



ANDERSON PINHEIRO

**RECEPTORES DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, Ki67, Bcl-2
E Cox-2 EM PÓLIPOS ENDOMETRIAIS DE MULHERES NA PRÉ E
PÓS-MENOPAUSA E ASSOCIAÇÃO COM A OBESIDADE**

***ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS, Ki67, Bcl-2 AND
Cox-2 MARKERS IN BENIGN ENDOMETRIAL POLYPS IN PRE AND
POSTMENOPAUSAL WOMEN AND THEIR ASSOCIATION WITH OBESITY***

**CAMPINAS
2012**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

ANDERSON PINHEIRO

RECEPTORES DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, Ki67, Bcl-2
E Cox-2 EM PÓLIPOS ENDOMETRIAIS DE MULHERES NA PRÉ E
PÓS-MENOPAUSA E ASSOCIAÇÃO COM A OBESIDADE

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Lucia Helena Simões da Costa Paiva

**ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS, Ki67, Bcl-2 AND
Cox-2 MARKERS IN BENIGN ENDOMETRIAL POLYPS IN PRE AND
POSTMENOPAUSAL WOMEN AND THEIR ASSOCIATION WITH OBESITY**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Mestre em Tocoginecologia,
área de concentração em Fisiopatologia Ginecológica.*

*Dissertation submitted to the Programme of Obstetrics and
Gynecology of the Unicamp's Faculdade de Ciências Médicas
for obtaining the title of Master in Obstetrics and Gynecology in
the concentration area of Gynecologic Pathophysiology.*

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO ANDERSON PINHEIRO
E ORIENTADA PELA Prof^ª Dr^ª. LUCIA HELENA SIMOES DA COSTA PAIVA

Assinatura do Orientador

Titulação correta:

Mestre em Ciências da Saúde

Prof. Dr. Lício A. Velloso

Coordenador de Comissão de Pós-Graduação
FCM/UNICAMP
Matricula 28314-8

Campinas, 2012

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

P655r Pinheiro, Anderson, 1981 -
Receptores de estrógeno e progesterona, Ki67, Bcl-2
e Cox-2 em pólipos endometriais de mulheres na pré e
pós-menopausa e associação com a obesidade /
Anderson Pinheiro. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientadora: Lucia Helena Simoes da Costa Paiva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Pólipos adenomatosos. 2. Ciclooxigenase 2.
3. Receptores estrogênicos. 4. Antígeno Ki-67. 5. Índice
de Massa Corporal. I. Paiva, Lúcia Helena Simões da
Costa. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Estrogen and progesterone receptors, Ki67, Bcl-2 and Cox-2 markers in benign endometrial polyps in pre and postmenopausal women and their association with obesity.

Palavra-chave em inglês:

Adenomatous polyps
Cyclooxygenase 2
Receptors, estrogen
Ki-67 Antigen
Body Mass Index

Área de Concentração: Fisiopatologia Ginecológica

Titulação: Mestre em Tocoginecologia

Banca examinadora:

Lucia Helena Simoes da Costa Paiva [Orientador]
Ilza Maria Urbano Monteiro
Rodolfo Strufaldi

Data da defesa: 06-11-2012

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia



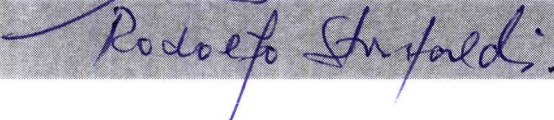
Diagramação e arte-final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: ANDERSON PINHEIRO

Orientadora: Prof^a Dr^a. LUCIA HELENA SIMÕES DA COSTA PAIVA

Membros:

1. 
2. 
3. 

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 06/11/2012

Dedico este trabalho...

*...aos meus pais, Adão e Margarida,
pelo incentivo e torcida nos caminhos trilhados;
pelo amor e carinho recebidos,
e por serem igualmente belos e admiráveis em essência.*

Agradecimentos

À Profa. Dra. Lúcia Helena Simões da Costa Paiva, grande orientadora, dedicada e presente mesmo quando podia estar aproveitando sua licença.

Ao Prof. Dr. Aarão Mendes Pinto Neto pelo apoio e ensinamentos durante a realização do trabalho.

Aos professores Dra. Liliana A. Lucci de Ângelo Andrade, Dra. Glauce Aparecida Pinto e José Vassalo pela importante contribuição na fase experimental do trabalho.

Ao pessoal do Departamento de Anatomia Patológica (HC-UNICAMP) e do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital do Câncer A.C. Camargo, pela ajuda na execução da parte experimental do trabalho.

À Sirlei, amiga e estatística, pelas horas de empenho para que este trabalho fosse finalizado.

À Rogéria, sempre disposta a ajudar mesmo quando os pedidos pareciam impossíveis.

À Vanda, que me ajudou a achar os artigos por caminhos que nem imaginaria que seriam possíveis.

À Conceição e à Marcia, que me informaram sobre os caminhos burocráticos a serem tomados.

Ao Rogério, que juntamente com os “polyp boys”, fez este trabalho acontecer.

Ao Armando, grande amigo, que me convidou para realizar este trabalho e me treinou no mundo da histeroscopia.

Ao João, companheiro de todas as horas, maior incentivador na carreira e na vida, sempre ao meu lado, em todos os momentos.

À Carol e ao Fernando, que longe e perto acompanharam o estresse na realização do trabalho.

Às minhas irmãs queridas (Andresa e Andréa) e aos meus cunhados (Marcelo e Alexandre) que entenderam quando só me restavam algumas horas para curtir a família.

Aos meus sobrinhos lindos, Gigi, Vitor e Pedro, que transformam pequenos momentos de alegria em motivo para continuar achando que a vida vale muito a pena.

Esta pesquisa recebeu apoio financeiro da
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado
de São Paulo (FAPESP) - processo número
2009/14629-2.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas.....	ix
Resumo	xi
Summary	xiii
1. Introdução.....	15
2. Objetivos.....	25
2.1. Objetivo geral	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
3. Publicação	26
4. Conclusões	51
5. Referências Bibliográficas.....	52
6. Anexos.....	61
6.1. Anexo 1 – Ficha de coleta de dados	61
6.2. Anexo 2 – Parecer da Comissão de Pesquisa DTG/Caism.....	64
6.3. Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética.....	65

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

Bcl-2 – *B cell–Lymphoma/leukemia-2 Gene*

CAISM – Centro de Atenção Integral à Saúde de Mulher

Cox-2 – Ciclo-oxigenase-2

et al. – e colaboradores

IC – intervalo de confiança

H&E – coloração hematoxilina-eosina

n – número de casos

SAS – *Statistical Analysis System*

HAS – hipertensão arterial sistêmica

p-valor – probabilidade de significância estatística

vs – *versus*

Fapesp – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

DNA – ácido desoxirribonucleico

EUA – Estados Unidos da América

FCM – Faculdade de Ciências Médicas

- IGF-1** – fator de crescimento do tipo insulina 1
- IMC** – Índice de Massa Corporal
- Ki67** – marcador do ciclo celular e crescimento tumoral
- RE** – receptor de estrogênio
- RP** – receptor de progesterona
- SHBG** – globulina carreadora de hormônios sexuais
- UNICAMP** – Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Introdução: A prevalência de obesidade tem aumentado em todo o mundo e hoje já representa um problema de saúde pública. Na população feminina, seu aumento ocorre principalmente nos anos próximos da transição para menopausa. O aumento de peso representa um risco para diversas comorbidades, dentre elas um importante fator de risco para patologia endometrial. A etiologia e a patogênese dos pólipos não estão completamente esclarecidas. Estuda-se se o desenvolvimento dos pólipos endometriais está diretamente relacionado à presença de receptores hormonais, além de estar relacionado a mecanismos envolvidos à proliferação e à apoptose celular. **Objetivos:** Avaliar a imunoexpressão dos receptores de estrógeno (RE), progesterona (RP), Cox-2, Ki67 e Bcl-2 em pólipos endometriais benignos na pré e pós-menopausa e associação com a obesidade. **Materiais e métodos:** Dentre 1050 mulheres submetidas à histeroscopia cirúrgica no Hospital da Mulher Prof. Dr. Aristodemo Pinotti – CAISM/UNICAMP, de janeiro de 1998 a dezembro de 2008, 800 foram casos de polipectomia endometrial confirmados com exame anatomopatológico. Deste total, foram excluídas as usuárias de Tamoxifeno, as que faziam uso de terapia hormonal e os casos de pólipos malignos ou pré-malignos. Obteve-se uma amostra de 515 pólipos endometriais benignos em mulheres na pré e pós-menopausa. Foram avaliadas as expressões de RE, RP, Bcl-2, Ki67 e

Cox-2, através de imuno-histoquímica, segundo a porcentagem de células coradas, intensidade da coloração e escore final. Os escores finais de RE, RP, Bcl-2, Cox-2 variam de 0 a 8 e o de Ki67 de 0 a 3. A mediana dos escores finais de RE, RP, Bcl-2, Cox-2 e Ki67 no epitélio glandular e no estroma dos pólipos foi comparada entre mulheres obesas e não obesas na pré e pós-menopausa, utilizando os testes qui-quadrado, exato de Fisher ou não paramétrico de Mann-Whitney. **Resultados:** A mediana do escore final de receptores hormonais mostrou maior expressão de RP no estroma e no epitélio glandular das mulheres obesas na pós-menopausa, sem diferença em relação à expressão dos RE. Em mulheres na pré-menopausa não houve diferença na expressão de RE e RP entre obesas e não obesas. Nos pólipos endometriais de mulheres pós-menopausadas houve maior expressão de Cox-2 e Bcl-2 no epitélio glandular das mulheres obesas do que em relação às mulheres não obesas. Não houve diferenças em relação ao estroma endometrial. Na pré-menopausa, houve maior expressão de Bcl-2 apenas no epitélio glandular das mulheres obesas. Não houve diferenças na expressão de Ki67 entre obesas e não obesas tanto na pós-menopausa quanto na pré-menopausa. **Conclusões:** Os pólipos de mulheres obesas apresentam, na pós-menopausa, maior expressão de RP glandular e estromal, Cox-2 glandular e Bcl-2 glandular, sem diferenças na expressão de Ki67. Estes dados sugerem que sua etiopatogênese dos pólipos em obesas parece estar mais relacionada aos receptores de progesterona, à inibição da apoptose e aos mecanismos relacionados à inflamação celular.

Palavras-chave: Receptor de estrogênio, Receptor de progesterona, Bcl-2, Cox-2, Ki67, pólipos endometriais, obesidade.

Summary

Introduction: The prevalence of obesity has increased worldwide and represents a public health problem nowadays. The female population, considerably presents its increase in the coming years of the transition to menopause. Weight gaining represents a risk for various comorbidities, but among them all, it is an important risk factor for the endometrial pathology. The polyps etiology and pathogenesis have not been completely clarified so far. It has been studied whether the endometrial polyps development is directly related to the presence of hormone receptors, besides being associated with mechanisms involved in the proliferation and cellular apoptosis. **Objectives:** To evaluate the immunoexpression of estrogen and progesterone receptors, Ki67, Bcl-2 and Cox-2 in benign endometrial polyps in pre and postmenopausal women and their association with obesity. **Methods:** It was observed that among 1050 women who underwent hysteroscopic surgery at the "Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti" Women's Hospital-CAISM-UNICAMP from January 1998 to December 2008, 800 were confirmed with endometrial polyp anatomopathological diagnosis. Of this total amount, it was excluded tamoxifen users, those who used hormone therapy and cases of malignant or pre-malignant polyps. It was obtained a sample of 515 benign endometrial polyps in women before and after menopause. It was also assessed the expression of ER, PR,

Bcl-2, COX-2 and Ki67 through immunohistochemistry according to stained cells percentage, staining intensity, and the final score. The ER, PR, Bcl-2, Cox-2 final score ranges from 0 to 8 and the Ki67 from 0 to 3). The ER, PR, Bcl-2, Cox-2 and Ki67 median final scores in the glandular epithelium and stroma of the polyps were compared among obese and nonobese women, in pre and postmenopausal condition, using the Chi-square Fisher's exact test or nonparametric Mann-Whitney test. **Results:** The hormonal receptors median final score has showed an increased expression of progesterone receptors in the stroma and glandular epithelium of postmenopausal obese women but there was no difference in expression of ER estrogen receptors. In premenopausal women, there was no difference in expression of ER and PR among obese and nonobese women. The endometrial polyps in postmenopausal women have showed a higher expression of Cox-2 and Bcl-2 in glandular epithelium in obese women rather than in nonobese women. There were no differences in the endometrial stroma. In premenopausal women, there was a higher expression of Bcl-2 only in the obese women glandular epithelium. There were no differences in Ki67 expression among obese and nonobese both postmenopausal and premenopausal women. **Conclusions:** Obese women polyps, in postmenopausal condition, have increased expression of glandular and stromal PR, Cox-2 and Bcl-2 glandular. However, there are no differences in the Ki67 expression . These data suggest that its etiopathogenesis in obese women polyps, seem to be related to progesterone receptors, apoptosis inhibition and also to mechanisms associated with cellular inflammation.

Key Words: Estrogen receptor, Progesteron receptor, Bcl-2, Cox-2, Ki67, Endometrial polyps, Obesity

1. Introdução

Pólipos endometriais constituem projeções localizadas do tecido endometrial, sésseis ou pediculados, únicas ou múltiplas, nas quais se observa uma distribuição irregular das glândulas, estroma hipercelular e vasos sanguíneos com paredes espessadas, recobertas por epitélio pseudoestratificado ativo ou, na pós-menopausa, por epitélio plano e inativo (1). A incidência de pólipos endometriais na população geral feminina varia de 7,8% a 34,9%, dependendo da população estudada, sendo mais frequente nos anos de transição menopausal e pós-menopausa (2-7).

Os pólipos endometriais são geralmente considerados condições benignas e são encontrados rotineiramente em peças cirúrgicas. Quando sintomáticos, geram sangramento uterino anormal, mas muitas vezes são assintomáticos. O estudo ecográfico identificou uma prevalência de 1% a 12% de pólipo em mulheres assintomáticas (2-5,8).

Os principais fatores de risco para seu desenvolvimento incluem idade, obesidade, hipertensão e o uso de Tamoxifeno (9-11). O aumento da idade

parece ser o indicador de risco mais bem documentado para pólipos endometriais (2,12,13).

Em mulheres usuárias de tamoxifeno, há maior risco de desenvolvimento de pólipos, alcançando uma prevalência de 30% a 60% (14,15), bem como uma maior associação desses pólipos com carcinomas. Em relação à terapia hormonal (TH), os dados são contraditórios se há influência da TH sobre a incidência de pólipos endometriais. Alguns estudos relatam maior prevalência de pólipos endometriais em mulheres que usam terapia hormonal (2,14,16), enquanto outros não encontram essa associação (17-20).

A obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento de pólipos endometriais e sua prevalência tem aumentado em todo o mundo, representando um problema de saúde pública, responsável pela quinta maior causa de morte direta no mundo (21-23), com cerca de 1,4 bilhão de adultos com sobrepeso e, destes, 300 milhões de mulheres obesas (21).

A prevalência de obesidade na população feminina mostra incremento em todas as idades e se acentua nos anos de transição menopausal, com máximo de índice de massa corporal (IMC) ocorrendo entre 50 e 59 anos (23,24). O aumento de peso representa um risco para diversas comorbidades (25), dentre elas, um importante fator de risco para doenças endometriais (25,26). Sabe-se que a obesidade, isoladamente, aumenta 3 a 10 vezes o risco de câncer de endométrio (25-27). Além disso, a obesidade tem sido considerada recentemente como o maior fator de risco que, se modificado,

pode prevenir câncer, não só no que tange à esfera ginecológica, mas também em relação ao câncer de cólon-reto, rim, esôfago e pâncreas (28).

O aumento de risco para câncer de endométrio pode ser explicado pelo fato de que, em mulheres obesas, os adipócitos estão metabolicamente mais ativos e os ácidos graxos liberados pela lipólise migram para o fígado. Neste órgão ocupam os receptores de insulina gerando hiperinsulinemia. Este hormônio em altas concentrações liga-se aos receptores de fatores de crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1), o que gera maior produção de androgênios. Este fato, somado à diminuição da globulina carreadora de hormônios sexuais (SHBG) ocasionada pela obesidade, provoca aumento da biodisponibilidade dos estrogênios, principalmente sob a forma de estrona (26,29). O aumento de estrogênios circulantes, além do aumento de IGF-1, apresenta efeito local no endométrio levando à proliferação endometrial, pólipos endometrial, hiperplasia endometrial e, em alguns casos, câncer de endométrio (26,29).

A obesidade cria um alto nível de estrogênios sem oposição na circulação sistêmica e quando combinado com a pós-menopausa e, em alguns casos, terapia de reposição hormonal, propicia a formação de pólipos endometriais (30).

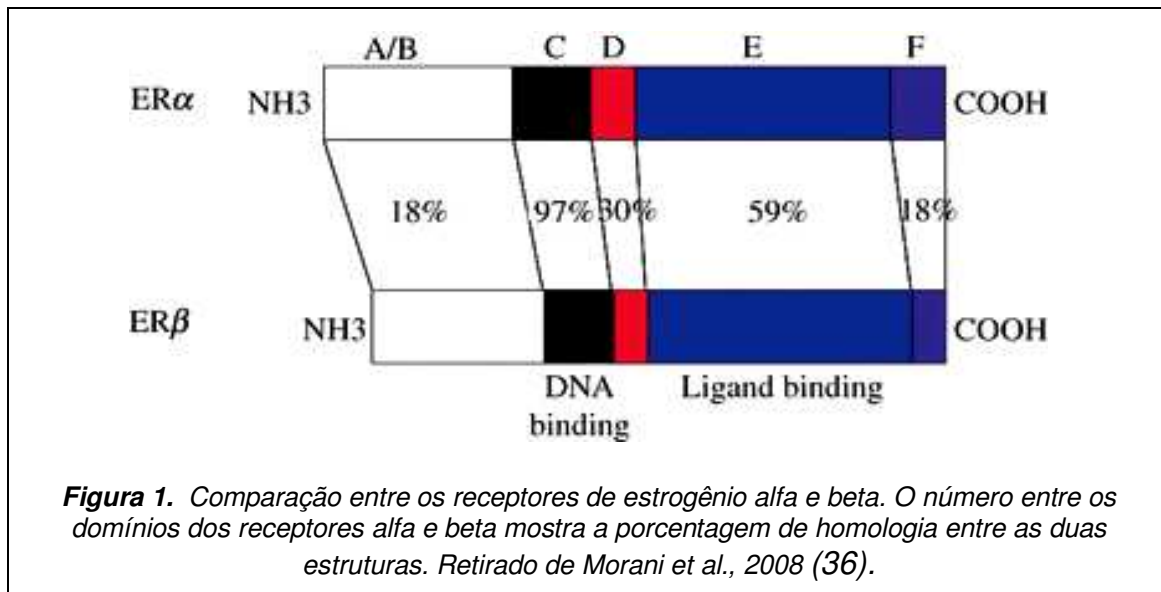
Um estudo realizado em 1999 mostrou que não somente a obesidade, mas a associação entre obesidade com idade avançada está relacionada ao desenvolvimento de pólipos endometrial (31). Além disso, a presença de outras comorbidades, como a hipertensão, também aumenta o risco de desenvolvimento de pólipos (31). A obesidade, a hipertensão e o *diabetes mellitus* apresentam

aumento de concentração sérica e endometrial de fatores de crescimento, principalmente o IGF-1, o qual pode iniciar o desenvolvimento de doenças endometriais benignas e malignas, dentre elas, pólipos e câncer endometrial (32).

A etiologia e a patogênese dos pólipos não estão completamente esclarecidas. Sabe-se que mulheres usuárias de Tamoxifeno apresentam aumento da incidência de pólipos endometriais (33,34), e há estudos que relatam que mulheres submetidas à terapia hormonal também têm aumento da incidência (2,14,16). Desta forma, fatores hormonais também parecem estar envolvidos na patogênese dos pólipos endometriais (35). Por se tratarem de doenças focais, acredita-se que receptores hormonais representam importante papel na origem e crescimento dos pólipos, em especial, receptores de estrogênio (RE), principalmente na pós-menopausa (34,35).

Os receptores de estrogênio (RE) representam uma classe de receptores que estimulam a transcrição de áreas específicas do DNA (ácido desoxirribonucleico) em elementos terminais de resposta hormonal (36,37). Existem duas isoformas de receptores de estrógeno encontrados em diversos tecidos e aparelhos no organismo, denominados receptores de estrogênio alfa (RE α) e beta (RE β). Apresentam uma estrutura com vários domínios: A,B,C,D,E,F. Como todos os receptores nucleares, eles apresentam uma típica região N-terminal composta pelo domínio A/B. O domínio C apresenta uma pequena área responsável pela ligação do DNA e, como consequência, pela dimerização dos receptores nucleares. O domínio D contém o sinal de localização nuclear e é onde a molécula se dobra, sendo responsável pela flexibilidade tridimensional entre os

domínios C e E. O domínio E é composto por 12 alfa-hélices, cuja dobra cria uma espécie de receptáculo. E, finalmente, o domínio F, o qual, como o domínio A/B apresenta grande variabilidade, parece contribuir com a atividade de transcrição. (36,37) A figura 1 mostra a porcentagem de homologia estrutural entre os domínios dos receptores de estrogênio alfa e beta (36).



Os dois tipos de receptores são encontrados em diversos tecidos do organismo. O RE α é expresso predominantemente no aparelho reprodutivo (ovários, mama e útero), sistema nervoso central e fígado. O RE β é expresso nos ossos, endotélio e tecido urogenital. No útero, o RE α promove proliferação, ao passo que o RE β tem ação pró-apoptótica e pró-diferenciação celular (36,37).

Apesar da influência hormonal, pouco se conhece da relação entre receptores hormonais e pólipos endometriais (38). A maior expressão de RE em pólipos endometriais na pós-menopausa, em relação ao observado no

endométrio atrófico, sugere uma participação do estrógeno na patogênese do pólipo endometrial como um processo hiperplásico (39).

Estudos utilizando técnicas imuno-histoquímicas têm identificado grande expressão de RE e RP no tecido do pólipo endometrial em comparação com tecidos adjacentes (35,38,40,41). Um estudo realizado por Sant'Anna de Almeida *et al* (35), em 2004, demonstrou que os pólipos na pós-menopausa apresentam expressão mais forte de RE e RP no epitélio glandular do pólipo do que no epitélio glandular do tecido endometrial adjacente. Em relação ao tecido estromal, foi verificado somente aumento da expressão de RE (35). O mesmo resultado foi encontrado por Lopes *et al.*(39), ou seja, maior expressão de receptores hormonais no epitélio glandular do que no endométrio adjacente. Já estudo apresentado por Taylor *et al.* (42), evidenciou somente aumento da expressão de RE no epitélio glandular do pólipo.

Especula-se que o aumento da expressão de receptores hormonais com alta sensibilidade poderia aumentar o potencial de ação do estrógeno estimulando a proliferação endometrial e a formação de pólipos, mesmo sem haver aumento da quantidade hormonal local (26,43).

Dois estudos compararam a expressão de receptores hormonais em pólipos na pré e pós-menopausa. O estudo de Lopes *et al.* (39), mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa na expressão de receptores hormonais em pólipos de mulheres na pré e pós-menopausa (39). Já McGurgan *et al.* (44), em 2006, mostraram que há maior expressão de receptor de

estrógeno no estroma do pólipo endometrial na pós-menopausa em relação aos pólipos retirados na pré-menopausa. Em relação ao RP, houve maior expressão no tecido glandular na pós-menopausa (44).

Belisário *et al.* (38), em estudo que envolveu 35 casos, avaliaram a relação da presença de receptores hormonais nos pólipos endometriais benignos com a obesidade. Os autores não observaram relação entre a obesidade com a expressão de receptores hormonais nos pólipos (38).

Além dos fatores hormonais, o processo de desenvolvimento de pólipos endometriais parece ter o envolvimento de mecanismos relacionados à proliferação e à apoptose celular e estes parecem estar em desequilíbrio (42,45). É provável que o pólipo endometrial deva se desenvolver por meio do aumento da divisão celular e inibição da apoptose (42). O crescimento de pólipos endometriais através desses fatores relacionados com a proliferação celular e apoptose pode ser explicado por estudos que mostram que o hiperestrogenismo pode levar ao aumento anormal de alguns fatores de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento epitelial e fator de crescimento de receptores no endométrio (16,46,47).

Um estudo realizado por McGurgan *et al.* (45), encontrou baixa expressão de Ki67 (marcador do ciclo celular e crescimento tumoral) e alta expressão de Bcl-2 (B cell-lymphoma/leukemia-2 Gene). No entanto, comparando mulheres expostas com não expostas à TH, verificou-se que há maior expressão de Bcl-2 e menor expressão de Ki67 nos pólipos das usuárias do que em pólipos de não usuárias de TH (45).

Em pólipos endometriais de mulheres após a menopausa observa-se uma maior expressão do marcador de apoptose celular Bcl-2 comparada ao tecido endometrial atrófico adjacente, o que sugere que a inibição da apoptose celular seja um mecanismo importante no desenvolvimento destas lesões. A expressão do marcador Bcl-2 é conhecida por demonstrar indiretamente o aumento da longevidade celular, inibindo a apoptose (48).

O Ki67 é um marcador de proliferação celular, encontrado em células endometriais na fase proliferativa, e em grandes concentrações nos carcinomas endometriais (49). No entanto, nos pólipos endometriais, estudos demonstraram expressão muito baixa de Ki67 (45,49). A obesidade parece também influenciar a presença de Ki67 no tecido endometrial. Villavicencio *et al.*(50), avaliaram a presença de Ki67 no tecido endometrial normal e no câncer de endométrio e a associação com obesidade. Esse estudo verificou que no endométrio normal há um aumento de 9,9 vezes na imunoexpressão de Ki67 em mulheres com sobrepeso em relação às mulheres com IMC normal. Esta diferença foi maior no grupo das obesas, com aumento da expressão de Ki67 em 12 vezes (50).

McGurgan *et al.* (44) estudaram a imunoexpressão de Bcl-2 e Ki67 nos pólipos, comparando-os na pré e pós-menopausa. Os autores observaram maior expressão de Ki67 no estroma do pólipo na pré-menopausa. As diferenças entre a expressão glandular de Ki67 e de Bcl-2 glandular e estromal na pré e pós-menopausa não foram estatisticamente significativas (44).

Outro fator que pode estar relacionado ao desenvolvimento de pólipos endometriais é a presença da enzima ciclooxigenase-2 (Cox-2). As enzimas ciclooxigenase existem em duas formas (tipos 1 e 2), e suas expressões são controladas por diferentes mecanismos nos vários tecidos. Estas enzimas levam à produção de prostaglandinas. A Cox-1 está presente na maioria dos tecidos e atua mantendo a homeostase celular. A Cox-2 quase não é produzida sob condições normais, sendo sua expressão induzida durante os processos de inflamação, proliferação e diferenciação celular (51).

É bem conhecido que a enzima Cox-2 está envolvida em diferentes etapas do processo de carcinogênese (52,53). Além disso, também tem sido detectada a presença de Cox-2 em hiperplasia e pólipo endometrial, sugerindo, deste modo, uma possível participação das prostaglandinas na sua patogênese, apesar de não estar ainda completamente esclarecida (54). No endométrio normal, a expressão da Cox-2 sofre variações durante o ciclo menstrual em resposta à flutuação dos níveis de estrógeno e progesterona. Os estrógenos são potentes estimuladores da expressão da Cox-2, enquanto que os progestágenos exercem efeito oposto, diminuindo a expressão da Cox-2 no epitélio glandular durante a fase lútea (55,56).

A presença de obesidade promove aumento da concentração de leptina, um hormônio secretado nos adipócitos. O aumento da leptina, por sua vez, provoca acréscimo da produção e da ação da ciclooxigenase-2, o qual ocasiona aumentos da angiogênese e proliferação celular (57). Estes mecanismos podem explicar o acréscimo da frequência de pólipos endometriais em mulheres obesas.

Apesar de os pólipos endometriais serem, na sua maioria, benignos, a associação entre pólipo e patologia maligna do endométrio é sugerida há várias décadas (35,58). No entanto, a taxa de malignidade nos pólipos endometriais é baixa. Uma revisão sistemática conduzida por Lieng *et al.* (59) mostrou que os pólipos malignos estiveram presentes entre 0 e 12,9% das mulheres (59). Estudo realizado por Costa-Paiva *et al.* (11) no Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - CAISM-UNICAMP mostrou que a presença de obesidade (IMC ≥ 30) esteve relacionada a um risco 2 vezes maior (razão de prevalência de 2,0 com IC95% 1,02-3,93) de malignidade nos pólipos endometriais. A taxa de malignidade encontrada nos pólipos endometriais neste estudo foi de 4,1% (11).

Além disso, aparentemente, mulheres na pós-menopausa, com hipertensão e obesidade devem ser consideradas como de maior risco para transformação carcinomatosa de pólipos endometriais (60).

Os pólipos endometriais são um problema comum nas mulheres na pós-menopausa e ainda mais frequentes em mulheres obesas. A obesidade parece ser um fator de risco não somente para o desenvolvimento dos pólipos, mas também para maior risco de malignidade dessas lesões. O efeito do peso na patogênese dos pólipos e sua relação com os estrógeno e progesterona, e com os processos de apoptose, proliferação e inflamação ainda são pouco conhecidos e conflitantes. Estudar a expressão de receptores hormonais, dos marcadores Bcl-2, Ki67 e da enzima Cox-2 poderá contribuir para um melhor conhecimento do processo de formação e evolução dessas lesões endometriais em mulheres obesas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a imunexpressão dos receptores de estrógeno, progesterona, Bcl-2 Cox-2 e Ki67 em pólipos endometriais benignos de mulheres na pré-menopausa e pós-menopausa e associação com a obesidade.

2.2. Objetivos específicos








- Comparar a imunexpressão de RE e RP em pólipos endometriais benignos de mulheres obesas e não obesas na pré e pós-menopausa.
- Comparar a imunexpressão de Bcl-2 Cox-2, e Ki67 em mulheres obesas e não obesas, na pré e pós-menopausa.

3. Publicação

Submissions Being Processed for Author Lucia Helena Costa-Paiva, PhD

1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.

 Action 	Manuscript Number 	Title 	Initial Date Submitted 	Status Date 	Current Status 
Action Links	AANAT1235	Expression of hormone receptors, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in benign endometrial polyps and association with obesity.	Jul 25, 2012	Jul 26, 2012	Under Review

1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.

Expressão de receptores hormonais, Bcl-2, Cox-2, Ki67 em pólipos endometriais benignos e associação com obesidade

Expression of hormone receptors, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in benign endometrial polyps and association with obesity

Autores

Pinheiro A, Antunes A Jr., Andrade LLA, De Brot Louise, Pinto-Neto AM, Costa-Paiva L

Autor para correspondência:

Lucia Costa-Paiva

Endereço: Rua Alexander Fleming, 101 CEP : 13083-881

Cidade Universitária, SP, Brasil

email: paivaepaiva@uol.com.br

Expression of hormone receptors, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in benign endometrial polyps and association with obesity

Summary

Objective: To evaluate the immunoexpression of estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR), Bcl-2, Cox-2 and Ki67 in benign endometrial polyps and association with obesity. **Methods:** We studied 515 pre- and postmenopausal women undergoing hysteroscopy with histological diagnosis of benign polyps. We compared the immunohistochemical expression of ER, PR, Bcl-2, Cox-2 and Ki67 among obese and nonobese women. **Results:** The median final score showed a higher expression of PR in the stroma and glandular epithelium of obese women after menopause. In this group there was no difference in relation to ER. Among premenopausal women, we found no difference in the expression of hormone receptors. In postmenopausal women, the immunoexpression of Cox-2 and Bcl-2 in the glandular epithelium was higher in obese than in nonobese women. Among premenopausal women, obese women showed a greater expression of Bcl-2 in the glandular epithelium than non-obese women. There were no differences in Ki67 expression between obese and non-obese women. **Conclusions:** The polyps of obese women have higher expression of glandular and stromal PR, glandular Cox-2 and glandular Bcl-2. These data suggest that the etiopathogenesis of polyps in obese women appears to be related to progesterone receptors, inhibition of apoptosis and cellular mechanisms associated with inflammation.

Keywords: estrogen receptor, progesterone receptor, Bcl-2, Cox-2, Ki67, endometrial polyps, obesity

Introduction

Obesity is currently a public health problem worldwide, in women showing an increase mainly during the late menopausal transition (WHO, 2012; Utian, 2008). Weight gain is a risk factor for various comorbidities, among them endometrial pathology (Gouveia, 2007).

The incidence of endometrial polyps in the general female population ranges from 7.8% to 34.9% depending on the population studied, most frequently in the years of menopausal transition (Anastasiadis, 2000; Dreisler, 2009; Baiochi, 2009; Lieng, 2009). The etiology and pathogenesis of polyps are not completely understood; however, it is believed that the presence of hormone receptors are directly related to the physiopathology of endometrial polyps (Sant'Anna, 2004). Obesity has been identified as a risk factor for endometrial polyps (Soliman, 2006; Gouveia 2007; Oguz, 2005; Onalan, 2009); however, little is known of the relationship between hormone receptors in polyps and obesity.

Studies using immunohistochemical techniques have identified high expression of estrogen receptors (ER) and progesterone receptors (PR) in endometrial polyp tissue compared with adjacent endometrium (Belisário, 2006; McGurgan, 2006-a). Studying the relationship of hormone receptors with obesity, Belisario et al. (2006) found that in normal endometria there is an inverse relationship between glandular expression of ER and BMI (body mass index) but no difference was found between ER and PR expression in endometrial polyps in obese and non-obese women (Belisário, 2006).

Besides the influence of hormonal factors, endometrial polyps seem to have two integrated components, proliferation and apoptosis. Bcl-2, considered

an inhibitor of apoptosis, plays an important role in the increased expression and consequently loss of the apoptotic activity (McGurgan, 2006-a). In postmenopausal women, there is greater expression of Bcl-2 in endometrial polyps compared to adjacent atrophic endometrial tissue, suggesting that inhibition of apoptosis is an important mechanism in the development of polyps (Inceboz,2006).

Ki67 is a marker of cell proliferation, found in endometrial cells in the proliferative phase, and in high concentrations in endometrial carcinomas (Risberg, 2002). However, in endometrial polyps, studies have demonstrated very low expression of Ki67 (Mcgurgan, 2006; Risberg, 2002).

Another factor that may be related to the development of endometrial polyps is the presence of the enzyme cyclooxygenase-2 (Cox-2). This enzyme is not produced under normal conditions, and is found only in inflammation, proliferation, and cell differentiation (Tokyol, 2009). The expression of Cox-2 has been observed in hyperplasia and endometrial polyps, thus suggesting a possible role of prostaglandins in its pathogenesis (Maia, 2006).

Increasing levels of Cox-2 and Ki67 seem to be related to obesity. Gao et al. (2009) in their study showed that increase in the concentration of leptin due to obesity causes an increase in production and action of Cox-2, which, in turn, causes an increase in angiogenesis and cell proliferation. This mechanism could also explain the increased frequency of endometrial polyps in obese women (Gao, 2008). Villavicencio et al. (2010) found in their study that the immunohistochemical expression of Ki67 in the endometrium was 9.9 times higher in overweight women and 12 times higher in obese women compared with women with a normal BMI (Villavicencio, 2010).

Obesity seems to be a risk factor not only for the development of polyps (Onalan, 2009; Oguz, 2005), but also for an increased risk of malignancy of these lesions (Gregoriou, 2009). The effects of weight in the pathogenesis of polyps and their relationship with estrogen and progesterone, and the processes of apoptosis, proliferation, and inflammation are still unclear and conflicting. Knowing the mechanisms involved in the development of these lesions may contribute to a better understanding of the process of formation and evolution of endometrial polyps in obese women. The objective of this study is to determine the expression of ER, PR, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in benign endometrial polyps in pre- and postmenopausal women and their association with obesity.

Subjects and methods

A cross-sectional study was conducted at the Women's Hospital of Professor Dr. Jose Aristodemo Pinotti—CAISM/Unicamp, having been approved by the Committee of Ethics in Research of the University of Campinas under number 092/2011. According to information from the computerized database of this institution, 1,050 women underwent surgical hysteroscopy for endometrial polypectomy from January 1998 to December 2008.

Polyps were confirmed in 800 women by pathologists at the Department of Pathology, School of Medical Sciences (FCM) at Unicamp. Users of tamoxifen and current users of hormone therapy were excluded from the study, as were cases of premalignant or malignant polyps, leaving 515 cases in the sample. Clinical, pathological, and hysteroscopy data were obtained from medical records.

The clinical features observed were age, postmenopausal bleeding, presence of hypertension, obesity, and diabetes mellitus.

The surgical hysteroscopy was performed by a gynecologist with the patient under spinal anesthesia. A 10 mm Karl Storz® monopolar resectoscope electrode with a loop was used for the procedure. A glycine solution (1.5%) was used for distention of the uterus. The endocervical canal and uterine cavity were evaluated.

The construction of the TMA (tissue microarray) was prepared according to standard technique at the Laboratory of Immunohistochemistry, Department of Pathology Cancer Hospital A. C. Camargo—Sao Paulo. Monoclonal antibodies were used for ER, PR, Bcl-2 and Ki67, and polyclonal antibody to Cox-2.

Reading Immunohistochemistry

The TMA reading was done manually by conventional optical microscopy by a single experienced pathologist. Electronic reading was decided against due to the samples' prolonged time in storage; a pathologist's reading brings greater sensitivity to the study. The expression of ER and PR (figure 1) markers and of proliferation (Ki67), apoptotic (Bcl-2), and cyclooxygenase-2 (COX-2) were evaluated in the stromal and glandular epithelial tissue. This receptor expression was evaluated by a semi-quantitative method of nuclear reaction for ER, PR, and Ki67, and by cytoplasmic reaction for Cox-2 and Bcl-2, by analysis of the percentage of stained cells, nuclear staining intensity, and the final score (Harvey, 1999).

The percentage of stained cells was estimated visually and classified as follows: grade 0: no cells stained; grade 1: <1% of cells stained; grade 2: 1-10%; grade 3: 11-33%; grade 4: 34-66%; grade 5: >66%. The intensity of staining was

also assessed, and graded on the following scale: grade 0: negative; grade 1: weak reaction; grade 2: moderate; and grade 3: severe (Harvey,1999). The sum of the positivity and intensity resulted in the final score, which ranged between 0-8 (excluding value 1). Ki67 expression was evaluated by immunohistochemistry on a scale of 0 to 3 + categorized as follows: Score 0: <10% of cells showing positivity; score 1 +: 11-50%; score 2 +: 51 to 80%; score 3 +: >80%. Samples containing >10% ki67 positive cell nuclei were scored as Ki67-positive, those with ≤10% as Ki67-negative (Stuart-Harris, 2008; Dowsett, 2011). We used appropriate positive and negative controls.

Statistical Analysis

Clinical characteristics were compared using the chi-square test, Fisher's exact test, or the nonparametric Mann-Whitney test. For comparison of median of ER, PR, Bcl-2, Cox-2, and Ki67 in the glandular epithelium and stroma, we used the nonparametric Mann-Whitney test. The data were analyzed separately for postmenopausal and premenopausal women. The SAS (Statistical Analysis System), version 9.2, was used for calculations. The significance level was $p < 0.05$.

Results

Polyps were analyzed from 515 women, who were divided into two groups according to BMI. Group 1 included women who were obese; i.e., whose BMI was greater than or equal to 30 (258 women). Group 2 comprised non-obese women, with BMI below 30 (257 women). The average age among non-obese women was 53.8 years, while the obese group averaged 58.7 years old

($p < 0.0001$). The mean, median, and standard deviation of age, age at menopause, height, and weight of the women studied are shown in table 1. Postmenopausal women were also more prevalent in the obese group. There was a higher frequency of high blood pressure (hypertension) and diabetes mellitus (DM) in the group of obese women (Table 2). Figure 2 is a graph showing the differences between the groups of obese and non-obese women.

With regards to hormone receptors, comparison of the median final score between the two groups showed a higher expression of PR in the stroma and glandular epithelium among obese postmenopausal women. However, no differences in the expression of ER were found among obese and non-obese women. Among premenopausal women, no difference in expression of ER and PR was found between those in the obese and non-obese groups (Table 3).

A comparison of the expression of Cox-2 and Bcl-2 in endometrial polyps obtained the following results. Among post-menopausal women, obese women showed increased expression of both Cox-2 and Bcl-2 in glandular epithelium compared with non-obese women. Among premenopausal women, obese women showed only an increased expression of Bcl-2 in the glandular epithelium. No other differences were found in relation to the endometrial stroma (Table 4).

Regarding the expression of Ki67, no statistically significant differences were found among both obese and non-obese postmenopausal (glandular positive expression in 26% (obese) vs. 17% (non-obese) $p = 0.057$ and stroma 2,5% (obese) vs. 2,7% (non-obese) $p = 1.0$) or premenopausal women (glandular positive expression in 26% (obese) vs 39% (non-obese) $p = 0.09$ and stroma in 13% (obese vs. 16% (non-obese) 16% vs. 13% $p = 0.52$) (data not shown in table).

Discussion

The pathogenesis of endometrial polyps is still poorly understood and few studies have evaluated its relationship with obesity. This study was conducted to evaluate the influence of obesity on hormone receptor expression, markers of proliferation and apoptosis (Ki67 and Bcl-2), and the enzyme COX-2 in benign endometrial polyps among pre- and postmenopausal women.

Obesity characterized by increased peripheral aromatization of androgens to estrogens in adipose tissue seems to be associated with estrogenic state-inducing endometrial abnormalities and appears to be an important factor which may play a role in the pathogenesis of endometrial polyps (Oguz, 2005). To the best of our knowledge, there are no studies in the literature that have evaluated the hormonal receptors in endometrial polyps in obese women and this relationship seems quite complex. Regarding ER, we find, as in other studies (Belisário, 2006; Lopes, 2007), a high expression of ER in the polyps. However, when comparing the expression of ER, the results showed no differences between obese and non-obese pre- and postmenopausal women. This finding is in agreement with the recent study by Belisario et al. that evaluated 35 cases of polyps and atrophic endometrial tissue samples from postmenopausal women, which also found no relationship between the expression of ER in polyps and BMI (Belisário, 2006). The authors found an inverse relationship between BMI and the expression of ER in atrophic endometrial glands. Belisario then suggested that increased serum levels of estrogen found in obese women could decrease the expression of ER in the atrophic endometrium, but not in endometrial polyps.

Our results showed increased expression of PR in endometrial polyps of obese postmenopausal women, in both the stromal and glandular epithelia. The study of Gul et al. (2010) observed increased expression of stromal PR associated with increased estrogen levels in plasma; this could reflect the greater effect of estrogen levels in obese women, as estrogens stimulate the formation of PR (Gul, 2010). On the other hand, when we directly interrogated the expression of PR and its association with BMI, we did not observe differences between obese and non-obese women. These results were similar to those obtained by other studies (Belisário, 2006; Gul, 2010).

The Ki67 antigen is present exclusively in proliferating cells, and acts as a marker that determines the growth fraction of cell proliferation. In this study, the expression of Ki67 was low with no difference between obese and non-obese women. In 2010, Villavicencio et al. studied the presence of this marker in normal endometrial tissue as well as in endometrial cancer, and found that obese women showed a higher expression of Ki67 than non-obese women, with a significant increase of Ki67 in endometrial cancer tissues (Villavicencio, 2010). Based on the results of this study, we expected to find a higher concentration of Ki67 in polyps from obese women, which would help explain why obese women are more likely to develop endometrial pathologies, including endometrial polyps. However, in our study, we found a low Ki67 expression in endometrial polyps, with no differences between obese and non-obese women. We found no study in the literature that directly assessed the presence of Ki67 in endometrial polyps and its relationship with BMI.

It is known that the expression of Bcl-2 prolongs the life of the cell by inhibiting apoptosis. In the present study, we observed greater expression of Bcl-2 in the glandular epithelium of polyps from both pre- and postmenopausal obese women. We found no differences in stromal tissue within this group. These results are in agreement with other authors, who found that the polyps show low Ki67 expression and increased expression of Bcl-2 (McGurgan, 2006-b; Taylor, 2003), supporting the theory that the development of polyps is more closely related to a decrease in apoptosis than it is to increased cell division (McGurgan, 2006-b; Taylor,2003). Other studies have also shown an increased expression of Bcl-2 in glandular epithelium of endometrial lesions, especially in hyperplasia and endometrial cancer (Amalinei, 2011). This suggests that the expression of Bcl-2 in the endometrial glands may play an important role in the early stages of endometrial carcinogenesis (Amalinei, 2011), and that it may also bear some relationship to obesity, which is considered a risk factor for endometrial cancer.

In this study we evaluated polyps in pre-and postmenopausal women and observed the greatest expressions of the RP gland, stroma, Cox-2, and Bcl-2 in glandular polyps in obese postmenopausal women. There was no difference in hormone receptor expression between premenopausal obese and non-obese women, except for Bcl-2 in glandular tissue. Moreover, McGurgan (2006) compared endometrial polyps in pre- and post-menopausal women and found that there was greater expression of stromal ER and glandular PR in the postmenopausal and of stromal Ki67 in the premenopausal, with no difference in the expression of Bcl-2 between pre-and post-menopause. The authors note these findings further strengthen the hypothesis that endometrial polyps develop not from an

increase in cell proliferation but from a decrease in cell death through apoptosis, but the exact mechanism of this remains unknown (McGurgan 2006-b). Gul (2010) found increased expression of progesterone receptors in the stroma of the polyp in premenopausal patients. ER did not differ statistically (Gul 2010). These findings are disparate to that found in our study, whose highest expression was demonstrated in polyps of postmenopausal women.

Comparing the presence of Cox-2 in polyps in pre-and post-menopausal women, Erdemoglu found increased expression of stromal Cox-2 in polyps in premenopausal women. There was no difference in the glandular region of the polyp (Erdemoglu 2008). This finding is contrary to that found in our study, which found increased expression of Cox-2 in glandular epithelium in postmenopausal polyps.

As in other studies, we also observed a high expression of Cox-2 in endometrial polyps (Erdemoglu, 2011). Our study found a higher expression of Cox-2 in glandular epithelium of polyps in postmenopausal obese women compared with non-obese women. This difference was not found in the stromal tissue or in tissue samples from premenopausal women. One possible explanation for these results may be due to the increase in leptin, a hormone secreted by adipocytes, which causes an increase in production and action of Cox-2. This, in turn, increases cell proliferation and angiogenesis (Gao, 2008). We could not find any study that specifically assesses the expression of Cox-2 in polyps and its relationship with obesity. However, this relationship between increased leptin, obesity, and increased expression of endometrial Cox-2 has been confirmed in studies of women with endometrial cancer (Gao,2008). Adipose tissue is now

considered an active endocrine organ that produces several humoral factors which promote the release of proinflammatory cytokines (adipokines). These cytokines, in obesity, contribute to the systemic inflammatory process that we see in the metabolic syndrome (Nishimura,2009).

Clinical evaluation of women in the study showed that obese women have a higher prevalence of hypertension and diabetes, suggesting the possible influence of inflammatory factors in these patients. This may provide a potential explanation for our results that showed higher expression of Cox-2 in polyps of obese postmenopausal women.

We have not found other studies considering the role of obesity alongside the parameters we evaluated in benign endometrial polyps. The differences between the results of the several studies (Taylor, 2003; Sant'Anna 2004; Inceboz 2006; Belisario 2006) that investigated immunohistochemistry in endometrial polyps may be explained by differences in the populations studied, ours being the only study that explicitly evaluated polyps in both obese and non-obese women. Furthermore, most earlier studies only considered a small sample, while in the present study we assessed a significantly greater number of cases. The semi-quantitative nature of our method may have also contributed to the different results between studies, depending on the criteria used.

In conclusion, our data suggest that the polyps of obese women may have a pathogenesis that could account for differences in some aspects of the development of polyps in general, including a greater influence of hormone receptors (PR), inhibition of apoptosis (as evidenced by Bcl-2), inflammation (COX-2), and proliferation (Ki67).

Referências

1. Amalinei C, Cianga C, Balan R, Cianga P, *et al.* Immunohistochemical analysis of steroid receptors, proliferation markers, apoptosis related molecules, and gelatinases in non-neoplastic and neoplastic endometrium. *Ann Anat.* 2011; 193: 43-55.
2. Anastasiadis PG, Koutlaki NG, Skaphida PG, Galazios GC, Tsikouras PN, Liberis VA. Endometrial polyps: Prevalence, detection, and malignant potential in women with abnormal uterine bleeding. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2000; 21: 180-183.
3. Baiocchi G, Mancini N, Pazzaglia M, Giannone L, Burnelli L, Giannone E, *et al.* Malignancy in endometrial polyps: A 12-year experience. *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Nov; 201(5): 462.e1-4
4. Belisário M, Vassallo J, Andrade L, Alvarenga M, Pinto G, Monteiro I. The expression of the hormone receptors in the endometrium and endometrial polyps in postmenopausal women and its relationship to body mass index. *Maturitas.* 2006 Jan; 53(1): 114-8.
5. Dreisler E, Stampe Sorensen S, Ibsen PH, Lose G. Prevalence of endometrial polyps and abnormal uterine bleeding in a Danish population aged 20-74 years. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 33: 102–108.
6. Dowset M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes C, Cuzick J, Ellis M, Henry LN, Hugh JC, Lively T, McShane L, Paik S, Penault-Llorca F, Prudkin

- L, Regan M, Salter J, Sortiriou C, Smith IE, Viale G, Zujewski JA, Hayes DF. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Recommendation from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Nov 16; 103(22): 1656-64.
7. Erdemoglu E, Güney M, Karahan N, Mungan T. Expression of cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in premenopausal and postmenopausal endometrial polyps. *Maturitas.* 2008 Mar 20; 59(3): 268-74.
 8. Gao J, Tian J, Lv Y, Shi F, Kong F, Shi H, *et al.* Leptin induces functional activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells. *Cancer Sci.* 2009 Mar; 100(3): 389-95. Epub 2008 Dec 16.
 9. Gouveia DA, Bahamondes L, Aldrighi JM, Tamanaha S, Ribeiro AL, Aoki T. Prevalence of endometrial injury in asymptomatic obese women. *Rev Assoc Med Bras.* 2007 Jul-Aug; 53(4): 344-8.
 10. Gregoriou O, Konidaris S, Vrachnis N, Bakalianou K, Salakos N, Papadias K, Kondi-Pafiti A, Creatsas G. *Climacteric.* 2009 Oct; 12(5): 454-8.
 11. Gul A, Ugur M, Iskender C, Zulfikaroglu E, Ozaksit G. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps and its relationship to clinical parameters. *Arch Gynecol Obstet.* 2010 Mar; 281(3): 479-83. Epub 2009 Jun 9.

12. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 1474-81.
13. Inceboz US, Nese N, Uyar Y, Ozcakil HT, Kutul O, Baytur YB *et al.* Hormone receptor expressions and proliferation markers in postmenopausal endometrial polyps. *Gynecol Obstet Invest* 2006; 61 (1): 24-8.
14. Lieng M, Istre O, Sandvik L, Qvigstad E. Prevalence, 1-year regression rate, and clinical significance of asymptomatic endometrial polyps: Cross-sectional study. *J Minim Invasive Gynecol.* 2009; 16: 465–71.
15. Lopes RG, Baracat EC, de Albuquerque Neto LC, Ramos JF, Yatabe S, Depesr DB, *et al.* Analysis of estrogen- and progesterone-receptor expression in endometrial polyps. *J Minim Invasive Gynecol.* 2007 May-Jun; 14(3): 300-3.
16. Maia H Jr, Pimentel K, Silva TM, Freitas LA, Zausner B, Athayde C, *et al.* Aromatase and cyclooxygenase-2 expression in endometrial polyps during the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol* 2006; 22: 219-24.
17. McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, O'Donovan PJ. An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from postmenopausal women exposed and not exposed to HRT. *Maturitas* 53 2006-a, 454-461.
18. McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, O'Donovan PJ. Are endometrial polyps from pre-menopausal women similar to post-menopausal women? An

- immunohistochemical comparison of endometrial polyps from pre- and postmenopausal women. *Maturitas*. 2006 Jun 20; 54(3): 277-84. Epub 2006-b Jan 18.
19. Nishimura S, Manabe I, Nagai R. Adipose Tissue in Obesity and Metabolic Syndrome. *Discov Med*. 2009 Aug; 8(41): 55-60.
 20. Onalan R, Onalan G, Tonguc E, Ozdener T, Dogan M, Mollamahmutoglu L. Body mass index is an independent risk factor for the development of endometrial polyps in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2009 Apr; 91(4): 1056-60.
 21. Oguz S, Sargin A, Kelekci S, Aytan H, Tapisiz OL, Mollamahmutoglu L. The role of hormone replacement therapy in endometrial polyp formation. *Maturitas*. 2005; 50: 231–236.
 22. Risberg B, Karlsson K, Abeler V, Lagrelius A, Davidson B, Karlsson M. Dissociated expression of Bcl-2 and Ki67 in endometrial lesions: diagnostic and histogenic implications. *Int J Gynecol Pathol* 2002; 21: 155-60.
 23. Sant'Ana de Almeida E, Nogueira A, Candido dos Reis F, Zambelli Ramalho L, Zucoloto S. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps and adjacent endometrium in postmenopausal women. *Maturitas*. 2004 Nov; 49(3): 229-33.
 24. Soliman PT, Wu D, Tortolero-Luna G, Shmeler KM, Slomovitz BM, Bray MS, Gerhenson DM, Lu KH. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer*. 2006 Jun 1: 106(11): 2376-81

25. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008; 17 (4): 323-334.
26. Taylor LJ, Jackson TL, Reid JG, Duffy SR. The differential expression of oestrogen receptors, progesterone receptors, Bcl-2 and Ki67 in endometrial polyps. *BJOG*. 2003 Sep; 110 (9): 794-8.
27. Tokyol C, Aktepe F, Dilek FH, Sahin O, Arioz DT. Expression of cicloxygenase-2 and matrix metalloproteinase-2 in adenomyosis and endometrial polyps and its correlation with angiogenesis. *Int j Gynecol Pathol* 2009; 28(2): 148-56.
28. Utian WH, Archer DF, Bachmann GA, Gallagher C, Grodstein F, Heiman JR, *et al*. North American Menopause Society. Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: July 2008 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2008 Jul-Aug; 15: 584-602.
29. Villavicencio A, Aguilar G, Argüello G, Dünner C, Gabler F, Soto E, *et al*. The effect of overweight and obesity on proliferation and activation of AKT and ERK in human endometria. *Gynecol Oncol*. 2010 Apr; 117(1): 96-102. Epub 2010 Jan 13.
30. World Health Organization (WHO). Obesity and overweight. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets>. May 2012.

Table 1: Clinical characteristics of women studied

Label	N	Mean	Std Dev	Median	Minimum	Maximum
Age	514	56.25	11.29	57	24	99
Menopause'S Age	251	49.24	5.22	50	33	68
Height	515	1.55	0.07	1.55	1.36	1.75
Weight	515	73.57	14.92	72	43	135

Table 2: Clinical characteristics of obese and non-obese women who underwent hysteroscopic polypectomy (n = 515)

	OBESITY				p*
	BMI ≥ 30		BMI < 30		
	n	%	n	%	
Menopausal status (n= 515)					< 0.0001
Menopause	204	79.10	150	58.40	
Premenopause	54	20.90	107	41.60	
HT (n=511)					0.294
Past users	15	5.90	21	8.20	
Never used	241	94.10	234	91.80	
Post-menopausal bleeding (n=354)**					0,108
Yes	88	44,2	52	35.6	
No	111	55,8	94	64.4	
Hypertension (n=514)					< 0.0001
Yes	191	74.00	107	41.80	
No	67	26.00	149	58.20	
Diabetes mellitus (n=513)					0. 0002
Yes	71	27.60	36	14.10	
No	186	72.40	220	85.90	

*Chi-square or Mann-Whitney test

**In 9 cases there was no information in the medical record.

Table 3: Median final score of ER and PR in glandular epithelium and stroma of endometrial polyps in postmenopausal women and premenopausal women in obese and non-obese groups

Final score	OBESITY												Valor-p
	BMI ≥ 30						BMI < 30						
	N*	Means	SD	median	min	max	N*	mean	SD	median	Min	max	
Postmenopausal													
Glandular ER	199	6.1	2.6	7	0.0	8.0	147	5.7	2.8	7	0.0	8.0	0.1394
Estromal ER	199	5.6	2.7	7	0.0	8.0	150	5.2	2.9	6	0.0	8.0	0.3286
Glandular PR	201	7	1.7	8	0.0	8.0	143	6.3	2.5	7	0.0	9.0	0.0057
Estromal PR	201	5.7	2	6	0.0	8.0	146	4.8	2.3	5	0.0	8.0	< 0.0001
Premenopausal													
Glandular ER	53	6	2.6	7	0.0	8.0	107	6.3	2.4	7	0.0	8.0	0.997
Estromal ER	54	5.6	2.6	7	0.0	8.0	107	5.7	2.4	7	0.0	8.0	0.9694
Glandular PR	53	6.3	2.2	7	0.0	8.0	106	6.1	2.6	7	0.0	8.0	0.962
Estromal PR	54	6.6	1.3	7	3.0	8.0	107	6.6	1.8	7	0.0	8.0	0.4095

* "N" is variable because the reading of immunohistochemical reactions of a few cases was compromised by the attachment of the samples in the construction of TMA.

** Mann-Whitney test

Table 4: Median final score of COX-2, Bcl-2 in glandular epithelium and stroma of endometrial polyps in postmenopausal and premenopausal women in obese and non-obese groups

Final score	OBESITY												Valor-p
	BMI ≥ 30						BMI < 30						
	N*	Means	SD	median	min	max	N*	mean	SD	median	Min	max	
Postmenopausal													
Glandular COX-2	201	5.4	2.2	6	0.0	8.0	145	5	2.3	5	0.0	8.0	0.0187
Estromal COX-2	201	1.2	2.1	0	0.0	8.0	146	1,1	2	0	0.0	7.0	0.5886
Glandular BCL-2	201	4.2	2.5	5	0.0	8.0	142	3	2.5	3	0.0	8.0	< 0.0001
Estromal BCL-2	201	1	1.9	0	0.0	8.0	144	1,4	2.2	0	0.0	8.0	0.1975
Premenopausal													
Glandular COX-2	54	5.5	1.9	6	0.0	8.0	105	6	1.7	6	0.0	8.0	0.0807
Estromal COX-2	54	1.8	2.5	0	0.0	7.0	105	2,3	2.8	0	0.0	8.0	0.2379
Glandular BCL-2	53	3.3	2.4	4	0.0	8.0	103	2,2	2.5	0	0.0	8.0	0.0104
Estromal BCL-2	53	1.8	2.4	0	0.0	7.0	103	1,4	2.1	0	0.0	7.0	0.2594

* "N" is variable because the reading of immunohistochemical reactions of a few cases was compromised by the attachment of the samples in the construction of TMA.

** Mann-Whitney test

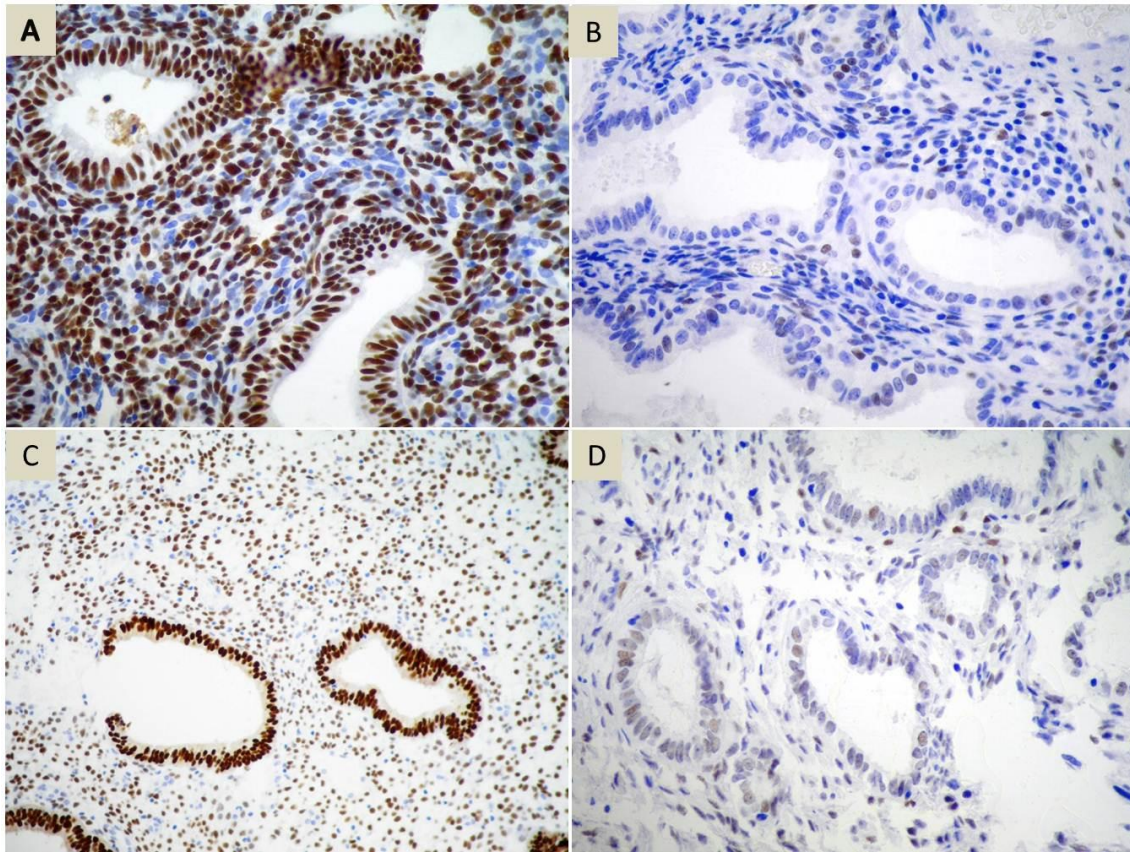


Figure 1. Immunoexpression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps. (a) Strongly positive immunostaining of RE in glandular epithelium and stroma (40x) (b) Negative immunostaining for ER in glandular epithelium (40x) (c) Positive immunostaining of RP in glandular epithelium (40x) (d) Negative immunostaining RP in glandular epithelium (40x).

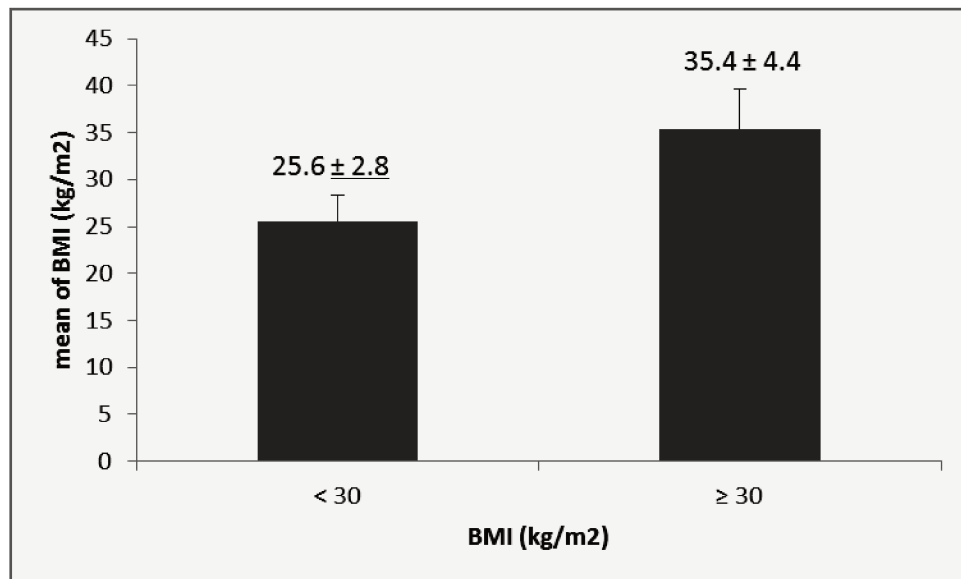


Figure 2. Mean and standard deviation of BMI between obese and non-obese women.

4. Conclusões

- Em mulheres na pós-menopausa há maior expressão de RP no estroma e no epitélio glandular das mulheres obesas comparadas às não obesas, sem diferença em relação à expressão dos RE. Nas mulheres na pré-menopausa, não houve diferença na expressão de RE e RP entre obesas e não obesas.
- Em mulheres na pós-menopausa houve maior expressão de Cox-2 e Bcl-2 no epitélio glandular das mulheres obesas comparadas a mulheres não obesas. Não houve diferenças em relação ao estroma endometrial. Na pré-menopausa, houve maior expressão de Bcl-2 apenas no epitélio glandular das mulheres obesas. Não houve diferenças na expressão de Ki67 entre obesas e não obesas, tanto na pós-menopausa quanto na pré-menopausa.

5. Referências Bibliográficas

1. Kurman RL, Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 5th edition. New York: Springer Verlag; 2002. p.448-50.
2. Dreisler E, Stampe Sorensen S, Ibsen PH, Lose G. Prevalence of endometrial polyps and abnormal uterine bleeding in a Danish population aged 20-74 years. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33: 102–8.
3. Haimov-Kochman R, Deri-Hasid R, Hamani Y, Voss E. The natural course of endometrial polyps: Could they vanish when left untreated? *Fertil Steril.* 2009;92:828.e11–828.e12.
4. Fabres C, Am V, Balmaceda J, Zegers-Hochschild F, Mackenna A, Fernandez E. Comparison of ultrasonography and hysteroscopy in the diagnosis of intrauterine lesions in infertile women. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1998;5:375–8.
5. Anastasiadis PG, Koutlaki NG, Skaphida PG, Galazios GC, Tsikouras PN, Liberis VA. Endometrial polyps: prevalence, detection, and malignant potential in women with abnormal uterine bleeding. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2000;21:180-3.

6. Ben-Arie A, Goldchmit C, Laviv Y, Levy R, Caspi B, Huszar M,. The malignant potential of endometrial polyps. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;115 (2):206-10.
7. Baiocchi G, Mancini N, Pazzaglia M, Giannone L, Burnelli L, Giannone E *et al.* Malignancy in endometrial polyps: a 12-year experience. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(5):462.e1-4.
8. Lieng M, Istre O, Sandvik L, Qvigstad E. Prevalence, 1-year regression rate, and clinical significance of asymptomatic endometrial polyps: cross-sectional study. *J Minim Invasive Gynecol.* 2009;16:465–71.
9. Cohen I. Endometrial pathologies associated with postmenopausal tamoxifen treatment. *Gynecol Oncol.* 2004;94:256–66.
10. Onalan R, Onalan G, Tonguc E, Ozdener T, Dogan M, Mollamahmutoglu L. Body mass index is an independent risk factor for the development of endometrial polyps in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2009;91:1056–60.
11. Costa-Paiva L, Godoy CE Jr, Antunes A Jr, Caseiro JD, Arthuso M, Pinto-Neto AM. Risk of malignancy in endometrial polyps in premenopausal and postmenopausal women according to clinicopathologic characteristics. *Menopause.* 2011 Dec;18(12):1278-82.
12. Sharma M, Taylor A, Magos A. Management of endometrial polyps:a clinical review. *Rev Gynaecol Pract.* 2004; 4:1-6.

13. Nappi L, Indraccolo U, Di Spiezio Sardo A, Gentile G, Palombino K, Castaldi MA, *et al.* Are diabetes, hypertension, and obesity independent risk factors for endometrial polyps? *J Minim Invasive Gynecol.* 2009 16: 157-62.
14. Reslov_AT, Tosner J, Resl M, Kugler R, Vavrov_AI. Endometrial polyps: a clinical study of 245 cases. *Arch Gynecol Obstet.* 1999; 262:133–9.
15. Hann LE, Tz EM, Bach AM, Francis SM. Sonohysterography for evaluation of the endometrium in women treated with tamoxifen. *AJR Am J Roentgenol.* 2001;177:337–42.
16. Maia HJr, Barbosa IC, Marques D, Calmon LC, Ladipo OA, Coutinho EM. Hysteroscopy and transvaginal sonography in menopausal women receiving hormone replacement therapy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1996;4:13–8.
17. Martinez-Perez O, Perez-Medina T, Bajo-Arenas J. Ultrasonography of endometrial polyps. *Ultrasound Rev Obstet Gynecol.* 2003;3:43.
18. Bakour S, Gupta J, Khan K. Risk factors associated with endometrial polyps in abnormal uterine bleeding. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;76: 165–8.
19. Perrone G, DeAngelis C, Critelli C, Capri O, Galoppi P, Santoro G, *et al.* Hysteroscopic findings in postmenopausal abnormal uterine bleeding: a comparison between HRT users and non-users. *Maturitas.* 2002;43:251–5.
20. Elliott J, Connor M, Lashen H. The value of outpatient hysteroscopy in diagnosing endometrial pathology in postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82:1112–9.

21. WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets>. May 2012.
22. Ginter E, Simko V. Adult obesity at the beginning of the 21st century: epidemiology, pathophysiology and health risk. *Bratisl Lek Listy*. 2008;109(5):224-30.
23. Utian WH, Archer DF, Bachmann GA, Gallagher C, Grodstein F, Heiman JR *et al*. Estrogen and progestogen use in postmenopausal women: July 2008 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2008; 15: 584-602.
24. Blümel JE, Castelo-Branco C, Rocangliolo ME, Bifa L, Tacla X, Mamani L. Changes in body mass index around menopause: a population study of Chilean woman. *Menopause*. 2001; 4 (8): 239-44.
25. Soliman PT, Wu D, Tortolero-Luna G, Shmeler KM, Slomovitz BM, Bray MS *et al*. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer*. 2006 .1: 106(11): 2376-81.
26. Gouveia DA, Bahamondes L, Aldrighi JM, Tamanaha S, Ribeiro AL, Aoki T. Prevalence of endometrial injury in asymptomatic obese women. *Rev Assoc Med Bras*. 2007; 53(4): 344-8.
27. Soliman PT, Oh JC, Shmeler KM, Sun CC, Slomovitz BM, Gershenson DM, *et al*. Risk factors for young premenopausal women with endometrial cancer. *Obstet Gynecol*. 2005 105(3): 575-80.

28. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Policy and Action for Cancer Prevention Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington, DC: AICR, 2009.
29. Kaaks R, Lukanova A, Kuizer MS. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2002; 11(12): 1531-43.
30. Oguz S, Sargin A, Kelekci S, Aytan H, Tapisiz OL, Mollamahmutoglu L. The role of hormone replacement therapy in endometrial polyp formation. Maturitas. 2005 14; 50(3): 231-6.
31. Reslová T, Tosner J, Resl M, Kugler R, Vávrová I. Endometrial polyps. A clinical study of 245 cases. Arch Gynecol Obstet. 1999; 262(3-4):133-9.
32. Rutanen EM, Pekonen F, Nyman T, Wahbström T. Insulin – like growth factors and their binding proteins in benign and malignant uterine disease. Growth Regul. 1993; 3: 74-7.
33. Cohen I, Perel E, Flex D, Tepper R, Altaras MM, Cordoba M. *et al.* Endometrial pathology in postmenopausal tamoxifen treatment: comparision between gynecologically symptomatic and asymptomatic breast cancer patients. J Clin Pathol. 1999; 5: 278-82.
34. Wang J, Zhao J, Lin J. Opportunities and risk factors for premalignant and malignant transformation of endometrial polyps: management strategies. J Minim Invasive Gynecol. 2010;17(1):53-8.

35. Sant'Ana de Almeida E, Nogueira A, Candido dos Reis F, Zambelli Ramalho L, Zucoloto S. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial polyps and adjacent endometrium in postmenopausal women. *Maturitas*. 2004;49(3):229-33.
36. Morani A, Warner M, Gustafsson JA. Biological functions and clinical implications of oestrogen receptors alfa and beta in epithelial tissues. *J Intern Med*. 2008;;264(2):128-42. Epub 2008 May 29.
37. Kumar V, Green S, Stack G, Berry M, Jin JR, Chambon P. Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell*. 1987; 24;51(6):941-51.
38. Belisário M, Vassallo J, Andrade L, Alvarenga M, Pinto G, Monteiro I. The expression of the hormone receptors in the endometrium and endometrial polyps in postmenopausal women and its relationship to body mass index. *Maturitas*. 2006;53(1):114-8.
39. Lopes RG, Baracat EC, de Albuquerque Neto LC, Ramos JF, Yatabe S, Depesr DB, Analysis of estrogen- and progesterone-receptor expression in endometrial polyps. *J Minim Invasive Gynecol*. 2007;14(3):300-3.
40. Antunes AJ, Costa-Paiva L, Arthuso M, Costa J, Pinto-Neto A. Endometrial polyps in pre and postmenopausal women: factors associated with malignancy. *Maturitas*. 2007;57(4):415-21.

41. Peng X, Li T, Xia E, Xia C, Liu Y, Yu D. A comparison of oestrogen receptor and progesterone receptor expression in endometrial polyps and endometrium of premenopausal women. *J Obstet Gynaecol*. 2009 29(4):340-6.
42. Taylor LJ, Jackson TL, Reid JG, Duffy SR. The differential expression of oestrogen receptors, progesterone receptors, Bcl-2 and Ki67 in endometrial polyps. *BJOG*. 2003; 110 (9): 794-8.
43. Koshiyama M, Yoshida M, Takemura M, Yura Y, Matsushita K, Hayashi M *et al*. Immunohistochemical analysis of distribution estrogen receptors and progesterone receptors in the postmenopausal endometrium. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1996; 75: 702-6.
44. McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, O'Donovan PJ. Are endometrial polyps from pre-menopausal women similar to post-menopausal women? An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from pre- and post-menopausal women. *Maturitas*. 2006;54(3):277-84. Epub 2006 Jan 18.
45. McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, O'Donovan PJ. An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from postmenopausal women exposed and not exposed to HRT. *Maturitas*. 2006, 454-61
46. Maia H, Maltez A, Athayde C, Coutinho EM. Proliferation profile of endometrial polyps in post-menopausal women. *Maturitas*. 2001; 40(3):273-81

47. Cohen I. Endometrial changes with tamoxifen: comparison between tamoxifen treated and non-treated asymptomatic, postmenopausal breast cancer patients. *Gynecol Oncol.* 1994; 52: 185-95.
48. Inceboz US, Nese N, Uyar Y, Ozcakil HT, Kutul O, Baytur YB *et al*, Hormone receptor expressions and proliferation markers in postmenopausal endometrial polyps. *Gynecol Obstet Invest.* 2006; 61 (1): 24-8.
49. Risberg B, Karlsson K, Abeler V, Lagrelidius A, Davidson B, Karlsson M. Dissociated expression of Bcl-2 and Ki67 in endometrial lesions: diagnostic and histogenic implications. *Int J Gynecol Pathol.* 2002; 21:155-60.
50. Villavicencio A, Aguilar G, Argüello G, Dünner C, Gabler F, Soto E *et al.* . The effect of overweight and obesity on proliferation and activation of AKT and ERK in human endometria. *Gynecol Oncol.* 2010 Apr;117(1):96-102. Epub 2010 Jan 13.
51. Tokyol C, Aktepe F, Dilek FH, Sahin O, Arioiz DT. Expression of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-2 in adenomyosis and endometrial polyps and its correlation with angiogenesis. *Int J Gynecol Pathol.* 2009; 28(2): 148-56.
52. Maia H Jr, Correia T, Freitas LA, Athayde C, Coutinho E, Cyclooxygenase-2 expression in endometrial polyps during menopause. *Gynecol Endocrinol* 2005; 21(6): 336-9.
53. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Neoplasia. In: Kumar A, Abbas AK, Fausto N (eds). *Robins Pathologic Basis of Disease.* 7th.ed. China: Elsevier Saunders; 2005: 269-342.

54. Maia H Jr, Pimentel K, Silva TM, Freitas LA, Zausner B, Athayde C *et al.*
Aromatase and cyclooxygenase-2 expression in endometrial polyps during
the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol.* 2006; 22:219-24.
55. Maia H Jr, Maltez A, Calmon L, Oliveira M, Marques D, Coutinho E.
Histopathology and steroids receptors in endometrial polyps on postmenopausal
patients under hormone replacement therapy. *Gynaecol Endosc.* 1998; 7:267-72.
56. Bulun SE, Zeitoun KM, Sasano H, Simpson ER. Aromatase in aging women.
Semin Reprod Endocrinol. 1999; 17: 349-58.
57. Gao J, Tian J, Lv Y, Shi F, Kong F, Shi H, *et al.* Leptin induces functional
activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and
PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells. *Cancer Sci.*
2009;100(3):389-95. Epub 2008 Dec 16.
58. Hileeto D, Fadare O, Martel M, Zheng W. Age dependent association of
endometrial polyps with increased risk of cancer involvement. *World J Surg
Oncol.* 2005;3(1):8.
59. Lieng M, Istre O, Qvigstad E. Treatment of endometrial polyps: a systematic
review. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010; 89:992-1002.
60. Ferrazzi E, Zupi E, Leone F, Savelli L, Omodei U, Moscarini M *et al.* How
often are endometrial polyps malignant in asymptomatic postmenopausal
women? A multicenter study. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(3):235.e1-6.

Endoscopia cirúrgica: / /

Histerometria: , cm

Tamanho do pólio: mm

Tipo: pediculado séssil

Localização: fúndico parede lat. D parede lat. E parede ant. parede pos.
 istmico comual D comual E

Superfície: lisa irregular cística

Vascularização: aumentada típica atípica ausente

Conduta: POLIPECTOMIA SIM NÃO

BIÓPSIA DE ENDOMÉTRIO SIM NÃO

CURETAGEM UTERINA SIM NÃO

AP: pólio atrófico-cístico
 pólio da mucosa endometrial
 pólio atrófico da mucosa endometrial
 pólio c/ hiperplasia simples
 pólio c/ hiperplasia complexa s/ atipia
 pólio c/ hiperplasia simples e focos de atipia
 pólio c/ hiperplasia complexa e focos de atipia

endométrio proliferativo

endométrio secretor

endométrio atrófico

carcinoma endometrial

outros achados:

GRAU HISTOLÓGICO: bem diferenciado mod. diferenciado pouco diferenciado

ESTADIAMENTO: IA IIA IIIA IVA
 IB IIB IIIB IVB
 IC IIIC

Expressão dos receptores hormonais:

Grau I: 0% a 25%

Grau II: 26% a 50%

Grau III: 51% a 75%

Grau IV: 76% a 100%

Estroma

Tecido glandular

Expressão dos marcadores de proliferação celular (Ki67) e apoptose (Bcl2):

Score 0: <10%

Score 1+: 11-50%

Score 2+: 51-80%

Score 3+: >80%

Estroma

Tecido glandular

Expressão da enzima ciclo-oxigenase 2 (COX-2):

Score 0: negativo

Score +1: fraca reação positiva

Score +2: moderada reação

Score +3: forte reação positiva

Estroma

Tecido glandular

Expressão da enzima aromatase:

Positiva: qualquer reação de coloração

Negativa: nenhuma reação observada

Estroma

Tecido glandular

Histeroscopia cirúrgica: / /

Histerometria: , cm

Tamanho do pólipó: mm Tipo: pediculado sésseil

Localização: fúndico parede lat. D parede lat. E parede ant. parede post.
 istmico cornua! D cornua! E

Superfície: lisa irregular cística

Vascularização: aumentada típica atípica ausente

Conduta: POLIPECTOMIA SIM NÃO

BIÓPSIA DE ENDOMÉTRIO SIM NÃO

CURETAGEM UTERINA SIM NÃO

AP: pólipó atrófico-cístico endométrio proliferativo
 pólipó da mucosa endometrial endométrio secretor
 pólipó atrófico da mucosa endometrial endométrio atrófico
 pólipó c/ hiperplasia simples carcinoma endometrial
 pólipó c/ hiperplasia complexa s/ atipia outros achados:
 pólipó c/ hiperplasia simples e focos de atipia
 pólipó c/ hiperplasia complexa e focos de atipia

GRAU HISTOLÓGICO: bem diferenciado mod. diferenciado pouco diferenciado

ESTADIAMENTO: IA IIA IIIA IVA
 IB IIB IIIB IVB
 IC IIIC

6.2. Anexo 2 – Parecer da Comissão de Pesquisa DTG/CAISM



Comissão de Pesquisa do DTG / CAISM

Campinas, 3 de dezembro de 2010.

Protocolo nº: 058/2010

O protocolo de pesquisa *“Imunoexpressão dos receptores hormonais em pólipos endometriais benignos, pré-malignos e malignos de mulheres na pré e pós-menopausa e associação com a obesidade”*, do pesquisador Anderson Pinheiro, orientado pela Profa. Dra. Lúcia Helena Simões Costa Paiva, foi aprovado pela Comissão de Pesquisa do DTG/CAISM em 3/12/2010.

Atenciosamente,

PROF. DR. JOSÉ GUILHERME CECATTI

Presidente da Comissão de Pesquisa do DTG/CAISM

6.3. Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

CEP, 22/02/11
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 092/2011 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0058.0.146.000-11

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “IMUNOEXPRESSÃO DOS RECEPTORES HORMONAIIS EM PÓLIPOS ENDOMETRIAIS BENIGNOS, PRÉ-MALIGNOS E MALIGNOS DE MULHERES NA PRÉ E PÓS-MENOPAUSA E ASSOCIAÇÃO COM A OBESIDADE”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Anderson Pinheiro

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 11/02/2011

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 22/02/12 (O formulário encontra-se no *site* acima).

II - OBJETIVOS

Avaliar as características clínicas, histológicas e imunoexpressão dos receptores de estrógeno e progesterona em pólipos endometriais benignos, pré-malignos e malignos e associação com a obesidade.

III - SUMÁRIO

Será realizado um estudo de corte transversal com mulheres selecionadas através da revisão dos relatórios cirúrgicos do sistema eletrônico do Centro Cirúrgico do CAISM/UNICAMP onde ficam armazenadas todas as cirurgias realizadas no hospital. Serão selecionadas todas as pacientes que foram submetidas à histeroscopia cirúrgica para ressecção de pólipos no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2009. Estima-se que haja neste período cerca 800 pólipos retirados por histeroscopia. Serão avaliadas as características clínicas e avaliados a expressão dos receptores de estrógeno e progesterona, utilizando-se blocos de parafinas arquivados no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UNICAMP de todos os pólipos selecionados. Será avaliada a expressão de receptores hormonais nos pólipos e relacioná-los com a obesidade. As reações de imunohistoquímica serão realizadas no Laboratório de Imunohistoquímica do Setor de Anatomia Patológica do Hospital do Câncer através da técnica de arranjo em matriz de amostras teciduais, ou tissue microarray (TMA).

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto apresenta-se bem redigido, com método adequado. Os critérios de inclusão e exclusão dos casos estão bem definidos; cálculo do tamanho amostral e análise estatística muito bem embasados por cálculos estatísticos. Os aspectos éticos estão bem discutidos no corpo do projeto e solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se tratar de



estudo retrospectivo que utilizará informações e material biológico já coletado. O orçamento é detalhado.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, a dispensa do Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

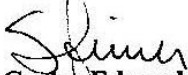
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO

Homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 22 de fevereiro de 2011.


Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP