

BIANCA BIANCO¹
DENISE MARIA CHRISTOFOLINI¹
ARIEL BRANDES²
TATIANA GOBERSTEIN LERNER²
RUBENS PAULO GONÇALVES-FILHO³
ANGELA MARA BENTES DE SOUZA⁴
CAIO PARENTE BARBOSA⁵

Análise do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 em mulheres inférteis com e sem endometriose

Analysis of codon 72 polymorphism of the TP53 gene in infertile women with and without endometriosis

Artigo original

Palavras-chave

Endometriose
Infertilidade
Genes p53
Reação em cadeia da polimerase
Polimorfismo genético

Keywords

Endometriosis
Infertility
Genes, p53
Polymerase chain reaction
Polymorphism, genetic

Resumo

OBJETIVO: avaliar a frequência do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 em mulheres inférteis com endometriose, mulheres com infertilidade idiopática, Grupo Controle e sua associação com a doença. **MÉTODOS:** estudo caso-controle que incluiu 198 mulheres inférteis com endometriose, 70 mulheres com infertilidade idiopática e 169 mulheres férteis sem endometriose como controles. O polimorfismo no códon 72 do gene TP53 (rs1042522, Arg/C:Pro/G), que promove uma troca de C/G na sequência codante, foi identificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, por meio da utilização de sistema TaqMan de primers, flanqueando a região em questão e sondas marcadas com fluoróforos diferentes, uma para o alelo C, outra para o alelo G. Na observação de dois fluoróforos, o paciente foi considerado heterozigoto para o polimorfismo. Na presença de apenas um fluoróforo, o paciente foi considerado homozigoto CC ou GG. O teste do χ^2 foi utilizado para comparar as frequências dos genótipos e alelos entre os grupos. Todos os valores de p foram bicaudais, e o nível de significância considerado foi 0,05 ($\alpha < 0,05$). **RESULTADOS:** não foi encontrada diferença significativa na frequência dos genótipos CC, CG e GG ($p=0,7$) e alelos C e G ($p=0,4$) do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 entre pacientes inférteis com endometriose em relação aos controles, independentemente do estágio da doença. Em relação à infertilidade, não houve diferença significativa quanto às mulheres inférteis sem endometriose em relação aos controles na distribuição dos genótipos e alelos ($p=1,0$ e $p=0,8$, respectivamente). Considerando o modelo de herança dominante, não houve diferença estatística significativa tanto no grupo de endometriose ($p=0,5$) como no grupo de infertilidade idiopática ($p=0,9$) em relação aos controles. Observando o modelo recessivo, também não houve diferença significativa ($p=0,6$ e $p=1,0$, respectivamente) para os grupos de endometriose e infertilidade idiopática. **CONCLUSÃO:** o estudo mostrou que o polimorfismo no códon 72 do gene TP53 não confere risco genético associado ao desenvolvimento de infertilidade e/ou endometriose, nem mesmo na forma grave da doença, na população brasileira.

Abstract

PURPOSE: to evaluate the frequency of TP53 codon 72 polymorphism in infertile women with endometriosis, women with idiopathic infertility, controls and its relation to the disease. **METHODS:** a case-control study that included 198 infertile women with endometriosis, 70 women with idiopathic infertility and 169 fertile women without endometriosis as control. Detection of TP53 codon 72 gene polymorphism (rs1042522, Arg/C:Pro/G), that promotes a C/G exchange in the coding region of the gene, was performed by real time Polymerase Chain Reaction (PCR), using the TaqMan system of primers, that flank the implicated region and probes labeled with different fluorescent dyes, one for allele C and other for allele G. When two dyes were observed, the patient was considered to be heterozygous CG. In the presence of only one dye, the individual was considered to be homozygous CC or GG. The χ^2 test was used to compare allele and genotype frequencies between groups. All p-values were two-tailed and a p-value < 0.05 was considered to be statistically significant. **RESULTS:** we found no statistically significant difference in the distribution of TP53 codon 72 polymorphism genotypes CC, CG or GG ($p=0.7$) and alleles C or G ($p=0.4$) between infertile patients with endometriosis and controls ($p=0.4$), regardless of the stage of the disease. In relation to infertility, no statistically significant difference in the genotype or allele distribution ($p=1.0$ and $p=0.9$, respectively) was observed between idiopathic infertile women and controls. Considering the dominant inheritance model, again, no statistically

Correspondência:

Bianca Bianco
Avenida Príncipe de Gales, 821
CEP 09060-650 – Santo André (SP)
E-mail: bianca.bianco@hotmail.com

Recebido

22/11/2010

Aceito com modificações

19/1/2011

Serviço de Reprodução Humana da Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

¹ Professoras Colaboradoras do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

² Alunos de Iniciação Científica da Disciplina de Ginecologia Patológica e Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

³ Médico Responsável pelo Ambulatório de Dor Pélvica da Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

⁴ Médica Assistente do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

⁵ Chefe do Serviço de Reprodução Humana da Faculdade de Medicina do ABC – FMABC – Santo André (SP), Brasil.

Conflitos de interesse: não há.

significant difference was found even in the endometriosis ($p=0.5$) or the idiopathic infertility group ($p=0.9$) when compared to controls. Regarding the recessive inheritance model no statistically significant difference was found, with $p=0.6$ and $p=1.0$, respectively, for the endometriosis and idiopathic infertility groups. **CONCLUSION:** the results suggest that the TP53 codon 72 polymorphism does not confer genetic susceptibility to endometriosis and/or infertility in the Brazilian population, not even the severe form of the disease.

Introdução

A endometriose é uma condição crônica que apresenta uma das doenças ginecológicas benignas mais comuns. Estima-se que aproximadamente de 10 a 15% das mulheres em período reprodutivo e metade das mulheres com problemas de fertilidade tenham essa doença¹. Os implantes endometriais dependem de vascularização para se estabelecer, crescer e invadir tecidos vizinhos². Os genes supressores de tumor têm importante papel na regulação do crescimento celular, e estudos revelaram a associação entre alterações em genes supressores de tumor e desenvolvimento da endometriose^{2,3}.

A instabilidade genômica do TP53 (*tumor protein p53*, Gene ID: 7157), gene envolvido na regulação do crescimento e do ciclo celular, está relacionada ao desenvolvimento e à progressão de vários tumores. Alguns autores³ demonstraram um aumento de aneuploidias do cromossomo 17, onde está localizado o gene *TP53* (17p13.1), em amostras de endometriose. Pesquisadores japoneses⁴ estudaram 140 pacientes com endometriose e um Grupo Controle de 140 indivíduos, e encontraram associação entre o polimorfismo do códon 72 do gene *TP53* e o risco elevado de desenvolvimento da endometriose. Em concordância com esses dados, pesquisadores chineses² analisaram polimorfismos nos códons 11, 72 e 248 do gene *p53* em 148 pacientes com endometriose e um Grupo Controle de 150 indivíduos, e encontraram associação entre a suscetibilidade à doença e o códon 72 do gene. Todavia, outros estudos⁵⁻⁹ não encontraram tal associação.

Além disso, um estudo recente¹⁰ mostrou que o gene TP53 desempenha um papel importante na implantação do blastocisto e reprodução materna por meio da regulação do fator inibidor de leucemia (LIF, OMIM 159540) em camundongos. A LIF é um das citocinas mais importantes na implantação embrionária^{11,12}. Em muitas espécies de mamíferos, incluindo ratos e humanos, o aumento da expressão de LIF no útero coincide com o início da implantação¹³. Camundongos knockout para o gene LIF apresentaram defeitos na reprodução atribuível à falha de implantação¹⁴. Confirmando esses achados, camundongos knockout para o gene TP53 apresentaram falhas de implantação devido à diminuição dos níveis uterinos de LIF. A injeção de LIF nesses camundongos aumentou significativamente a implantação e a recuperação da fertilidade¹⁰.

A etiologia da infertilidade permanece desconhecida em muitos casos, e a falha na implantação pode ser uma importante causa. Em estudo recente¹¹ observou-se que

os níveis uterinos da LIF na maioria das mulheres com infertilidade sem causa aparente estavam significativamente diminuídos. A regulação da LIF e da implantação do blastocisto pelo TP53 em camundongos sugere um papel potencial desse gene na fertilidade¹⁵.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a frequência do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 em mulheres inférteis com endometriose, comparando com a frequência em mulheres com infertilidade idiopática e no Grupo Controle, a fim de observar se há associação do polimorfismo com a doença.

Pacientes e métodos

Trata-se de um estudo caso-controle, composto por mulheres inférteis com endometriose, mulheres inférteis sem endometriose e um Grupo Controle. Com esse objetivo, foram triadas do Ambulatório de Endometriose da Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) 198 mulheres inférteis portadoras de endometriose com diagnóstico confirmado por laparoscopia e/ou laparotomia, estadiamento da doença estabelecido de acordo com as normas da *American Society for Reproductive Medicine*¹⁶ e diagnóstico histológico das lesões. No grupo de endometriose, a doença mínima/leve foi encontrada em 85 casos (42,9%) e moderada/grave em 113 casos (57,1%). A média de idade das pacientes foi de 35,0 anos \pm 3,6 anos de desvio-padrão. Como critério de inclusão, as pacientes deveriam ter o diagnóstico histológico de endometriose, sem outra causa de infertilidade. Como fatores de exclusão estão o procedimento cirúrgico realizado acima de 38 anos e a presença de fatores masculinos de infertilidade.

Setenta mulheres com infertilidade idiopática foram avaliadas no Serviço de Reprodução Humana da FMABC. A média de idade dessas pacientes foi de 35,4 anos \pm 4,2 anos. Como critério de inclusão, as pacientes deveriam ter investigadas e excluídas todas as causas femininas de infertilidade. Os fatores de exclusão foram idade acima de 38 anos e a presença de fatores masculinos de infertilidade.

O Grupo Controle foi composto por 169 mulheres férteis submetidas à laqueadura provenientes do Ambulatório de Planejamento Familiar da FMABC, o que permitiu a confirmação da ausência de endometriose. A idade média dessas mulheres foi de 39,4 anos \pm 6,7 anos. Como critério de inclusão, as mulheres deveriam ser férteis com pelo menos dois filhos, sem história de abortamento ou dificuldade para engravidar. O critério de exclusão foi a presença de endometriose em qualquer fase da vida.

A causa da infertilidade foi investigada de acordo com a propedêutica para casais inférteis: testes sorológicos, perfil hormonal e bioquímico, teste para doenças sexualmente transmissíveis, exames de imagem, investigação de anomalias genéticas e/ou imunológicas, histerossalpingografia, histeroscopia, laparoscopia (realizada em todas as mulheres ≤ 36 anos de idade e em pacientes com mais de 36 anos quando sintomáticas ou com anormalidades em exames de imagem), e análise seminal. Pacientes com endometriose que não conseguiram engravidar após pelo menos seis ciclos naturais ou induzidos após a laparoscopia foram consideradas inférteis. Todas as mulheres cujos parceiros tinham fatores masculinos associados à infertilidade foram excluídas do estudo.

Os dados clínicos e as amostras de sangue periférico somente foram colhidos após exposição dos objetivos do estudo e assinatura do Termo de Consentimento Informado, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMABC (CEP/FMABC No. 200/2008).

Métodos

Foram colhidos 5 mL de sangue periférico a partir de venopunções periféricas, em tubo contendo EDTA. O DNA genômico foi extraído de linfócitos do sangue periférico de acordo com o protocolo de Lahiri e Nurnberger (1991)¹⁷.

O polimorfismo no códon 72 do gene TP53 (rs1042522, Arg/C:Pro/G), que promove uma troca de C por G na sequência codante do gene, resulta na substituição de um aminoácido Arginina por Prolina na proteína e foi identificado por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, por meio da utilização de sistema TaqMan de primers flanqueando a região em questão e sondas marcadas com fluoróforos diferentes, uma para o alelo C, outra para o alelo G (Applied Biosystems, Foster City, CA) (C__2403545_10). O polimorfismo foi identificado utilizando o equipamento Rotor gene 6000 HRM 6 Plex Platform (Corbett Life Science). O ensaio foi realizado com TaqMan Universal Master Mix (Applied Biosystems®, Foster City, CA), com 50 ng de DNA por reação. As condições da PCR foram recomendadas pelo fabricante:

desnaturação inicial a 95°C (10 min), seguido por 40 ciclos de desnaturação a 95°C (15 seg) e um anelamento/extensão a 60°C (1 min). Na observação de dois fluoróforos, o paciente foi considerado heterozigoto (Pro/Arg) para o polimorfismo. Na presença de apenas um fluoróforo, o paciente foi considerado homozigoto Pro/Pro ou Arg/Arg, dependendo do fluoróforo observado.

Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se o *software* SPSS 11.0 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL). O teste do χ^2 foi utilizado para comparar as frequências dos genótipos (Pro/Pro, Pro/Arg e Arg/Arg) e alelos (Arg e Pro) entre os grupos e para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. O Odds Ratio (OR) e o intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram calculados em relação à presença do genótipo de referência, usando um modelo de regressão logística. Todos os valores de p foram bicaudais, e o nível de significância considerado foi 0,05 ($\alpha < 0,05$).

As comparações realizadas foram entre os grupos de pacientes com endometriose e controles, para investigar a associação do polimorfismo com a endometriose. Nesse grupo, as pacientes foram subdivididas em dois grupos de acordo com o grau da endometriose, sendo que um deles era formado por pacientes com endometriose mínima e leve, e o outro por pacientes com endometriose moderada e grave. Essa subdivisão foi realizada com a finalidade de investigar se a frequência do polimorfismo era diferente de acordo com a gravidade da doença.

Além disso, foram realizadas comparações dos resultados de genotipagem de pacientes inférteis sem endometriose e controles, e entre pacientes com e sem endometriose, para investigar se a associação do polimorfismo seria com a endometriose ou com a infertilidade.

Resultados

A frequência dos genótipos e alelos do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 em mulheres inférteis com e sem endometriose e no grupo foram resumidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Frequência dos genótipos e alelos do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 em mulheres inférteis com endometriose, pacientes com infertilidade idiopática e no Grupo Controle

Grupos	n	Genótipos Arg/Pro do gene p53						Valor p	Alelos				Valor p	OR (95%IC)
		Pro/Pro		Pro/Arg		Arg/Arg			Pro		Arg			
		n	%	n	%	n	%		n	%	n	%		
Infertilidade idiopática	70	35	50	26	37,1	9	12,9	1,0	96	68,6	44	31,4	0,8	0,94 (0,6-1,4)
Endometriose associada à infertilidade	198	103	52	73	36,9	22	11,1	0,7	279	70,5	117	29,5	0,4	0,86 (0,63-1,2)
Mínima/Leve	85	49	57,7	25	29,4	11	12,9	0,4	123	72,3	47	27,7	0,3	0,78 (0,52-1,2)
Moderada/Grave	113	54	47,8	48	42,5	11	9,7	0,6	156	69,0	70	31,0	0,7	0,92 (0,64-1,3)
Controles	169	81	49,7	65	38,5	23	13,6							

OR= Odds Ratio; IC= intervalo de confiança. O nível de significância considerado foi $\leq 0,05$. Valor de $p=0,914$ e $p=0,756$ considerando, respectivamente, a frequência dos genótipos e alelos entre o grupo de mulheres inférteis com endometriose e infertilidade idiopática.

Os genótipos Pro/Pro, Pro/Arg e Arg/Arg do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 apresentaram frequência de 52,0% (103/198), 36,9% (73/198) e 11,1% (22/198) nas mulheres inférteis com endometriose, e 47,9% (81/169), 38,5% (65/169) e 13,6% (23/169) no Grupo Controle (Tabela 1); não houve diferença significativa quando comparados entre si ($p=0,6$).

As pacientes com endometriose foram subdivididas de acordo com o estadiamento da endometriose, e comparadas com o Grupo Controle. Os genótipos Pro/Pro, Pro/Arg e Arg/Arg estavam presentes em 57,7% (49/85), 29,4% (25/85) e 12,9% (11/85) das mulheres com endometriose mínima/leve, e em 47,8% (54/113), 42,5% (48/113) e 9,7% (11/113) das mulheres com endometriose moderada/grave. Nenhum dos grupos apresentou diferença significativa em relação ao controle ($p=0,3$ para endometriose mínima e leve e $p=0,6$ para endometriose moderada e grave).

Considerando as mulheres com infertilidade idiopática, 50,0% (35/70), 37,1% (26/70) e 12,9% (31/70) apresentaram os genótipos Pro/Pro, Pro/Arg e Arg/Arg, respectivamente, sem diferença significativa em relação ao controle ($p=1,0$).

Em relação aos alelos, a variante prolina estava presente em: 70,5% das mulheres inférteis com endometriose; 72,3% das mulheres com endometriose mínima/leve; 69,0% das mulheres com endometriose moderada/grave; 68,6% das mulheres com infertilidade idiopática; e 67,2% das mulheres do Grupo Controle. A variante arginina estava presente em: 29,5% das portadoras de endometriose; 27,7% das mulheres com endometriose mínima/leve; 31,0% das mulheres com endometriose moderada/grave; 31,4% das mulheres com infertilidade idiopática; e 32,8% do Grupo Controle (Tabela 1). Não foi observada diferença significativa na comparação entre nenhum dos grupos em relação ao controle ($p=0,4$, OR = 0,86, IC95% = 0,6 - 1,2 para pacientes com endometriose), ($p=0,3$, OR = 0,78, IC95% = 0,5 - 1,2 para endometriose mínima/leve), ($p=0,7$, OR = 0,92, IC95% = 0,6 - 1,3 para endometriose moderada/grave) e ($p=0,8$, OR = 0,94, IC95% = 0,6 - 1,4 para infertilidade idiopática).

Considerando o modelo de herança dominante (Arg/Arg + Arg/Pro X Pro/Pro), não houve diferença significativa tanto no grupo de endometriose ($p=0,5$) como no grupo de infertilidade idiopática ($p=0,9$) em relação aos controles. Observando o modelo recessivo (Arg/Arg X Arg/Pro + Pro/Pro), também não houve diferença, ($p=0,6$ e $p=1,0$), respectivamente, para os grupos de endometriose e infertilidade idiopática.

Discussão

O gene TP53 controla a supressão do tumor, a reparação de danos no DNA, vias metabólicas, regulação do estresse oxidativo, invasão e motilidade, senescência celular,

angiogênese, diferenciação e remodelação óssea¹⁸. Na reprodução, um dos alvos da transcrição do p53 é um fator inibidor de leucemia (LIF), uma citocina necessária para a implantação¹⁹. Duas variantes descritas no gene TP53 no códon 72 derivam da substituição de um único nucleotídeo (Arg/C:Pro/G), que resulta na presença de prolina (Pro) ou arginina (Arg) na proteína. A variante prolina é um forte ativador da transcrição, enquanto a variante arginina leva a uma cinética mais rápida de apoptose¹⁸.

Pesquisadores japoneses⁴ relataram associação entre a prolina e a endometriose e sugeriram uma ação protetora do genótipo homocigoto arginina contra a doença. A associação foi confirmada na população chinesa², mas não na população japonesa⁶ e italiana⁷. No entanto, outros dois estudos na população italiana^{5,8} encontraram uma incidência aumentada da variante prolina nas formas mais graves da endometriose. Em um estudo realizado na população brasileira⁹ não foi observada nenhuma diferença significativa na distribuição dos genótipos do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 entre os grupos caso e controle, apenas em pacientes com dor intensa e homocigotas ou heterocigotas para a variante prolina. Apesar do pequeno número de casos, os autores concluíram que a presença da variante prolina estava associada às pacientes com infertilidade, com um quadro clínico mais grave da doença. Além disso, os autores afirmaram que o polimorfismo do gene TP53 pode ser usado como um marcador molecular para a endometriose associada a sintomas mais graves e à infertilidade e, portanto, como um grande auxílio para o diagnóstico da endometriose, prognóstico, orientação e tratamento dessa doença.

No presente estudo, não observamos diferença na frequência do polimorfismo entre os grupos. Uma das principais razões para as diferenças entre os estudos pode ser a variação étnica. A distribuição dos diferentes genótipos do polimorfismo no códon 72 do gene p53 de acordo com a raça já foi demonstrada por diversos estudos^{2,4-9}, e pode ser observada no Quadro 1. No Brasil, a influência da etnia é difícil de ser estabelecida, uma vez que nossa população é miscigenada. A cor da pele como um fenótipo muitas vezes não reflete o genótipo daquele indivíduo⁹.

Outro fator importante a ser considerado é a heterogeneidade de sintomas das pacientes com endometriose: assintomática, dor, infertilidade e infertilidade. Essa variação representa diferentes espectros da mesma doença? Ou são doenças diferentes? A endometriose superficial tem sido descrita como um fenômeno cíclico e normal na vida de uma mulher, mas, em algumas mulheres, o desenvolvimento e a progressão da doença ocorrem como resultado de alterações imunológicas e genéticas. Alguns autores consideram a endometriose superficial como uma condição fisiológica e intermitente em mulheres durante seus anos reprodutivos, enquanto a sua progressão, caracterizada

Quadro 1 - Estudo do polimorfismo no códon 72 do gene TP53 associado à endometriose em diferentes populações

Estudo	País	População estudada	Conclusão do estudo
Chang et al. (2002) ⁴	Japão	118 com endometriose e 140 sem doença	Associação entre a variante e a endometriose.
Lattuada et al. (2004) ⁵	Itália	151 com endometriose e 152 sem doença	Não houve associação.
Omori et al. (2004) ⁶	Japão	111 com endometriose e 180 recém-nascidos do sexo feminino	Não houve associação.
Hsieh et al. (2006) ²	China	148 com endometriose moderada/grave e 150 mulheres sem doença	Foi encontrada associação entre a variante prolina e a endometriose.
Vietri et al. (2007) ⁷	Itália	104 com endometriose e 88 mulheres sem doença	Não houve associação.
Ammendola et al. (2008) ⁸	Itália	129 com endometriose e 147 recém-nascidos	Não houve associação. Incidência aumentada da variante prolina nas formas mais graves da doença.
Ribeiro Júnior et al. (2009) ⁹	Brasil	38 com endometriose (n=19 férteis e n=19 inférteis)	A variante prolina estava mais frequente em pacientes com infertilidade associada à dor, e a variante arginina foi mais frequente em pacientes com endometriose.
Presente estudo	Brasil	198 inférteis com endometriose, 70 com infertilidade idiopática e 169 mulheres sem a doença.	Não houve associação.

como a endometriose infiltrativa profunda e endometriose ovariana, é considerada como a verdadeira doença²⁰⁻²⁴.

É difícil correlacionar dados de estudos heterogêneos quanto à etnia e à seleção de pacientes e controles, além da metodologia utilizada. A não replicação dos achados entre os estudos é um problema para a epidemiologia genética. Recentemente, tem sido recomendado que as revisões sistemáticas, incluindo as metanálises, sejam conduzidas para avaliar e ajustar os fatores que podem contribuir para a não replicação dos resultados²⁵. A identificação de associações genéticas confiáveis é fundamental para a concretização dos resultados da pesquisa genômica para a clínica e a aplicação em saúde pública²⁶. Para isso, é necessária a colaboração dos pesquisadores na avaliação dos dados e na síntese dos resultados encontrados nos diversos estudos, para que haja a criação de uma rede de investigação para o reconhecimento das associações genéticas mais creditáveis.

Clinicamente, uma das principais preocupações em relação à endometriose é a sua propensão para causar infertilidade. Estima-se que 25 a 50% das mulheres com endometriose são inférteis, e que 25 a 30% das mulheres inférteis têm lesões endometrióticas como a única causa identificável para a infertilidade¹. A associação entre a endometriose e a infertilidade é bem estabelecida, mas os mecanismos responsáveis por esses efeitos são desconhecidos. Recentemente²⁷ foi avaliada a frequência do polimorfismo no códon 72 do

gene TP53 em 97 mulheres com abortos de repetição e 32 mulheres com falhas de implantação, e encontrou-se a associação da variante prolina com abortos de repetição, e da variante arginina com falhas de implantação. Outros autores²⁸ investigaram o polimorfismo do gene TP53 em 1.056 mulheres com falha de implantação, e não encontraram qualquer associação. No presente estudo, não houve diferença significativa quanto às mulheres inférteis sem endometriose em relação aos controles. Quando comparamos os grupos inférteis com e sem endometriose, a fim de detectar se o polimorfismo foi associado à endometriose e/ou à infertilidade, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à frequência do polimorfismo estudado.

Em conclusão, o estudo mostrou que o polimorfismo no códon 72 do gene TP53 não está associado ao risco de desenvolvimento de infertilidade e/ou endometriose, nem mesmo a forma grave da doença, na população brasileira estudada.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de iniciação científica aos alunos Ariel Brandes (No. 2010/13206-8) e Tatiana Goberstein Lerner (No. 2010/01104-6). À Juliana Souto Teles e à Raqueila Gonçalves Bernardino pelo auxílio nos procedimentos de laboratório e aos Drs. Fábila Lima Vilarino e Gustavo Mendonça André pela seleção de pacientes e controles.

Referências

- Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364(9447):1789-99.
- Hsieh YY, Lin CS. P53 codon 11, 72, and 248 gene polymorphisms in endometriosis. *Int J Biol Sci*. 2006;2(4):188-93.
- Kosugi Y, Elias S, Malinak LR, Nagata J, Isaka K, Takayama M, et al. Increased heterogeneity of chromosome 17 aneuploidy in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(4):792-7.
- Chang CC, Hsieh YY, Tsai FJ, Tsai CH, Tsai HD, Lin CC. The proline form of p53 codon 72 polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril*. 2002;77(1):43-5.
- Lattuada D, Viganò P, Somigliana E, Abbiati A, Candiani M, Di Blasio AM. Analysis of the codon 72 polymorphism of the TP53 gene in patients with endometriosis. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(9):651-4.
- Omori S, Yoshida S, Kennedy SH, Negoro K, Hamana S, Barlow DH, et al. Polymorphism at codon 72 of the p53 gene is not associated with endometriosis in a Japanese population. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11(4):232-6.
- Vietri MT, Molinari AM, Iannella I, Cioffi M, Bontempo P, Ardovino M, et al. Arg72Pro p53 polymorphism in Italian women: no association with endometriosis. *Fertil Steril*. 2007;88(5):1468-9.

8. Ammendola M, Gloria-Bottini F, Sesti F, Piccione E, Bottini E. Association of p53 codon 72 polymorphism with endometriosis. *Fertil Steril*. 2008;90(2):406-8.
9. Ribeiro Júnior CL, Arruda JT, Silva CT, Moura KK. Analysis of p53 codon 72 gene polymorphism in Brazilian patients with endometriosis. *Genet Mol Res*. 2009;8(2):494-9.
10. Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ. p53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature*. 2007;450(7170):721-4.
11. Aghajanova L, Altmäe S, Bjuresten K, Hovatta O, Landgren BM, Stavreus-Evers A. Disturbances in the LIF pathway in the endometrium among women with unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2009;91(6):2602-10.
12. Paiva P, Menkhorst E, Salamonsen L, Dimitriadis E. Leukemia inhibitory factor and interleukin-11: critical regulators in the establishment of pregnancy. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20(4):319-28.
13. Novotný Z, Krizan J, Síma R, Síma P, Uher P, Zech N, et al. Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women diagnosed with unexplained infertility and endometriosis have a negative impact on the IVF outcome. A pilot study. *Folia Biol (Praha)*. 2009;55(3):92-7.
14. Chen JR, Cheng JG, Shatzer T, Sewell L, Hernandez L, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor can substitute for nidatory estrogen and is essential to inducing a receptive uterus for implantation but is not essential for subsequent embryogenesis. *Endocrinology*. 2000;141(12):4365-72.
15. Kang HJ, Feng Z, Sun Y, Atwal G, Murphy ME, Rebbeck TR, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the p53 pathway regulate fertility in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(24):9761-6.
16. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*. 1997;67(5):817-21.
17. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19(19):5444.
18. Vousden KH, Lane DP. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(4):275-83.
19. Aghajanova L. Update on the role of leukemia inhibitory factor in assisted reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010;22(3):213-9.
20. Koninckx PR. Is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women? *Hum Reprod*. 1994;9(12):2202-5.
21. Vercellini P, Trespidi L, Panazza S, Bramante T, Mauro F, Crosignani PG. Laparoscopic uterine biopsy for diagnosing diffuse adenomyosis. *J Reprod Med*. 1996;41(4):220-4.
22. Nisolle M, Nervo P. Physiopathology and therapeutic management of stage I and II endometriosis. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2003;32(8 Pt 2):S11-4.
23. Carvalho WAP, Barbosa CP, Bellelis P, Silva LHF, Cordts EB, Peixoto S. Reversão microcirúrgica de esterilização tubária: avaliação dos resultados. *Reprod Clim*. 2004;19:28-31.
24. Barbosa CP, de Souza AM, Bianco B, Christofolini DM, Mafra FA, de Lima GR. OC-125 immunostaining in endometriotic lesion samples. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;281(1):43-7.
25. Ioannidis JP, Gwinn M, Little J, Higgins JP, Bernstein JL, Boffetta P, et al. A road map for efficient and reliable human genome epidemiology. *Nat Genet*. 2006;38(1):3-5.
26. Khoury MJ, Gwinn M, Yoon PW, Dowling N, Moore CA, Bradley L. The continuum of translation research in genomic medicine: how can we accelerate the appropriate integration of human genome discoveries into health care and disease prevention? *Genet Med*. 2007;9(10):665-74.
27. Firouzabadi RD, Ghasemi N, Rozbahani MA, Tabibnejad N. Association of p53 polymorphism with IC SI/IVF failure and recurrent pregnancy loss. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2009;49(2):216-9.
28. Patounakis G, Treff N, Tao X, Lonczak A, Scott RT Jr, Frattarelli JL. The p53 codon 72 single nucleotide polymorphism lacks a significant effect on implantation rate in fresh in vitro fertilization cycles: an analysis of 1,056 patients. *Fertil Steril*. 2009;92(4):1290-6.