

Visão geral de miRNAs como diagnóstico não invasivo de endometriose: evidências, desafios e estratégias. Uma revisão sistemática

Overview of miRNAs for the non-invasive diagnosis of
endometriosis: evidence, challenges and strategies.
A systematic review

Vitor Ulisses Monnaka¹, Camila Hernandez², Debora Heller², Sérgio Podgaec²

¹ Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

² Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

DOI: [10.31744/einstein_journal/2021RW5704](https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RW5704)

RESUMO

Objetivo: O objetivo do estudo foi analisar as evidências sobre miRNAs como biomarcadores para o diagnóstico de endometriose, bem como levantar informações sobre os desafios e as estratégias necessárias para tornar essas moléculas ferramentas acessíveis para uso na prática clínica. **Métodos:** Revisão sistemática conduzida nos bancos de dados PubMed®, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), MEDLINE® e Web of Science utilizando os termos de pesquisa “endometriosis” (todos os campos) AND “miRNA” (todos os campos), avaliando todas as publicações até maio de 2019. **Resultados:** A maioria dos miRNAs desregulados foram analisados a partir de amostras de tecido, o que inviabiliza seu uso como teste diagnóstico não invasivo. Todavia, 62 miRNAs foram identificados como diferencialmente expressos em amostras que poderiam ser usadas para o diagnóstico pouco invasivo de endometriose, como sangue, soro e plasma. **Conclusão:** Apesar de todos esses candidatos, os trabalhos são exploratórios, realizados com números pequenos de amostras, sem miRNAs específicos validados para fins diagnósticos. Estudos envolvendo principalmente amostras biológicas, visando à pesquisa translacional, deveriam ser mais explorados. O desenvolvimento de grandes bancos de dados sobre amostras, bem como o uso de saliva e fluido vaginal para identificação de miRNAs, poderia servir como recursos essenciais para as barreiras atuais no diagnóstico da endometriose.

Descritores: Biomarcadores; Saliva; Soro; Fluido vaginal; Bancos de fluidos corpóreos; MicroRNAs; Endometriose/diagnóstico

ABSTRACT

Objective: The aim of the study was to assess the evidence on miRNAs as biomarkers for the diagnosis of endometriosis, as well as to provide insights into the challenges and strategies associated with the use of these molecules as accessible tools in clinical practice. **Methods:** Systematic review conducted on PubMed®, Latin American and Caribbean Health Sciences Literature (LILACS), MEDLINE® and Web of Science databases using the search terms endometriosis (all fields) AND miRNA (all fields), evaluating all publication up to May 2019. **Results:** Most miRNAs found to be dysregulated in this study were harvested from tissue samples, which precludes their use as a non-invasive diagnostic test. However, differential expression of 62 miRNAs was reported in samples that may be used for non-invasive diagnosis of endometriosis, such as blood, serum and plasma. **Conclusion:** Despite the identification of several candidates, studies are investigatory

Como citar este artigo:

Monnaka VU, Hernandez C, Heller D, Podgaec S. Visão geral de miRNAs como diagnóstico não invasivo de endometriose: evidências, desafios e estratégias. Uma revisão sistemática. *einstein* (São Paulo). 2021;19:eRW5704.

Autor correspondente:

Camila Hernandez
Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi
CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil
Tel.: (11) 2151-1031
E-mail: camila.hernandes@einstein.br

Data de submissão:

24/3/2020

Data de aceite:

3/9/2020

Copyright 2021



Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

in nature and have been conducted with small number of samples. Also, no particular miRNA has been validated for diagnostic purposes so far. Studies based primarily on biological samples and applicable to translational research are warranted. Large databases comprising information on sample type and the use of saliva and vaginal fluid for miRNAs identification may prove essential to overcome current barriers to diagnosis of endometriosis.

Keywords: Biomarkers; Saliva; Serum; Vaginal fluid; Body fluids banks; MicroRNAs; Endometriosis/diagnosis

INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença comum, que afeta até 10% das mulheres em idade reprodutiva^(1,2) e se caracteriza pela presença de células endometriais fora da cavidade uterina. Apesar de ter sido alvo de muitos estudos, o diagnóstico da doença segue um desafio. As apresentações clínicas variam, indo desde quadros assintomáticos até com sintomatologia grave, e faltam biomarcadores diagnósticos cientificamente aprovados para o diagnóstico clínico de rotina.^(1,3)

Exames de imagem, como a ultrassonografia pélvica e a ressonância magnética, são utilizados, principalmente em lesões profundas, porém o resultado é altamente influenciado pela experiência do examinador,⁽⁴⁻⁷⁾ o que dificulta o diagnóstico. Nos casos sem achados positivos de imagem, o diagnóstico definitivo da endometriose superficial só pode ser fechado por análise histológica da lesão em amostras geralmente coletadas por cirurgia laparoscópica.^(8,9) Entretanto, esse procedimento é invasivo e requer anestesia geral.

A complexidade da doença, aliada à falta de métodos diagnósticos precisos e menos invasivos, contribui para o atraso no diagnóstico, que pode levar até 11 anos.^(5,10,11) Consequentemente, é enorme a demanda por testes diagnósticos de alta acurácia e pouco invasivos para o diagnóstico da endometriose.⁽¹²⁻¹⁶⁾

Diferentes grupos de pesquisa investigaram o papel dos miRNAs (microRNA ou miR) na regulação de genes conhecidos, dada a sua associação com processos envolvidos na patogênese e na evolução dessa doença. Os miRNAs são uma classe de pequenas moléculas endógenas de RNA não codificante, envolvidas na regulação pós-transcricional da expressão gênica.⁽¹⁷⁾ Essas pequenas moléculas foram observadas na circulação sanguínea periférica e podem constituir biomarcadores em potencial para o diagnóstico da endometriose.^(18,19)

A fim de determinar a real possibilidade de se empregar os miRNAs como biomarcadores para endometriose, realizamos um levantamento de todos os estudos publicados, na esperança de direcionar os passos futuros

necessários para vencer os desafios associados ao uso de miRNAs na prática clínica.

OBJETIVO

Determinar quais miRNAs têm aplicabilidade diagnóstica na endometriose e delinear os desafios e estratégias envolvidos na transformação dessas moléculas em ferramentas diagnósticas acessíveis para uso na clínica.

MÉTODOS

A fim de identificar artigos científicos abordando associações entre endometriose e miRNA, foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed®, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), MEDLINE® e *Web of Science*, empregando-se os unitermos *endometriosis* (todos os campos) *AND miRNA* (todos os campos).

Todas as publicações listadas até maio de 2019 (automaticamente selecionadas) foram manualmente analisadas, e somente as que envolviam padrões de expressão de miRNA validados por reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras clínicas de endometriose foram discutidas nesta revisão. Artigos publicados em idiomas que não o inglês, artigos baseados em cultura de células e artigos retratados, publicados em anais ou inacessíveis foram excluídos. Relatos que figuravam em mais de uma base de dados foram incluídos uma única vez no total de publicações.

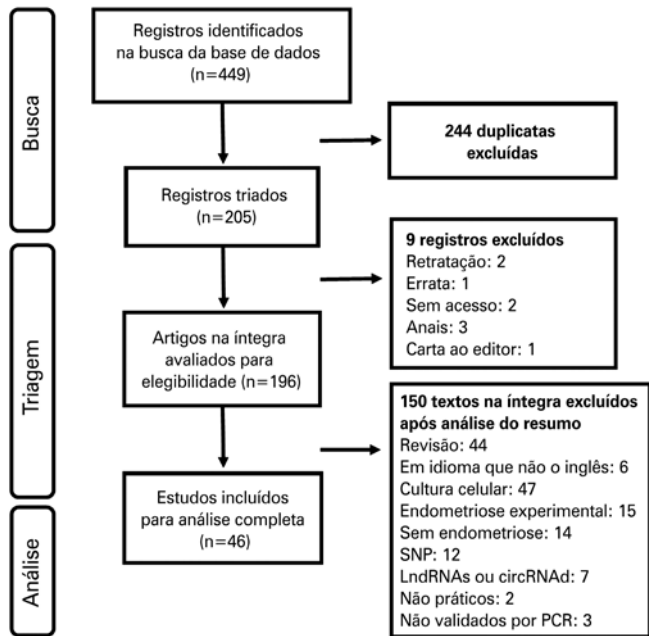
Este estudo foi conduzido de acordo com a recomendação *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) para revisões sistemáticas, adotada pelo Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), localizado em São Paulo (SP). A extração de dados foi realizada em duplicata e de forma independente por dois pesquisadores, sendo, então, comparada para confirmação. Os miRNAs e seus respectivos níveis de expressão foram avaliados em amostras e populações de pacientes diferentes, assim como por ano e país de publicação.

RESULTADOS

Visão geral das publicações abordando miRNA e endometriose

No total, 449 artigos científicos abordando associações entre endometriose e miRNA foram encontrados nas bases de dados selecionadas para esta revisão. A maioria dos artigos (185) foi recuperada da base de dados PubMed®, seguida da LILACS e da MEDLINE® (158) e finalmente da *Web of Science* (106). Desse conjunto

de publicações, 46 se enquadraram nos critérios finais de seleção e foram selecionados para discussão nesta revisão (Figura 1).



SNP: polimorfismo de nucleotídeo único; LncRNAs: ácidos ribonucleicos longos não codificantes; circRNAs: ácidos ribonucleicos circulares; PCR: reação em cadeia de polimerase.

Figura 1. Resultados resumidos da triagem de publicações abordando associações entre endometriose e miRNAs

O número de publicações investigando miRNAs desregulados em mulheres com endometrioses aumentou rapidamente desde 2009, tendo aproximadamente a metade do número total de artigos (23) sido publicada nos últimos 3 anos. China e Estados Unidos foram os países com o maior número de publicações (21 e 9 artigos, respectivamente).

Nesta amostra de 46 estudos, 43 investigaram miRNAs desregulados no endométrio ectópico (EC) comparativamente ao endométrio eutópico de pacientes controle (EN), 25 foram identificados no EC comparativamente ao endométrio eutópico de mulheres com endometriose (EU), e 23 foram identificados no grupo EU comparativamente ao Grupo EN. Além disso, 27 foram identificados no soro, 18 no plasma, 30 no sangue e seis no líquido peritoneal de mulheres com endometriose em relação ao Grupo Controle. Dentre os tipos de amostras analisados, o sangue parece ser o material mais bem estudado em termos de potencial de aplicação no diagnóstico não invasivo. O resumo dos miRNAs desregulados encontrados em artigos publicados selecionados está listado em tabela 1A-1G.

Tabela 1A. miRNAs diferencialmente expressos em endométrio eutópico de pacientes com endometriose comparados ao endométrio eutópico de pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-126	RN	31	27	Liu et al. ⁽²⁰⁾
miR-1281	RP	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾
miR-142-5p	RP	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾
miR-145	RP	11	22	Zheng et al. ⁽²²⁾
miR-146a-5p	RP	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾
miR-183-5p	RN	N/D	N/D	Shi et al. ⁽²³⁾
miR-199a	RN	12	12	Dai et al. ⁽²⁴⁾
miR-202-3p	RN	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-204	RN	38	9	Haikalis et al. ⁽²⁶⁾
miR-29c	RN	20	10	Long et al. ⁽²⁷⁾
miR-30d-5p	RP	21	25	Laudanski et al. ⁽²⁸⁾
miR-3152-5p	RP	21	25	Laudanski et al. ⁽²⁸⁾
miR-34b	RN	4	3	Burney et al. ⁽²⁹⁾
miR-34c-5p	RN	4	3	Burney et al. ⁽²⁹⁾
miR-424-5p	RN	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-4634	RP	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾
miR-483-5p	RN	21	25	Laudanski et al. ⁽³⁰⁾
miR-5187-3p	RP	21	25	Laudanski et al. ⁽²⁸⁾
miR-543	RN	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾
miR-556-3p	RN	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-629*	RN	21	25	Laudanski et al. ⁽³⁰⁾
miR-9	RN	4	3	Burney et al. ⁽²⁹⁾
miR-940	RP	38	38	Yang et al. ⁽²¹⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa; RP: regulação positiva; N/D: não disponível.

Tabela 1B. miRNAs diferencialmente expressos em endométrio ectópico de pacientes com endometriose e endométrio eutópico de pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
let-7g	RP	N/D	N/D	Wright et al. ⁽³¹⁾
miR-100	RP	N/D	N/D	Wright et al. ⁽³¹⁾
miR-1304-3p	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-133a-3p	RP	33	17	Braicu et al. ⁽³³⁾
miR-138	RP	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-141	RP	22	24	Saare et al. ⁽³⁴⁾
miR-143	RP	11	22	Zheng et al. ⁽²²⁾
miR-145	RP	11	22	Zheng et al. ⁽²²⁾
miR-148a	RP	N/D	N/D	Wright et al. ⁽³¹⁾
miR-183-5p	RN	N/D	N/D	Shi et al. ⁽²³⁾
miR-191	RP	12	12	Dong et al. ⁽³⁵⁾
miR-199a	RN	12	12	Dai et al. ⁽²⁴⁾
miR-200a	RP	22	24	Saare et al. ⁽³⁴⁾
miR-200b	RP	22	24	Saare et al. ⁽³⁴⁾
miR-200c	RN	27	12	Liang et al. ⁽³⁶⁾
miR-202-3p	RP	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-205-5p	RN	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-20a	RP	40	20	Zhao et al. ⁽³⁷⁾
miR-21-3p	RP	7	7	Qi et al. ⁽³⁸⁾
miR-223-3p	RP	7	7	Qi et al. ⁽³⁸⁾

continua...

...Continuação

Tabela 1B. miRNAs diferencialmente expressos em endométrio ectópico de pacientes com endometriose e endométrio eutópico de pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-29a	RP	N/D	N/D	Wright et al. ⁽³¹⁾
miR-29c	RN	20	10	Long et al. ⁽²⁷⁾
miR-29c	RP	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-29c	RP	15	11	Joshi et al. ⁽³⁹⁾
miR-325	RP	33	17	Braicu et al. ⁽³³⁾
miR-33b	RN	20	15	Yang et al. ⁽⁴⁰⁾
miR-34c	RP	22	24	Saare et al. ⁽³⁴⁾
miR-3663-3p	RP	7	7	Qi et al. ⁽³⁸⁾
miR-3684	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-373-3p	RP	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-3935	RN	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-411-5p	RP	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-4427	RN	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-449a	RP	22	24	Saare et al. ⁽³⁴⁾
miR-450a-5p	RN	7	7	Qi et al. ⁽³⁸⁾
miR-451	RP	30	0	Graham et al. ⁽⁴¹⁾
miR-4683	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-492	RP	33	17	Braicu et al. ⁽³³⁾
miR-494-5p	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-503-5p	RN	7	7	Qi et al. ⁽³⁸⁾
miR-520e	RP	33	17	Braicu et al. ⁽³³⁾
miR-544b	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-5481	RN	N/D	N/D	Wright et al. ⁽³¹⁾
miR-652-5p	RN	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾
miR-6747-3p	RP	14	10	Xu et al. ⁽³²⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa; N/D: não disponível; RP: regulação positiva.

Tabela 1C. miRNAs diferencialmente expressos em endométrio ectópico e eutópico de pacientes com endometriose

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-106a-5p	RN	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾
miR-106b-5p	RP	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-10a	RN	38	38	Haikalis et al. ⁽²⁶⁾
miR-125a	RP	58	38	Ramón et al. ⁽⁴⁴⁾
miR-126	RN	31	27	Liu et al. ⁽²⁰⁾
miR-126	RP	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾
miR-141	RN	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾
miR-145	RP	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾
miR-145-5p	RP	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-146a-5p	RN	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-15a-5p	RN	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-16-5p	RP	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-182	RN	16	N/D	Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
miR-182-5p	RN	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾
miR-19b-1-5p	RN	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-200a	RN	16	N/D	Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
miR-200a-3p	RN	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾

continua...

...Continuação

Tabela 1C. miRNAs diferencialmente expressos em endométrio ectópico e eutópico de pacientes com endometriose

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-200b	RN	16	N/D	Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
miR-200b	RN	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾
miR-200b	RN	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-200c	RN	16	N/D	Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
miR-200c	RN	32	19	Yang et al. ⁽⁴³⁾
miR-202	RP	16	N/D	Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
miR-21	RN	38	38	Haikalis et al. ⁽²⁶⁾
miR-222	RP	58	38	Ramón et al. ⁽⁴⁴⁾
miR-34c	RN	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾
miR-424	RN	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾
miR-424	RN	38	38	Haikalis et al. ⁽²⁶⁾
miR-449b	RN	51	32	Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾
miR-449b	RN	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾
miR-451a	RP	41	40	Nothnick et al. ⁽⁴⁷⁾
miR-615	RP	22	0	Zhao et al. ⁽⁴²⁾
miR-9	RN	38	38	Haikalis et al. ⁽²⁶⁾
miR-99a	RP	8	N/D	Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa; RP: regulação positiva; N/D: não disponível.

Tabela 1D. miRNAs diferencialmente expressos no soro de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
let-7b	RN	24	24	Cho et al. ⁽⁴⁸⁾
let-7b-5p	RN	20	26	Nematian et al. ⁽⁴⁹⁾
miR-122	RP	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-122	RP	45	35	Maged et al. ⁽⁵⁰⁾
miR-125b-5p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-125b	RP	20	26	Nematian et al. ⁽⁴⁹⁾
miR-127-3p	RN	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-135a	RN	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-141	RN	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-143-3p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-145	RN	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-145-5p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-150-5p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-15b-5p	RN	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-17	RN	80	60	Wang et al. ⁽⁵³⁾
miR-185-5p	RP	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-18a-5p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-191	RP	12	12	Dong et al. ⁽³⁶⁾
miR-199a	RP	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-199a	RP	45	35	Maged et al. ⁽⁵⁰⁾
miR-199a-5p	RN	40	25	Hsu et al. ⁽⁵⁴⁾
miR-20a-5p	RN	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-30c-5p	RN	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-342-3p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾

continua...

...Continuação

Tabela 1D. miRNAs diferencialmente expressos no soro de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-3613-5p	RN	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-370	RN	20	26	Hu et al. ⁽⁵⁵⁾
miR-424-3p	RP	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾
miR-451a	RP	41	40	Nothnick et al. ⁽⁴⁷⁾
miR-451a	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-500a-3p	RP	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-542-3p	RN	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-6755-3p	RN	24	24	Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
miR-9	RN	60	25	Wang et al. ⁽¹⁹⁾
miR-99b-5p	RN	30	20	Wang et al. ⁽⁵²⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa; RP: regulação positiva.

Tabela 1E. miRNAs diferencialmente expressos no plasma de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-139	RN	80	39	Nisenblat et al. ⁽⁵⁶⁾
miR-141	RN	61	65	Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
miR-145	RP	55	23	Bashti et al. ⁽⁵⁸⁾
miR-154-5p	RN	51	41	Pateisky et al. ⁽⁵⁹⁾
miR-155	RN	80	39	Nisenblat et al. ⁽⁵⁶⁾
miR-16	RP	33	20	Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾
miR-17-5p	RN	23	23	Jia et al. ⁽⁶¹⁾
miR-191	RP	33	20	Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾
miR-195	RP	33	20	Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾
miR-196b	RN	51	41	Pateisky et al. ⁽⁵⁹⁾
miR-200a	RN	61	65	Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
miR-200b	RN	61	65	Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
miR-20a	RN	23	23	Jia et al. ⁽⁶¹⁾
miR-22	RN	23	23	Jia et al. ⁽⁶¹⁾
miR-31	RN	55	23	Bashti et al. ⁽⁵⁸⁾
miR-33a	RP	51	41	Pateisky et al. ⁽⁵⁹⁾
miR-378a	RN	51	41	Pateisky et al. ⁽⁵⁹⁾
miR-574	RN	80	39	Nisenblat et al. ⁽⁵⁶⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa; RP: regulação positiva.

Tabela 1F. miRNAs diferencialmente expressos no sangue de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
let-3c	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
let-7e	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
let-7f	RN	5	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
let-7g	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-103	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-106b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-125a-5p	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-126	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-15b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾

continua...

...Continuação

Tabela 1F. miRNAs diferencialmente expressos no sangue de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-16	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-17	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-181b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-18a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-194	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-195	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-19a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-19b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-20a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-21	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-22	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-26a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-26b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-27a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-27b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-30a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-374a	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-374b	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-424	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-7	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾
miR-93	RN	4	3	Azmy et al. ⁽⁶²⁾

miRNA: microRNA; RN: regulação negativa.

Tabela 1G. miRNAs diferencialmente expressos no líquido peritoneal de pacientes com endometriose e pacientes controle

miRNA	Regulação	Endometriose n	Controle n	Referências
miR-106b-3p	RP	126	45	Marí-Alexandre et al. ⁽⁶³⁾
miR-122	RP	45	35	Maged et al. ⁽⁵⁰⁾
miR-130b	RP	6	3	Chen et al. ⁽⁶⁴⁾
miR-199a	RP	45	35	Maged et al. ⁽⁵⁰⁾
miR-451a	RP	126	45	Marí-Alexandre et al. ⁽⁶³⁾
miR-486-5p	RP	126	45	Marí-Alexandre et al. ⁽⁶³⁾

miRNA: microRNA; RP: regulação positiva.

Ao todo, 33 miRNAs foram analisados em mais de um estudo. Destes, 13 foram analisados em amostras do mesmo tipo. Os miRNAs identificados em mais de um estudo e fluido corporal encontram-se descritos na tabela 2.

Dentre os 62 miRNAs identificados em amostras com possível aplicabilidade no diagnóstico pouco invasivo da endometriose, como sangue, soro e plasma,

Tabela 2. Resumo dos miRNAs desregulados identificados em mais de um estudo em diferentes amostras

Total	EU versus EN	EC versus EN	EC versus EU	Plasma	Soro	Sangue	LP	Referências
6	miR-145	miR-145	miR-145	miR-145	miR-145			Wang et al., ⁽¹⁹⁾ Zheng et al., ⁽²²⁾ Yang et al., ⁽⁴³⁾ Ohlsson Teague et al., ⁽⁴⁵⁾ Cosar et al. ⁽⁵¹⁾ e Bashti et al. ⁽⁵⁸⁾
5		miR-200b	miR-200b	miR-200b				Saare et al., ⁽³⁴⁾ Yang et al., ⁽⁴³⁾ Ohlsson Teague et al., ⁽⁴⁵⁾ Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾ e Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
5	miR-424		miR-424		miR-424	miR-424		Braza-Boils et al., ⁽²⁵⁾ Haikalis et al., ⁽²⁶⁾ Ohlsson Teague et al., ⁽⁴⁵⁾ Wang et al. ⁽⁵²⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
4	miR-199a	miR-199a			miR-199a		miR-199a	Wang et al., ⁽¹⁹⁾ Dai et al., ⁽²⁴⁾ Maged et al. ⁽⁵⁰⁾ e Hsu et al. ⁽⁵⁴⁾
4		miR-141	miR-141	miR-141	miR-141			Wang et al., ⁽¹⁹⁾ Saare et al., ⁽³⁴⁾ Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾ e Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
4		miR-20a		miR-20a	miR-20a	miR-20a		Zhao et al., ⁽³⁷⁾ Wang et al., ⁽⁵²⁾ Jia et al. ⁽⁶¹⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
4		miR-200a	miR-200a	miR-200a				Saare et al., ⁽³⁴⁾ Zhao et al., ⁽⁴²⁾ Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾ e Rekker et al. ⁽⁵⁷⁾
3	miR-29c	miR-29c	miR-29c					Braza-Boils et al., ⁽²⁵⁾ Long et al. ⁽²⁷⁾ e Joshi et al. ⁽³⁹⁾
3	miR-34c	miR-34c	miR-34c					Braza-Boils et al., ⁽²⁵⁾ Saare et al. ⁽³⁴⁾ e Joshi et al. ⁽³⁹⁾
3		miR-200c	miR-200c					Liang et al., ⁽³⁶⁾ Yang et al. ⁽⁴³⁾ e Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
3		miR-21	miR-21			miR-21		Haikalis et al., ⁽²⁶⁾ Qi et al. ⁽³⁸⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
3	miR-126		miR-126			miR-126		Liu et al., ⁽²⁰⁾ Ohlsson Teague et al. ⁽⁴⁵⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
3			miR-16	miR-16		miR-16		Yang et al., ⁽⁴³⁾ Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
3			miR-451a		miR-451a		miR-451a	Nothnick et al., ⁽⁴⁷⁾ Cosar et al. ⁽⁵¹⁾ e Mari-Alexandre et al. ⁽⁶³⁾
3	miR-9		miR-9		miR-9			Wang et al., ⁽¹⁹⁾ Haikalis et al. ⁽²⁶⁾ e Burney et al. ⁽²⁹⁾
3			miR-106b			miR-106b	miR-106b	Yang et al., ⁽⁴³⁾ Azmy et al. ⁽⁶²⁾ e Mari-Alexandre et al. ⁽⁶³⁾
3			miR-17	miR-17	miR-17	miR-17		Wang et al., ⁽⁵³⁾ Jia et al. ⁽⁶¹⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2					miR-122		miR-122	Wang et al. ⁽¹⁹⁾ e Maged et al. ⁽⁵⁰⁾
2			miR-449b					Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾ e Zhao et al. ⁽⁴²⁾
2		miR-191		miR-191	miR-191			Dong et al. ⁽³⁵⁾ e Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾
2	miR-202	miR-202	miR-202					Braza-Boils et al. ⁽²⁵⁾ e Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
2		miR-143			miR-143			Zheng et al. ⁽²²⁾ e Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
2				miR-22		miR-22		Jia et al. ⁽⁶¹⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2		miR let-7g				miR let-7g		Wright et al. ⁽³¹⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2					miR-15b	miR-15b		Wanget al. ⁽⁵²⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2			miR-125a			miR-125a		Ramón et al. ⁽⁴⁴⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2				miR-195		miR-195		Suryawanshi et al. ⁽⁶⁰⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2					miR-18a	miR-18a		Cosar et al. ⁽⁵¹⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2			miR-19b			miR-19b		Yanget al. ⁽⁴³⁾ e Azmy et al. ⁽⁶²⁾
2	miR-146a		miR-146a					Yang et al. ⁽²¹⁾ e Yang et al. ⁽⁴³⁾
2			miR-182					Zhao et al. ⁽⁴²⁾ e Filigheddu et al. ⁽⁴⁶⁾
2					miR-125b			Nematian et al. ⁽⁴⁹⁾ e Cosar et al. ⁽⁵¹⁾
2					miR-let-7b			Cho et al. ⁽⁴⁸⁾ e Nematian et al. ⁽⁴⁹⁾

EU: endométrio eutópico de mulheres com endometriose; EN: endométrio eutópico de pacientes controle; EC: endométrio ectópico; LP: líquido peritoneal.

20 também se mostraram desregulados em outros tipos de tecidos, tais EC e eutópico, e no líquido peritoneal. Destes, 35% foram identificados no mesmo tipo de tecido em mais de um estudo, incluindo miR-200b, miR-145, miR-199a, miR-424, miR-200a, miR-126 e miR-451a. Treze miRNAs mostraram-se desregulados

de forma positiva ou negativa, a saber: miR-125b, miR-let-7b, miR-122, miR-451a e miR-199a no soro; miR-29c no EC em relação ao Grupo EN; e miR-145, miR-200b, miR-424, miR-200a, miR-200c, miR-449b e miR-182 no EC em relação ao EC de mulheres com endometriose (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização da expressão de miRNAs para regulação positiva e negativa em diferentes amostras

miRNA	n	EU versus EN		EC versus EN		EC versus EU		Plasma	Soro	Sangue	LP
		EU	EN	EC	EN	EC	EU				
miR-145	6	↑ (1)	↓ (1)	↑ (1)	↓ (1)	↑ (2)	↓ (2)	↑ (1)	↑ (1)/↓ (1)		
miR-200b	5			↑ (1)	↓ (1)	↓ (3)	↑ (3)	↓ (1)			
miR-424	5	↓ (1)	↑ (1)			↓ (2)	↑ (2)		↑ (1)	↓ (1)	
miR-199a	4	↓ (1)	↑ (1)	↓ (1)	↑ (1)			↑ (1)	↑ (2)/↓ (1)		↑ (1)
miR-141	4			↑ (1)	↓ (1)	↓ (1)	↑ (1)	↓ (1)	↓ (1)		
miR-20a	4			↑ (1)	↓ (1)			↓ (1)	↓ (1)	↓ (1)	
miR-200a	4			↑ (1)	↓ (1)	↓ (2)	↑ (2)	↓ (1)			
miR-29c	3	↓ (1)	↑ (1)	↑ (2)/↓ (1)	↓ (2)/↑ (1)	↓ (1)	↑ (1)				
miR-34c	3	↓ (1)	↑ (1)	↑ (1)	↓ (1)	↓ (1)	↑ (1)				
miR-200c	3			↓ (1)	↑ (1)	↓ (2)	↑ (2)				
miR-21	3			↑ (1)	↓ (1)	↓ (1)	↑ (1)			↓ (1)	
miR-126	3	↓ (1)	↑ (1)			↑ (1)/↓ (1)	↓ (1)/↑ (1)			↓ (1)	
miR-16	3					↑ (1)	↓ (1)	↑ (1)		↓ (1)	
miR-451a	3					↑ (1)	↓ (1)		↑ (2)		↑ (1)
miR-9	3	↓ (1)	↑ (1)			↓ (1)	↑ (1)		↓ (1)		
miR-106b	3					↑ (1)	↓ (1)			↓ (1)	↑ (1)
miR-17	3							↓ (1)	↓ (1)	↓ (1)	
miR-122	2								↑ (2)		↑ (1)
miR-449b	2					↓ (2)	↑ (2)				
miR-191	2			↑ (1)	↓ (1)			↑ (1)	↑ (1)		
miR-202	2	↓ (1)	↑ (1)	↑ (1)	↓ (1)	↑ (1)	↓ (1)				
miR-143	2			↑ (1)	↓ (1)				↑ (1)		
miR-22	2							↓ (1)		↓ (1)	
miR let-7g	2			↑ (1)	↓ (1)					↓ (1)	
miR-15b	2								↓ (1)	↓ (1)	
miR-125a	2					↑ (1)	↓ (1)			↓ (1)	
miR-195	2							↑ (1)		↓ (1)	
miR-18a	2								↑ (1)	↓ (1)	
miR-19b	2					↓ (1)	↑ (1)			↓ (1)	
miR-146a	2	↑ (1)	↓ (1)			↓ (1)	↑ (1)				
miR-182	2					↓ (2)	↑ (2)				
miR-125b	2								↑ (2)		
miR-let-7b	2								↓ (2)		

↑ regulação positiva; ↓ regulação negativa.

miRNA: microRNA; EU: endométrio eutópico de mulheres com endometriose; EN: endométrio eutópico de pacientes controle; EC: endométrio ectópico; PF: líquido peritoneal.

DISCUSSÃO

A endometriose pode ser uma doença debilitante e causa de má qualidade de vida.⁽⁶⁵⁾ Essa enfermidade tem relação com dismenorrea, dispareunia profunda, dor pélvica crônica e infertilidade,^(66,67) sendo considerada um problema de saúde pública, devido ao impacto sobre a saúde física e psicológica das pacientes e ao impacto socioeconômico decorrente dos custos do diagnóstico, do tratamento e do controle clínico.⁽⁶⁸⁾

Atualmente, o diagnóstico definitivo da endometriose se baseia na análise histológica da lesão, geral-

mente empregando-se amostras obtidas por cirurgia laparoscópica.⁽⁶⁹⁾ Entretanto, os métodos de imagem constituem alternativas diagnósticas não invasivas importantes para a endometriose ovariana e profunda. Tanto a abordagem cirúrgica como a não cirúrgica requerem habilidade profissional considerável e disponibilidade de dados específicos, o que pode representar enorme carga econômica e de saúde em países em desenvolvimento.⁽⁴⁻⁹⁾

Nas últimas três décadas, pesquisadores do mundo todo tentaram identificar testes não invasivos capazes

de reduzir o tempo necessário para o diagnóstico da endometriose. O CA-125 pode ser detectado no sangue ou no líquido peritoneal e é um dos biomarcadores mais bem estudados. Em alguns estudos de casos, a dosagem de CA-125 mostrou-se promissora, principalmente no diagnóstico da endometriose mais invasiva, desde que realizada no início do ciclo menstrual.⁽⁷⁰⁻⁷²⁾

Apesar dos resultados conflitantes referentes ao valor do CA-125 enquanto biomarcador decisivo e importante em revisões recentes, segundo Socolov et al., o CA-125 continua sendo o mais indicado para o diagnóstico e o monitoramento da endometriose.⁽⁷³⁾ Em uma revisão Cochrane mais recente, publicada em 2016, Nisenblat et al., compararam a acurácia de combinações de testes não invasivos para diagnóstico da endometriose pélvica com o diagnóstico cirúrgico, empregando como padrão de referência ensaios randomizados controlados ou estudos transversais publicados até meados de 2015. Os autores concluíram que nenhum dos biomarcadores investigados (incluindo o CA-125) pode ser devidamente avaliado por falta de evidência suficiente ou de boa qualidade, dada a heterogeneidade e o alto risco de viés nos estudos selecionados.⁽¹⁵⁾

Por mostrar-se mais elevado nos estágios avançados da endometriose, a sensibilidade do CA-125 é limitada. Além disso, a especificidade desse marcador é baixa, devido à sua regulação positiva em outras patologias ginecológicas.⁽⁷⁴⁾ Nesse contexto, a busca por novos biomarcadores eficazes e não invasivos, capazes de aprimorar o diagnóstico, o tratamento e o monitoramento da endometriose, permanece no topo da lista de prioridades.

Dentre os candidatos promissores, destacam-se os miRNAs circulantes, identificados pela primeira vez como marcadores sorológicos não invasivos para tumores em 2008.⁽⁷⁵⁻⁷⁷⁾ A alta estabilidade dos miRNAs circulantes no plasma humano e sua resistência a diversos procedimentos de manipulação de amostras foram enfatizadas nesses estudos pioneiros.

Além disso, esses mesmos estudos estabeleceram o conceito de diagnóstico baseado em assinaturas de miRNAs livres de células específicas. Desde então, os miRNAs foram validados como marcadores diagnósticos não invasivos para diversas doenças, incluindo distúrbios oncológicos, inflamatórios, cardiovasculares, metabólicos e reprodutivos. Os miRNAs se revelaram marcadores ideais na oncologia, conforme demonstram padrões diferenciais de expressão de miRNAs circulantes em pacientes com câncer pulmonar, ovariano, colorretal, prostático e de mama, em relação a controles saudáveis.⁽⁷⁸⁾

No sistema reprodutivo feminino em particular, a expressão desregulada de miRNAs foi estudada em fibroides uterinos, em diversos cânceres ginecológicos

(incluindo adenocarcinomas) e em distúrbios de parto, como a pré-eclâmpsia e o parto prematuro.⁽⁷⁹⁻⁸³⁾ Essas pequenas moléculas não codificantes associadas a diversas doenças figuram entre os candidatos úteis para o diagnóstico da endometriose.⁽⁸⁴⁾

Nesta revisão, o miRNA com expressão diferencial no maior número de estudos foi o miR-145 (seis artigos). Nos 46 estudos analisados, a maioria dos miRNAs que se mostraram desregulados na endometriose foi coletada de amostras teciduais. Portanto, os fluidos corpóreos foram pouco investigados, embora possam ser úteis enquanto ferramentas diagnósticas não ou pouco invasivas. Além disso, a maioria dos estudos comparou as diferenças de expressão de miRNAs entre o endométrio eutópico e o EC de pacientes com endometriose, sendo poucos os que estabeleceram comparações com o endométrio de pacientes com endometriose, ressaltando a dificuldade dos exames baseados em biópsias endometriais.

Dentre os miRNAs desregulados em pacientes com endometriose comparados nesta revisão, 30 foram detectados no sangue, 27 no soro e 18 no plasma de mulheres com endometriose comparadas com populações controle. As diferenças de composição molecular entre o soro e o plasma são bem conhecidas.^(85,86)

Ao comparar o espectro de miRNAs no soro e no sangue, Wang et al.,⁽¹⁹⁾ observaram várias discrepâncias nas concentrações de RNAs determinadas pela liberação de certos miRNAs e outros RNAs durante a coagulação e sugeriram que o plasma seja utilizado como amostra de eleição para estudo de miRNAs circulantes, uma vez que os RNAs liberados durante a coagulação podem alterar o repertório real de miRNAs circulantes.

A expressão diferencial de seis miRNAs foi identificada no líquido peritoneal de pacientes com endometriose em relação a mulheres não afetadas. Portanto, alguns miRNAs presentes no líquido peritoneal podem atuar na patogênese da endometriose. Entretanto, dada a natureza desse fluido, seu emprego é limitado pela necessidade de coleta cirúrgica, ou seja, invasiva.

Um ponto digno de nota nesses estudos foram os resultados conflitantes. Eles foram relatados em estudos que investigaram a expressão dos miR-145, -424, -199a, -29c, -126, -16, -195 e -18a no mesmo tipo de amostra. As principais características desses estudos encontram-se descritas a seguir.

A regulação positiva do miR-145 foi observada no soro, em estudo com 24 pacientes com endometriose estágios III e IV e 24 pacientes controle,⁽⁵¹⁾ e no plasma em um estudo com 55 pacientes com endometriose estágios I e II e 23 pacientes controle.⁽⁵⁸⁾ Em contrapartida, estudo com 60 casos (estágio da doença não relatado) e 25 controles relatou regulação negativa desse mesmo miRNA no soro.⁽¹⁹⁾

Um estudo com quatro pacientes com endometriose leve e três controles relatou regulação negativa do miR-424 no sangue.⁽⁶²⁾ Entretanto, esse mesmo marcador mostrou-se regulado de forma positiva no soro de 30 pacientes com endometriose mínima leve em relação a 20 indivíduos controle.⁽⁵²⁾

A regulação positiva do miR-199a foi detectada no soro de pacientes com endometrioses em dois estudos, sendo um com 60 pacientes com endometriose estágios III e IV e 25 pacientes controle⁽¹⁹⁾ e o outro com 45 pacientes com endometriose e 35 pacientes controle.⁽⁵⁰⁾ Entretanto, a regulação negativa do mesmo miRNA no soro foi descrita em outro estudo envolvendo 40 pacientes com endometriose e 25 pacientes controle.⁽⁵⁴⁾

Um estudo com 15 casos clínicos e 11 controles revelou regulação positiva do miR-29c no EC de mulheres com endometriose em relação ao endométrio eutópico do Grupo Controle.⁽³⁹⁾ Esse achado foi reconfirmado em outro estudo envolvendo 51 mulheres com endometriose e 32 controle⁽²⁵⁾ nas fases proliferativa e secretória do ciclo menstrual. Entretanto, resultados conflitantes, sugerindo regulação negativa do miR-29c no EC de 20 mulheres com endometriose em relação ao endométrio eutópico de dez pacientes controle,⁽²⁷⁾ todas exclusivamente na fase proliferativa do ciclo, foram relatados por outro pesquisador.

A regulação positiva do miR-126 no EC comparativamente ao endométrio eutópico foi detectada em oito mulheres com endometriose estágios III e IV⁽⁴⁵⁾ nas fases proliferativa e secretória do ciclo menstrual. Entretanto, a regulação negativa do miR-126 foi relatada no EC comparativamente ao endométrio eutópico em 31 mulheres com endometriose estágios III e IV,⁽²⁰⁾ todas na fase secretória do ciclo menstrual.

A regulação positiva do miR-16 e do miR-195 foi observada no plasma de 33 mulheres com endometriose comparadas com 20 pacientes controles.⁽⁶⁰⁾ Entretanto, outro estudo identificou regulação negativa de ambos no sangue de quatro pacientes com endometriose leve comparadas com três controles.⁽⁶²⁾

A regulação positiva do miR-18a foi observada no soro de 24 mulheres com endometriose estágios III e IV em relação a 24 pacientes controle.⁽⁵¹⁾ Entretanto, a regulação negativa foi identificada no sangue de quatro pacientes com endometriose leve em relação a três controles.⁽⁶²⁾

A discrepância nos resultados destaca a relevância de critérios como fase do ciclo menstrual, estágio da doença, tipo de amostra e tipo de procedimento, bem como a necessidade de estudos com maior número de pacientes para o desenvolvimento de testes diagnósticos para a endometriose.

O segundo objetivo deste estudo foi nortear estudos futuros destinados à identificação de um miRNA que possa constituir um biomarcador confiável e uma ferramenta para o diagnóstico preciso da endometriose. De acordo com essa revisão crítica da literatura, infelizmente não há um miRNA específico ou uma combinação de miRNAs devidamente validada para melhorar o diagnóstico da endometriose. Isso pode refletir a heterogeneidade da doença e, conseqüentemente, as diferenças de composição tecidual.⁽⁸⁷⁾ Por esse motivo, apoiamos as iniciativas da *World Endometriosis Research Foundation* (WERF) e do *Endometriosis Phenome and Biobanking Harmonization Project* (EPHect). O esforço conjunto de grupos mundiais de pesquisa para a criação de grandes bancos de dados derivados de amostras coletadas de pacientes com endometriose bem caracterizada é fundamental.

Essa é uma importante ferramenta para a identificação e a validação de biomarcadores, que pode desempenhar papel fundamental na investigação de biomarcadores em estudos futuros.⁽⁸⁸⁾ A inclusão de um *pool* global de amostras clínicas coletadas de pacientes com endometriose é fundamental para o avanço do conhecimento médico e pode ser de grande valia na implementação de terapias-alvo, melhorando a efetividade do tratamento e a qualidade de vida das pacientes que sofrem de endometriose.

Nesta revisão de literatura, não foram encontrados estudos investigando o perfil de expressão de miRNAs no fluido vaginal. Esse fluido corporal pode ser facilmente coletado durante o exame ginecológico e, apesar da alta taxa de colonização bacteriana, parece ser fonte promissora de material diagnóstico.^(89,90) O valor da expressão diferencial de miRNAs no fluido vaginal enquanto teste potencial de rastreio de HPV foi avaliado, com resultados interessantes.⁽⁹¹⁻⁹⁵⁾

Da mesma forma, nenhum dos artigos aqui revisados investigou miRNAs na saliva. Até o momento, não existem biomarcadores salivares para endometriose cientificamente comprovados. O emprego da saliva como meio de detecção de biomarcadores é adequado e desejável^(96,97) e foi previamente explorado no diagnóstico da endometriose.^(98,99) A ampla disponibilidade, aliada à facilidade de coleta por método não invasivo, com baixo custo e desconforto mínimo, faz da saliva um material ideal para a pesquisa de biomarcadores, que vem despertando grande interesse na esfera da saúde pública. O uso da saliva para identificação de miRNAs seria uma solução não invasiva em potencial para a eliminação dos obstáculos vigentes para o diagnóstico da endometriose.

Este estudo tem algumas limitações. Na avaliação de artigos com resultados conflitantes, não foi possível

identificar os fatores responsáveis pelos diferentes desfechos. As razões por trás da heterogeneidade de miRNA também não foram encontradas.

Diversos estudos que investigaram a expressão de miRNAs em pacientes com endometriose foram discutidos nesta revisão. Em sua maioria, esses estudos foram baseados em amostras agrupadas ou pequenas. Ensaios clínicos grandes e bem planejados, destinados à validação de miRNAs associados à endometriose, fazem-se necessários para o desenvolvimento de métodos diagnósticos acurados e pouco invasivos. O impacto clínico do emprego dos miRNAs cientificamente comprovados como biomarcadores para endometriose se traduzirá em mais amplo acesso a cuidados e menor disparidade em saúde, com potencial impacto sobre a saúde global. O diagnóstico da doença em estágios mais precoces pode se traduzir em uma redução dramática dos custos de saúde, além de beneficiar os pacientes em termos de melhor saúde e qualidade de vida.

CONCLUSÃO

A expressão diferencial do miR-145 foi relatada no maior número de estudos (seis artigos). Em sua maioria, os miRNAs desregulados foram extraídos de amostras teciduais.

Nenhum miRNA específico ou combinação de miRNAs foi validado para melhorar o diagnóstico da endometriose, o que pode refletir a heterogeneidade da doença e, conseqüentemente, diferenças de composição tecidual. Bancos de dados grandes, que contenham dados derivados de amostras coletadas de pacientes com endometriose bem caracterizada, podem ter papel fundamental na investigação de biomarcadores em estudos futuros. O uso de amostras de saliva e fluido vaginal para a identificação de miRNAs poderia representar uma solução não invasiva em potencial para a eliminação das barreiras vigentes para diagnóstico da endometriose.

AGRADECIMENTOS

A Carlos Augusto Cardim de Oliveira, por suas orientações sobre as melhores práticas para uma boa revisão sistemática.

INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Monnaka VU: <http://orcid.org/0000-0001-7313-0437>
 Hernandez C: <http://orcid.org/0000-0001-7352-6933>
 Heller D: <http://orcid.org/0000-0002-5084-8179>
 Podgaec S: <http://orcid.org/0000-0002-9760-6003>

REFERÊNCIAS

- Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: epidemiology, diagnosis and clinical management. *Curr Obstet Gynecol Rep.* 2017;6(1):34-41.
- Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004; 18(2):177-200. Review.
- Murphy AA. Clinical aspects of endometriosis. *Ann NY Acad Sci.* 2002;955:1-10; discussion 34-36, 396-406.
- Goncalves MO, Podgaec S, Dias JA Jr, Gonzalez M, Abrao MS. Transvaginal ultrasonography with bowel preparation is able to predict the number of lesions and rectosigmoid layers affected in cases of deep endometriosis, defining surgical strategy. *Hum Reprod.* 2010;25(3):665-71.
- Carneiro MM, Filogônio ID, Costa LM, de Ávila I, Ferreira MC. Clinical prediction of deeply infiltrating endometriosis before surgery: is it feasible? A review of the literature. *Biomed Res Int.* 2013;2013:564153. Review.
- Benacerraf BR, Groszmann Y. Sonography should be the first imaging examination done to evaluate patients with suspected endometriosis. *J Ultrasound Med.* 2012;31(4):651-3.
- Nisenblat V, Bossuyt PM, Farquhar C, Johnson N, Hull ML. Imaging modalities for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2:CD009591. Review.
- Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril.* 1997;67(5):817-21.
- Duffy JM, Arambage K, Correa FJ, Olive D, Farquhar C, Garry R, et al. Laparoscopic surgery for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(4):CD011031. Review.
- D'Hooghe TM, Debrock S, Meuleman C, Hill JA, Mwenda JM. Future directions in endometriosis research. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003; 30(1):221-44. Review.
- Ballard K, Lowton K, Wright J. What's the delay? A qualitative study of women's experiences of reaching a diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril.* 2006;86(5):1296-301.
- Liu E, Nisenblat V, Farquhar C, Fraser I, Bossuyt PM, Johnson N, et al. Urinary biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(12):CD012019. Review.
- Gupta D, Hull ML, Fraser I, Miller L, Bossuyt PM, Johnson N, et al. Endometrial biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;4:CD012165. Review.
- Nisenblat V, Bossuyt PM, Shaikh R, Farquhar C, Jordan V, Scheffers CS, et al. Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(5):CD012179. Review.
- Nisenblat V, Prentice L, Bossuyt PM, Farquhar C, Hull ML, Johnson N. Combination of the non-invasive tests for the diagnosis of endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;7:CD012281. Review.
- Somigliana E, Vercellini P, Viganò P, Benaglia L, Crosignani PG, Fedele L. Non-invasive diagnosis of endometriosis: the goal or own goal? *Hum Reprod.* 2010;25(8):1863-8.
- Marí-Alexandre J, Sánchez-Izquierdo D, Gilabert-Estellés J, Barceló-Molina M, Braza-Boïls A, Sandoval J. miRNAs regulation and its role as biomarkers in endometriosis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(1):93. Review.
- Lin PY, Yang PC. Circulating miRNA signature for early diagnosis of lung cancer. *EMBO Mol Med.* 2011;3(8):436-7.
- Wang WT, Zhao YN, Han BW, Hong SJ, Chen YQ. Circulating microRNAs identified in a genome-wide serum microRNA expression analysis as noninvasive biomarkers for endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(1):281-9.
- Liu S, Gao S, Wang XY, Wang DB. Expression of miR-126 and Crk in endometriosis: miR-126 may affect the progression of endometriosis by regulating Crk expression. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(4):1065-72.
- Yang P, Wu Z, Ma C, Pan N, Wang Y, Yan L. Endometrial miR-543 is downregulated during the implantation window in women with endometriosis-related infertility. *Reprod Sci.* 2019;26(7):900-8.

22. Zheng B, Xue X, Zhao Y, Chen J, Xu CY, Duan P. The differential expression of microRNA-143,145 in endometriosis. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(8):555-60.
23. Shi XY, Gu L, Chen J, Guo XR, Shi YL. Downregulation of miR-183 inhibits apoptosis and enhances the invasive potential of endometrial stromal cells in endometriosis. *Int J Mol Med.* 2014;33(1):59-67.
24. Dai L, Gu L, Di W. MiR-199a attenuates endometrial stromal cell invasiveness through suppression of the IKK β /NF- κ B pathway and reduced interleukin-8 expression. *Mol Hum Reprod.* 2012;18(3):136-45.
25. Braza-Boils A, Marí-Alexandre J, Gilabert J, Sánchez-Izquierdo D, España F, Estellés A, et al. MicroRNA expression profile in endometriosis: its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors. *Hum Reprod.* 2014;29(5):978-88.
26. Haikalis ME, Wessels JM, Leyland NA, Agarwal SK, Foster WG. MicroRNA expression pattern differs depending on endometriosis lesion type. *Biol Reprod.* 2018;98(5):623-33.
27. Long M, Wan X, La X, Gong X, Cai X. miR-29c is downregulated in the ectopic endometrium and exerts its effects on endometrial cell proliferation, apoptosis and invasion by targeting c-Jun. *Int J Mol Med.* 2015;35(4):1119-25.
28. Laudanski P, Charkiewicz R, Tolwinska A, Szamatowicz J, Charkiewicz A, Niklinski J. Profiling of selected microRNAs in proliferative eutopic endometrium of women with ovarian endometriosis. *Biomed Res Int.* 2015;2015:760698.
29. Burney RO, Hamilton AE, Aghajanova L, Vo KC, Nezhat CN, Lessey BA, et al. MicroRNA expression profiling of eutopic secretory endometrium in women with versus without endometriosis. *Mol Hum Reprod.* 2009;15(10):625-31.
30. Laudanski P, Charkiewicz R, Kuzmicki M, Szamatowicz J, Charkiewicz A, Niklinski J. MicroRNAs expression profiling of eutopic proliferative endometrium in women with ovarian endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:78. Erratum in: *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:50.
31. Wright KR, Mitchell B, Santanam N. Redox regulation of microRNAs in endometriosis-associated pain. *Redox Biol.* 2017;12:956-66.
32. Xu X, Li Z, Liu J, Yu S, Wei Z. MicroRNA expression profiling in endometriosis-associated infertility and its relationship with endometrial receptivity evaluated by ultrasound. *J Xray Sci Technol.* 2017;25(3):523-32.
33. Braicu OL, Budisan L, Buiga R, Jurj A, Achimas-Cadariu P, Pop LA, et al. miRNA expression profiling in formalin-fixed paraffin-embedded endometriosis and ovarian cancer samples. *Oncotargets Ther.* 2017;10:4225-38.
34. Saare M, Rekker K, Laisk-Podar T, Sõritsa D, Roost AM, Simm J, et al. High-throughput sequencing approach uncovers the miRNome of peritoneal endometriotic lesions and adjacent healthy tissues. *PLoS One.* 2014;9(11):e112630.
35. Dong M, Yang P, Hua F. MiR-191 modulates malignant transformation of endometriosis through regulating TIMP3. *Med Sci Monit.* 2015;21:915-20.
36. Liang Z, Chen Y, Zhao Y, Xu C, Zhang A, Zhang Q, et al. miR-200c suppresses endometriosis by targeting MALAT1 in vitro and in vivo. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):251.
37. Zhao M, Tang Q, Wu W, Xia Y, Chen D, Wang X. miR-20a contributes to endometriosis by regulating NTN4 expression. *Mol Biol Rep.* 2014;41(9):5793-7.
38. Qi H, Liang G, Yu J, Wang X, Liang Y, He X, et al. Genome-wide profiling of miRNA expression patterns in tubal endometriosis. *Reproduction.* 2019;157(6):525-34.
39. Joshi NR, Miyadahira EH, Afshar Y, Jeong JW, Young SL, Lessey BA, et al. Progesterone resistance in endometriosis is modulated by the altered expression of microRNA-29c and FKBP4. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(1):141-9.
40. Yang WW, Hong L, Xu XX, Wang Q, Huang JL, Jing L. Regulation of miR-33b on endometriosis and expression of related factors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(9):2027-33.
41. Graham A, Falcone T, Nothnick WB. The expression of microRNA-451 in human endometriotic lesions is inversely related to that of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and regulates MIF expression and modulation of epithelial cell survival. *Hum Reprod.* 2015;30(3):642-52.
42. Zhao L, Gu C, Ye M, Zhang Z, Li L, Fan W, et al. Integration analysis of microRNA and mRNA paired expression profiling identifies deregulated microRNA-transcription factor-gene regulatory networks in ovarian endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):4.
43. Yang RQ, Teng H, Xu XH, Liu SY, Wang YH, Guo FJ, et al. Microarray analysis of microRNA deregulation and angiogenesis-related proteins in endometriosis. *Genet Mol Res.* 2016;15(2):gmr.15027826.
44. Ramón LA, Braza-Boils A, Gilabert-Estellés J, Gilabert J, España F, Chirivella M, et al. microRNAs expression in endometriosis and their relation to angiogenic factors. *Hum Reprod.* 2011;26(5):1082-90.
45. Ohlsson Teague EM, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, Perry N, Wagaarachchi P, Robertson SA, et al. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis. *Mol Endocrinol.* 2009;23(2):265-75.
46. Filigheddu N, Gregnanin I, Porporato PE, Surico D, Perego B, Galli L, et al. Differential expression of microRNAs between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:369549.
47. Nothnick WB, Falcone T, Joshi N, Fazleabas AT, Graham A. Serum miR-451a levels are significantly elevated in women with endometriosis and recapitulated in baboons (*Papio anubis*) with experimentally-induced disease. *Reprod Sci.* 2017;24(8):1195-202.
48. Cho S, Mutlu L, Grechukhina O, Taylor HS. Circulating microRNAs as potential biomarkers for endometriosis. *Fertil Steril.* 2015;103(5):1252-60.e1.
49. Nematian SE, Mamillapalli R, Kadakia TS, Majidi Zolbin M, Moustafa S, Taylor HS. Systemic inflammation induced by microRNAs: endometriosis derived alterations in circulating microRNA 125b-5p and Let-7b-5p regulate macrophage cytokine production. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(1):64-74.
50. Maged AM, Deeb WS, El Amir A, Zaki SS, El Sawah H, Al Mohamady M, et al. Diagnostic accuracy of serum miR-122 and miR-199a in women with endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2017;141(1):14-9.
51. Cosar E, Mamillapalli R, Ersoy GS, Cho S, Seifer B, Taylor HS. Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: a comprehensive array-based analysis. *Fertil Steril.* 2016;106(2):402-9.
52. Wang L, Huang W, Ren C, Zhao M, Jiang X, Fang X, et al. Analysis of Serum microRNA Profile by Solexa Sequencing in Women With Endometriosis. *Reprod Sci.* 2016;23(10):1359-70.
53. Wang F, Wang H, Jin D, Zhang Y. Serum miR-17, IL-4, and IL-6 levels for diagnosis of endometriosis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(24):e10853.
54. Hsu CY, Hsieh TH, Tsai CF, Tsai HP, Chen HS, Chang Y, et al. miRNA-199a-5p regulates VEGFA in endometrial mesenchymal stem cells and contributes to the pathogenesis of endometriosis. *J Pathol.* 2014;232(3):330-43.
55. Hu Z, Mamillapalli R, Taylor HS. Increased circulating miR-370-3p regulates steroidogenic factor 1 in endometriosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2019;316(3):E373-82.
56. Nisenblat V, Sharkey DJ, Wang Z, Evans SF, Healey M, Ohlsson Teague EM, et al. Plasma miRNAs display limited potential as diagnostic tools for endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(6):1999-2022.
57. Rekker K, Saare M, Roost AM, Kaart T, Sõritsa D, Karro H, et al. Circulating miR-200-family micro-RNAs have altered plasma levels in patients with endometriosis and vary with blood collection time. *Fertil Steril.* 2015;104(4):938-46.e2.
58. Bashti O, Noruzinia M, Garshashi M, Abtahi M. miR-31 and miR-145 as potential non-invasive regulatory biomarkers in patients with endometriosis. *Cell J.* 2018;20(1):84-9. Erratum in: *Cell J.* 2018;20(2):293.
59. Pateisky P, Pils D, Szabo L, Kuessel L, Husslein H, Schmitz A, et al. hsa-miRNA-154-5p expression in plasma of endometriosis patients is a potential diagnostic marker for the disease. *Reprod Biomed Online.* 2018;37(4):449-66.
60. Suryawanshi S, Vlad AM, Lin HM, Mantia-Smaldone G, Laskey R, Lee M, et al. Plasma microRNAs as novel biomarkers for endometriosis and endometriosis-associated ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;19(5):1213-24.
61. Jia SZ, Yang Y, Lang J, Sun P, Leng J. Plasma miR-17-5p, miR-20a and miR-22 are down-regulated in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2013;28(2):322-30.
62. Azmy OM, Elgarf WT. MiRNA-130a, a potential endometriosis inducing factor. *Med Res J.* 2012;11(2):40-7.
63. Marí-Alexandre J, Barceló-Molina M, Belmonte-López E, García-Oms J, Estellés A, Braza-Boils A, et al. Micro-RNA profile and proteins in peritoneal fluid from women with endometriosis: their relationship with sterility. *Fertil Steril.* 2018;109(4):675-84.e2.

64. Chen Y, Wang K, Xu Y, Guo P, Hong B, Cao Y, et al. Alteration of myeloid-derived suppressor cells, chronic inflammatory cytokines, and exosomal miRNA contribute to the peritoneal immune disorder of patients with endometriosis. *Reprod Sci*. 2019;26(8):1130-8.
65. Nogueira Neto J, Coelho TM, Aguiar GC, Carvalho LR, de Araújo AG, Girão MJ, et al. Experimental endometriosis reduction in rats treated with *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extract. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011;154(2):205-8.
66. Berlanda N, Vercellini P, Somigliana E, Frattaruolo MP, Buggio L. Role of surgery in endometriosis-associated subfertility. *Semin Reprod Med*. 2013;31(2):133-43. Review.
67. Agostinis C, Zorzet S, De Leo R, Zauli G, De Seta F, Bulla R. The combination of N-acetyl cysteine, alpha-lipoic acid, and bromelain shows high anti-inflammatory properties in novel in vivo and in vitro models of endometriosis. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:918089.
68. Rosa-E-Silva JC, Fortunato GG, Zanardi J, Meola J, Nogueira AA. Effect of cabergoline in experimental endometriosis in rats. *J Minim Invasive Gynecol*. 2015;22(6S):S168.
69. Johnson NP, Hummelshoj L; World Endometriosis Society Montpellier Consortium. Consensus on current management of endometriosis. *Hum Reprod*. 2013;28(6):1552-68.
70. Amaral VF, Ferriani RA, Sá MF, Nogueira AA, Rosa e Silva JC, Rossa e Silva AC, et al. Positive correlation between serum and peritoneal fluid CA-125 levels in women with pelvic endometriosis. *Sao Paulo Med J*. 2006;124(4):223-7.
71. Abrao MS, Podgaec S, Pinotti JA, de Oliveira RM. Tumor markers in endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet*. 1999;66(1):19-22.
72. Abrão MS, Podgaec S, Filho BM, Ramos LO, Pinotti JA, de Oliveira RM. The use of biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis. *Hum Reprod*. 1997;12(11):2523-7.
73. Socolov R, Socolov D, Sindilar A, Pavaleanu I. An update on the biological markers of endometriosis. *Minerva Ginecol*. 2017;69(5):462-7. Review.
74. O DF, Flores I, Waelkens E, D'Hooghe T. Noninvasive diagnosis of endometriosis: review of current peripheral blood and endometrial biomarkers. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;50:72-83. Review.
75. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10513-8.
76. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18(10):997-1006.
77. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2008;141(5):672-5.
78. Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer. *Mol Oncol*. 2012;6(6):590-610. Review.
79. Wang T, Zhang X, Objuru L, Laser J, Aris V, Lee P, et al. A micro-RNA signature associated with race, tumor size, and target gene activity in human uterine leiomyomas. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007;46(4):336-47.
80. Zhang L, Volinia S, Bonome T, Calin GA, Greshock J, Yang N, et al. Genomic and epigenetic alterations deregulate microRNA expression in human epithelial ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(19):7004-9.
81. Traver S, Assou S, Scalici E, Haouzi D, Al-Edani T, Belloc S, et al. Cell-free nucleic acids as non-invasive biomarkers of gynecological cancers, ovarian, endometrial and obstetric disorders and fetal aneuploidy. *Hum Reprod Update*. 2014;20(6):905-23.
82. Santamaria X, Taylor H. MicroRNA and gynecological reproductive diseases. *Fertil Steril*. 2014;101(6):1545-51. Review.
83. Srivastava SK, Ahmad A, Zubair H, Miree O, Singh S, Rocconi RP, et al. MicroRNAs in gynecological cancers: Small molecules with big implications. *Cancer Lett*. 2017;407:123-38. Review.
84. Bjorkman S, Taylor HS. MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates. *Biol Reprod*. 2019;100(5):1135-46. Erratum in: *Biol Reprod*. 2019;101(6):1179. Review.
85. Rai AJ, Gelfand CA, Haywood BC, Warunek DJ, Yi J, Schuchard MD, et al. HUPLO Plasma Proteome Project specimen collection and handling: towards the standardization of parameters for plasma proteome samples. *Proteomics*. 2005;5(13):3262-77.
86. Hsieh SY, Chen RK, Pan YH, Lee HL. Systematical evaluation of the effects of sample collection procedures on low-molecular-weight serum/plasma proteome profiling. *Proteomics*. 2006;6(10):3189-98.
87. Saare M, Rekker K, Laisk-Podar T, Rahmioglu N, Zondervan K, Salumets A, et al. Challenges in endometriosis miRNA studies - From tissue heterogeneity to disease specific miRNAs. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017;1863(9):2282-92. Review.
88. Watson PH, Wilson-McManus JE, Barnes RO, Giesz SC, Png A, Hegele RG, et al. Evolutionary concepts in biobanking - the BC BioLibrary. *J Transl Med*. 2009;7:95.
89. Hanson EK, Ballantyne J. Circulating microRNA for the identification of forensically relevant body fluids. *Methods Mol Biol*. 2013;1024:221-34.
90. Hanson EK, Lubenow H, Ballantyne J. Identification of forensically relevant body fluids using a panel of differentially expressed microRNAs. *Anal Biochem*. 2009;387(2):303-14.
91. Tian Q, Li Y, Wang F, Li Y, Xu J, Shen Y, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(9):dju241.
92. Hesselink AT, Heideman DA, Steenbergen RD, Gök M, van Kemenade FJ, Wilting SM, et al. Methylation marker analysis of self-sampled cervico-vaginal lavage specimens to triage high-risk HPV-positive women for colposcopy. *Int J Cancer*. 2014;135(4):880-6.
93. De Strooper LM, Verhoef VM, Berkhof J, Hesselink AT, de Bruin HM, van Kemenade FJ, et al. Validation of the FAM19A4/mir124-2 DNA methylation test for both lavage- and brush-based self-samples to detect cervical (pre) cancer in HPV-positive women. *Gynecol Oncol*. 2016;141(2):341-7.
94. Van Ostade X, Dom M, Tjalma W, Van Raemdonck G. Candidate biomarkers in the cervical vaginal fluid for the (self-)diagnosis of cervical precancer. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;297(2):295-311. Review.
95. Verhoef VM, Bosgraaf RP, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Heideman DA, Hesselink AT, et al. Triage by methylation-marker testing versus cytology in women who test HPV-positive on self-collected cervicovaginal specimens (PROTECT-3): a randomized controlled non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(3):315-22.
96. Aro K, Wei F, Wong DT, Tu M. Saliva Liquid Biopsy for Point-of-Care Applications. *Front Public Health*. 2017;5:77.
97. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017;242(5):459-72. Review.
98. Wingfield M, O' Herlihy C, Finn MM, Tallon DF, Fottrell PF. Follicular and luteal phase salivary progesterone profiles in women with endometriosis and infertility. *Gynecol Endocrinol*. 1994;8(1):21-5.
99. Petrelluzzi KF, Garcia MC, Petta CA, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC. Salivary cortisol concentrations, stress and quality of life in women with endometriosis and chronic pelvic pain. *Stress*. 2008;11(5):390-7.