a transição de endometriose para endometriose atípica, e desta para EAO (29) (figura 1). Em 1990, Moll UM *et al.* (29,30) descreveram o primeiro caso documentado de endometriose ovárica com focos de atipia, com transformação maligna completa em 3 anos num carcinoma de células claras invasivo.

As características mais importantes no epitélio endometrial para o estudo da transformação maligna são a atipia e/ou a hiperplasia citológica.

Thomas e Campbell (31) classificaram a endometriose atípica segundo os seguintes critérios histológicos:

- Células epiteliais com um núcleo grande hipercromático ou pálido com acentuado pleomorfismo;
- Aumento da proporção núcleo/citoplasma;
- Células epiteliais aglomeradas e estratificadas.

A presença de hiperplasia no epitélio glandular é menos comum mas está descrita em alguns endometriomas atípicos (4).

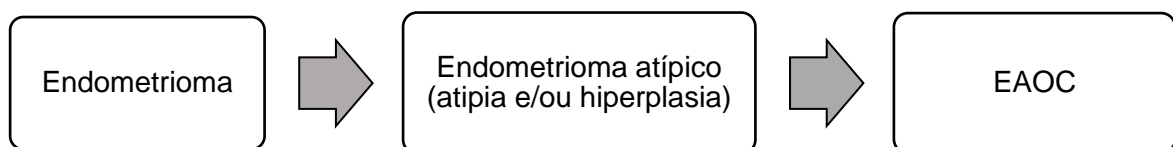
Num estudo realizado por Vercellini P. *et al.* (32), foram detetados focos de endometriose atípica em 1-3% dos endometriomas. Neste estudo foram incluídas 516 doentes, tendo sido realizada a quistectomia de 874 endometriomas, que não apresentavam alterações suspeitas à ecografia transvaginal pré-operatória.

Karnezis AN *et al.* (33) categorizaram a endometriose como de “alto risco” ou de “baixo risco” consoante a presença de endometriose atípica, enquanto precursor intermediário de uma alteração histológica contínua que vai desde a endometriose sem atipia até ao carcinoma do ovário.

De notar que, por vezes, nos endometriomas pode ser difícil discriminar entre a verdadeira atipia citológica/estrutural e a atipia associada à inflamação subjacente, benigna. Neste último caso, podem ser observadas ao exame histológico células epiteliais hiperplásicas exibindo uma atipia reativa uniforme com características nucleares variáveis: núcleos aumentados, pálidos, com ligeiro pleomorfismo, nucléolos proeminentes e presença de células inflamatórias agudas dentro do epitélio; no componente estromal, as células endometrióticas encontram-se misturadas com células inflamatórias (26).

Apesar de existirem critérios histológicos bem definidos, à luz do conhecimento científico atual, os sinais ecográficos suspeitos de malignidade não apresentam uma acuidade diagnóstica suficiente para permitir identificar com precisão endometriomas com lesões atípicas. Os achados ecográficos podem diferir significativamente entre endometriomas com degeneração maligna e endometriomas com lesões de atipia, mas esta distinção permanece como uma prioridade no âmbito da investigação. Considerando a raridade dos casos de endometriose atípica, são necessários estudos prospetivos com amostras significativas de doentes com endometriose, que sejam realizados em centros terciários e com uma abordagem multidisciplinar que inclua um protocolo estabelecido de avaliação pré-operatória sistemática com ecografia transvaginal detalhada (26).

Assim, o objetivo destes estudos seria identificar os endometriomas com verdadeiras lesões epiteliais atípicas e, portanto, considerados de “alto risco”, para promover uma conduta terapêutica prévia à degeneração maligna.



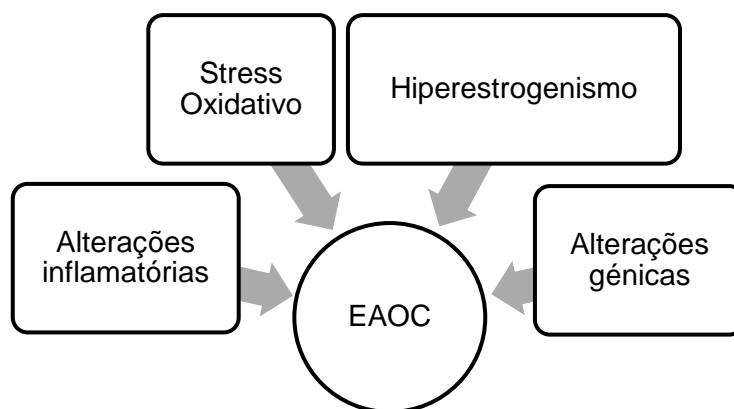
**Figura 1:** Etapas propostas para o processo de transformação maligna dos endometriomas em EAO (*endometriosis-associated ovarian carcinomas*)

### **6.3. Patogénese dos *endometriosis-associated ovarian carcinomas* (EAO)**

Tendo como base o perfil de expressão génica e algumas características histopatológicas e clínicas, os carcinomas epiteliais do ovário foram divididos em dois subgrupos distintos: tipo I e tipo II. Os EAO estão incluídos no tipo I (carcinomas seroso de baixo grau, endometriode, de células claras e mucinoso), sendo tumores de crescimento lento, relativamente estáveis do ponto de vista genético e caracterizados por mutações específicas de genes incluindo KRAS (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*), HNF-1B (*Hepatocyte nuclear factor-1β*), PIK3CA (*Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase*

*catalytic subunit  $\alpha$* ), PPP2R1A (*Protein phosphatase 2 scaffold subunit A $\alpha$* ) e ARID1A (*AT-rich interactive domain-containing protein 1A*). Em contraste, os carcinomas epiteliais do ovário do tipo II (maioritariamente serosos de alto grau, mas também carcinomas indiferenciados e tumores mistos mesodérmicos malignos) são altamente agressivos, de crescimento rápido e geneticamente instáveis (34). Os carcinomas epiteliais do tipo II representam quase 70% de todos os carcinomas do ovário, sendo responsáveis por 90% das mortes causadas por esta doença. Por outro lado, os carcinomas de células claras e os endometrioides (os subtipos mais frequentes dos EAOC) são, respetivamente, o segundo e o terceiro subtipos de carcinoma do ovário mais comuns, representando 20% de todos os carcinomas, mas são responsáveis por menos de 10% das mortes. (26).

Os mecanismos moleculares subjacentes à transformação maligna dos endometriomas permanecem controversos e o mecanismo exato da carcinogénese ainda não foi esclarecido (16). O microambiente ovárico parece ser essencial, uma vez que o desenvolvimento de carcinomas nas lesões de endometriose extra-ováricas, como por exemplo no peritoneu pélvico, é mais raro. Setenta e cinco por cento dos carcinomas associados à endometriose têm origem nos ovários (1). Estudos moleculares recentes demonstraram que o desenvolvimento dos EAOC tem por base fatores como alterações inflamatórias, stress oxidativo, hiperestrogenismo e alterações génicas (7), presentes no microambiente ovárico (figura 2).



**Figura 2:** Diferentes fatores envolvidos na transformação maligna do endometrioma em *endometriosis-associated ovarian carcinomas* (EAOC)

### 6.3.1. Alterações inflamatórias

O papel das alterações inflamatórias no desenvolvimento tumoral é amplamente conhecido, mas no caso dos EAOC este pode ter uma relevância particular, visto que a inflamação crónica é característica da endometriose (7).

A caracterização molecular e celular do meio inflamatório da endometriose tem-se focado principalmente nas citocinas pró-inflamatórias circulantes e células imunes peritoneais. Em mulheres com endometriose, o líquido peritoneal apresenta frequentemente níveis aumentados de macrófagos ativados. Adicionalmente, reações inflamatórias locais levam à liberação de citocinas pró-inflamatórias por células endometrióticas e células imunológicas, levando a níveis aumentados de interleucinas IL-1, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) no endometrioma. Existem evidências de que estas citocinas promovem o desenvolvimento tumoral, através da proliferação celular desregulada e angiogênese, inibição da apoptose e produção de radicais livres que cursam com alterações a nível do *deoxyribonucleic acid* (DNA), nomeadamente mutações (35).

A IL-1, produzida por macrófagos peritoneais, estimula a atividade da enzima *cyclooxygenase-2* (COX-2) no tecido endometrial ectópico. Em comparação com o endométrio eutópico, o endométrio ectópico apresenta níveis aumentados de *messenger RNA* (mRNA) da COX-2, o que possivelmente contribui para uma atividade elevada e persistente da COX-2 e concomitante produção de prostaglandina-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), enquanto mediador chave na via de sinalização da COX-2. A COX-2 contribuirá para a angiogênese, sobrevivência e proliferação de células tumorais, estando aumentada em diversos cancros, como tumores malignos do ovário (35). Por outro lado, a própria PGE<sub>2</sub> promove angiogênese através do seu efeito nos estrogénios e na estimulação do *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Simultaneamente, inibe a apoptose e estimula o *fibroblast growth factor 9* (FGF9), promovendo a proliferação celular (36).

A IL-6 é secretada por células endometrióticas e estimula a produção pelos macrófagos da *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). Altas concentrações de ICAM-1 afetam a função das células imunes envolvidas na vigilância de células potencialmente tumorais por bloquearem a interação do *lymphocyte function-associated antigen-1* (LFA-1), presente nas células imunitárias, com a ICAM-1 expressa nas suas células alvo. Esta interação prejudica a resposta imunitária, permitindo às células malignas escaparem ao processo de vigilância imunológica (35). A nível serológico, foi demonstrado um aumento dos níveis de IL-6 nas mulheres com carcinoma do ovário relativamente às mulheres com endometriomas, e um aumento destes relativamente às mulheres sem endometriose. No entanto, os níveis desta citocina no tecido ovárico não variam entre os três grupos de mulheres apresentados anteriormente (37).

A IL-8 é uma citocina que induz a quimiotaxia dos neutrófilos, a angiogênese e estimula a proliferação celular. Apesar das concentrações sanguíneas da IL-8 não estarem relacionadas com a presença de endometriose, foi demonstrado que esta citocina se encontra

em níveis aumentados no conteúdo líquido dos endometriomas e dos carcinomas do ovário, com as maiores concentrações nestes últimos (37).

O TNF- $\alpha$ , produzido pelas lesões de endometriose, promove a proliferação das células endometriais, a sua adesão e a angiogénese. Foram encontradas concentrações mais elevadas de TNF- $\alpha$  no conteúdo líquido de quistos do ovário malignos, comparativamente às dos endometriomas e outros tumores benignos do ovário, estes últimos com valores semelhantes (35).

As células de imunidade inata cronicamente ativadas neste microambiente regulam as vias de sinalização por meio do *Nuclear Factor Kappa B* (NF- $\kappa$ B), pelo que as citocinas previamente mencionadas e outros fatores inflamatórios são ativados através desta via (38). Vários estudos têm identificado múltiplas vias oncogénicas NF- $\kappa$ B-dependentes na endometriose e na sua transformação maligna (6). A inibição das vias relacionadas com o NF- $\kappa$ B aumenta a taxa de apoptose das células tumorais, podendo ser um potencial alvo para melhores resultados terapêuticos (22).

Resumindo, as alterações inflamatórias são características da endometriose. Reações inflamatórias locais libertam citocinas pró-inflamatórias que alteram as vias de sinalização intracelular, modificando a homeostasia fisiológica e promovendo o desenvolvimento tumoral.

### **6.3.2. Hiperestrogenismo**

Do ponto de vista hormonal, a endometriose é uma patologia estrogénio-dependente e resistente à ação da progesterona. Existem dois tipos de recetores de estrogénios, *Estrogen receptor 1* (ESR1, também conhecido por ER $\alpha$ ) e *Estrogen receptor 2* (ESR2, também conhecido por Er $\beta$ ). Nas lesões de endometriose predomina o ESR2 devido à hipometilação do seu promotor, sendo os níveis de ESR1 baixos (6). Segundo uma revisão sistemática, em lesões de endometriose ocorre uma expressão do ESR2 100 vezes superior relativamente ao tecido endometrial eutópico (39).

O microambiente presente no endometrioma facilita a acumulação de estrogénios através de vários mecanismos.

Um dos mecanismos descritos é a expressão patológica da enzima citocromo P450 aromatase, que normalmente se encontra ausente no tecido endometrial eutópico mas está presente em níveis elevados no tecido endometriótico. Esta enzima catalisa a conversão da androstenediona e testosterona em estrona e estradiol (E $_2$ ), respetivamente, o que favorece um ambiente de hiperestrogenismo (7).

Por outro lado, no epitélio do tecido endometrial ectópico existe uma expressão diminuída da enzima 17 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase (17 $\beta$ -HSD) tipo 2, ao contrário do



que acontece no epitélio intracavitário. Esta enzima participa na conversão do estradiol em estrona, um estrogénio mais fraco. Em contraste, a isoenzima 17 $\beta$ -HSD tipo 1, expressa no epitélio do tecido endometrial ectópico, converte estrona em estradiol, um estrogénio mais potente (40).

Pelas razões apresentadas, existe um efeito cumulativo de estradiol nos tecidos afetados por endometriose, devido ao aumento da sua produção e diminuição da sua conversão.

O excesso de estradiol induz a proliferação celular através da produção de citocinas, especialmente IL-8 e *Regulated on Activation, Normal T Expressed and Secreted* (RANTES) (41). Paralelamente, estimula a produção de PGE<sub>2</sub> que, tal como mencionado anteriormente, promove o crescimento tumoral, e, ainda, estimula a atividade da enzima aromatase, resultando num mecanismo de *feedback* positivo em favor da produção contínua de estrogénios na endometriose (35). Assim, altas concentrações de estrogénio caracterizam o microambiente do endometrioma, induzindo maior proliferação celular e consequente aumento da atividade de enzimas reparadoras de erros na transcrição genética. Com este aumento de atividade das enzimas reparadoras, existe uma maior probabilidade de mutações e alterações no DNA (7).

### 6.3.3. Stress oxidativo

O stress oxidativo está implicado em diversas doenças, como, por exemplo, cancro, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (7). O stress oxidativo corresponde a um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigénio (ERO) e a capacidade que o organismo tem de as eliminar. Estas ERO conduzem à formação de intermediários tóxicos reativos que podem causar alterações no DNA, como mutações genéticas (16).

Da mesma forma, na endometriose, o desequilíbrio entre a atividade pró-oxidante e antioxidante tem impacto na transformação maligna. Devido à responsividade das células endometrióticas às hormonas, ocorrem repetidas hemorragias nos endometriomas. Uma vez que os eritrócitos no espaço extravascular tendem a sofrer hemólise rapidamente, o conteúdo dos endometriomas é rico em hemoglobina, grupo heme e ferro livres. Estes produtos tornam-se tóxicos através de atividades catalíticas durante a hemólise (42).

No caso da hemoglobina, esta tende a sofrer “autooxidação”, um processo de oxidação lento iniciado pelas ERO. Neste processo, a hemoglobina é oxidada, transformando a oxihemoglobina (oxyHb-Fe<sup>2+</sup>) em metahemoglobina (metHb-Fe<sup>3+</sup>) e produz o anião superóxido (O<sup>2-</sup>), de acordo com a seguinte equação: Hb-Fe<sup>2+</sup>(oxyHb)+O<sub>2</sub>→Hb-Fe<sup>3+</sup>(metHb)+O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Por sua vez, este processo produz ainda peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),

que tal como o anião superóxido, constituem ERO, sendo altamente tóxicos e responsáveis por alterações no DNA (43).

Relativamente ao grupo heme livre, este é altamente citotóxico e desestabiliza o citoesqueleto, mitocôndrias, núcleo e membrana celular, bem como, subseqüentemente, induz peroxidação lipídica e alterações no DNA. Assim, é promovido o dano oxidativo e formam-se ERO que libertam o ferro presente no grupo heme, ficando este livre.

Posteriormente, o ferro livre contribui para a formação de ERO através da reação de Fenton:  $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$  (42).

Pelas razões referidas anteriormente, as lesões de endometriose proporcionam um microambiente com concentração elevada de produtos de stress oxidativo. A fim de o comprovar, Yamaguchi K. *et al.* (44) avaliaram o conteúdo de 21 endometriomas e 11 quistos não-endometrióticos para comparar a concentração de ferro livre e outros fatores de stress oxidativo, como lactose desidrogenase, peroxidase lipídica e 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina. Assim, quando comparado com quistos não-endometrióticos, a concentração de ferro livre e dos fatores de stress oxidativo analisados foi significativamente superior nos endometriomas. Similarmente, numa revisão sistemática, que incluiu 19 artigos, de um total de 39 biomarcadores de stress oxidativo avaliados, 23 encontravam-se significativamente elevados em mulheres com endometriose, com destaque para os biomarcadores de lipoperoxidação (45).

Este nível aumentado de stress oxidativo nos endometriomas está associado a alterações oxidativas no DNA, instabilidade genómica e mutações, que por sua vez provocam apoptose celular, sendo esta uma resposta protetora para impedir a progressão tumoral (42).

No entanto, este excesso de produtos de reações de oxidação estimula a criação de mecanismos de defesa antioxidantes, o que se torna prejudicial. Para equilibrar o stress oxidativo os macrófagos aumentam os mecanismos de defesa antioxidante e ocorre a estimulação de genes codificadores de enzimas antioxidantes, incluindo heme oxigenase-1 (HO-1), superóxido dismutase (SOD), glutationa peroxidase e catalase. Ocorre, também, a expressão aumentada do fator de transcrição Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor*), que controla a expressão de uma série de genes responsáveis pela resposta antioxidante (43). Esta intensa resposta antioxidante influencia os processos de sobrevivência celular, protegendo as células endometrióticas dos mecanismos de apoptose (42). O ambiente antioxidante torna-se, então, propício à progressão tumoral, através da sobrevivência e consequente proliferação desregulada de células previamente mutadas. De facto, existe uma sobreexpressão de HO-1 e Nfr2 em vários cancros, estando implicados na progressão e agressividade tumoral (46). O mesmo acontece nos EAOC, nos quais há uma sobreexpressão de fatores antioxidantes. Segundo Yoshimoto C. *et al.* (47), as concentrações de ferro total,

heme e ferro livre nos EAOc são 17, 11 e 3 vezes mais baixas, respectivamente, em comparação com as concentrações destes elementos nos endometriomas benignos.

Sistematizando, a influência do stress oxidativo na progressão do endometrioma para EAOc ocorre em duas etapas. Na primeira etapa, o conteúdo do endometrioma, rico em hemoglobina, grupo heme e ferro livre em consequência das hemorragias recorrentes, cria um ambiente de stress oxidativo que induz alterações no DNA, instabilidade genética e mutações, levando à apoptose, através dos mecanismos protetores das células. Numa segunda etapa, para contrariar este ambiente oxidativo, a célula cria uma resposta antioxidante desequilibrada que promove a sobrevivência celular e consequente proliferação desregulada. Desta forma, a presença de células mutadas num ambiente propício à sobrevivência celular cria condições para a transformação e progressão tumoral. O desequilíbrio entre elementos oxidantes e antioxidantes tende a favor das espécies antioxidantes nos EAOc, tendo estas um papel crucial na sua patogênese. Já no caso dos endometriomas, prevalece o ambiente pró-oxidante.

Apesar de diferentes, as alterações inflamatórias, o hiperestrogenismo e o stress oxidativo não são fenómenos independentes, influenciando-se mutuamente. Alguns exemplos desta influência mútua são apresentados por dois recentes artigos, uma revisão sistemática e uma revisão narrativa (36,48). As ERO são mediadores inflamatórios que induzem um aumento do NF- $\kappa$ B nos macrófagos peritoneais, originando um aumento de citocinas pró-inflamatórias. Por outro lado, os macrófagos ativados aumentam os níveis de stress oxidativo através da produção de peróxidos lipídicos e outros produtos resultantes da reação entre apolipoproteínas e peróxidos. O aumento de peróxidos lipídicos, como por exemplo *malondialdehyde* (MDA), pode ser considerado como um marcador de stress oxidativo na endometriose. Os níveis de MDA estão diretamente correlacionados com as concentrações de estradiol nos endometriomas.

Paralelamente, as alterações génicas envolvem genes que são influenciados e influenciam as alterações inflamatórias, o hiperestrogenismo e o stress oxidativo.

#### **6.3.4. Alterações Génicas**

A transformação de uma célula normal numa célula cancerígena ocorre por uma progressiva aquisição de mutações que induzem a carcinogénese, as designadas mutações *driver*. Estas mutações são alterações genéticas que conferem às células vantagem seletiva no seu microambiente, promovendo o seu desenvolvimento e proliferação (49).

Acredita-se que as células endometrióticas acumulem mutações somáticas, originando uma atipia histológica com eventual transformação em carcinoma do ovário. As

etapas precisas das alterações genéticas, bem como o tempo em que decorrem permanecem por esclarecer (50).

As mutações mais frequentemente descritas no carcinoma de células claras, descobertas através do sequenciamento do genoma, ocorrem nos genes ARID1A e PIK3CA. Outras mutações menos frequentes foram encontradas nos genes KRAS, PPP2R1A e *Phosphatase and tensin homolog* (PTEN) (51). No caso do carcinoma endometriode as principais alterações genéticas foram descritas nos genes PTEN, ARID1A, KRAS e *Catenin  $\beta$ 1* (CTNNB1) (52).

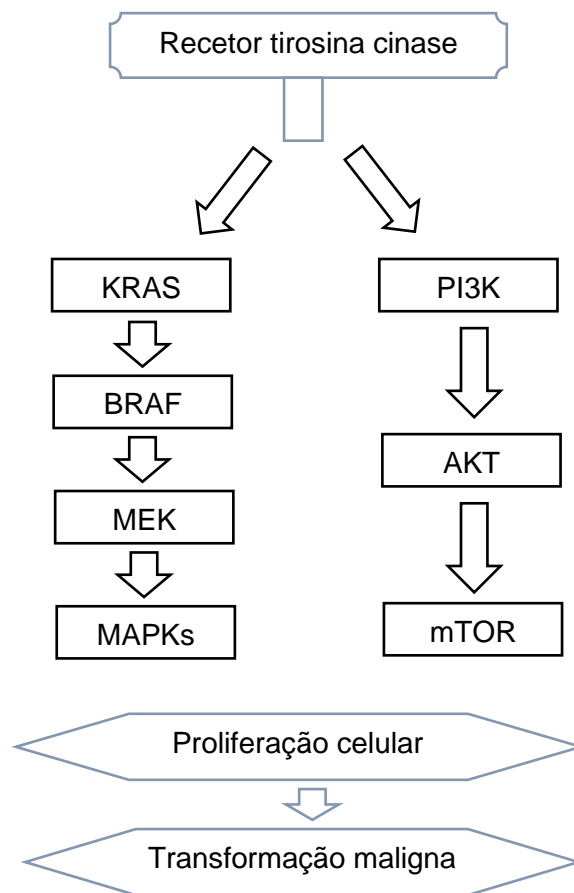
Em concordância com estes resultados, a ativação do oncogene KRAS e das vias *Phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) e a inativação dos genes supressores tumorais PTEN e ARID1A são mecanismos patogênicos aparentemente envolvidos no desenvolvimento dos carcinomas de células claras e endometrioides (4). É importante salientar que nenhuma mutação genética é específica de um subtipo de EAOC (26).

A mutação do gene supressor tumoral ARID1A é considerada a alteração genética mais importante na transformação maligna da endometriose (16). Esta mutação, que leva à perda de função deste gene, resulta na ausência de expressão da proteína que o gene codifica, designada *Brahma-related associated factor 250a* (BAF250a). Esta proteína tem como função diminuir a proliferação celular através da regulação transcricional, dependente do gene supressor tumoral p53, do gene regulador do ciclo celular *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A* (CDKN1A) e do gene *Mothers against decapentaplegic homolog 3* (SMAD3) (53). Um estudo publicado em 2010 sequenciou o genoma dos carcinomas de células claras e endometriode, encontrando mutações no gene ARID1A em 55 dos 119 carcinomas de células claras (46%) e em 10 dos 33 carcinomas endometrioides (30%) (54). Num outro estudo de 2011, de um total de 42 carcinomas de células claras, 57% apresentavam mutação no gene ARID1A (55). É de notar que, na mesma doente, a mutação está frequentemente presente nos EAOC e nas lesões de endometriose atípica adjacentes ao tumor, mas não em lesões de endometriose mais distantes (56), dados que corroboram a hipótese da endometriose atípica enquanto lesão precursora do carcinoma. Worley MJ *et al.* (7) sugerem que a mutação neste gene supressor tumoral é um evento precoce na patogênese dos EAOC. A perda de função de ARID1A/BAF250a foi raramente identificada em lesões de endometriose sem atipia (variando entre 0% e 20% consoante as amostras), enquanto na endometriose atípica esta proporção variou entre 10 a 100%, consoante os diferentes estudos (57–59). Desta forma, a perda de expressão da proteína BAF250a nos endometriomas é um potencial indicador do risco de transformação maligna e poderá vir a ser um fator determinante na escolha de uma abordagem terapêutica individualizada. São ainda necessários mais estudos que confirmem qual é, efetivamente, o valor prognóstico da mutação ARID1A nos endometriomas.

Curiosamente, nenhuma diferença no comportamento clínico foi observada quando se compararam carcinomas BAF250-positivos com carcinomas BAF250-negativos, o que apoia a ideia de que mutações no gene ARID1A representam um marcador de instabilidade genética, sem condicionar o fenótipo tumoral (60).

A mutação no gene ARID1A frequentemente coexiste com outras mutações que levam à ativação da via PI3K/*Protein kinase B* (AKT). A ativação desta via está relacionada com múltiplos mecanismos responsáveis pela progressão tumoral, incluindo proliferação celular desregulada, inibição da apoptose, adesão intercelular e transformação maligna (figura 3). Esta ativação pode ocorrer devido a mutações somáticas, sendo as mais frequentes nos genes PIK3CA e PTEN, um evento frequente nos carcinomas de células claras e endometrioides do ovário. Foi demonstrado que mutações ativadoras do gene PIK3CA, que codifica a proteína p110 $\alpha$ , subunidade catalítica de PI3K, ocorrem em cerca de 33 a 40% dos carcinomas de células claras (57). A ativação da via PI3K/AKT devido à perda da expressão do gene PTEN foi demonstrada em 40% dos carcinomas de células claras (61). A ativação desta via foi também demonstrada em lesões de endometriose (62). Ainda não foi comprovado se alterações nesta via constituem pontos-chave para promover o crescimento tumoral, podendo vir a constituir um potencial alvo terapêutico em casos de EAO. Estudos pré-clínicos e clínicos de fase I têm sugerido que a inibição desta via poderá diminuir a resistência dos carcinomas do ovário à quimioterapia. A resistência aos citostáticos é especialmente comum nos carcinomas de células claras, tornando esta questão de grande interesse particularmente neste subtipo de tumores (57).

Mutações no gene KRAS estão também associadas aos EAO. Stewart CJR *et al.* (63) demonstraram que estas mutações estavam presentes em 29% dos carcinomas endometrioides associados a lesões de endometriose e em apenas 3% dos carcinomas endometrioides sem esta associação. Concluíram, assim, que as mutações KRAS têm um papel importante essencialmente nos carcinomas endometrioides associados a lesões de endometriose. No estudo de Bastu E. *et al.* (34), o gene KRAS apresentava sobreexpressão nos endometriomas excisados de mulheres que posteriormente desenvolveram um carcinoma de células claras, sugerindo que esta mutação poderá ser um fator de progressão para carcinoma de células claras do ovário associado a endometriomas. Mutações neste gene levam à ativação constitutiva da via de sinalização KRAS – *v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B* (BRAF) – *Mitogen-activated ERK kinase* (MEK) – *mitogen activated protein kinases* (MAPKs), resultando numa atividade contínua das proteínas MAPKs com inúmeros efeitos na função celular, incluindo proliferação celular desregulada, apoptose, adesão intercelular e promoção de capacidade migratória (26,64) (figura 3).



**Figura 3:** Vias moleculares envolvidas na patogênese dos *endometriosis-associated ovarian carcinomas* (EAO). Adaptado de Králičková M. *et al.* (65).

Apesar de terem um perfil genético semelhante, os EAO apresentam diferentes perfis biológicos, importantes no seu desenvolvimento. Têm sido realizados estudos que investigam as vias de sinalização dos diferentes genes expressos nos carcinomas de células claras e carcinomas endometrioides. A desigual expressão génica condiciona diferentes funções biológicas desreguladas, nomeadamente relacionadas com a utilização de glicose, regulação do ciclo celular e metabolismo hormonal (6). A expressão dos genes é regulada através de mecanismos epigenéticos. Esta regulação epigenética refere-se a alterações da cromatina, não envolvendo mudanças da sequência de DNA. Estes processos incluem a metilação do DNA e modificação das histonas, determinando se o DNA se encontra “aberto” ou “fechado” para ser transcrito, em determinado tipo de célula. É importante salientar que a hipometilação do promotor de um gene aumenta a sua transcrição e, conseqüentemente, a expressão da proteína resultante. Estas alterações epigenéticas podem persistir durante a divisão celular, condicionando o futuro das células originadas (18).

O HNF-1B foi identificado como biomarcador histológico do carcinoma de células claras do ovário, mas não do carcinoma endometriode. Em 2003 foi, pela primeira vez,

descrita imunohistoquímica positiva para HNF-1B em 20 de 21 casos (95,2%) de carcinomas de células claras, comparativamente a apenas 1 dos 61 (1,6%) outros subtipos de carcinomas do ovário (66). Estudos subsequentes têm confirmado que mais de 95% dos carcinomas de células claras apresentam esta característica imunohistoquímica, sendo rara nos restantes subtipos de carcinomas do ovário. Adicionalmente, 16 de 40 (40%) endometriomas benignos demonstraram positividade para HNF-1B, o que indica que esta será uma alteração precoce na patogênese deste tipo de carcinomas (67). De realçar que, no contexto de uma neoplasia ginecológica primária confirmada, a expressão de HNF-1B é sugestiva de carcinoma epitelial de células claras. No entanto, o HNF-1B pode ser expresso por células de epitélio endometriótico normal, assim como em alguns carcinomas endometrioides, serosos ou metastáticos (68). O aumento da expressão deste gene, devido à hipometilação do seu promotor nas ilhas CpG, influencia as suas características biológicas.

HNF-1 $\beta$ , a proteína codificada pelo gene HNF-1B, é um fator de transcrição que tem como alvo determinados genes importantes na proliferação celular, perfil metabólico tumoral, defesa antioxidante e influencia a resistência à quimioterapia. De facto, o HNF-1B é um dos principais promotores da proliferação das linhagens celulares no carcinoma de células claras. Apesar de regular positivamente a proliferação celular, inibe a migração e invasão das células tumorais, através do seu papel na manutenção da expressão da E-caderina, sugerindo que a sua influência é exercida num estadio precoce deste carcinoma (21). Quanto ao perfil metabólico, a importância do HNF-1B está relacionada com o seu papel na promoção da glicólise. Segundo o efeito de Warburg, as células tumorais apresentam altas taxas de consumo de glicose, devido à sua grande exigência energética. Possivelmente induzido pela hipóxia, o HNF-1B promove processos glicolíticos, possibilitando às células do carcinoma de células claras o seu desenvolvimento e sobrevivência no ambiente rico em ERO do endometrioma (34). Por outro lado, HNF-1B reduz o stress oxidativo e confere resistência às ERO, o que aumenta a taxa de sobrevivência das células, tal como explicado anteriormente. Um exemplo destes mecanismos é a estimulação da síntese de glutathione (um potente antioxidante) por parte deste gene (6). Desta forma, a expressão aumentada do gene HNF-1B é, portanto, uma característica definidora do carcinoma de células claras, com implicações no seu desenvolvimento.

Por outro lado, a maioria (91%) dos carcinomas endometrioides apresenta positividade para recetores de estrogénios, ao contrário dos carcinomas de células claras, onde esta positividade ocorre em apenas 8% (69). O hiperestrogenismo ou a expressão aumentada de ESR2 são encontrados em lesões de endometriose sem e com atipia, o que confere a esta patologia uma suscetibilidade de desenvolvimento tumoral, tal como explicado previamente. O carcinoma endometriode também compartilha redes de sinalização e vias oncogénicas

dependentes de estrogénios (6). Alterações do genoma dos alvos de transcrição dependentes dos recetores de estrogénios conferem às células expostas a esta hormona um maior potencial de crescimento. Existem vários fatores que interferem na expressão dos recetores de estrogénios e na atividade desta hormona, sendo o mais importante a metilação do promotor do gene ESR (70). Uma regulação positiva da expressão do ESR foi associada a melhores taxas de sobrevivência de carcinomas do ovário (69,71), sugerindo a influência deste gene no desenvolvimento inicial do carcinoma endometriode.

Assim, ao contrário do carcinoma endometriode que é um carcinoma estrogénio-dependente, o carcinoma de células claras é estrogénio-independente (4). Para explicar este facto, foi proposto um modelo de carcinogénese dualístico para o desenvolvimento dos EAOC, no qual a perda de expressão de recetores de estrogénios constitui um ponto crucial na via da carcinogénese que separa o desenvolvimento de carcinomas de células claras e carcinomas endometriodes. Segundo este modelo, a influência constante dos estrogénios sobre as células ectópicas endometriais dá origem ao carcinoma endometriode. No entanto, quando o ambiente característico do endometrioma composto por alterações inflamatórias e stress oxidativo cursa com alterações no DNA, proteínas e lípidos que causam depleção e alterações na metilação dos recetores de estrogénios, desenvolve-se um carcinoma de células claras. É, ainda, necessária investigação complementar para aprofundar o conhecimento sobre estas vias de carcinogénese (70,72).

Sistematizando, a hipometilação do promotor do gene ESR está inversamente correlacionada com a hipermetilação do gene HNF-1B, no caso do carcinoma endometriode (69). A baixa expressão do ESR e alta expressão de HNF-1 $\beta$  foram identificados como potenciais biomarcadores do carcinoma de células claras (67).

#### **6.4. Suspeição diagnóstica de EAOC**

Conforme demonstrado por uma meta-análise, a prevalência de endometriose em mulheres pós-menopausa é inferior relativamente a mulheres pré-menopausa, mas o risco de desenvolver um carcinoma é superior (73). Contudo, a média de idades à data do diagnóstico das mulheres com EAOC é cerca de 10 a 20 anos inferior à daquelas com carcinomas epiteliais do ovário não associados à endometriose. Por norma, os EAOC são diagnosticados num estadio mais precoce e como uma lesão de menor grau. Estes dados sugerem que estes tumores apresentam um comportamento menos agressivo, com uma melhor sobrevivência global e sobrevivência livre de doença (1,2,19). Uma meta-análise que incluiu quase 450 000 doentes com endometriose concluiu que estas apresentam um risco aumentado de vir a desenvolver um carcinoma mas, na sua maioria, tratam-se de tumores de baixo grau, crescimento lento e



prognóstico mais favorável (5). Uma possível explicação para esta evidência é o facto de se tratar de uma doença benigna sintomática e que geralmente cursa com um aumento da realização de exames clínicos e imagiológicos, podendo determinar um diagnóstico mais precoce de carcinoma do ovário (4).

Contrariamente, Cuff J. *et al.* (74) e Ayhan A. *et al.* (75) não associam o diagnóstico prévio de endometriose a uma sobrevida mais prolongada. De acordo com os autores, as doentes com diagnóstico de carcinomas de células claras e endometrioides em estadios precoces associados à endometriose não diferem em termos clínicos e anátomo-patológicos das doentes com estes carcinomas não associados a esta patologia.

Uma vez que estas conclusões são contraditórias, o possível efeito protetor da endometriose na sobrevida da doente com estes tipos de carcinoma permanece por esclarecer.

Um estudo de coorte (76), que incluiu 6398 mulheres japonesas com endometriomas, concluiu que uma idade mais avançada ao diagnóstico (< 44 vs. ≥ 45 anos), o estado pós-menopausa e um endometrioma de maiores dimensões (maior diâmetro ≥ 9 cm) eram fatores associados a um maior risco de desenvolver EAOC. Curiosamente, a incidência de carcinomas epiteliais foi de 0%, 35% e 65% em endometriomas com < 6 cm, 6-9 cm e ≥ 9 cm de maior diâmetro, respetivamente. Este estudo concluiu ainda existir uma tendência para o aumento da incidência de EAOC entre nulíparas. Não foi encontrada nenhuma associação significativa com o uso de contraceptivos orais combinados, história familiar de carcinoma do ovário ou hábitos tabágicos prévios ou atuais.

Taniguchi F. (24), num estudo que incluiu 33 doentes diagnosticadas com carcinoma do ovário presumivelmente com origem em endometriomas, demonstrou que a média de idades foi de 47,7 anos (mínimo de 21 e máximo de 74) e 75,5% eram pré-menopáusicas. Vinte e duas doentes (66,7%) tinham ciclos menstruais regulares e apenas 9 (27,3%) necessitavam de medicação para alívio das queixas de dismenorreia. A média do maior diâmetro do endometrioma foi de 8,1 cm (mínimo de 2 e máximo de 20 cm). O diâmetro máximo do endometrioma em 30 doentes (90,9%) tinha pelo menos duplicado num período de seis meses, quando a transformação maligna foi diagnosticada.

O risco de carcinoma do ovário parece ser particularmente elevado nas mulheres com endometriomas há mais de 10 anos, sem terapêutica. De facto, o risco de morte por carcinoma do ovário é de 1/100 (1%) na população feminina geral (77) e de 1/77 (1,30%) nas mulheres pós-menopausa com endometriomas não tratados (26).

Até à data não existe nenhuma característica clínica capaz de identificar quais as doentes sob maior risco de desenvolver EAOC. Porém, em doentes com endometriomas

devemos considerar como sinal de alerta a ocorrência de uma mudança no quadro clínico como, por exemplo, evolução da dor pélvica cíclica para dor contínua ou o aparecimento de uma hemorragia uterina anormal, principalmente se associado a alterações na ecografia transvaginal (1).

Atualmente, a distinção entre endometrioma e carcinoma do ovário pode por vezes ser difícil sem o auxílio de um estudo anátomo-patológico obtido por procedimento cirúrgico (78). Para avaliar o risco de malignidade após o diagnóstico de um aparente endometrioma, uma revisão sistemática recomenda utilizar o “*Risk of Malignancy Index*”, um cálculo de risco baseado nas características imagiológicas do quisto, no estado de menopausa e no valor de CA 125 (79).

Na ecografia transvaginal, os carcinomas com origem em endometriomas geralmente exibem um componente sólido hipervascularizado (10). Tanase Y. *et al.* (80) concluíram que na pré-menopausa a maioria das lesões nodulares murais dos endometriomas correspondiam à retração de coágulos sanguíneos, enquanto que nas mulheres mais velhas a probabilidade destes nódulos murais corresponderem a uma situação de transformação maligna era superior, especialmente em quistos de maiores dimensões e com diâmetro longitudinal superior ao transversal. De acordo com o estudo de Taniguchi F. *et al.* (81), o rápido crescimento de um endometrioma e a presença de nódulos murais foram os preditores mais confiáveis de malignidade.

Nos casos de suspeição de transformação maligna, a ressonância magnética parece ser o exame mais específico para o seu diagnóstico. Os aspetos radiológicos a identificar são o aumento das dimensões do endometrioma e o desaparecimento do efeito “*shading*” dentro da massa (o líquido hemorrágico espesso contido no endometrioma é diluído pelas secreções tumorais) em imagens ponderadas em T2. A presença de um nódulo mural que realça com contraste constitui outro sinal importante (13).

A avaliação de todos os endometriomas suspeitos por ginecologistas ou radiologistas com experiência em oncologia pode aumentar significativamente a especificidade das técnicas de imagem na deteção dos quistos que requerem remoção cirúrgica imediata.

O biomarcador tumoral mais comumente utilizado no cancro do ovário é o CA 125. Um nível elevado e/ou um rápido aumento das suas concentrações séricas pode corroborar a hipótese de transformação maligna da endometriose (19). No entanto, segundo um estudo realizado (82), os níveis séricos pré-operatórios de CA 125 nas doentes com EAOE foram significativamente inferiores e com maior probabilidade dentro dos valores normais de referência, comparativamente aos carcinomas do ovário não-EAOE (uma média de 122,9 U/mL vs. 1377,5 U/mL, respetivamente). Num outro estudo (24), 45,5% das 33 doentes com EAOE apresentaram pelo menos uma duplicação do valor de CA 125, mas em 42,4% dos

casos este manteve-se dentro dos valores normais de referência, sugerindo que o CA 125 não é um marcador crítico da transformação maligna dos endometriomas. Assim, este biomarcador apresenta uma baixa sensibilidade na identificação desta doença em estádios precoces.

Com o intuito de melhorar a especificidade e sensibilidade diagnósticas, o uso de novos biomarcadores como o *human epididymal secretory protein E4* (HE4) tem sido amplamente estudado. A avaliação conjunta do HE4 e do CA 125, ao invés de um deles isoladamente, poderá vir a constituir uma ferramenta com maior acuidade no diagnóstico diferencial entre EAO e endometriomas benignos (83).

### **6.5. Orientação clínica e terapêutica dos endometriomas**

Apesar do possível risco aumentado de desenvolver um carcinoma nas mulheres portadoras de endometriomas, esta transformação maligna é extremamente rara, tal como referido anteriormente. Atualmente não existe um rastreio protocolado recomendado para mulheres com endometriose (2). As *guidelines* do *National Institute for Health and Care Excellence* sobre o diagnóstico e tratamento da endometriose indicam que não existe um rastreio nacional disponível para deteção precoce do carcinoma do ovário e que não existe um plano de tratamento definido que reduza o pequeno risco aumentado em mulheres com endometriose (84). Contudo, há autores que recomendam uma vigilância apertada das mulheres com endometriomas (19).

Quando se opta por tratamento cirúrgico de endometriomas em mulheres com menos de 45 anos, a cirurgia conservadora parece ser a abordagem preferencial, dadas as consequências de um hipostrogenismo prematuro (85). Pelo contrário, na perimenopausa os benefícios reprodutivos e hormonais da atitude conservadora desaparecem progressivamente, pelo que a anexectomia bilateral pode ser discutida com estas doentes (79).

Não existem ainda estudos suficientes sobre o efeito na taxa de mortalidade por EAO, quando comparada a terapêutica cirúrgica com atitude expectante associada a uma vigilância ativa das doentes com endometriomas (26).

De acordo com os resultados de um estudo caso-controlo de base populacional, conduzido por Rossing MA *et al.* (86), o risco de carcinoma epitelial do ovário foi inferior em mulheres que tinham realizado salpingo-ooforectomia unilateral. O risco relativo de carcinoma do ovário foi 1,6 vezes superior em mulheres com endometriose que não foram submetidas a cirurgia e 1,2 vezes superior em mulheres operadas, comparativamente com mulheres sem história de endometriose. Considerando especificamente os subtipos carcinoma

endometriose ou carcinoma de células claras, o risco relativo foi 3,2 vezes superior entre as mulheres com história de endometriose sem cirurgia ovárica prévia *versus* 1,6 vezes superior entre as mulheres que tinham sido submetidas a cirurgia. Ao contrário da salpingo-ooforectomia unilateral, a quistectomia/ooforectomia parcial não demonstrou ser protetora. No entanto, o pequeno número de casos limita a precisão destas conclusões, pois apenas 94 mulheres com endometriose foram incluídas no estudo e dessas 20 tinham realizado cirurgia prévia por esse motivo.

No estudo de Taniguchi F. (24), 6 das 33 doentes (18,2%) diagnosticadas com EAOC tinham sido submetidas a quistectomia por endometrioma, no ovário ipsilateral. Como prevenção, Anglesio MS e Yong PJ (50) sugerem, após quistectomia de um endometrioma com atipia citológica e preservação do restante tecido ovárico, realizar anexectomia bilateral profilática após os 45 anos, mesmo que a ecografia transvaginal não revele alterações e os marcadores tumorais sejam negativos (CA 125 e HE4).

Vercellini P. *et al.* (26), sugeriram duas possíveis abordagens em mulheres na perimenopausa com endometriomas pequenos (< 5 cm) sem atipia:

- Ooforectomia do(s) ovário(s) afetado(s) com salpingectomia bilateral, especialmente em casos de endometriomas de longa duração e sem terapêutica com contraceptivos orais combinados ou progestativos;
- Vigilância apertada ± terapêutica com um estroprogestativo e cirurgia imediata em caso de alterações ecográficas suspeitas ou elevação sérica do CA 125 ou HE4.

Assim, perante a opção de tratamento conservador, devem ser ponderados na perimenopausa doseamentos destes biomarcadores e ecografia transvaginal, periodicamente. Deve ser também considerado o grau de ansiedade da doente, perante o conhecimento de risco aumentado de cancro do ovário, ainda que este seja pequeno. Por outro lado, é também importante ter em conta os antecedentes cirúrgicos da doente, pois as cirurgias abdomino-pélvicas prévias podem aumentar significativamente o risco cirúrgico. Na presença de múltiplas aderências pélvicas, o risco de lesões intestinais e ureterais é superior, além do aumento na dificuldade do procedimento, com possível consequente síndrome do ovário remanescente. Desta forma, uma possível abordagem nas doentes perimenopausa é reservar a cirurgia para as doentes de risco cirúrgico baixo a intermédio, e manter sob vigilância aquelas com elevado risco cirúrgico. As doentes devem ser elucidadas sobre as vantagens e desvantagens de cada uma destas opções (87). Para demonstrar a ausência de consenso quanto à conduta a adotar, as *guidelines* da *European Society of Human Reproduction and Embriology* não recomendam nenhuma alteração geral no tratamento atualmente preconizado na endometriose, dado o apenas ligeiro aumento de risco de cancro

do ovário nestas doentes e a ausência de evidência suficiente sobre como este poderá ser diminuído (88).

Ao optar por uma atitude expectante, a terapêutica com um estroprogestativo constitui um potencial fator de proteção contra EAOC, apesar de não existirem dados suficientes sobre qual a diminuição do risco quando iniciado apenas na perimenopausa. (26).

## 7. Conclusão

A possível transformação maligna que ocorre na endometriose está, à luz da evidência científica atual, maioritariamente associada aos endometriomas. Os endometriomas e o carcinoma do ovário têm fatores de risco e protetores em comum, sendo que os EAOc são mais frequentemente dos subtipos carcinoma de células claras e carcinoma endometriode.

O endometrioma atípico é considerado como lesão precursora da maioria destes tipos de tumores. Apesar de existirem critérios histológicos bem definidos, os sinais ecográficos suspeitos de malignidade não apresentam uma acuidade diagnóstica suficiente para permitir realizar um diagnóstico com precisão. A investigação sobre os métodos de diagnóstico e exclusão de malignidade nestes endometriomas com lesões atípicas é essencial para que possamos promover uma conduta terapêutica prévia à transformação maligna.

Os mecanismos moleculares subjacentes à transformação maligna dos endometriomas permanecem controversos, mas o seu microambiente parece ser fundamental para essa transformação. O desenvolvimento dos EAOc aparenta ter por base fatores como alterações inflamatórias, stress oxidativo, hiperestrogenismo e alterações génicas, presentes no microambiente ovárico. Estes fatores, que se interrelacionam, estimulam a proliferação celular desregulada, a angiogénese e induzem alterações no DNA, criando as condições necessárias à carcinogénese.

Relativamente às alterações génicas destacam-se as mutações *driver* nos genes ARID1A, PIK3CA, KRAS, PPP2R1A e PTEN no caso dos carcinomas de células claras. A mutação no gene ARID1A é considerada a alteração genética mais importante no desenvolvimento destes carcinomas. Já no caso dos carcinomas endometrioides as principais alterações genéticas foram descritas nos genes PTEN, ARID1A, KRAS e CTNNB1. Apesar de um perfil mutacional semelhante, os EAOc apresentam diferentes alterações epigenéticas, que determinam diferenças no efeito dos estrogénios nestes tumores. Contrariamente aos carcinomas endometrioides, que são estrogénio-dependentes, os carcinomas de células claras, com baixa expressão do ERS, são estrogénio-independentes. A perda de expressão de recetor de estrogénio parece ser um ponto crucial na via carcinogénica que separa o desenvolvimento destes dois carcinomas. Mais estudos devem ser realizados no sentido de esclarecer o papel da presença da mutação no gene ARID1A como fator prognóstico nos carcinomas de células claras, assim como aprofundar os detalhes das restantes vias de carcinogénese dos EAOc.

Os EAOc tendem a ser carcinomas diagnosticados em estadios mais precoces e em mulheres mais jovens relativamente aos carcinomas do ovário não associados à endometriose. O risco de carcinoma do ovário resultante de endometriose aumenta com a

idade (mais de 45 anos), endometriose de longa data (acima de 10 anos) e endometriomas com diâmetro superior a 9 centímetros.

Em doentes com diagnóstico de endometrioma devemos considerar como potenciais sinais de alerta de transformação maligna: mudança no quadro clínico, principalmente se associado a alterações na ecografia transvaginal; o rápido crescimento do endometrioma, a presença de nódulos murais e a exibição de um componente sólido hipervascularizado, à ecografia transvaginal; o aumento das dimensões do endometrioma, a presença de nódulo mural que realça com contraste e o desaparecimento do efeito “*shading*” em imagens ponderadas em T2, à ressonância magnética; e um valor elevado e/ou rápido aumento dos níveis séricos de CA125 e HE4.

Atualmente, não existe um rastreio de base populacional para o diagnóstico de endometriomas assintomáticos, uma vez que seria improvável que este reduzisse a mortalidade atribuível aos EAOC.

À luz da evidência atual, não existe consenso sobre o procedimento a adotar nas mulheres com endometriomas pequenos e sem atipia. O tratamento deve ser individualizado tendo em conta a idade da doente, projeto reprodutivo, características do endometrioma e antecedentes cirúrgicos.

Aprofundar o conhecimento sobre a identificação de endometriomas que abrigam focos epiteliais atípicos, as vias de carcinogénese dos EAOC e quais as mulheres que estão em maior risco de progressão tumoral, permitirá, por um lado, realizar um procedimento cirúrgico de forma oportuna para prevenir a progressão da lesão e, por outro lado, manter o tratamento conservador associado a vigilância em mulheres com maior morbidade.

## **8. Agradecimentos**

À Professora Doutora Margarida Figueiredo Dias, a minha orientadora, e à Doutora Filipa Sousa, a minha coorientadora, que prontamente se disponibilizaram a orientar o meu trabalho. Pela disponibilidade que demonstraram em todas as suas etapas, por todos os conselhos e esclarecimento de dúvidas, o meu muito obrigada.

Aos meus pais e irmão, por estarem sempre disponíveis para mim, pela sua compreensão e apoio que se revelam fundamentais em todas as fases da minha vida, tal como na elaboração deste trabalho.

Ao António, por me fazer sempre acreditar que sou capaz de atingir os meus objetivos e que juntos tudo se torna mais fácil.

Às minhas amigas, cuja amizade é fundamental para mim, pelo apoio, partilhas e motivação constantes. Um especial agradecimento à Mariana por toda a sua ajuda ao longo das várias etapas do meu percurso no curso de Medicina, incluindo este projeto.

Por fim, a todos que, mesmo não estando individualmente nomeados, foram importantes para a realização deste trabalho.



## 9. Bibliografia

1. Simionato Alban E, Machado Scridelli Mounzer T, Vanin C, Biscaro A. Degeneração maligna da endometriose: revisão da literatura. *Arq Catarinenses Med.* 2017;46(2):145–52.
2. Wilbur MA, Shih IM, Segars JH, Fader AN. Cancer Implications for Patients with Endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2017;35(1):110–6.
3. Cranney R, Condous G, Reid S. An update on the diagnosis, surgical management, and fertility outcomes for women with endometrioma. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017;96(6):633–43.
4. Grandi G, Toss A, Cortesi L, Botticelli L, Volpe A, Cagnacci A. The Association between Endometriomas and Ovarian Cancer: Preventive Effect of Inhibiting Ovulation and Menstruation during Reproductive Life. *Biomed Res Int.* 2015;
5. Kim HS, Kim TH, Chung HH, Song YS. Risk and prognosis of ovarian cancer in women with endometriosis : a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2014;110(7):1878–90.
6. Kobayashi H, Yamada Y, Kawahara N, Ogawa K, Yoshimoto C. Integrating modern approaches to pathogenetic concepts of malignant transformation of endometriosis. *Oncol Rep.* 2019;41(3):1729–38.
7. Worley MJ, Welch WR, Berkowitz RS, Ng SW. Endometriosis-associated ovarian cancer: A review of pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):5367–79.
8. Gałczyński K, Józwick M, Lewkowicz D, Semczuk-Sikora A, Semczuk A. Ovarian endometrioma - A possible finding in adolescent girls and young women: A mini-review. *J Ovarian Res.* 2019;12(1):4–11.
9. Kiesel L, Sourouni M. Diagnosis of endometriosis in the 21st century. *Climacteric.* 2019;
10. Exacoustos C, Manganaro L, Zupi E. Imaging for the evaluation of endometriosis and adenomyosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014;28(5):655–81.
11. Guerriero S, Van Calster B, Somigliana E, Ajossa S, Froyman W, De Cock B, et al. Age-related differences in the sonographic characteristics of endometriomas. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1723–31.
12. Muzii L, Tucci C Di, Felicianantonio M Di, Galati G, Verrelli L, Donato V Di, et al. Management of Endometriomas. *Semin Reprod Med.* 2017;35(1):025–30.
13. Lima M, Cunha TM. Caracterização por RM das Lesões do Ovário Hipointensas em T2. *Acta Radiológica Port.* 2018;30:9–20.
14. Shen A, Xu S, Ma Y, Guo H, Li C, Yang C, et al. Diagnostic value of serum CA125,

- CA19-9 and CA15-3 in endometriosis: A meta-analysis. *J Int Med Res.* 2015;43(5):599–609.
15. Sampson JA. Endometrial carcinoma of the ovary arising in endometrial tissue in that organ. *Arch Surg.* 1925;10:1–72.
  16. Herreros-Villanueva M, Chen CC, Tsai EM, Er TK. Endometriosis-associated ovarian cancer: What have we learned so far? *Clin Chim Acta.* 2019;493:63–72.
  17. Brinton LA, Gridley G, Persson I, Baron J, Bergqvist A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176(3).
  18. Bulun SE, Wan Y, Matei D. Epithelial mutations in endometriosis: Link to ovarian cancer. *Endocrinology.* 2019;160(3):626–38.
  19. Jaiman S, Pochiraju M, Gundabattula SR, Surampudi K, Narayana Rao DVL, Kandikattu S. Malignant Transformation of Pelvic Endometriosis. *Int J Surg Pathol.* 2015;23(6):465–71.
  20. Pearce CL, Templeman C, Rossing MA, Lee A, Near AM, Webb PM, et al. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: A pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol.* 2012;13(4):385–94.
  21. Gounaris I, Brenton JD. Molecular pathogenesis of ovarian clear cell carcinoma. *Futur Oncol.* 2015 May 1;11(9):1389–405.
  22. Verit FF, Yucel O. Endometriosis, leiomyoma and adenomyosis: The risk of gynecologic malignancy. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013;14(10):5589–97.
  23. Wang C, Liang Z, Liu X, Zhang Q, Li S. The association between endometriosis, tubal ligation, hysterectomy and epithelial ovarian cancer: Meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(11).
  24. Taniguchi F. New knowledge and insights about the malignant transformation of endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017;43(7):1093–100.
  25. Melin A, Sparén P, Persson I, Bergqvist A. Endometriosis and the risk of cancer with special emphasis on ovarian cancer. *Hum Reprod.* 2006;21(5):1237–42.
  26. Vercellini P, Viganò P, Buggio L, Makieva S, Scarfone G, Cribiù FM, et al. Perimenopausal management of ovarian endometriosis and associated cancer risk: When is medical or surgical treatment indicated? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;51:151–68.
  27. Wei JJ, William J, Bulun S. Endometriosis and ovarian cancer: a review of clinical, pathologic, and molecular aspects. *Int J Gynecol Pathol.* 2011 Nov;30(6):553–68.
  28. Anglesio MS, Bashashati A, Wang YK, Senz J, Ha G, Yang W, et al. Multifocal

- endometriotic lesions associated with cancer are clonal and carry a high mutation burden. *J Pathol.* 2015;236(2):201–9.
29. Tanase Y, Furukawa N, Kobayashi H, Matsumoto T. Malignant transformation from endometriosis to atypical endometriosis and finally to endometrioid adenocarcinoma within 10 years. *Case Rep Oncol.* 2013 Sep;6(3):480–4.
  30. Moll UM, Chumas JC, Chalas E MW. Ovarian carcinoma arising in atypical endometriosis. *Obs Gyneycol.* 1990;75:537–539.
  31. Thomas EJ CI. Molecular genetic defects in endometriosis. *Gynecol Obs Invest.* 2000;50:44–50.
  32. Vercellini P, Cribiù FM, Del Gobbo A, Carcangiu ML, Somigliana E, Bòsari S. The oncofetal protein IMP3: A novel biomarker and triage tool for premalignant atypical endometriotic lesions. *Fertil Steril.* 2013;99(7):1974–9.
  33. Karnezis AN, Cho KR, Gilks CB, Pearce CL, Huntsman DG. The disparate origins of ovarian cancers: Pathogenesis and prevention strategies. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(1):65–74.
  34. Bastu E, Onder S, Demiral I, Ozsurmeli M, Keskin G, Takmaz O, et al. Distinguishing the progression of an endometrioma: Benign or malignant? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018;230:79–84.
  35. Nezhat F, Datta MS, Hanson V, Pejovic T, Nezhat C, Nezhat C. The relationship of endometriosis and ovarian malignancy: a review. *Fertil Steril.* 2008;90(5):1559–70.
  36. Mikhaleva LM, Davydov AI, Patsap OI, Mikhaylenko E V., Nikolenko VN, Neganova ME, et al. Malignant Transformation and Associated Biomarkers of Ovarian Endometriosis: A Narrative Review. *Adv Ther.* 2020;37(6):2580–603.
  37. Darai E, Detchev R, Hugol D, Quang NT. Serum and cyst fluid levels of interleukin ( IL ) -6 , IL-8 and tumour necrosis factor-alpha in women with endometriomas and benign and malignant cystic ovarian tumours. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1681–5.
  38. Garavaglia E, Sigismondi C, Ferrari S, Candiani M. The origin of endometriosis-associated ovarian cancer from uterine neoplastic lesions. *Med Hypotheses.* 2018;110:80–2.
  39. Gemmell LC, Webster KE, Kirtley S, Vincent K, Zondervan KT, Becker CM. The management of menopause in women with a history of endometriosis: A systematic review. *Hum Reprod Update.* 2017;23(4):481–500.
  40. Suzuki F, Akahira JI, Miura I, Suzuki T, Ito K, Hayashi SI, et al. Loss of estrogen receptor  $\beta$  isoform expression and its correlation with aberrant DNA methylation of the

- 5'-untranslated region in human epithelial ovarian carcinoma. *Cancer Sci.* 2008;99(12):2365–72.
41. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Ho S. Interleukin 6 Action in Normal and Malignant Human Ovarian Surface Epithelial Cells. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(8):617–29.
  42. Kobayashi H. Potential scenarios leading to ovarian cancer arising from endometriosis. *Redox Rep.* 2016;21(3):119–26.
  43. Iwabuchi T, Yoshimoto C, Shigetomi H, Kobayashi H. Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Endometriosis and Its Malignant Transformation. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;
  44. Yamaguchi K, Mandai M, Toyokuni S, Hamanishi J, Higuchi T, Takakura K, et al. Contents of endometriotic cysts, especially the high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cysts through the iron-induced persistent oxidative stress. *Clin Cancer Res.* 2008;14(1):32–40.
  45. Carvalho LFP, Samadder AN, Agarwal A, Fernandes LFC, Abrão MS. Oxidative stress biomarkers in patients with endometriosis: Systematic review. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(4):1033–40.
  46. Jozkowicz A, Was H, Dulak J. Heme oxygenase-1 in tumors: Is it a false friend? *Antioxidants Redox Signal.* 2007;9(12):2099–117.
  47. Yoshimoto C, Iwabuchi T, Shigetomi H, Kobayashi H. Cyst fluid iron-related compounds as useful markers to distinguish malignant transformation from benign endometriotic cysts. *Cancer Biomarkers.* 2015;15(4):493–9.
  48. Scutiero G, Iannone P, Bernardi G, Bonaccorsi G, Spadaro S, Volta CA, et al. Oxidative Stress and Endometriosis: A Systematic Review of the Literature. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017.
  49. Nussinov R, Tsai CJ, Jang H. Why Are Some Driver Mutations Rare? *Trends Pharmacol Sci.* 2019;40(12):919–29.
  50. Anglesio MS, Yong PJ. Endometriosis-associated Ovarian Cancers. *Clin Obstet Gynecol.* 2017;60(4):711–27.
  51. Murakami R, Matsumura N, Brown JB, Higasa K, Tsutsumi T, Kamada M, et al. Exome Sequencing Landscape Analysis in Ovarian Clear Cell Carcinoma Shed Light on Key Chromosomal Regions and Mutation Gene Networks. *Am J Pathol.* 2017 Oct 1;187(10):2246–58.
  52. Ogawa S, Kaku T, Amada S, Kobayashi H, Hirakawa T, Ariyoshi K, et al. Ovarian endometriosis associated with ovarian carcinoma: A clinicopathological and

- immunohistochemical study. *Gynecol Oncol.* 2000;77(2):298–304.
53. Guan B, Wang T, Shih I. ARID1A , a Factor That Promotes Formation of SWI / SNF-Mediated Chromatin Remodeling , Is a Tumor Suppressor in Gynecologic Cancers. *Cancer Res.* 2011;71(21).
  54. Wiegand KC, Shah SP A-AO. ARID1A Mutations in Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *N Engl J Med.* 2010;363(16):1532–43.
  55. Jones S, Wang T, Shih I, Mao T, Nakayama K, Glas R, et al. Frequent mutations of chromatin remodeling gene ARID1A in ovarian clear cell carcinoma. *Science (80- ).* 2010;330(6001):228–31.
  56. Mao T-L, Shih I-M. The roles of ARID1A in gynecologic cancer. *J Gynecol Oncol.* 2013;24(4):376–81.
  57. Samartzis EP, Noske A, Dedes KJ, Fink D, Imesch P. ARID1A mutations and PI3K/AKT pathway alterations in endometriosis and endometriosis-associated ovarian carcinomas. *Int J Mol Sci.* 2013;14(9):18824–49.
  58. Stamp JP, Gilks CB, Wesseling M, Eshragh S, Ceballos K, Anglesio MS, et al. BAF250a Expression in Atypical Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2016 Jun 1;26(5):825–32.
  59. Samartzis EP, Samartzis N, Noske A, Fedier A, Caduff R, Dedes KJ, et al. Loss of ARID1A/BAF250a-expression in endometriosis: A biomarker for risk of carcinogenic transformation? *Mod Pathol.* 2012;25(6):885–92.
  60. Lowery WJ, Schildkraut JM, Akushevich L, Bentley R, Marks JR, Huntsman D, et al. Loss of ARID1A-associated protein expression is a frequent event in clear cell and endometrioid ovarian cancers. *Int J Gynecol Cancer.* 2012 Jan;22(1):9–14.
  61. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev.* 2013 Feb;34(1):130–62.
  62. Yin X, Pavone ME, Lu Z, Wei JJ, Kim JJ. Increased activation of the PI3K/AKT pathway compromises decidualization of stromal cells from endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(1):E35–43.
  63. Stewart CJR, Leung Y, Walsh MD, Walters RJ, Young JP, Buchanan DD. KRAS mutations in ovarian low-grade endometrioid adenocarcinoma: Association with concurrent endometriosis. *Hum Pathol.* 2012;43(8):1177–83.
  64. Bhyan SB, Zhao L, Wee YK, Liu Y, Zhao M. Genetic links between endometriosis and cancers in women. *PeerJ.* 2019;2019(12):1–22.
  65. Králíčková M, Laganà AS, Ghezzi F, Vetvicka V. Endometriosis and risk of ovarian

- cancer: what do we know? *Arch Gynecol Obstet*. 2019;301(1).
66. Tsuchiya A, Sakamoto M, Yasuda J, Chuma M, Ohta T, Ohki M, et al. Expression Profiling in Ovarian Clear Cell Carcinoma: Identification of Hepatocyte Nuclear Factor-1 $\beta$  as a Molecular Marker and a Possible Molecular Target for Therapy of Ovarian Clear Cell Carcinoma. *Am J Pathol*. 2003;163(6):2503–12.
  67. Kato N, Sasou SI, Motoyama T. Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary. *Mod Pathol*. 2006;19(1):83–9.
  68. Matias-Guiu X, Stewart CJR. Endometriosis-associated ovarian neoplasia. *Pathology*. 2018;50(2):190–204.
  69. Lai CR, Hsu CY, Chen YJ, Yen MS, Chao KC, Li AFY. Ovarian cancers arising from endometriosis: A microenvironmental biomarker study including ER, HNF1 $\beta$ , p53, PTEN, BAF250a, and COX-2. *J Chinese Med Assoc*. 2013;76(11):629–34.
  70. Tanase Y, Yamada Y, Shigetomi H, Kajihara H, Oonogi A, Yoshizawa Y, et al. Modulation of estrogenic action in clear cell carcinoma of the ovary (Review). *Exp Ther Med*. 2012;3(1):18–24.
  71. Chen S, Dai X, Gao Y, Shen F, Ding J, Chen Q. The positivity of estrogen receptor and progesterone receptor may not be associated with metastasis and recurrence in epithelial ovarian cancer. *Sci Rep*. 2017;7(16922).
  72. Mandai M, Yamaguchi K, Matsumura N, Baba T, Konishi I. Ovarian cancer in endometriosis: Molecular biology, pathology, and clinical management. *Int J Clin Oncol*. 2009;14(5):383–91.
  73. Heidemann LN, Hartwell D, Heidemann CH, Jochumsen KM. The relation between endometriosis and ovarian cancer - A review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2014;93(1):20–31.
  74. Cuff J, Longacre TA. Endometriosis does not confer improved prognosis in ovarian carcinoma of uniform cell type. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(5):688–95.
  75. Ayhan A, Akilli H, Haberal N. The prognostic significance of stage I ovarian clear cell and endometrioid carcinomas arising from endometriotic cysts: is it a myth? *Arch Gynecol Obstet*. 2019;299(1):217–22.
  76. Kobayashi H, Sumimoto K, Kitanaka T, Yamada Y, Sado T, Sakata M, et al. Ovarian endometrioma-Risks factors of ovarian cancer development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;138(2):187–93.
  77. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer*

- Biol Med. 2017;14(1):9–32.
78. Chen L, Wang X, Shu J, Xu S, Wu Q, Yu Y. Diagnostic value of serum D-dimer, CA125, and neutrophil-to-lymphocyte ratio in differentiating ovarian cancer and endometriosis. *Int J Gynecol Obstet*. 2019;147(2):212–8.
  79. Thomsen LH, Schnack TH, Buchardi K, Hummelshoj L, Missmer SA, Forman A, et al. Risk factors of epithelial ovarian carcinomas among women with endometriosis: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2017;96(6):761–78.
  80. Tanase Y, Kawaguchi R, Takahama J, Kobayashi H. Factors that differentiate between endometriosis-associated ovarian cancer and benign ovarian endometriosis with mural nodules. *Magn Reson Med Sci*. 2018;17(3):231–7.
  81. Taniguchi F, Harada T, Kobayashi H, Hayashi K, Momoeda M, Terakawa N. Clinical characteristics of patients in japan with ovarian cancer presumably arising from ovarian endometrioma. *Gynecol Obstet Invest*. 2014;77(2):104–10.
  82. Wang S, Qiu L, Lang JH, Shen K, Yang JX, Huang HF, et al. Clinical analysis of ovarian epithelial carcinoma with coexisting pelvic endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(5):413.e1-413.e5.
  83. Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, Junnila J, Huvila J, Kujari H, et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer*. 2009;100(8):1315–9.
  84. NICE. Endometriosis: diagnosis and management—full guideline. NICE Guideline 73. [Internet]. 2017 [cited 2020 Nov 9]. Available from: [www.nice.org.uk/guidance/ng73/evidence/full-guideline-pdf-4550371315](http://www.nice.org.uk/guidance/ng73/evidence/full-guideline-pdf-4550371315)
  85. Parker WH, Broder MS, Chang E, Farquhar C, Liu Z, Shoupe D, et al. Ovarian Conservation at the Time of Hysterectomy and Long- Term Health Outcomes in the Nurses' Health Study. *Obs Gynecol*. 2013;113(5):1027–37.
  86. Rossing MA, Cushing-Haugen KL, Wicklund KG, Doherty JA, Weiss NS. Risk of epithelial ovarian cancer in relation to benign ovarian conditions and ovarian surgery. *Cancer Causes Control*. 2008;19(10):1357–64.
  87. Kho RM, Abrao MS. Ovarian remnant syndrome: Etiology, diagnosis, treatment and impact of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2012 Aug;24(4):210–4.
  88. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, et al. ESHRE guideline: Management of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2014;29(3):400–12.