

MARÍLIA OLIVEIRA RIBEIRO

**CORRELAÇÃO ENTRE HISTOLOGIA ENDOMETRIAL E
PADRÃO DE SANGRAMENTO EM USUÁRIAS DO SISTEMA
INTRA-UTERINO LIBERADOR DE LEVONORGESTREL**

Dissertação de Mestrado

**ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS ALBERTO PETTA
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. LILIANA A. L. DE ANGELO ANDRADE**

**UNICAMP
2003**

MARÍLIA OLIVEIRA RIBEIRO

**CORRELAÇÃO ENTRE HISTOLOGIA ENDOMETRIAL E
PADRÃO DE SANGRAMENTO EM USUÁRIAS DO SISTEMA
INTRA-UTERINO LIBERADOR DE LEVONORGESTREL**

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
Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. CARLOS ALBERTO PETTA
CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. LILIANA A. L. DE ANGELO ANDRADE

UNICAMP
2003

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

R354c Ribeiro, Marília Oliveira
Correlação entre histologia endometrial e padrão de sangramento em usuárias do sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel. / Marília Oliveira Ribeiro. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

 Orientador : Carlos Alberto Petta, Liliana Aparecida L. De Angelo Andrade
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

 1. Histologia. 2. Endométrio. 3. Menstruação. 4. Anticoncepção. 5. Hormônios. I. Carlos Alberto Petta. II. Liliana Aparecida L. De Angelo Andrade. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: MARÍLIA OLIVEIRA RIBEIRO

Orientador: Prof. Dr. CARLOS ALBERTO PETTA

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. LILIANA A. L. DE ANGELO ANDRADE

Membros:

1.

2.

3.

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

Data: 28/04/2003

Dedico este trabalho...

*...ao meu falecido e amado pai, **Conrado**,
pelo exemplo de disciplina, caráter, dignidade e amor.*

*...à minha amada mãe, **Leida**,
a quem tudo devo, pelo carinho dedicado a vida toda.*

*...ao meu amado marido, **Hélio**,
alma gêmea e grande incentivador.*

*...ao meu amado filho, **Daniel**,
poema ao qual dei à luz.*

*...à minha amada irmã, **Eliane**,
companheira de todas as horas.*

*...aos meus amados **tios(as), primos(as)**
e aos verdadeiros **amigos**,
os quais, mesmo a distância, tanta força me dão.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Petta, pelo exemplo como pesquisador, médico e professor, pelo incentivo em todos os momentos difíceis durante a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Liliana Aparecida L. de A. Andrade, por suas orientações, incentivo e paciência, pelo exemplo como pesquisadora, médica e professora.

Ao Prof. Dr. Luis Bahamondes por sua grande ajuda, em todos os momentos, desde o início deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim da Silva, pela orientação na montagem da estrutura física que permitiu a análise dos dados.

À Dra. Lois Salamonsen, pela desinteressada ajuda e por todos os artigos que me enviou.

À Enf. Maria Margarete Hidalgo pela ajuda, fundamental, na fase inicial deste estudo.

Às secretárias Verônica Barros e Margarete Donadon, pela paciência e dedicação em todas as fases deste trabalho.

Às enfermeiras do Ambulatório de Reprodução Humana, Cecília, Creusa, Ximena, Tila (in memoriam), Sara e Nádia, pelo companheirismo e apoio na fase de coleta do material.

Às estatísticas Maria Helena de Souza e Adriane Elisabeth Olivatto, pelo empenho na análise dos resultados.

*Aos demais funcionários do **CEMICAMP, CAISM e ASTEC**, pelo apoio e incentivo.*

*À técnica de laboratório **Léa de Magalhães Simões**, pela responsabilidade e competência na confecção das lâminas.*

*À bióloga **Marisa Almeida Matsuda** e aos demais **funcionários do Laboratório de Patologia Experimental**, pelo comprometimento com a atividade a eles destinada na realização deste trabalho.*

*A todos os **funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica**, os quais me acolheram com respeito e deram apoio durante a fase de análise deste trabalho.*

*Às **mulheres usuárias do SIU-LNG** que participaram, voluntariamente, deste estudo, sem as quais nada disso seria possível.*

Apoio

FAPESP- Processo nº 2001/14645-6

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

Resumo

Summary

1. Introdução	14
2. Objetivos	32
2.1. Objetivo geral	32
2.2. Objetivos específicos	32
3. Sujeitos e Métodos.....	33
3.1. Desenho do estudo	33
3.2. Tamanho amostral	33
3.3. Seleção dos sujeitos	34
3.4. Critério de inclusão	34
3.5. Critérios de exclusão.....	34
3.6. Variáveis e conceitos	35
3.6.1. Variável independente	35
3.6.2. Variável dependente	36
3.6.3. Variáveis de controle.....	42
3.7. Coleta de dados	43
3.8. Técnicas e exames	44
3.8.1. Biópsia de endométrio	44
3.8.2. Método histológico	45
3.9. Processamento de dados	49
3.10. Análise dos dados.....	50
3.11. Aspectos éticos.....	50
4. Resultados	52
5. Discussão.....	59
6. Conclusões	69
7. Referências Bibliográficas.....	71
8. Bibliografia de Normatizações	83
9. Anexos	84
9.1. Anexo 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido	84
9.2. Anexo 2 - Ficha para coleta de dados	86

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AMP-D	Acetato de medroxiprogesterona de depósito
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
EN-NET	Enantato de noretisterona
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
MAC	Método anticoncepcional
MMP	Matriz Metaloproteinase
SIU-LNG	Sistema Intra-uterino Liberador de Levonorgestrel
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Atualmente, um número cada vez maior de mulheres é usuário de métodos anticoncepcionais somente com progestógenos, que são de alta eficácia, longa duração e a tendência da indústria farmacêutica é aumentar a produção dos mesmos. Dentre estes métodos encontra-se o sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel. Nas usuárias destes métodos as mudanças no padrão do fluxo menstrual são quase universais e a imprevisibilidade do sangramento uterino constitui a principal causa de descontinuação dos mesmos. O objetivo deste estudo de corte transversal foi verificar diferenças quanto aos achados histológicos endometriais, em usuárias do sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel, em grupos com e sem sangramento uterino, após seis meses de uso do método. No total foram avaliadas e submetidas à biópsia endometrial 58 mulheres saudáveis, sendo 29 em cada grupo. A classificação histológica mais frequentemente encontrada foi o endométrio progestacional, seguido pelo atrófico, nos dois grupos. Não houve correlação significativa entre os grupos com relação à idade ($p=0,078$), paridade ($p=0,745$), cor ($p=0,176$), índice de massa corpórea ($p=0,768$), tempo de uso do sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel

($p=0,139$) e padrão menstrual prévio ao uso do mesmo ($p=0,391$). Não houve diferença estatisticamente significativa com relação à ocorrência de endometrite, necrose estromal, erosão de superfície com reepitelização focal, colapso estromal, pseudo-estratificação glandular e edema estromal. O perímetro e o maior diâmetro glandular foram as únicas características no grupo sem sangramento, significativamente maiores do que no grupo com sangramento. Um número significativamente maior de leucócitos foi encontrado no grupo com sangramento ($p=0,014$). Esta foi a única característica, dentre as avaliadas, que se relacionou à ocorrência de sangramento endometrial neste grupo. Os resultados deste estudo evidenciam a importância dos leucócitos na perda da integridade endometrial em mulheres usuárias do sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel e sugerem a necessidade de se seguir avaliando os leucócitos endometriais, bem como suas interações enzimáticas.

Summary

Progestogen-only contraception is being used by an increasing number of women. It has a long term and high efficacy. Among these methods, there is the levonorgestrel intrauterine system (LNG-IUS). However, the changes of menstrual patterns are almost universal and unpredictable and remains the main reason for discontinuation of the method. This was a descriptive (cross sectional) comparative study. It aimed to investigate the endometrial histology in users of LNG-IUS, for more than six months, in women with and without bleeding. Endometrial biopsy was obtained in a total of 58 healthy volunteers, twenty-nine women in each group: with or without endometrial bleeding. Histological analysis revealed that the majority of samples displayed a progestin-modified appearance. There was no significant difference between the two groups comparing age ($p=0.078$), body mass index ($p=0.768$), duration of contraceptive use ($p=0.139$), parity ($p=0.745$), ethnicity ($p=0.176$) and menstrual pattern previous to use of LNG-IUS ($p=0.391$). There was no significant difference in the evaluation of endometritis, stroma collapse, superficial erosion, glandular pseudostratification and oedema. The perimeter and the major glandular diameter were the only

characteristics, significantly higher in the group without bleeding, when compared with the group with bleeding. A number significantly higher of leukocytes was found in the group with bleeding ($p=0.014$). This was the only characteristic correlated with the endometrial bleeding in these group. These findings provide evidence of the importance of the leukocytes in the loss of endometrial integrity in women using LNG-IUS. This data suggests the necessity of further evaluation of endometrial leukocytes and their enzymatic interactions. The complete determination of the pathogenesis of abnormal uterine bleeding associated with LNG-IUS will contribute for new clinical treatments and could improve the continuation rate and satisfaction with the use of this method.

1. Introdução

Os anticoncepcionais contendo somente progestógenos são usados por um número estimado de 20 milhões de mulheres em todo o mundo. Recentes avanços nos sistemas de liberação têm aumentado a duração e a aceitabilidade dos métodos com progestógenos de longa ação (HICKEY *et al.*, 1999). Estes anticoncepcionais têm em comum a alta eficácia e a propriedade de agir por longo tempo, o que facilita seu uso (D'ARCANGUES, 2000).

A maior limitação destas preparações é o distúrbio nos padrões do sangramento menstrual, particularmente nos primeiros meses de uso (D'ARCANGUES *et al.*, 1992; FRASER e HICKEY, 2000).

As alterações no padrão de sangramento variam desde a amenorréia, *spotting* ou sangramento irregular e leve até o fluxo sangüíneo prolongado e freqüente (BELSEY *et al.*, 1986; FRASER, 1999). O sangramento volumoso é raro, embora episódios prolongados de sangramento leve possam provocar uma grande perda sangüínea, maior do que a mulher apresentaria nos seus ciclos menstruais normais (FRASER *et al.*, 2000).

O sangramento uterino que não ocorre de forma regular é pouco tolerado pela maioria das mulheres e consiste na causa mais comum para o abandono dos anticoncepcionais contendo somente progestógenos, correspondendo a aproximadamente metade dos casos de descontinuação do método (BELSEY et al., 1986; FRASER, 1986; FINDLAY, 1996; HICKEY et al., 1996; 1998; FRASER e HICKEY, 2000).

O sangramento uterino anormal não apenas reduz o uso destes medicamentos, mas pode restringir as opções anticonceptivas aceitáveis para estas mulheres e reduzir a qualidade de vida das mesmas (Smith, 2000). Além disso, pode tornar insatisfeita a mulher que considera seu padrão menstrual como parâmetro de sua saúde reprodutiva e geral, além da dimensão sociocultural que tem o sangramento uterino (D'ARCANGUES, 2000).

A taxa de descontinuação pode ser diminuída por boa orientação e apoio no seguimento, auxiliando a mulher a entender a natureza da mudança do padrão de sangramento e a reconhecer que, usualmente, ocorre melhora com o tempo (FRASER et al., 2000).

Nos últimos cinco anos, um número significativo de avanços ocorreu na tentativa de identificar os mecanismos determinantes destes distúrbios de sangramento; no entanto, permanecem dúvidas que exigem novos estudos. Um melhor conhecimento auxiliará no tratamento e na prevenção do sangramento uterino imprevisível (SMITH, 2000).

O uso de terapêuticas como estrogênios, anticoncepcionais orais combinados, progestógenos, antiinflamatórios não esteróides, vitaminas, ferro e ansiolíticos, algumas vezes, podem ser eficazes a curto prazo mas não alteram a frequência de episódios de sangramento/*spotting* e podem estar associados à ocorrência de outros efeitos colaterais (D'ARCANGES, 2000).

Os dados atuais sugerem que o estabelecimento de um padrão de sangramento regular, para todas as usuárias de progestógenos de longa ação, talvez não seja possível e a indução da amenorréia associada ao aconselhamento será mais realista (D'ARCANGES, 2000). Estudo realizado com usuárias do sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel (SIU-LNG) demonstrou que 91,6% das mulheres em amenorréia estavam satisfeitas. Dentre as mulheres que ainda apresentavam sangramento uterino apenas 3,8% não gostariam de estar em amenorréia (NASCIMENTO et al., 2002).

Os contraceptivos contendo somente progestógenos pertencem a dois grandes grupos: os derivados da 17-hidroxiprogesterona (acetato de medroxiprogesterona) e os da 19-norprogesterona. As 19-norprogesteronas são divididas entre os derivados da progesterona (acetato de nomegestrol) e os da testosterona (levonorgestrel, etonorgestrel e a noretisterona) (HAGUE et al., 2002).

Dentre os anticoncepcionais, contendo somente progestógenos, de longa duração, encontra-se o acetato de medroxiprogesterona na forma de depósito (AMP-D), aprovado para uso injetável em 1992 pela *Food and Drugs Administration*

– EUA. Estima-se que 13 milhões de mulheres no mundo sejam usuárias deste método para anticoncepção (D'ARCANGUES, 2000).

Recentemente, o Implanon® (Organon, Holanda), um implante subdérmico com haste única, contendo um sistema liberador de etonogestrel de 68mg e menos androgênico que o levonorgestrel (LNG) (CROXATTO e MÄKÄRÄINEN, 1998), passou a ser comercializado no Brasil.

Outros métodos contendo apenas progestógenos incluem três sistemas de liberação prolongada de levonorgestrel. O implante subdérmico com seis hastes de silástico, Norplant® (Leiras Oy, Turku, Finlândia), foi aprovado desde 1983 na Europa, mas não é comercializado no Brasil, sendo usado por cerca de seis milhões de mulheres no mundo. O Jadelle®, outro implante subdérmico mais recente, contém duas hastes liberadoras da mesma quantidade de LNG que as seis cápsulas do Norplant® (ROBERTSON et al., 1993). O sistema intra-uterino liberador de 20µg diárias de levonorgestrel (SIU-LNG) é utilizado por cerca de um milhão de mulheres no mundo (D'ARCANGUES, 2000).

Estudos para a administração intra-uterina do LNG tiveram início no começo dos anos 70 (SCOMMEGNA et al., 1970; EL MAHGOUB, 1975; NILSSON et al., 1975). O SIU-LNG para contracepção foi desenvolvido por LUUKKAINEN e NILSSON (1978) com o apoio do *Population Council* e do *International Committee for Contraception Research*. O produto final foi elaborado por Leiras Oy Pharmaceutical, Turku, Finlândia e lançado em 1990. Atualmente, é comercializado

na maior parte da Europa, nos EUA, em alguns países asiáticos e no Brasil, onde está disponível com o nome Mirena® (Schering, AG, Berlin).

O SIU-LNG é composto por uma parte plástica em forma de T (32x32mm), com um cilindro contendo o LNG, na dose de 52mg, dentro de uma cápsula de dimetilpolisiloxano que controla a liberação diária de 20µg do hormônio na cavidade uterina. Este sistema libera o LNG por um período de cinco anos, com uma margem de segurança de mais dois anos para anticoncepção.



O SIU-LNG, atualmente, também é utilizado como parte da terapia de reposição hormonal, como adjuvante na terapia com tamoxifeno (HUBACHER e GRIMES, 2002), bem como no tratamento da menorragia, sendo uma alternativa à histerectomia ou à ablação endometrial (HURSKAINEN *et al.*, 2001; HUBACHER e GRIMES, 2002; MONTEIRO *et al.*, 2002). Outras aplicações incluem casos de dismenorréia severa (PUOLAKKA *et al.*, 1996), alívio da dor associada à endometriose (VERCELLINI *et al.*, 1999) e tratamento da endometriose do septo retovaginal (FEDELE *et al.*, 2001).

A diminuição do fluxo menstrual ocorre na maioria das usuárias de SIU-LNG, sendo esta a característica que o torna uma opção para o tratamento da menorragia e dismenorréia (LÄHTEENMÄKI et al., 1998). Este fenômeno, que é independente da função ovariana e da concentração dos esteróides sexuais circulantes, decorre da ação local e não há hipoestrogenismo (NILSSON et al., 1984).

O LNG liberado na cavidade endometrial é rapidamente absorvido pelos capilares, para a circulação sistêmica. No entanto, a concentração sérica é menor que a observada em usuárias de implantes subcutâneos de LNG (NORPLANT®), contraceptivos orais combinados e minipílulas. A produção de estradiol não é alterada, permanecendo semelhante à do ciclo menstrual normal (NILSSON et al., 1984). A ovulação geralmente não é inibida, embora pequenas alterações na função ovulatória tenham sido observadas (NILSSON et al., 1984; BARBOSA et al., 1995), correlacionando com a elevação inicial da concentração sérica do LNG (XIAO et al., 1995).

Os efeitos contraceptivos do SIU-LNG decorrem, sobretudo, de alterações em receptores de estrógenos e progestógenos no endométrio (NILSSON et al., 1978), também da supressão da proliferação endometrial, inibição da migração espermática, espessamento do muco cervical e por reação de corpo estranho (BARBOSA et al., 1995). Tanto os receptores endometriais de estrogênios (RE) como os de progestógenos (RP), em usuárias de SIU-LNG, correspondem a cerca de 50% dos encontrados em controles. Portanto, há redução nos locais de ligação de estrogênios e progênios no endométrio de usuárias de SIU-LNG,

o que pode implicar a eficácia anticonceptiva e no sangramento endometrial irregular ou na ocorrência de amenorréia nestas mulheres (CRITCHLEY et al., 1998; PENGDI et al., 1999).

O método é muito eficaz como contraceptivo, com índice de Pearl de 0,11 em cinco anos, podendo ser comparado com as melhores técnicas de esterilização cirúrgica (LUUKKAINEN et al., 1986).

Nas mulheres que optam pelo uso do SIU-LNG, quando orientadas sobre a possibilidade de sangramento uterino imprevisível, o método é mais aceito e as taxas de continuação anuais giram em torno de 75% (NILSSON et al., 1981; FAÚNDES, et al., 1993; DIAZ et al., 2000). Um estudo recente demonstrou que a maioria das usuárias de SIU-LNG (74%) estava muito satisfeita, sendo que 70% tinham escolhido este método devido à insatisfação com a forma de anticoncepção anterior. A satisfação da usuária foi maior quando a mesma recebia informações, no dia da inserção, sobre possíveis alterações menstruais, sobretudo a ocorrência de amenorréia; aumento de oleosidade da pele e cabelos, risco de gravidez e doença inflamatória pélvica (BACKMAN et al., 2002).

As usuárias de maior idade (entre 35 e 45 anos) apresentam excelente aceitabilidade em relação às mulheres mais jovens, podendo o SIU-LNG ser considerado um dos principais métodos anticoncepcionais para mulheres na faixa etária citada (DUBUISSON et al., 2002).

As principais razões que levaram as usuárias a abandonar o uso do SIU-LNG, em taxas cumulativas em cinco anos por 100 mulheres, foram: gravidez,

1,0; expulsão, 5,0; mudanças no padrão menstrual, 16,7; dor, 4,3 e doença inflamatória pélvica 1,2 (COX et al., 2002).

A maior razão para o descontentamento com o uso do SIU-LNG e que constitui a causa mais comum de descontinuação do uso é o sangramento uterino imprevisível (LUUKKAINEN et al., 1986; JI et al., 1990; SIVIN et al., 1990). A frequência dos episódios de sangramento é geralmente alta durante os primeiros meses (três a seis meses) após a inserção, com uma gradual melhora com a exposição contínua (FRASER et al., 1996). A porcentagem de mulheres com oligo ou amenorréia foi de cerca de 30%, no primeiro ano, em um estudo realizado por JI et al. (1990).

Outro estudo mostrou que nos seis primeiros meses de uso 44% das mulheres relatam amenorréia e esta taxa estabiliza em 50% em 12 a 24 meses de uso. O *spotting* ocorre em 25% das usuárias em seis meses e diminui para 8% e 11% aos 18 e 24 meses de uso, respectivamente. A oligomenorréia ocorre em 1/4 das mulheres e esta taxa permanece igual em dois anos de observação. A menorragia e os ciclos regulares ocorrem em poucas mulheres após seis meses de uso (HIDALGO et al., 2002).

Assim como ocorre com os outros métodos anticoncepcionais contendo somente progestógenos, os mecanismos do sangramento anormal não são bem conhecidos. Entretanto, sabe-se que o SIU-LNG induz a uma rápida e dramática diferenciação do endométrio (NILSSON et al., 1978; SILVERBERG et al., 1986). Estas mudanças são consistentes com a transformação mediada pela progesterona,

como observado durante a fase secretória do ciclo menstrual normal e na gestação. As alterações morfológicas incluem decidualização extensa do estroma, infiltração leucocitária, atrofia glandular e da superfície epitelial; além de alterações vasculares. A atividade secretória das glândulas epiteliais cessa e a função proliferativa do endométrio é inibida. Isto resulta em um afinamento generalizado das camadas funcionais do endométrio. Estas características de supressão endometrial estão presentes desde o primeiro até o sétimo ano de uso do SIU-LNG (SILVERBERG et al., 1986).

A decidualização é sempre acompanhada por infiltração leucocitária (MARTINEZ–MANAUTOU *et al.*, 1975). A quebra tecidual é uma propriedade inerente do tecido decidualizado. A necrose focal, após um certo período de tratamento com altas doses de progesterona, é freqüentemente observada acompanhando a infiltração leucocitária (SILVERBERG et al., 1986). Como os leucócitos estão sempre presentes no endométrio normal e na decídua, deve haver alguma influência destes na necrose decidual focal, a qual deve ser ativada pelos leucócitos já presentes ou por aqueles novos que infiltram (SONG e FRASER, 1995).

Após três meses de uso do SIU-LNG ocorre aumento da apoptose nas glândulas endometriais e no estroma, o que se associa ao aumento da expressão do antígeno Faz (também chamado CD95 ou Apo1), o qual é considerado um mediador de apoptose nas células hematopoéticas. Também se observa diminuição da proliferação endometrial associada à diminuição da proteína Bcl-2, que atua prevenindo a apoptose celular. Talvez estes sejam alguns dos mecanismos

moleculares pelos quais a inserção do SIU-LNG cause a mudança atrófica do endométrio (MARUO et al., 2001).

Os derivados da 19-nortestoterona como a norestisterona (NET) e o LNG apresentam maiores efeitos no estroma, produzem maior decidualização e, conseqüentemente, maior atrofia do que os derivados da progesterona (DALLENBACH-HELLWEG, 1980). Em alguns casos a atrofia é extrema, observando-se presença de fibrose e calcificação (SILVERBERG et al., 1986). Estas mudanças morfológicas ocorrem rapidamente, com perda da atividade cíclica após um mês da inserção do SIU-LNG, embora, no início, algumas regiões do endométrio apresentem aparência secretória (PEKONEN et al., 1992).

No endométrio exposto ao SIU-LNG as mudanças morfológicas são muito mais uniformes em comparação com o uso de dispositivo intra-uterino (DIU) não hormonal, em que as alterações estão localizadas na região em contato com o dispositivo. A aparência do endométrio retorna ao normal em três meses, após a retirada do SIU-LNG, sendo associada com o completo retorno da fertilidade (ANDERSSON et al., 1992).

Micropólipos endometriais vêm sendo identificados como resultado da prolongada exposição intra-uterina ao LNG, havendo um número significativamente maior quando o SIU-LNG permanece pelo menos quatro anos (SILVERBERG et al., 1986), o que explicaria o sangramento uterino anormal nestas mulheres, as quais não apresentam pólipos no momento da inserção do dispositivo. Qualquer novo padrão de sangramento, após a ocorrência de amenorréia ou a

persistência de sangramento volumoso, deve fazer pensar em causa orgânica, como os pólipos endometriais (BRECHIN et al., 2000; JONES et al., 2002).

Um estudo com mulheres usuárias de baixas doses de progestógeno para anticoncepção (noretisterona 300µg/dia) observou mudanças histológicas endometriais não correlatas com a atividade ovariana. Em mulheres sem atividade folicular o endométrio apresentou, ocasionalmente, atividade proliferativa, apesar de níveis baixos de estradiol circulante. Naquelas com atividade folicular, com altos níveis de estradiol, o endométrio variou da hipotrofia até a atrofia. Com ovulação normal houve variação entre atrofia, hipotrofia, atividade secretória irregular ou normal (KIM-BJORKLUND et al., 1991).

No início, o uso dos progestógenos de baixa dose não afetam as mitoses estromais, não induzem à pseudo-estratificação ou edema e não há infiltração leucocitária (LANDGREN et al., 1990). Após dois a três meses de uso ocorre aumento focal do edema do estroma e aparecem reações pré-decíduais ou decíduais. Ocorre no endométrio infiltração local de leucócitos, predominantemente linfócitos e monócitos,. A infiltração é vista mais freqüentemente no endométrio de mulheres que sangraram recentemente e menos freqüentemente no endométrio atrófico (LUDWIG, 1982).

Baixas doses de progesterona também afetam os vasos endometriais, havendo diminuição no número de artérias na junção miométrio-endométrio e aumento no número e na dilatação de veias (LUDWIG, 1982; JOHANNISSON et al., 1991).

Há muitos anos sabe-se que vasos anormais desenvolvem-se no endométrio de mulheres expostas à ação progestogênica, porém, apenas recentemente, pesquisadores começaram a compreender as mudanças estruturais e funcionais dos microvasos endometriais (HICKEY e FRASER, 2000b). Tipicamente ocorre redução no número e tamanho das arteríolas espiraladas, bem como diminuição da tortuosidade destes vasos. Além disso ocorre um aumento no número dos microvasos endometriais em usuárias de progestagênios de baixas doses (HOURIHAN et al., 1986).

Nos vasos superficiais observam-se paredes finas e dilatadas (HOURIHAN et al., 1986; SONG e FRASER, 1995). O papel destes vasos é incerto, pois na avaliação histológica, eles, geralmente, não contêm hemácias e existe dificuldade para confirmar a dilatação vascular *in vitro* devido ao colapso rápido dos vasos (ROGERS et al., 1993).

Um dos primeiros estudos que relaciona o antigo DIU liberador de 65µg/dia de progesterona (Progestasert) com os microvasos da superfície endometrial, avaliados por microscopia eletrônica, relata que estes se encontravam com número significativamente diminuído. Além disso, verificaram que havia um número maior de vasos com alterações degenerativas, quase três vezes mais que os controles, porém estes não apresentavam inibição na resposta hemostática. Concluíram que a ausência de inibição da hemostasia e a diminuição do número de vasos atuariam reduzindo a perda sangüínea através dos vasos lesados (SHAW et al., 1981).

No entanto, foi após o início do uso do anticorpo anti-CD34, marcador de células endoteliais, em técnica de imunoistoquímica, que foi possível observar um número maior de pequenas estruturas endoteliais do que aquelas detectadas por técnicas histológicas convencionais (ROGERS et al, 1993; HICKEY et al., 1999). Com a imunoistoquímica observou-se um surpreendente aumento na densidade vascular da superfície endometrial, mais de 50%, após o uso de NORPLANT®, quando comparado aos controles (ROGERS et al., 1993; HICKEY et al., 1999).

O primeiro trabalho publicado sobre os efeitos na angiogênese endometrial de diferentes doses e progestógenos *in vivo*, demonstrou que o NET e o AMP-D estimulavam a angiogênese em todas as doses. O LNG estimulou a angiogênese entre 100nmol/l e 10nmol/lm, mas não em altas doses. Em contraste, o acetato de nomegestrol estimulou a angiogênese em altas, mas não em baixas doses. Além disso, demonstrou que a densidade microvascular estava aumentada em usuárias de SIU-LNG por cerca de três anos, com o uso do anti-CD34 (HAGUE et al., 2002).

Todas estas características anormais dos microvasos superficiais agora são evidentes no endométrio de mulheres expostas à ação progestogênica prolongada. Considera-se seguro afirmar que estes vasos, anormais e frágeis, de alguma forma estão relacionados ao sangramento irregular de muitas mulheres usuárias destes agentes. No entanto, os distúrbios moleculares que determinam a angiogênese e a fragilidade vascular anormal ainda não são claros (FRASER e HICKEY, 2000).

Experiências em animais sugerem que a inibição da angiogênese pode prevenir o completo desenvolvimento endometrial (KLAUBER et al., 1997) e o uso futuro destes agentes talvez previna o aparecimento destes vasos anormais e frágeis, evitando o sangramento endometrial imprevisível em usuárias de progestógenos de ação prolongada (FRASER e HICKEY, 2000; HAGUE et al., 2002).

Postula-se que a menstruação resulte de um processo inflamatório no qual os leucócitos apresentam um papel-chave, através da produção de moléculas, incluindo citocinas e proteases (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000). Alterações no padrão dos leucócitos endometriais têm sido observadas em resposta ao tratamento com anticoncepcionais contendo progestógenos. No entanto, o papel dos leucócitos na patogênese do sangramento uterino anormal, em usuárias de esteróides, não foi determinado (VINCENT e SALAMONSEN, 2000).

O conceito de que a menstruação resulta de um processo inflamatório foi inicialmente postulado por FINN (1986). A hipótese foi, originalmente, baseada em características do endométrio durante a fase secretora: o fluxo de leucócitos, a presença de edema e de células decidualizadas (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

Os leucócitos têm o potencial de contribuir direta e indiretamente para a ocorrência da menstruação. Alguns de seus produtos promovem a destruição tecidual, enquanto outros ativam enzimas latentes produzidas por células adjacentes ou estimulam estas células a produzir moléculas biologicamente ativas.

O número relativo dos diferentes tipos leucocitários no tecido endometrial, nos dias 26 a 28 do ciclo, pode ser sumarizado como a seguir: macrófagos (6%-15% do total de células endometriais), neutrófilos (6%-15%), linfócitos granulares endometriais (6%-15%), eosinófilos (3%-5%), células T (1%-2%), células B (1%-2%) e mastócitos (3%-5%).

Os neutrófilos são encontrados em pequeno número no endométrio normal, mas a quantidade aumenta, dramaticamente, no período perimenstrual. Além disso, são encontrados em áreas de colapso estromal no endométrio de mulheres tratadas com altas doses de progestógenos orais (SONG et al., 1996) ou com implantes de LNG (Norplant®) (VICENT et al., 1999), onde eles alcançavam densidades semelhantes àsquelas vistas no endométrio menstrual (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

Os eosinófilos funcionam como células efetoras que desempenham um importante papel na patogênese da reação inflamatória do tipo tardia e, embora não sejam observados na mucosa normal, têm seu número aumentado apenas no pré-mênstruo.

Os macrófagos são monócitos diferenciados que migram da corrente sangüínea. Estas células são parte integrante da resposta imune em lesões inflamatórias crônicas e são encontradas em sítios de remodelação tecidual. O aumento do número de macrófagos no endométrio ocorre no pré-mênstruo e em usuárias de Norplant®, sobretudo em mulheres com sangramento uterino anormal (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

Os mastócitos secretam muitas moléculas vasoativas, pró-inflamatórias, que determinam infiltração de leucócitos, os quais levam à lesão tecidual devido à liberação de proteases. O número destas células também aumenta no pré-mênstruo.

Os linfócitos T apresentam-se, no endométrio, em número muito menor que os demais leucócitos (1% – 2 % do total de células linfomielóides) e são encontrados em três sítios: no endométrio basal, no estroma e no epitélio. Seu número aumenta no pré-mênstruo; mas, ao contrário do que ocorre no sangue periférico, as células T helper encontram-se em maior número que as T citotóticas. A progesterona determina uma diminuição da atividade citolítica dos linfócitos T (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

Os linfócitos B são detectados em pequeno número durante o ciclo menstrual e na fase perimenstrual são encontrados em grupos entre as células estromais. Não se sabe se estas células produzem imunoglobulinas no endométrio.

Os linfócitos granulares endometriais (células *natural Killer*) são as células hematopoéticas mais numerosas no endométrio perimenstrual, sugerindo um possível papel contra a infecção e preparação para a gravidez (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

O Quadro a seguir mostra a distribuição relativa de células inflamatórias específicas no endométrio funcional nos três estágios do ciclo menstrual normal.

Endométrio Dia do ciclo	Fase proliferativa 10 – 12	Fase secretora 22 – 23	Menstruação 26 – 28
Macrófagos (CD68+)	+	++	+++
Eosinófilos	-	-	++
Neutrófilos	-	-	+++
Mastócitos	++	++	++
Linfócitos T (CD3+)	+	+	+
Linfócitos B (CD45RD+)	-/+	-/+	+
Linfócitos granulares	-	+ / ++	+++

Neste quadro, os sinais: -, +, ++, +++ representam valores de 0, 1 - 2, 3 - 5 e 6 – 15% do total de células, respectivamente. Somente macrófagos e mastócitos apresentam uma distribuição uniforme nos dias 26 – 28 do ciclo; os demais, usualmente, apresentam distribuição focal antes da menstruação (modificado de SALAMONSEN e WOOLLEY, 1999).

Como os leucócitos penetram no endométrio ainda não se sabe, mas foi proposto um papel para as quimiocinas. Também não se sabe como os neutrófilos e outros leucócitos são ativados no endométrio (SALAMONSEN et al., 2000).

Atualmente, considera-se que a quebra do tecido endometrial, levando à menstruação, decorra da produção e ativação de um grande número de enzimas denominadas matriz metaloproteinases (MMP) (SALAMONSEN et al., 2000).

As MMP são uma família de proteases zinco-dependentes, que atuam em substratos específicos para colágenos, proteoglicanos e outros, sendo responsáveis pela degradação de componentes do interstício e da membrana basal extracelular. (SALAMONSEN et al., 2000).

Em estudos *in vitro* observou-se que as MMP podem ser reguladas no endométrio por fatores endócrinos e parácrinos. Em relação aos mecanismos endócrinos, a progesterona é o fator mais importante. Dentre os fatores parácrinos considera-se o papel dos leucócitos, através da produção de citocinas: interleucina 1 (IL-1), fator de crescimento β , fator de necrose tumoral α (TNF- α) e proteases, incluindo a neutrófilo elastase. As citocinas têm papel crítico na produção e ativação das MMP que determinam a menstruação (SALAMONSEN et al., 2000).

Baseado no que foi exposto torna-se bastante sugestivo que a participação dos leucócitos, a expressão e ativação das MMP participem da iniciação dos episódios de sangramento em ciclos menstruais normais e, provavelmente, também em usuárias de anticoncepção contendo apenas progestógenos (SALAMONSEN et al., 2000).

Diante disso, verifica-se que não há uma definição sobre a patogênese do sangramento uterino anormal associado ao uso dos anticoncepcionais contendo apenas progestógenos. Este trabalho tem como objetivo verificar se existem diferenças quanto aos achados histológicos endometriais em grupos com e sem sangramento uterino, em usuárias de SIU-LNG.

O presente estudo consiste no primeiro de uma série que será realizada na Unidade de Reprodução Humana do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), que visa avaliar as características do endométrio de usuárias de progestógenos de longa duração.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Comparar os achados histológicos endometriais, em usuárias do SIU-LNG, nos grupos com e sem sangramento uterino.

2.2. Objetivos específicos

Comparar nos grupos de usuárias do SIU-LNG, com e sem sangramento uterino os seguintes aspectos histológicos:

1. a classificação do tipo de endométrio;
2. a presença ou não de endometrite, necrose estromal, erosão de superfície com reepitelização focal e colapso estromal;
3. o grau de pseudo-estratificação das glândulas e do edema estromal;
4. a quantificação de mitoses, leucócitos totais, eosinófilos, plasmócitos, glândulas, mitoses glandulares, área, perímetro, maior e menor diâmetro das glândulas e altura do epitélio glandular.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Desenho do estudo

Este foi um estudo descritivo (corte transversal) e comparativo.

3.2. Tamanho amostral

A presença de atrofia endometrial extrema é a única característica histológica que se relaciona diretamente à ocorrência de amenorréia (FRASER e HICKEY, 2000). Embasado nesta afirmação, considera-se que a atrofia endometrial ocorra em proporção semelhante à amenorréia, ou seja, em 30% das usuárias de SIU-LNG, segundo resultados obtidos por JI *et al.* (1990).

- P_1 : Proporção estimada de mulheres com atrofia endometrial, em uso do SIU-LNG ($p=30\%$).
- P_2 : Proporção estimada de mulheres sem atrofia endometrial em uso do SIU-LNG ($p=70\%$).
- d : Diferença desejada entre as proporções da amostra e da população absoluta ($d = 40\%$) (FLEISS, 1981).

Os valores foram calculados pré-fixando α em 0,05 e β em 0,20. Verificou-se que o tamanho mínimo da amostra deveria ser de 28 mulheres em cada grupo (com e sem sangramento uterino).

Neste estudo de corte transversal foram incluídas 29 mulheres em cada grupo (com e sem sangramento uterino).

3.3. Seleção dos sujeitos

As mulheres incluídas neste estudo foram atendidas no Ambulatório de Planejamento Familiar do CAISM-Unicamp, sendo usuárias de SIU-LNG, obedecendo os seguintes critérios de inclusão e exclusão.

3.4. Critério de inclusão

- Uso do referido método para anticoncepção;
- Tempo mínimo de uso acima de seis meses;
- Tempo máximo de uso de 60 meses.

3.5. Critérios de exclusão

- Suspeita de gravidez;
- Doença inflamatória pélvica suspeita ou confirmada;
- Presença de causa orgânica que justificou o sangramento uterino anormal;
- Alterações neoplásicas na citologia oncótica.

3.6. Variáveis e conceitos

3.6.1. Variável independente

– **Padrão menstrual**: variedade de manifestação de sangramento uterino na ausência de causas orgânicas que o justifique, referido pela mulher através de questionário em número de dias, intervalo sem fluxo sangüíneo e quantidade de sangramento, sendo dividido em dois grupos:

- Com sangramento uterino, o qual pode ser classificado em:
 1. Eumenorréia: ciclos menstruais com intervalo entre 21-35 dias, duração do sangramento entre 3–7 dias, uso de até quatro absorventes não encharcados por dia.
 2. Espaniomenorréia: intervalo livre de sangramento superior a 35 dias.
 3. Polimenorréia: intervalo livre de sangramento inferior a 21 dias.
 4. Oligomenorréia: diminuição na quantidade habitual do fluxo menstrual, com uso de menos de três absorventes, não encharcados de sangue, por dia.
 5. Menorragia: aumento no volume habitual do fluxo menstrual com uso de mais de quatro absorventes, encharcados de sangue, por dia.
 6. Hipermenorréia: aumento no número de dias habituais do fluxo menstrual, com duração acima de sete dias.
 7. Hipomenorréia: diminuição do número de dias habituais do fluxo menstrual, com duração inferior a três dias.
 8. Metrorragia: presença de sangramento uterino acíclico.

9. *Spotting*: qualquer sangramento uterino insuficiente para requerer uso de absorvente (BELSEY et al., 1986).

- Sem sangramento uterino ou amenorréia: ausência de menstruação por mais de três meses consecutivos.

3.6.2. Variável dependente

- **Achados histológicos endometriais**: características microscópicas da superfície mucosa interna do útero, formada por epitélio colunar, glândulas e vasos sanguíneos em um estroma especializado, analisado através de microscopia óptica, em vários aumentos, após preparo da amostra do endométrio com os corantes hematoxilina-eosina, sendo dividido em dois grupos:

- **Avaliação qualitativa:**

1. **Atrófico**: redução global ou ausência dos elementos constituintes dos 2/3 superiores do endométrio. O tecido obtido pela biópsia é tipicamente escasso, frequentemente constituído por filamentos do epitélio de superfície e acúmulo de material mucóide. O estroma é escasso ou ausente, constituído por um grupo de células pequenas e alongadas. A atividade mitótica está ausente. As glândulas perdem tortuosidade, tornam-se pequenas e tubulares com diminuição ou ausência de secreção luminal. O epitélio observado é o colunar, com núcleo basal e pequeno acúmulo de citoplasma pálido. O estroma perde o aspecto decidualizado. Vasos ectásicos são encontrados (COTRAN et al., 1991).
2. **Progestacional**: presença de evidência de efeito progestogênico exógeno, de pequenas glândulas com epitélio cuboidal ou colunar baixo e de estroma decidualizado (HICKEY et al., 1999), ou

seja, de células estromais alargadas e com citoplasma abundante, semelhante à decídua gravídica (Figura 1). Figuras de mitose podem ser encontradas. As glândulas podem apresentar aspecto hipersecretor com citoplasma vacuolado e abundante secreção luminal. Algumas glândulas estão dilatadas (MAZUR e KURMAN, 1995b).

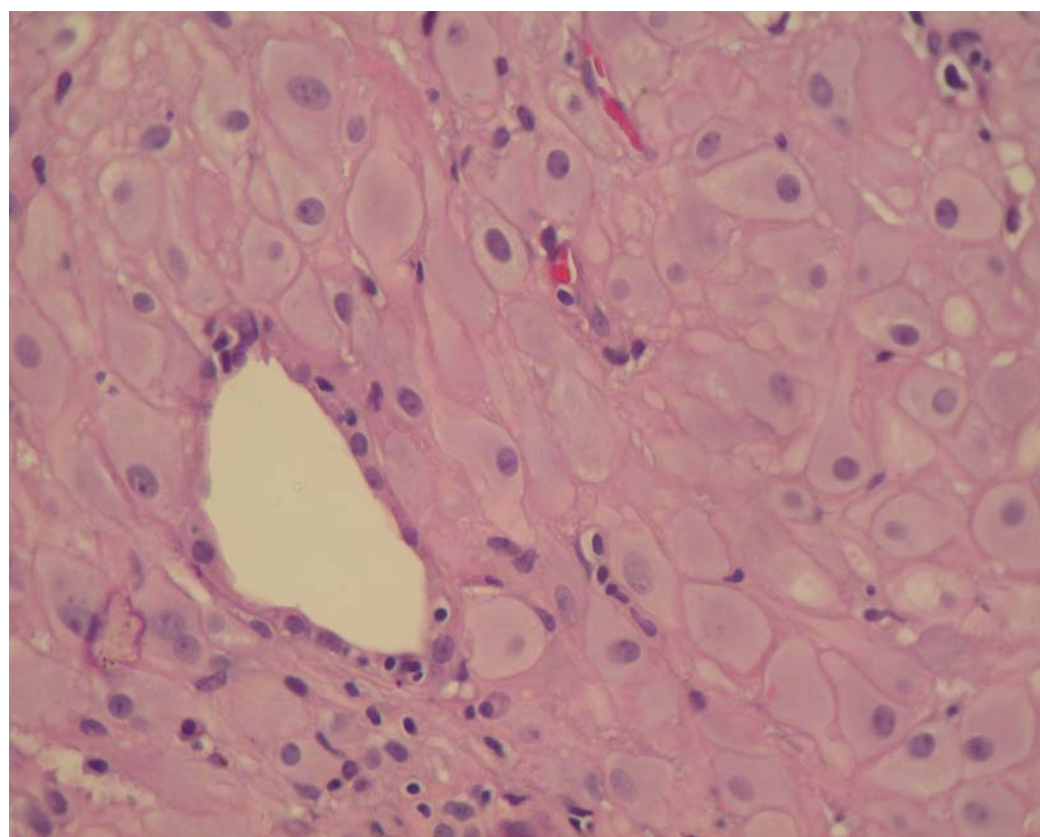


Figura 1. Fotomicrografia de endométrio com característica progestacional, mostrando aspecto decidualizado, com uma glândula de epitélio colunar baixo, células estromais alargadas e com citoplasma abundante (Hematoxilina 400X).

3. Secretor: pré-decidualização do estroma, vacúolos intracitoplasmáticos, aumento do lúmen e secreção glandular.

4. Proliferativo: glândulas pequenas, múltiplas figuras de mitose nas glândulas e no estroma, proliferação global dos elementos constituintes dos 2/3 superiores do endométrio.
5. Hiperplásico típico: glândulas de vários tamanhos, algumas císticas; epitélio ocasionalmente com múltiplas camadas; mitoses freqüentes; estroma aumentado.
6. Hiperplásico atípico: alteração arquitetural, com glândulas aglomeradas, aumentadas no número e no tamanho, disparidade no tamanho e irregularidade na forma. Epitélio hiperplásico com freqüente estratificação que circunda os lúmens. Atipia celular de grau variado.
7. Câncer: células epiteliais colunares estratificadas, com atipia celular, mitoses freqüentes e crescimento infiltrativo. É graduado histologicamente em: a) Bem diferenciado: padrão glandular proeminente. b) Moderadamente diferenciado: glândulas atípicas ao lado de áreas de crescimento neoplásico de padrão sólido em até 50%. c) Pouco diferenciado: padrão sólido predominante, em mais de 50% da amostra, atipia nuclear marcada.
8. Endometrite: presença de plasmócitos e eosinófilos (que não estão presentes no endométrio normal), junto a macrófagos e linfócitos (COTRAN *et al*, 1991).
9. Necrose estromal: conjunto de alterações morfológicas que seguem à morte celular no estroma endometrial, resultante da ação degradativa progressiva por parte de enzimas sobre uma célula letalmente agredida. A célula morta mostra maior eosinofilia, aspecto mais vítreo e homogêneo que as células normais, em alguns casos com desaparecimento do núcleo e calcificação.

10. Erosão de superfície com reepitelização focal: perda de epitélio de revestimento da mucosa, com fibrina na superfície e áreas de regeneração superficial.
11. Colapso estromal: destruição de parte do estroma e coalescência de células estromais em pequenos agregados e grupos separados por lagos de sangue (MAZUR e KURMAN, 1995a).
12. Pseudo-estratificação glandular: Presença de epitélio glandular com aspecto estratificado, podendo ser graduada de acordo com a porcentagem de glândulas analisadas envolvidas em:
 0. Nenhuma;
 1. < 25%;
 2. 25%-50%;
 3. acima de 50%.
13. Edema: acúmulo de líquido no tecido intersticial do estroma endometrial. Caracteriza-se pela presença de um afastamento entre as células, por material claro, que separa os elementos fibrilares e celulares do tecido. À medida que as células parenquimatosas edemaciam, as luzes das glândulas e os pequenos vasos ficam comprimidos. Pode ser classificado em:
 0. ausente;
 1. leve;
 2. moderado;
 3. intenso.

- **Avaliação quantitativa:** Parâmetros avaliados em número por cinco campos de grande aumento (400X).

1. Mitose: presença de divisão celular, sendo observado ao microscópio óptico as seguintes fases:

- ♦ prófase: membrana celular íntegra e cromossomos dentro do núcleo dispõem-se como se fossem “novelo de linha grossa”.
- ♦ metáfase: desaparece o envoltório nuclear, os cromossomas dispõem-se em uma placa no equador da célula.
- ♦ anáfase: cromossomos separam-se longitudinalmente e migram para os pólos. No fim da anáfase, o citoplasma começa a se dividir.
- ♦ telófase: formação dos envelopes nucleares. Completa-se a divisão celular (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

2. Leucócitos: células especializadas na defesa do organismo, deixam os capilares por diapedese, passando entre as células endoteliais e penetram no tecido conjuntivo endometrial (Figura 2). São divididos em:

- ♦ Granulócitos: têm núcleo de forma irregular e citoplasma com grânulos específicos; de acordo com a afinidade tintorial de seus grânulos citoplasmáticos, distinguem-se três tipos: neutrófilos, eosinófilos e basófilos.

Os neutrófilos têm núcleo formado por dois a cinco lóbulos ligados entre si por finas pontes de cromatina. Os eosinófilos apresentam núcleo bilobulado, a sua principal característica para identificação é a presença de granulações que coram pela eosina (granulações acidófilas).

- ♦ Agranulócitos ou mononucleares: têm núcleo de forma mais regular e o citoplasma não possui granulações específicas. São eles: linfócitos, plasmócitos e monócitos.

Os linfócitos são células esféricas, com citoplasma muito escasso, apresentam basofilia discreta, corando-se em azul-claro nos esfregaços. Por vezes, o citoplasma não é visível.

Os plasmócitos originam-se dos linfócitos B ativados e produzem anticorpos; são mais encontrados em áreas de inflamação crônica. Caracterizam-se como células ovóides, com citoplasma muito basófilo, núcleo esférico, excêntrico com cromatina em “roda de carroça”.

Os monócitos migram para os tecidos e transformam-se em macrófagos, esta constitui uma célula com grande capacidade de fagocitose, apresenta núcleo ovóide ou reniforme, sua morfologia varia conforme seu estado funcional (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

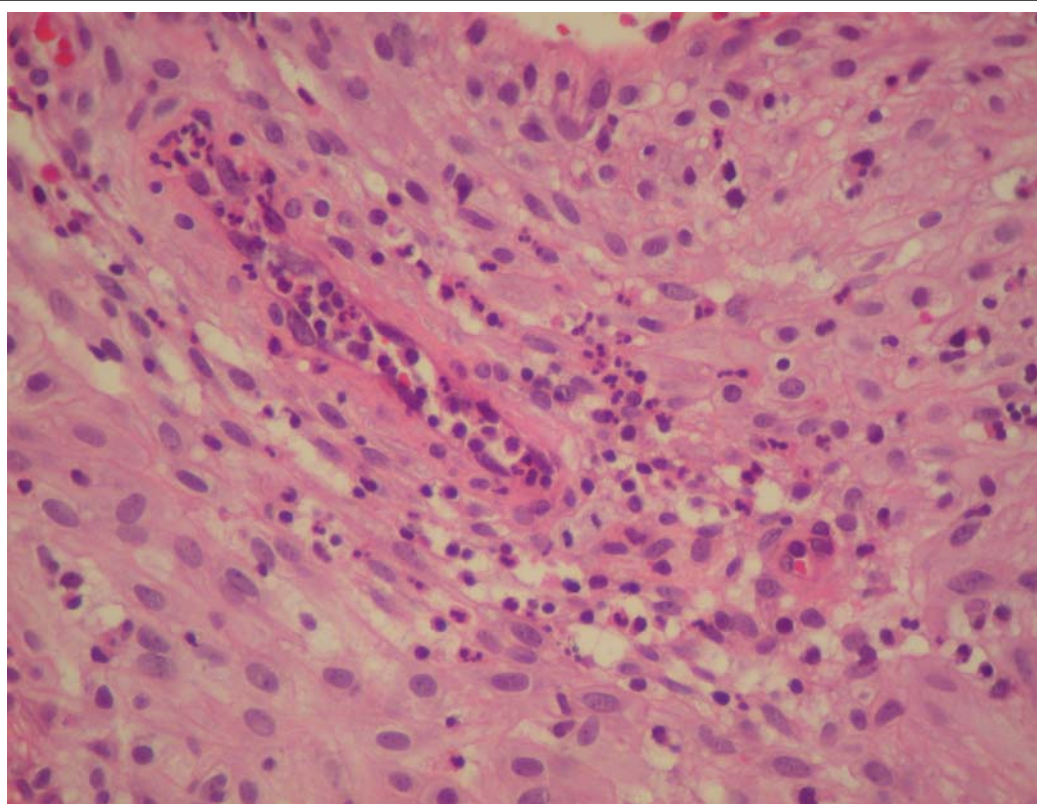


Figura 2. Fotomicrografia de endométrio, de usuária de SIU-LNG, do grupo com sangramento, mostrando infiltração leucocitária nas proximidades de um vaso sanguíneo (Hematoxilina 400X).

3. Glândulas: conjunto de células epiteliais especializadas que produzem secreções (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Na mucosa endometrial variam de forma e volume conforme o estímulo hormonal.
4. Área glandular: medida, em micrômetros, obtida pela multiplicação dos valores dos maiores diâmetros da glândula.
5. Perímetro glandular: medida, em micrômetros, do contorno da glândula.
6. Maior diâmetro glandular: medida, em micras, da distância entre os dois pontos supremos da glândula.
7. Menor diâmetro glandular: medida, em micrômetros, da distância entre os dois pontos mais próximos da glândula.
8. Altura do epitélio glandular: média de cinco medidas obtidas pela distância entre um ponto na base da glândula e outro ponto, em linha reta, o mais próximo do lúmen.

3.6.3. Variáveis de controle

- Idade: tempo de vida em anos, referido pela mulher, no dia da realização da biópsia endometrial.
- Paridade: número de partos (vaginais ou operatórios), referidos pela mulher, no dia da realização da biópsia endometrial.
- Cor: coloração da pele, referida pela mulher, no dia da realização da biópsia endometrial.
- Tempo de uso do SIU-LNG: período de uso do método anticoncepcional, em meses, desde o dia da inserção até o dia da biópsia endometrial, sendo um dado obtido do prontuário da mulher.

- Índice de massa corpórea (IMC): coeficiente entre o peso em quilos e a altura em metros elevada ao quadrado, obtido a partir destas medidas verificadas no dia da realização da biópsia endometrial, podendo ser classificado em:

Abaixo de 21 – baixo peso

21 a 25 – peso normal

26 a 30 – sobrepeso

Acima de 30 – obesa

3.7. Coleta de dados

As mulheres usuárias do SIU-LNG, ao se apresentarem no Ambulatório de Planejamento Familiar do CAISM-UNICAMP, no dia de seu retorno, previamente agendado, tiveram seus prontuários separados e encaminhados aos pesquisadores. Aquelas que eram usuárias do método há mais de seis meses, dado que foi obtido do prontuário, foram chamadas para consulta médica individual, quando os critérios de exclusão foram avaliados. Quando os critérios eram cumpridos e havendo aceitação voluntária em participar do estudo, era realizada uma entrevista por um dos pesquisadores, utilizando um formulário pré-testado (Anexo 2). Neste formulário constava a pergunta sobre o padrão menstrual, o que permitiu considerar a mulher no grupo com ou sem sangramento. Os prontuários foram revisados pelos pesquisadores, anotando-se os dados sobre peso, altura e tempo de uso do método na seção apropriada do instrumento.

Em seguida, a mulher foi submetida a uma biópsia de endométrio e o material obtido foi encaminhado ao Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp. O resultado da avaliação histológica foi anotado em ficha apropriada (Anexo 2).

3.8. Técnicas e exames

3.8.1. Biópsia de endométrio

Estando a mulher em posição ginecológica, inicialmente foi realizado toque vaginal e observada a posição uterina; a seguir, foi introduzido espéculo vaginal, feita antissepsia da vagina e do colo uterino com povidine tópico e, nas mulheres alérgicas ao iodo, com solução fisiológica 0,9%. A biópsia endometrial foi realizada com uma cureta plástica de sucção, denominada Pipelle® (Pipelle de Cornier), com 2mm de diâmetro.

Nos casos com dificuldade para introdução da cureta, foi pinçado o lábio anterior do colo uterino com Pozzi. A biópsia foi realizada nas faces uterinas anterior, posterior e laterais com movimentos rápidos e precisos.

A posição do fio do DIU foi avaliada antes e após a biópsia; se houvesse dúvida quanto a posição do DIU, uma ultra-sonografia transvaginal era realizada.

O material endometrial obtido foi fixado em solução de formalina tamponada e enviado, no mesmo dia, ao Departamento de Anatomia Patológica da FCM/Unicamp.

3.8.2. Método histológico

O tecido fixado foi processado em histotécnica e embebido em parafina. Os blocos referentes aos 58 casos foram encaminhados para corte histológico, utilizando-se micrótomo tipo Leica RM2135, ajustado para 4 micrômetros (μm), realizando-se três cortes por caso, perfazendo o total de 174 lâminas.

Após o processamento histológico e montagem em lâmina de vidro, os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina (HE), segundo técnica descrita a seguir:

– HEMATOXILINA DE HARRIS

Hematoxilina	_____	5g
Álcool 95%	_____	50ml
Sulfato de Alumínio e Potássio	_____	100g
Água destilada	_____	1000ml
Óxido de Mercúrio	_____	2,5g

•PROCEDIMENTO:

- a) Dissolver a Hematoxilina no álcool e o Alúmen na água destilada com o auxílio do calor.
- b) Misturar as duas soluções e ferver o mais rápido possível.
- c) Remover da fonte de calor e juntar o Óxido de Mercúrio aos poucos, com cuidado, reaquecer até a fervura e contar um minuto. Afastar da fonte de calor e mergulhar em uma bacia com água e gelo imediatamente. Adicionar 4ml de Álcool Acético.

– EOSINA

Eosina_____2,5g

Água destilada_____50ml

Álcool 95%_____200ml

Álcool 80%_____750ml

d) Dissolver a EOSINA na água destilada e acrescentar o álcool 95%.

e) Juntar os 750 ml de álcool 80% e ainda 5 ml de Ácido Acético.

f) Após preparo da solução, seguem os passos para a coloração e montagem:

Desparafinização:

- 1- Passar cinco minutos no xilol 1, cinco minutos no xilol 2.
- 2- Passagem em álcool absoluto 1 e 2.
- 3- Lavar em água corrente por cinco minutos.

Coloração:

- 1- Deixar na solução de hematoxilina por um minuto.
- 2- Lavar em água corrente por cinco minutos.
- 3- Deixar na solução de eosina por 30 segundos.
- 4- Retirar o excesso em água corrente.
- 5- Passar em álcool a 70%, 80%, 90% e absoluto, nesta ordem.
- 6- Passar em xilol 3 e 4.

Montagem, com fixação entre lâmina e lamínula com resina “Entellan”.

A análise histológica foi realizada pela pesquisadora principal, a qual foi treinada para realização da leitura por uma patologista especialista em ginecologia, que revisou todos os casos (co-orientadora).

Foram selecionados, por padronização, os cinco campos mais representativos de cada caso (preferencialmente, contendo estroma e glândulas) excetuando os casos com atrofia, nos quais o material era escasso ou ausente. As imagens foram capturadas por sistema computadorizado, que consiste de um microscópio (NIKON, modelo eclipse E-200), acoplado à videocâmera NIKON colorida, modelo COOLPIX-95, sendo a imagem armazenada em computador Pentium 4, com 256 MB de memória RAM, equipado com placa digitalizadora e software para análise computadorizada de imagem (Imagelab-2000) (Figuras 3 e 4).

Para a realização das medidas glandulares, em micrômetros, utilizou-se ocular milimetrada para calibração dos aumentos (100X, 200X e 400X).

Inicialmente, o endométrio foi classificado analisando qualitativamente, de acordo com os aspectos histológicos já definidos anteriormente.

A seguir, foram avaliados os seguintes parâmetros morfométricos, em fotos digitalizadas em aumento de 400X, utilizando-se o sistema de análise de imagens Imagelab 2000:

- Número de leucócitos por 5 campos. Estes incluem neutrófilos, linfócitos e macrófagos; sendo, também, contados separadamente eosinófilos e plasmócitos para constatação de presença de endometrite.
- Número de mitoses estromais por 5 campos.

- Número de glândulas por 5 campos.
- Número de mitoses glandulares por 5 campos.
- Mensuração em micrômetros da área, perímetro, maior e menor diâmetro glandular.
- Mensuração da altura do epitélio das glândulas.

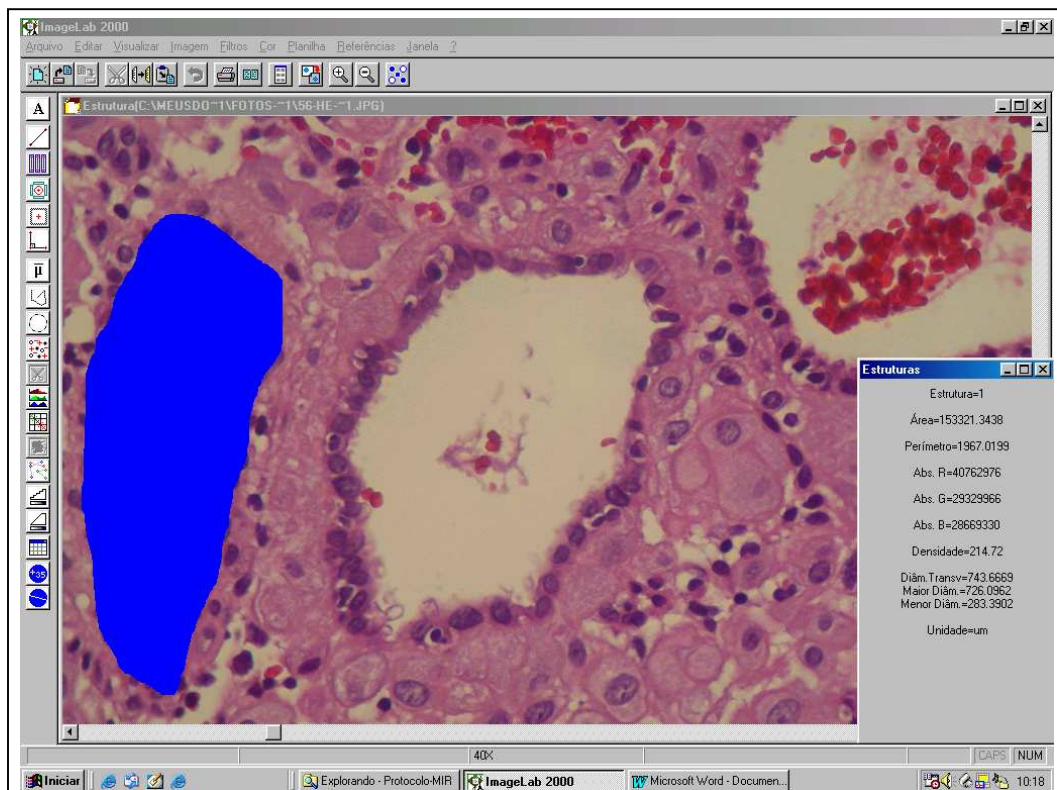


Figura 3. Imagem demonstrativa do programa Imagemlab, com uma glândula, em azul, delimitada em toda sua extensão. À direita observam-se os valores, em micrômetros, ajustados para aumento de 400X, da área, perímetro e diâmetros glandulares.

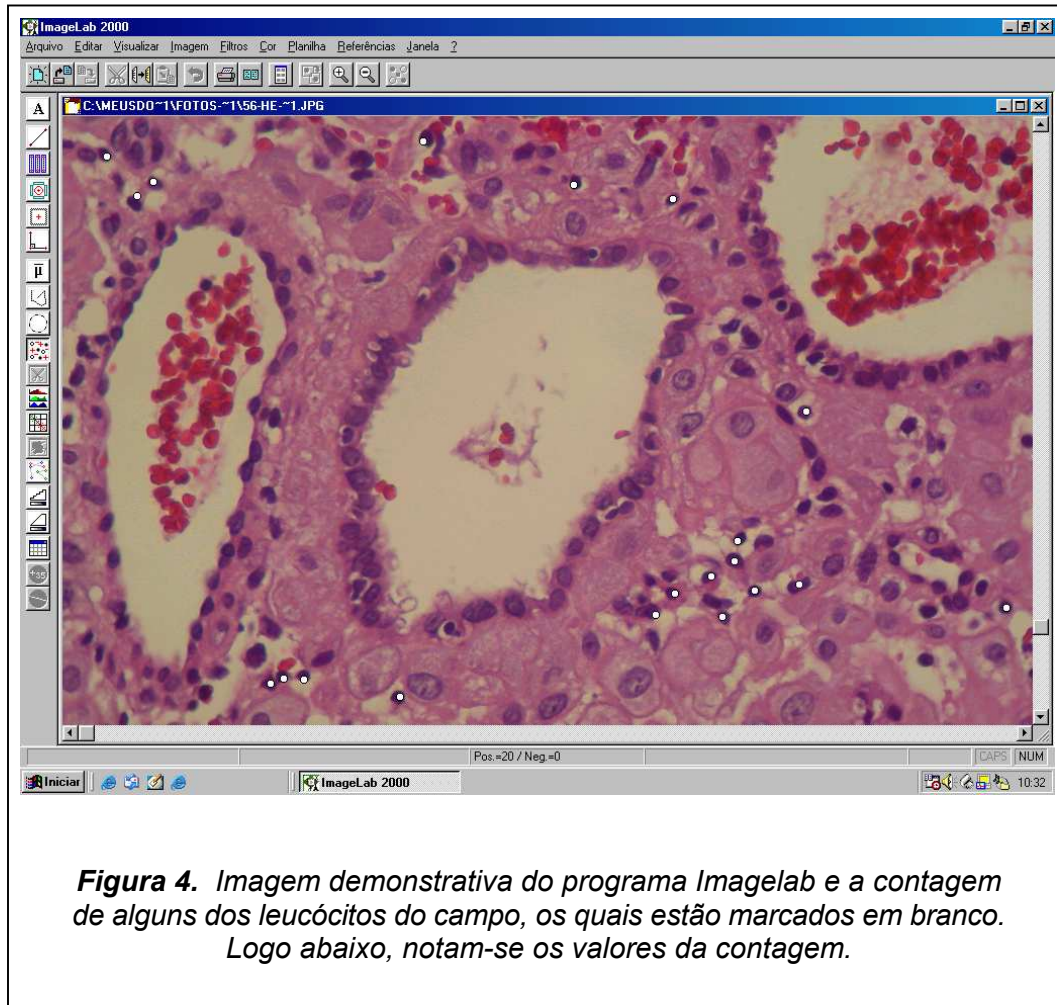


Figura 4. Imagem demonstrativa do programa Imagelab e a contagem de alguns dos leucócitos do campo, os quais estão marcados em branco. Logo abaixo, notam-se os valores da contagem.

3.9. Processamento de dados

As fichas foram revisadas para verificar a consistência do seu preenchimento. Em seguida, os dados registrados foram digitados em um banco de dados do programa Epi-Info 6. Ao final deste processo os dados foram revisados um a um, após a impressão em papel, pela pesquisadora responsável.

3.10. Análise dos dados

Para a análise estatística das variáveis quantitativas discretas, cor e paridade, foi utilizado o teste de X^2 . Para a análise das variáveis idade, tempo de uso e IMC foi utilizado o teste U de Mann-Whitney (SIEGEL, 1956). Para a avaliação da variável qualitativa, padrão menstrual, foi utilizado o teste de X^2 (ARMITAGE, 1974).

Para a avaliação qualitativa dos achados histológicos endometriais foi utilizado o teste X^2 para as distribuições não normais ou t de Fischer para as distribuições normais. Para a avaliação histológica quantitativa o teste U de Mann-Whitney para as distribuições não normais ou t de Fischer para as distribuições normais (ARMITAGE, 1974).

3.11. Aspectos éticos

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios da DECLARACION DE HELSINKI (2000), emendada em Edimburgo, Escócia, que estabelece os procedimentos adequados para pesquisa em seres humanos, assim como de acordo com os princípios da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

Todas as mulheres foram informadas sobre os objetivos do estudo, a coleta de dados e a biópsia endometrial. Ficou claro, para estas usuárias, que

sua participação constituiria um ato voluntário e que não haveria nenhum benefício próprio.

As voluntárias que aceitaram participar do estudo assinaram um termo de consentimento esclarecido, após receberem informações completas sobre as características do trabalho (Anexo 1). O termo de consentimento foi aplicado por um dos pesquisadores.

Todos os possíveis riscos foram informados, tais como: dor em cólica hipogástrica durante e após realização da biópsia; sangramento, geralmente, leve; endometrite, deslocamento do SIU, perfuração uterina, lipotímia. Cuidados médicos foram tomados para que estas complicações não ocorressem e, diante de qualquer efeito adverso decorrente do estudo, a mulher recebeu atenção médica adequada na Unicamp.

Foi garantido que as informações obtidas neste estudo seriam transmitidas de forma que não fosse possível identificar a participação da usuária. O número do prontuário e do planejamento familiar constaram apenas de ficha que ficou com a pesquisadora responsável após a realização da entrevista (Anexo 2).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCM da Unicamp e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

4. Resultados

As características clínicas das mulheres estão demonstradas nas Tabelas 1 e 2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos com relação à idade, índice de massa corpórea, tempo de uso do método, paridade e cor.

Na análise do índice de massa corpórea observa-se que, em média, as mulheres apresentavam sobrepeso. Ao se analisar a paridade, verifica-se que a grande maioria tinha número igual ou inferior a dois filhos. A maioria das mulheres era de cor branca.

TABELA 1
Média de idade, IMC e tempo de uso em mulheres,
usuárias de SIU-LNG, com e sem sangramento uterino

	Com sangramento	Sem sangramento	p [#]
Idade (anos)	28,3 (± 4,5)	32,1 (± 7,5)	0,078
IMC	26,7 (± 5,3)	27,2 (± 5,6)	0,768
Tempo de uso (meses)	38,4 (±12,4)	42,4 (± 7,0)	0,139

[#] Teste U de Mann-Whitney
(n=29 em cada grupo)

TABELA 2

Distribuição percentual de mulheres, segundo a paridade e cor, em usuárias do SIU-LNG, com e sem sangramento uterino, após 6 meses de uso

	Com sangramento		Sem sangramento		p [#]
	n	%	n	%	
Paridade					
≤ 2	22	75,9	24	82,8	0,745
> 2	7	24,1	5	17,2	
Cor					
Branca	21	72,4	15	51,7	0,176
Não branca	8	27,6	14	48,3	

Teste qui-quadrado de Yates
(n=29 em cada grupo)

Não houve diferença estatisticamente significativa com relação à classificação histológica nos dois grupos. A análise histológica das amostras endometriais revelou que a maioria apresentava efeito progestacional, seguido pelo aspecto atrófico. O endométrio secretor e proliferativo foi encontrado em apenas um caso, respectivamente no grupo com sangramento (Tabela 3). Nenhum caso de hiperplasia típica, atípica ou câncer foi encontrado.

TABELA 3

Distribuição percentual de mulheres, segundo a classificação histológica do endométrio, em usuárias do SIU-LNG, com e sem sangramento uterino, após 6 meses de uso

Classificação histológica do endométrio	Com sangramento		Sem sangramento		p [#]
	n	%	N	%	
Progestacional	20	69,0	18	62,1	0,782
Atrófico	7	24,1	11	37,9	0,394
Secretor	1	3,4	0	0	1
Proliferativo	1	3,4	0	0	1
(n)	(29)	(100)	(29)	(100)	

Teste qui-quadrado de Yates
(n=29 em cada grupo)

Com relação aos demais achados histológicos qualitativos, estes foram obtidos com relação a 22 casos no grupo com sangramento e 18 no grupo sem sangramento, pois foram excluídos os casos com atrofia endometrial (7 e 11, respectivamente), os quais apresentavam material escasso ou ausente não permitindo análise adequada daqueles parâmetros.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à presença de nenhuma das outras características histológicas qualitativas estudadas. (Tabela 4). Embora tenha havido uma tentativa inicial de graduar a pseudo-estratificação epitelial e o edema, esta avaliação não foi possível, dado o pequeno número de casos com graus maiores, o que não permite a comparação estatística adequada. Assim, a classificação foi considerada apenas em termos de presença ou ausência da característica.

O edema estromal esteve presente na maioria das mulheres do grupo com sangramento e em todas do grupos sem sangramento. A endometrite, caracterizada pela presença de plasmócitos ou eosinófilos, foi um dado histológico freqüente, ocorrendo em mais da metade dos casos avaliados nos dois grupos.

A necrose estromal, a erosão de superfície com reepitelização focal, o colapso estromal e a pseudo-estratificação glandular estiveram ausentes na maioria dos casos nos dois grupos.

Outras alterações foram vistas com freqüência muito menor. São elas:

– **no grupo com sangramento:**

- um caso (4,5%) com aspecto polipóide, exsudato fibrinoso extenso, célula gigante do tipo corpo estranho, foco de epitélio proliferativo;

- dois casos (9,1%) com intensa exsudação leucocitária;
 - quatro casos (18,2%) contendo macrófagos com hemossiderina.
- **no grupo sem sangramento:**
- um caso (5,5%) com reação inflamatória com célula gigante do tipo corpo estranho, interstício alargado com presença de material hialino, células fusiformes, decídua hialinizada;
 - dois casos (11,1%) com microcalcificações;
 - seis casos (33,3%) contendo macrófagos com hemossiderina.

TABELA 4

Distribuição percentual de mulheres, segundo achados histológicos qualitativos do endométrio, em usuárias do SIU-LNG, com e sem sangramento uterino, após 6 meses de uso

Achados histológicos qualitativos do endométrio	Com sangramento		Sem sangramento		p [#]
	N	%	n	%	
Endometrite	12	54,5	11	61,1	0,923
Necrose estromal	7	31,8	6	33,3	1
Erosão de superfície com reepitelização focal	5	22,7	1	5,6	0,197
Colapso estromal	7	31,8	3	16,7	0,464
Pseudo-estratificação glandular					
Ausente	13	59,1	15	83,3	0,187
Presente	9	40,9	3	16,7	
Edema					
Ausente	3	13,6	0	0	0,238
Presente	19	86,4	18	100	

[#] Teste qui-quadrado de Yates

(n=22 no grupo com sangramento)(n=18 no grupo sem sangramento)

Na Tabela 5, verifica-se o resultado da histometria do endométrio. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação a mitoses estromais, número de eosinófilos e plasmócitos, número de glândulas, área, menor

diâmetro e altura do epitélio glandular. Observou-se diferença estatisticamente significativa com relação ao número de leucócitos totais ($p=0,014$), os quais estiveram presentes em maior número no grupo com sangramento. Verificou-se, também, diferença significativa quanto ao perímetro glandular ($p=0,015$) e maior diâmetro glandular ($p=0,033$), que foram maiores no grupo sem sangramento. Nenhuma mitose glandular foi encontrada nos dois grupos.

TABELA 5

Resultado da histometria do endométrio de mulheres, usuárias do SIU-LNG, com ou sem sangramento uterino, após 6 meses de uso

Histometria endometrial	Com sangramento	Sem sangramento	p
	Média (Min – Max)	Média (Min – Max)	
Estroma			
Mitoses (nº/5 campos de grande aumento)	0,04 (0 – 1)	0,28 (0 – 2)	0,191*
Leucócitos totais (nº/5 campos de grande aumento)	158,1 (59 – 239)	119,8 (55 – 248)	0,014*
Eosinófilos (nº/5 campos de grande aumento)	3,5 (0 – 25)	2,3 (0 – 12)	0,489*
Plasmócitos (nº/5 campos de grande aumento)	7,0 (0 – 37)	5,2 (0 – 44)	0,911*
Glândulas			
Glândulas (nº/5 campos de grande aumento)	6,5 (1- 20)	6,4 (1 –11)	0,722*
Área glandular (µm ²)	23825,3 (7132 – 60358)	31373,4 (10101 – 52217)	0,068*
Perímetro glandular(µm)	627,7 (339 – 1090)	772,5 (398 – 1126)	0,025*
Maior diâmetro glandular (µm)	216,4 (114 – 348)	268,3 (136 – 445)	0,033*
Menor diâmetro glandular (µm)	133,8 (73 – 241)	144,5 (75 – 213)	0,406*
Altura do epitélio glandular (µm)	13 (6 – 21)	14 (9 – 29)	0,805*

* Teste t de Fischer • Teste U de Mann-Whitney
(n=22 no grupo com sangramento) (n=18 no grupo sem sangramento)

Com relação ao padrão de sangramento prévio ao uso de SIU-LNG, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O padrão menstrual mais freqüente foi a eumenorréia. Os demais padrões menstruais encontrados (menorragia, espaniomenorréia e amenorréia) foram considerados em conjunto para permitir uma melhor avaliação estatística, dado o pequeno número de casos em cada um destes padrões (Tabela 6).

TABELA 6

Distribuição percentual de mulheres segundo padrão menstrual prévio ao uso de SIU-LNG, nos grupos com e sem sangramento uterino

Padrão menstrual	Com sangramento		Sem sangramento		p [#]
	n	%	n	%	
Eumenorréia	22	75,9	19	65,5	0,391
Outros	7	24,1	10	34,5	
(n)	(29)	(100)	(29)	(100)	

#Teste qui-quadrado de Yates

Na Tabela 7 verifica-se que o padrão de sangramento mais freqüente após seis meses de uso foi o *spotting*, seguido pela oligomenorréia e eumenorréia.

TABELA 7

Distribuição percentual de mulheres, segundo o padrão de sangramento, em usuárias do SIU-LNG, no grupo com sangramento uterino, após seis meses de uso

Padrão de sangramento	n	%
<i>Spotting</i>	19	65,5
Oligomenorréia	5	17,2
Eumenorréia	5	17,2
(n)	(29)	100

Dentro do grupo de mulheres com sangramento uterino, quando se considerou apenas as que se encontravam com sangramento (n=6), no dia da biópsia endometrial, em comparação com as que não sangravam naquele dia (n=16), não foi verificada diferença estatisticamente significativa com relação a nenhum dos achados histológicos qualitativos ou quantitativos, incluindo o número de leucócitos (p=0,438), o perímetro glandular (p=0,268) e o maior diâmetro glandular (p=0,184).

5. Discussão

No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa quanto à classificação endometrial. Nos dois grupos o aspecto progestacional do endométrio foi o mais freqüente. A literatura mostra como correspondentes ao efeito progestacional a decidualização estromal, a atrofia glandular (glândulas pequenas com epitélio cuboidal ou colunar baixo), a infiltração leucocitária e a necrose estromal (NILSSON et al., 1978; SILVERBERG et al., 1986; HICKEY et al., 1999; PENGDI et al., 1999; SKINNER et al., 1999).

Neste estudo a atrofia endometrial foi o segundo achado mais freqüente, sendo assim considerado tanto na presença de material escasso (menos de cinco campos para análise histológica) ou ausente, o que para muitos autores é diagnosticado como material insuficiente (WANG et al., 1995; MARBAIX et al., 2000; VICENT et al., 2000). Esta não é uma definição apropriada, pois o tecido escasso talvez seja tudo o que esteja presente e então, representa, completamente, o que ocorre na cavidade uterina. A mínima quantidade de tecido deve servir

para diagnóstico e de acordo com MAZUR e KURMAN, (1995), isto não representa material insuficiente.

Associando esta definição ao fato de que as biópsias endometriais foram realizadas sempre pelas mesmas pessoas, obedecendo os mesmos critérios, então incluímos aqueles casos que não continham mais de cinco campos de 400X para análise, como atróficos. No grupo sem sangramento, 11 biópsias (37,9%) e no com sangramento, sete (24,1%) foram consideradas como material escasso ou ausente, impedindo a análise dos demais parâmetros qualitativos e histométricos.

Estes dados coincidem com a literatura, pois um estudo com a cureta de NOVAK, em usuárias de Norplant®, considerou insuficientes 33% das biópsias (MARBAIX *et al.*, 2000). Outros estudos descrevem a perda de até metade dos casos coletados em usuárias de Norplant® e AMP-D com cureta de Pipelle® (VINCENT *et al.*, 2000). Resultados semelhantes foram relatados por HADISPUTRA *et al.* (1996), os quais observaram um aumento do número de dias de sangramento relatados por mulheres em que uma biópsia foi realizada com sucesso.

Alguns autores verificaram, em mulheres usuárias de Norplant®, 90% dos casos com endométrio progestacional, 5% de endométrios com característica descamativa e atrofia endometrial, também, em 5% (VINCENT *et al.*, 2000). Este anticonceptivo também contém levonorgestrel; mas, ao contrário do SIU-LNG, que age diretamente sobre o endométrio, o seu progestógeno age a distância (HICKEY e FRASER, 2000a). Esperaríamos, então, que o SIU-LNG

determinasse mais casos de atrofia endometrial que o Norplant®, o que foi verificado em 24,1% dos casos com sangramento e em 37,9% dos sem sangramento no presente estudo .

Dentro do grupo com sangramento uterino também foi encontrado um caso de endométrio secretor e outro proliferativo. O endométrio secretor foi observado em 10% das usuárias de Norplant®, sugerindo ação endógena da progesterona (MARBAIX et al., 2000). Também foi encontrado um caso contendo foco de glândulas em fase secretora em estudo de SILVERBERG et al. (1986). O padrão proliferativo não é facilmente explicado e também não encontramos casos na literatura com este aspecto. Poderíamos interpretar que nas mulheres que sangram, ocasionalmente, poderia ser observada na amostra curetada a camada basal de regeneração da mucosa, que tem aspecto proliferativo.

Coincide com a literatura o fato de não haver diferença estatisticamente significativa com relação à presença de endometrite, necrose estromal, pseudo-estratificação glandular ou edema estromal (SILVERBERG et al., 1986).

Esperava-se uma frequência maior de erosão de superfície com reepitelização focal e colapso estromal no grupo com sangramento, baseado no estudo de MARBAIX et al. (2000), que relata, na análise histológica do Norplant®, ausência de correlação entre a ocorrência de sangramento e os padrões histológicos, porém destaca a presença de episódios de sangramento, fortemente associados com colapso e fragmentação tecidual. Na amostra deste

estudo não houve diferenças significantes entre os dois grupos, porém estes dados histológicos ocorreram mais comumente naquelas com sangramento.

Observamos apenas um caso de pólipos no grupo com sangramento, em endométrio exposto ao SIU-LNG por 54 meses, ou seja, tempo acima da média do grupo e, em usuária que apresentava apenas *spotting* por três dias ao mês. A literatura relata cerca de 30% de pólipos quando o SIU-LNG é usado por pelo menos quatro anos. Estes pólipos são geralmente de tamanho microscópico e, provavelmente, representam uma alteração superficial da mucosa adjacente ao SIU (SILVERBERG et al., 1986). Eles poderiam explicar o sangramento uterino anormal naquelas que estavam em amenorréia e passaram a apresentar sangramento ou naquelas que não apresentaram redução do volume de sangramento (BRECHIN et al., 2000).

Esta diferença na ocorrência dos pólipos encontrada neste trabalho poderia ser explicada pelo número de casos estudados ou, ainda, pelo conceito histológico utilizado para pólipos. Para este diagnóstico, utilizamos os critérios em que o estroma do pólipo deve ser diferente da mucosa endometrial normal, mais fibroso e com vasos calibrosos, e o epitélio deve revestir pelo menos 3/4 do fragmento (MAZUR e KURMAN, 1995b).

Outros achados, menos freqüentes neste estudo, foram os macrófagos contendo hemossiderina, que indicam sangramento crônico (MAZUR e KURMAN, 1995a), nos dois grupos. Este achado foi semelhante ao de MARBAIX et al. (2000), que também observou a presença de macrófagos com hemossiderina

em mulheres sem sangramento, usuárias de Norplant®. O que pode explicar esta presença seriam pequenas áreas focais de colapso da mucosa, não relacionadas à percepção de sangramento pela mulher.

As microcalcificações foram observadas em dois casos sem sangramento (11%), o que se aproxima da literatura, que relata presença em 18% dos casos e envolvimento de apenas 5% de toda a extensão do tecido (SILVERBERG et al., 1986).

Mitoses estromais foram vistas em raros casos nos dois grupos, o que coincide com um trabalho que envolve usuárias de noretisterona 300µg (minipílula), em que não houve diferença significativa quando comparado ao número de mitoses com controles (JOHANNISSON et al., 1982). Nenhuma mitose glandular foi observada. Estudo com usuárias de anel vaginal liberador de LNG por 90 dias verificou a ocorrência de uma mitose glandular, em média, em comparação com controles, o que não foi estatisticamente significativo (JOHANNISSON et al., 1991).

Os leucócitos totais apresentaram número significativamente maior no grupo com sangramento, o que coincide com a literatura atual, que considera o fluxo sangüíneo endometrial resultante de um processo inflamatório, no qual os leucócitos apresentam um papel-chave através da produção de moléculas, incluindo citocinas e proteases (FINN, 1986; SALAMONSEN e LATHBURY, 2000).

Um estudo comparou amostras de endométrio de mulheres com ciclos normais e que recebiam TRH por falência ovariana prematura e demonstrou

aumento no número de leucócitos e células T, nos dois grupos, após 12 dias de tratamento com progesterona (BOOKER et al., 1994). Elevação no número de leucócitos infiltrados foi também observada um mês após a inserção do SIU-LNG (JONES e CRITCHLEY, 2000).

A infiltração leucocitária foi vista, mais freqüentemente, no endométrio de mulheres que sangraram recentemente, e menos freqüentemente no endométrio atrófico, em usuárias de baixas doses de progestógenos por via oral (noretisterona 300µg/dia) para anticoncepção (LUDWING, 1982).

Sabe-se que alterações nos níveis da progesterona ativam leucócitos, dentre eles mastócitos e neutrófilos, os quais liberam citocinas que agem estimulando a produção e ativação de enzimas que fragmentam o endométrio que são as MMP (SALAMONSEN e LATHBURY, 2000). A degradação da matriz extracelular endometrial e das membranas basais resultam na fragilidade dos vasos sangüíneos e na perda de tecido endometrial (SALAMONSEN e WOOLLEY, 1999).

Os eosinófilos e plasmócitos, indicadores de endometrite, não diferiram significativamente em número, nos dois grupos analisados, coincidindo com a literatura (SILVERBERG et al., 1986).

Dentre as características glandulares analisadas, o perímetro e o maior diâmetro glandular foram significativamente maiores no grupo sem sangramento. Não encontramos na literatura uma explicação para isso e poderíamos justificar este achado interpretando que a mucosa endometrial que sangra, descama

com maior frequência e não teria tempo suficiente para apresentar glândulas que se desenvolvessem mais e fossem maiores.

Este achado coincide com o de um estudo realizado em usuárias de progestógeno de baixa dosagem (300 µg de noretisterona - minipílula) para anticoncepção, em que a única característica endometrial estatisticamente significativa, entre mulheres com e sem sangramento uterino, foi o diâmetro glandular maior no grupo sem sangramento. Nesse mesmo trabalho não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao número de glândulas (JOHANNISSON et al., 1982).

Um estudo realizado em usuárias de DIU T cobre, cujo mecanismo de ação difere do SIU-LNG, pois age apenas nos locais de contato com o endométrio (ANDERSSON et al., 1992), refere a média do número de glândulas de 4,9 em 10 campos de grande aumento. Relata ainda diâmetro glandular, em média, de 89,9 µm (WANG et al., 1995). Outro estudo em usuárias de NET 300 µg, verificou um número de 1,4 glândulas por campo de grande aumento e diâmetro glandular de 34,5 µm, diferente da média de 82,7 µm nos controles (JOHANNISSON et al., 1982).

Ainda outro trabalho envolvendo usuárias de anel vaginal liberador de LNG, por 90 dias, demonstrou diminuição significativa do diâmetro e densidade glandular após uso daquele anticonceptivo (JOHANNISSON et al., 1991).

Estes resultados diferem quanto aos obtidos no presente estudo com relação ao diâmetro glandular, que foi maior tanto para a medida do menor

como do maior diâmetro. Provavelmente isto possa ser justificado pelo número de casos avaliados, pelo número de glândulas medidas ou até pelo método de medida empregado. O uso de um *software* para morfometria é um modelo mais recente, confiável e reprodutível, além de facilitador do trabalho de mensuração.

Quanto ao número de glândulas houve coincidência dos resultados deste estudo com os daquele que envolveu a NET 300µg, porém discorda do trabalho com o DIU T cobre citado anteriormente, o qual apresentou número menor de glândulas.

Nos dois grupos de usuárias de SIU-LNG, com e sem sangramento uterino, a comparação do padrão menstrual, prévia ao método, não apresentou diferenças significativas. Houve predomínio de eumenorréia e os demais padrões encontrados (menorragia, espaniomenorréia e amenorréia) ocorreram em poucas mulheres e, em todos os casos, resultaram de causas não orgânicas. Portanto, considera-se que o padrão menstrual prévio não influenciou os resultados obtidos.

Dentre as mulheres do grupo com sangramento endometrial, a maioria apresentava como padrão de sangramento o *spotting* (65,5%), o que não coincide com a literatura, que mostra, aos seis meses, *spotting* em apenas 25% das usuárias. Esta proporção decresce para 8% e 11% com 18 e 24 meses de uso, respectivamente. A oligomenorréia ocorreu em 17,5% das usuárias e a eumenorréia em 17,5%, o que também difere da literatura que mostra 25% das usuárias com oligomenorréia até dois anos de uso e poucas mulheres com eumenorréia (HIDALGO et al.,2002).

Estas diferenças devem decorrer do fato de o estudo ser um corte transversal, com pequeno tamanho amostral para análise desta variável. Também podem ser devido ao tempo médio de uso do método ser superior a dois anos neste estudo (variando entre 38,4 meses no grupo com sangramento e 42,4 no grupo sem sangramento). Portanto, um tempo superior ao citado na literatura (HIDALGO et al.,2002), que poderia cursar com outro padrão de sangramento, ainda não descrito na literatura.

A ausência de significância estatística, em relação às variáveis demográficas, mostra que estas não influenciaram os resultados obtidos. As características clínicas coincidem com os resultados da literatura com relação à idade (média $27,0 \pm 0,41\%$); paridade, com mais de 70% das mulheres com uma ou duas gestações prévias (HIDALGO et al.,2002).

Embora o IMC, em média, tenha sido maior de 25 nos dois grupos, o que indicou sobrepeso, esta característica não deve ter influenciado os resultados, pois, se houvesse anovulia associada ao sobrepeso ocorreria a diminuição nos níveis de progesterona circulante, o que poderia influenciar o aspecto morfológico endometrial, levando à hiperplasia, que não ocorreria ou seria tratada pela presença do levonorgestrel, contido no SIU, por mais de seis meses.

Este estudo foi limitado por ser um corte transversal. Sugere-se que os próximos trabalhos sejam feitos de forma prospectiva, com biópsias endometriais antes do início do uso do SIU-LNG, no período secretor ou durante a menstruação, a seguir a cada trimestre de uso e, preferencialmente, no período de sangramento.

Pode-se também comparar com controles normais ou com outras biópsias realizadas, na usuária de SIU-LNG, fora do período de sangramento.

Os resultados deste estudo evidenciaram a importância dos leucócitos na perda da integridade endometrial em usuárias de SIU-LNG, apontando para a necessidade de estudos mais aprofundados neste sentido. Acreditamos que o estudo dos leucócitos endometriais seja um importante avanço na compreensão da patogênese do sangramento uterino imprevisível em usuárias de progestógenos de longa ação. Esperam-se, para o futuro, novos esclarecimentos. Assim, na sequência deste estudo, estamos investigando os microvasos endometriais, com uso da imunoistoquímica com o anticorpo anti-CD34; bem como avaliando a quantificação da MMP3 e sua relação com a presença de sangramento em usuárias do SIU-LNG.

6. Conclusões

- O padrão endometrial mais freqüentemente encontrado em usuárias de SIU-LNG foi o progestacional, seguido pelo aspecto atrófico, nos grupos com e sem sangramento uterino. Não houve correlação entre a classificação histológica e o padrão de sangramento em usuárias de SIU-LNG.
- Não houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos com e sem sangramento, com relação à ocorrência de endometrite, necrose estromal, erosão de superfície com reepitelização focal e colapso estromal.
- Não houve diferença estatisticamente significativa com relação à pseudo-estratificação glandular e ao edema estromal entre os grupos.
- Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à quantificação de mitoses estromais, eosinófilos, plasmócitos, glândulas, mitoses glandulares, área, menor diâmetro das glândulas e a altura do epitélio glandular entre os grupos.

- O perímetro e o maior diâmetro glandulares foram características morfológicas no grupo sem sangramento, significativamente maiores que no grupo com sangramento.
- O número significativamente maior de leucócitos no grupo com sangramento foi a característica morfológica, dentre as avaliadas, que se relacionou à ocorrência de sangramento endometrial, indicando o desencadeamento de um processo inflamatório.

7. Referências Bibliográficas

ANDERSSON, K.; BATAR, I.; RYBO, G. Return to fertility after removal of a levonorgestrel-releasing intrauterine device and Nova-T. **Contraception**, 46:575-84, 1992.

ARMITAGE, P. **Statistical method in medical research**. New York: John Wiley and Sons; 1974. 504p.

BACKMAN, T.; HUHTALA, S.; LUOTO, R.; TUOMINEN, J.; RAURAMO, I.; KOSKENUUO, M. Advance information improves user satisfaction with the levonorgestrel intrauterine system. **Obst Gynec**, 99:608-13, 2002.

BARBOSA, I.; OLSSON, S.E.; ODLIND, V.; GONÇALVES, T.; COUTINHO, E. Ovarian function after seven years use of levonorgestrel IUD. **Adv Contracept**, 11:85-95, 1995.

BELSEY, E.M.; MACHIN, D.; D'ARCANGUES, C. The analysis of vaginal bleeding patterns induced by fertility regulating methods. **Contraception**, 34:253-60, 1986.

BOOKER, S. S.; JAYANETTI, C.; KARALAK, S.; HSIU, J-G.; ARCHER, D.F. The effect of progesterone on the accumulation of leukocytes in the human endometrium. ***Am J Obstet Gynecol***, 17:139-42, 1994.

BRECHIN, S.; CAMERON, S.T.; PATERSON, A.M.; WILLIAMS, A.R.; CRITCHLEY, H.O. Intrauterine polyps – a cause of unscheduled bleeding in women using the levonorgestrel intrauterine system: Case Report. ***Hum Reprod***, 15:650-2, 2000.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Aparelho genital feminino. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Patologia estrutural e funcional**. 4ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.929-74.

COX, M.; TRIPP, J.; BLACKSELL, S. Clinical performance of the levonorgestrel intrauterine system in routine use by the UK Family Planning and Reproductive Health Research Network: 5-year report. ***J Fam Plann Reprod Health Care***, 28:73-7, 2002.

CRITCHLEY, H.O.D.; WANG, H.; JONES, R.L.; KELLY, R.W.; DRUDY, T. A.; GEBBIE, A.E. et al. Morphological and functional features of endometrial decidualization following long-term intrauterine levonorgestrel delivery. ***Hum Reprod***, 13:1218-24, 1998.

CROXATTO, H.B.; MÄKÄRÄINEN, L. The pharmacodynamics and efficacy of Implanon. An overview of the data. ***Contraception***, 58:915-75, 1998.

D'ARCANGUES, C.; ODLIND, V.; FRASER, I.S. Dysfunctional uterine bleeding induced by exogenous hormones. In: ALEXANDER, N.J.; D'ARCANGUES, C., eds. – **Steroids hormones and uterine bleeding**. Washington: AAAS Press, 1992. p.81-105.

D'ARCANGUES, C. Management of vaginal bleeding irregularities induced by progestin-only contraceptives. ***Hum Reprod***, 15(supl.3):24-9, 2000.

DALLENBACH-HELLWEG, G.C. Morphological changes induced by exogenous gestagens in normal human endometrium. In: DALLENBACH-HELLWEG, G.C **Functional morphologic changes in female sex organs induced by exogenous hormones**. Berlin: Springer, 1980; p.95-100.

DECLARACION DE HELSINKI DE LA ASOCIACION MEDICA MUNDIAL **Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos**.2000. Disponível em: <http://www.wma.net/s/policy/17-c_s.html>

DIAZ, J; BAHAMONDES, L.; MONTEIRO, I.; PETTA, C.; HIDALGO, M.M.; ARCE, X.E. Acceptability and performance of the levonorgestrel-releasing intrauterine system (MIRENA®) in Campinas, Brazil. ***Contraception***, 62:59–61, 2000.

DUBUISSON, JB.; The Mirena Study Group; MUGNIER, E. Acceptability of levonorgestrel releasing intrauterine system after discontinuation of previous contraception: results of a French clinical study in women aged 35 to 45 years. ***Contraception***, 66:121-8, 2002.

EL-MAHGOUB, S. D-norgestrel slow-releasing T device as an intrauterine contraceptive. ***Am J Obstet Gynecol***, 123:133-8, 1975.

FAÚNDES, A.; ALVAREZ, F.; DÍAZ, J. A Latin American experience with levonorgestrel IUD. ***Ann Med***, 25:149-53, 1993.

FEDELE, L.; BIANCHI, S.; ZANCONATO, G.; PORTUESE, A.; RAFFAELLI, R. Use of a levonorgestrel releasing intrauterine device in the treatment of rectovaginal endometriosis. ***Fertil Steril***, 75:485-8, 2001.

FINDLAY, J.K. Future directions for research on endometrial bleeding. ***Hum Reprod***, 11(suppl. 2):179-83, 1996.

FINN, C.A. Implantation, menstruation and inflammation. ***Biol. Rev.***, 61:313-28, 1986.

FLEISS, J.L. **Statistical methods for rates and proportions**. New York: John Wiley e Sons, 1981.

FRASER, I.S. A review of the role of progestogens in hormonal replacement therapy: influence on bleeding patterns. ***Maturitas***, 8:113-21, 1986

FRASER, I.S.; HICKEY, M.; SONG, J-Y. A comparison of mechanisms underlying disturbances of bleeding caused by spontaneous dysfunctional uterine bleeding on hormonal contraception. ***Hum Reprod***, 11(suppl.2):165-79, 1996.

FRASER, I.S. Bleeding arising from the use of exogenous steroid. ***Baillieres's Clin Obstet Gynaecol***, 13:203-22, 1999.

FRASER, I.S.; HICKEY, M. Endometrial vascular changes and bleeding disturbances with long-acting progestins. ***Steroids***, 65:665-70, 2000.

FRASER, I.S.; WEISBERG, E.; MINEHAN, E.; JOHANSSON, E.D.B – A detailed analysis of menstrual blood loss in women using Norplant® and Nestorone® Progestogen – only Contraceptive Implants on vaginal rings. ***Contraception***, 61:241-51, 2000.

HAGUE, S.; MACKENZIE, I.Z.; BICKNELL, R.; REES, M.C. In-vivo angiogenesis and progestogens. ***Human Reprod***, 17:786-93, 2002.

HICKEY, M.; DWARTE, D.; FRASER, I.S. Precise measurements of intrauterine vascular structures at hysteroscopy in menorrhagia and during NORPLANT® use. **Hum Reprod**, 13:3190-6, 1998.

HICKEY, M.; FRASER, I.S.; DWARTE, D.; GRAHAM, S. Endometrial vasculature in Norplant® users: preliminary results from a hysteroscopic study. **Hum Reprod**, 11(suppl.2):35-44, 1996a.

HICKEY, M.; LAU, T.M.; RUSSELL, P.; FRASER, I.S. Microvascular density in conditions of endometrial atrophy. **Hum Rep**, 11(9):2009-13, 1996b.

HICKEY, M.; SIMBAR, M.; YOUNG, L.; MARKHAM, R.; RUSSEL, P.; FRASER, I.S. A longitudinal study of changes in endometrial microvascular density in Norplant® implants users. **Contraception**, 59:123-9, 1999.

HICKEY, M.; FRASER, I.S. A functional model for progestogen-induced breakthrough bleeding. **Hum Reprod**, 15(suppl.3):1-6, 2000a.

HICKEY, M.; FRASER, I.S. The structure of endometrial microvessels. **Hum Reprod**, 15:57-66, 2000b.

HIDALGO, M.M. ; BAHAMONDES L.; PERROTTI M.; DIAZ. J.; DANTAS-MONTEIRO, C.; PETTA, C. Bleeding patterns and clinical performance of the levonorgestrel-releasing intrauterine system (Mirena) up to two years. **Contraception**, 65:325-8, 2002.

HOURIHAN, H.M.; SHEPPARD, B.L.; BONNAR, J. A morphometric study of the effects of oral norethisterone or levonorgestrel on endometrial blood vessels. **Contraception**, 38:603-12, 1986.

HUBACHER, D.; GRIMES, D.A. Noncontraceptive health benefits of intrauterine devices: a systematic review. **Obstet Gynecol Surv**, 57(2):120-8, 2002.

HURSKAINEN, R.; TEPERI, J.; RISSANEN, P.; AALTO, A.M.; GRENNAN, S.; KIVELA, A. et al. Quality of life and cost-effectiveness of levonorgestrel-releasing intrauterine system versus hysterectomy for treatment of menorrhagia: a randomised trial. **Lancet**, 357:273-7, 2001.

JI, G.; SHU-LI, W.; SHANG-CHUN, W.; BO-LING, S.; ALLONEN, H.; LUUKKAINEN, T. Comparison of the clinical performance, contraceptive efficacy and acceptability of levonorgestrel releasing IUD and Norplant® – 2 implants in China. **Contraception**, 41:485-94, 1990.

JOHANNISSON, E.; BROSENS, I.; CORNILLIE, F.; ELDER, M.; WHITE, J.; SHEPPARD, B. et al. Morphometric study of the human endometrium following continuous exposure to levonorgestrel released from vaginal rings during 90 days. **Contraception**, 43:361-74, 1991.

JOHANNISSON, E.; LANDGREN, B-M.; DICZFALUZY Endometrial morphology and peripheral steroids levels in women with and without intermenstrual bleeding during contraception with the 300 µg norethisterone (NET) minipill. **Contraception**, 25:13-30, 1982.

JONES, R.L. e CRITCHLEY, H.O.D. Morphological and functional changes in human endometrium following intrauterine levonorgestrel delivery. **Hum Reprod**, 15(suppl.3):162-72, 2000.

JONES, K.; GEORGIU, M.; HYATT, D.; SPENCER, T.; THOMAS, H. Endometrial adenocarcinoma following the insertion of a Mirena IUCD. **Gynec Oncol**, 87:216-18, 2002.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Células do sangue. In: JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Patologia estrutural e funcional**. 9^a.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.192-203.

KIM-BJORKLUND, T.; LANDGREN, B.M.; JOHANNISSON, E. Morphometric studies of the the endometrium, the fallopian tube, and the corpus luteum during contraception with the 300 mg norethisterone (NET) minipill. **Contraception**, 43:459–74, 1991.

KLAUBER, N.; ROHAN, R.M.; FLYNN, E.; D'AMATO, R.J. Critical components of the female reproductive paht way are suppressed by angiogenesis inhibitor AGM-1470. **Nature Med**, 3:443-6, 1997.

LÄHTEENMÄKI, P., HAUKKAMAA, M.; PUOLLAKKA, J.; RÍÍKONEN, U.; SAINIO, S. Open randomised study of use of levonorgestrel releasing intrauterine system as alternative to histerectomy. **BMJ**, 316:1122-6, 1998.

LANDGREN, B-M; DADA, O.; AEDO, A-R; JOHANNISSON, E.; DICZFALUSY, E. Pituitary, ovarian, and endometrial effects of 300 mg norethisterone and 30 mg of levonorgestrel administered on cycle days 7 to 10. **Contraception**, 41:569-81, 1990.

LUDWIG, H. The morphologic response of the human endometrium to long-term treatment with progestational agents. **Am J Obstet Gynecol**, 142:796–808, 1982.

LUUKKAINEN, T.; ALLONEN, H.; HAUKKAMAA, M.; LÄHTEENMÄKI, P.; NILSSON, C.G.; TOIVONEN, J. Five years experience with levonorgestrel-releasing IUDs. **Contraception**, 33(2):139–148, 1986.

LUUKKAINEN, T.; NILSSON, C.G Sustained intrauterine release of d-Norgestrel. **Contraception**, 18:451-8, 1978.

MARBAIX, E.; VEKEMANS, M.; GALANT, C.; RIGOT, V.; LEMOINE, P.; DUBOIS, D. et al. Circulating Sex hormones and endometrial stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) at the start of bleeding episodes in levonorgestrel-implant users. *Hum Reprod*, 15(suppl 3):120-34, 2000.

MARTINEZ-MANAUTOU, J.; MAQUEO, M.; AZNAR, R.; PHARRISS, B.B.; ZAFFARONI, A. Endometrial morphology in the exposed to uterine systems releasing progesterone. *Am J Obstet Gynecol*, 15:175-9, 1975.

MARUO, T.; LAOAG-FERNANDEZ, J.B.; PAKARINEN, P.; MURAKOSHI, H.; SPITZ, I. M.; JOHANSSON, E. Effects of the levonorgestrel-releasing intrauterine system on proliferation and apoptosis in the endometrium. *Hum Reprod*, 16:2103-8, 2001.

MAZUR, M.T.; KURMAN, R.J. Dysfunctional uterine bleedings. In: MAZUR, M.T.; KURMAN, R.J. **Diagnosis of endometrial biopsies and curettings**. A practical approach. Nova Yorque: Verlag, 1995a. p. 89-108.

MAZUR, M.T.; KURMAN, R.J. Effects of hormones. In: MAZUR, M.T.; KURMAN, R.J. **Diagnosis of endometrial biopsies and curettings**. A practical approach. Nova Yorque: Verlag, 1995b. p. 109-30.

MONTEIRO, I.; BAHAMONDES, L.; DIAZ, J.; PERROTTI, M.; PETTA, C.A. Therapeutic of levonorgestrel-releasing intrauterine system in women with menorrhagia: a pilot study. *Contraception*, 65:325-28, 2002.

NASCIMENTO, R; BAHAMONDES, L; HIDALGO, M; PERROTTI, M; ESPEJO-ARCE, X; PETTA, CA. User's perspectives on bleeding patterns after two years of levonorgestrel releasing intrauterine system use. *Drugs*, 3:1-5, 2002.

NILSSON, C.G.; JOHANNISSON, E.D.B.; JACKANICZ, T.M.; LUUKKAINEN, T. Biodegradable polyactate as a steroid – releasing polymer: intrauterine administration of d-norgestrel. **Am J Obstet Gynecol**, 122:90-5, 1975.

NILSSON, C.G.; LUUKKAINEN, T.; ARKO, H. Endometrial morphology of women using a D-norgestrel releasing intrauterine device. **Fertil Steril**, 29:397-401, 1978.

NILSSON, C.G.; LUUKKAINEN, T.; DÍAZ, J.; ALLONEN, H. Intrauterine contraception with levonorgestrel: a comparative clinical performance study. **Lancet**, 1:577-80, 1981.

NILSSON, C.G.; LÄNTEENMÄKI, P.L.A.; LUUKKAINEN, T. Ovarian function in amenorrheic and menstruating users of levonorgestrel–releasing intrauterine device. **Fertil Steril**, 41:52-5, 1984.

PEKONEN, F.; NYMAN, T.; LÄNTEENMÄKI, P.; HAUKKAMAA, M.; RUTANEN, E.M. Intrauterine progestin induces continuous insulin-like growth factor-binding protein production in the human endometrium. **J Clin Endocrinol Metab**, 75:660-4, 1992.

PENGDI, Z.; XIAOQUN, L.; HONGZHI, L.; ZHAO, G.; JIE, C.; RUHUA, X. *et al.* The effect of a levonorgestrel-releasing intrauterine device on human endometrial oestrogen and progesterone receptors after one year of use. **Hum Reprod**, 14(4):970-75, 1999.

PUOLAKKA, J.; NILSSON, C.; HAUKKAMAA, M. Conservative treatment of excessive uterine bleeding and dysmenorrhoea with levonorgestrel intrauterine system as an alternative to hysterectomy. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 75:82 (suppl), 1996.

ROBERTSON, D.C.N.; SIVIN, I.; NASH, H.A.; BRAUN, J.; DINH, J. Release rates of levonorgestrel from Silastic capsule, homogeneous rods and covered rods in humans. **Contraception**, 27:483-95, 1983.

ROGERS, P.; AU, C.L.; AFFANDI, B. Endometrial microvascular density during the normal menstrua cycle and following exposure to long-term levonorgestrel. **Hum Reprod**, 8:1396-404, 1993.

SALAMONSEN, L. A.; ZAHNG, J.; HAMPTON, A.; LATHBURY, L. Regulation of matrix metalloproteinases in human endometrium. **Hum Reprod**, 15(suppl 3):112-9, 2000.

SALAMONSEN, L.A.; WOOLLEY, D.E. Menstruation: induction by matrix metalloproteinases and inflammatory cells. **J Reprod Immun**, 44:1-27, 1999.

SALAMONSEN, L.A.; LATHBURY, L. Endometrial leukocytes and menstruation. **Hum Reprod Update**, 6:16-27, 2000.

SCOMMEGMA, A.; PANDYA, G.N.; CHRIST, M.; LEE, A.W.; COHEN, M.R. Intrauterine administration of progesterone by a slow releasing device. **Fertil Steril**, 21:201-9, 1970.

SHAW, S.T.Jr.; MACAULAY, L.K.; AZNAR, R.; GONZALEZ-ANGULO, A.; ROY, S. Effects of a progesterone-releasing intrauterine contraceptive device on endometrial blood vessels: a morphometris study. **Am J Obstet Gynecol**, 1;14:821-7, 1981.

SIEGEL, S. **Nonparametric statistics for the behavioral sciences**. New York: McGraw-Hill Inc., 1956. p. 312.

SILVERBERG, S.G.; HAUKKAMAA, M.; ARKO, H.; NILSSON, C.G.; LUUKKAINEN, T. Endometrial morphology during long-term use of levonorgestrel-releasing intrauterine devices. *Int J Gynecol Pathol*, 5:235-41, 1986.

SIVIN, I.; EL MAHGOUB, S.; MCCARTHY, T.; MISHELL, D.R.; SHOUPE, D.; ALVAREZ, F. *et al.* Long-term contraception with the levonorgestrel 20 mcg/day (LNG 20) and the Cooper T380 A intrauterine devices: a five-year randomized study. *Contraception*, 42:361-78, 1990.

SKINNER, J.L.; RULEY, S.C.; GEBBIE, A. E.; GLASIER, A.F.; CRITCHLEY, H.O. Regulation of matrix metalloproteinase-9 in endometrium during the menstrual cycle and following administration of intrauterine levonorgestrel. *Hum Rep*, 14:793-9, 1999.

SMITH, S.K. Steroids and endometrial breakthrough bleeding: future directions for reserch. *Hum Reprod*, 15(suppl.3):197-202, 2000.

SONG, J.Y.; FRASER, I.S. Effects of progestogens on human endometrium. *Obstet Gynecol Survey*, 50:385-94, 1995.

SONG, J.Y.; RUSSELL, P.; MARKHAM, R.; MANCONI, F.; FRASER, I.S. Effects of high dose progestogens on white cells and necrosis in human endometrium. *Hum Reprod*, 11, 1713-1718, 1996.

VERCELLINI, P.; AIMI, G.; PANAZZA, S.; DE GIORGI, O.; PESOLE, A.; CROSEGANI, P.G. A levonorgestrel-releasing intrauterine system for the treatment of dysmenorrhea associated with endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril*, 72:505-8, 1999.

VINCENT, A.J.; MALAKOOTI, N.; ZHANG, J.; ROGERS, P.A.; AFFANDI, B.; SALAMONSEN, L.A. Endometrial breakdown in women using Norplant® is associated with migratory cell expressing of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B). ***Hum Reprod***, 14:807-15, 1999.

VINCENT, A.J.; SALAMONSEN, L.A. The role of matrix metalloproteinases and leukocytes in abnormal uterine bleeding associated with progestin-only contraceptives. ***Hum Reprod***, 15(suppl 3): 135-43, 2000.

VINCENT, A.J.; ZHANG, J.; OSTOR, A.; ROGERS, P.A.W.; AFFANDI, B.; KOVACS, G. *et al.* Matrix metalloproteinase-1 and -3 and mast cells are present in the endometrium of women using progestin-only contraceptives. ***Hum Reprod***, 15:123-30, 2000.

VINCENT, A.J.; ZHANG, J.; ÖSTÖR, A.; ROGERS, P.A.W.; AFFANDI, B.; KOVACS, G.; SALAMONSEN, L.A. Decreased tissue inhibition of metalloproteinase in the endometrium of women using depot medroxyprogesterone acetate: a role for altered andometrial matrix metalloproteinase/tissue inhibition of metalloproteinase balance in the pathogenesis of abnormal uterine bleeding? ***Human Reprod***, 17:1189-98, 2002.

WANG, I.Y.S.; RUSSEL, P.; FRASER, I.S. Endometrial morphometry in users of intrauterine contraceptive devices and women with ovulatory dysfunctional uterine bleeding: a comparison with normal endometrium. ***Contraception***, 51:243-8, 1995.

XIAO, B.; ZENG, T.; WU, S; SUN, H.; XIAO, N. Effect of levonorgestrel-releasing intrauterine device on hormonal profile and menstrual patterns after long-term use. ***Contraception***, 51:359-65, 1995.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98
(alterada 2002).

9. Anexos

9.1. Anexo 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido

Correlação entre histologia endometrial e padrão de sangramento em usuárias de sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel

Eu, _____,
RG nº: _____, idade: _____ anos, residente à _____,
matrícula PF: _____, fui informada por _____, que:

a) Este trabalho tem como objetivo estudar as características microscópicas, da camada de dentro do útero (endométrio), de usuárias de Mirena; para tentar descobrir o que leva algumas mulheres a apresentarem sangramento uterino imprevisível e outras a não apresentarem sangramento. Se isto for encontrado, será um caminho para determinar o tratamento do sangramento alterado, evitando que muitas mulheres desistam de usar estes métodos anticoncepcionais.

b) Caso aceite participar do estudo, inicialmente, irei responder a um questionário, sobre minhas características pessoais, minhas gestações e meus fluxos menstruais antes e após começar o uso do Mirena.

c) Se aceito participar do estudo, hoje, serei submetida a retirada de uma pequena amostra de dentro do meu útero. Este procedimento será feito, pelo(a) médico(a). Eu ficarei em posição de exame ginecológico, após o toque vaginal, será colocado um espéculeto, realizada a limpeza do colo uterino, podendo ser necessário ou não a colocação de uma pinça no colo uterino e então, será introduzida uma cânula fina, de plástico e estéril, em meu útero; seguido por movimento rápido, porém delicado, desta cânula. O material retirado, de dentro do meu útero, será mostrado para mim e a seguir enviado, para avaliação, no Departamento de Patologia da UNICAMP.

d) Estou ciente que poderá haver cólica, semelhante a de uma menstruação, durante e após a retirada da amostra; bem como sangramento, na maioria das vezes, leve. Outros riscos, que podem acontecer são: infecção dentro do útero (endometrite), saída do DIU do lugar e perfuração do útero. Todos os cuidados serão tomados, para que estes problemas

não ocorram. Fui informada de que, diante de qualquer efeito ruim, relacionado ao estudo, receberei atenção médica adequada na UNICAMP e não haverá qualquer ônus financeiro para mim.

e) Minha participação neste estudo é totalmente livre, isto é, se não desejar participar, não terei nenhum prejuízo em meu atendimento no ambulatório. Não receberei nenhum benefício pela minha participação.

f) Serei informada sobre este estudo sempre que eu quiser.

g) Eu tenho o direito de solicitar minha saída da pesquisa, em qualquer momento, sem perder nenhum direito na clínica.

h) As informações obtidas desse estudo serão transmitidas somente de forma que não possa ser identificada minha participação.

i) No caso de algum problema ou dúvida, durante o período do estudo, poderei contactar a Dra. Marília Oliveira Ribeiro, telefone 3788-7176, de 2^a a 6^a, das 8 às 17 horas.

j) Se tiver alguma pergunta ou reclamação a respeito do meu atendimento e da minha participação, neste estudo, poderei entrar em contato com o Cômite de Ética em Pesquisa, da UNICAMP, telefone (19) 3788-8936.

h) Com relação a necessidade da pesquisadora responsável entrar em contato comigo, solicitando meu retorno, antes da próxima consulta agendada:

☐ **Autorizo -**

☐ Por telefone:

☐ na minha residência,

☐ no trabalho,

☐ de recado;

☐ Por carta

☐ **Não autorizo**

Voluntária

Pesquisador(a)

UNICAMP, Campinas - SP, ____ / ____ / 200__

9.2. Anexo 2 – Ficha para coleta de dados

Correlação entre histologia endometrial e padrão de sangramento em usuárias de sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel

1) Caso nº:

Dados do prontuário

2) N.º PF:

3) N.º HC:

4) Endereço: Rua

Qd

nº

Qd

Lt

Bairro

Cidade

Ponto de referência:

5) Telefone: residência:

trabalho:

recado:

FICHA PARA COLETA DE DADOS

Correlação entre histologia endometrial e padrão de sangramento em usuárias de sistema intra-uterino liberador de levonorgestrel

Entrevistador(a): _____

- 1) Caso n°:
- 2) Grupo: (1.**com** sangramento 2.**sem** sangramento)
- 3) Qual a sua idade? anos
- 4) Qual a sua cor? (1.Branca 2.Negra 3.Amarela 4.Outra)
- 5) Você já engravidou? (1.sim 2.não). Se não, passe à questão n° 10
- 6) Quantas gestações você teve? gestações
- 7) Quantos partos você teve? partos
- 8) Quantos abortos você teve? abortos
- 9) **Antes** de iniciar o método, de quantos em quantos dias você menstruava? dias
☐ Não se lembra
- 9.1) Quantos dias durava sua menstruação? dias ☐ Não se lembra
- 9.2) Quantos absorventes você usava por dia? absorventes ☐ Não se lembra
- 9.3) Os absorventes ficavam encharcados? (1.sim 2.não) ☐ Não se lembra
- 9.4) Ocorria sangramento, em borra de café, que não exigia uso de absorventes ou tampões (spottings)? (1.sim 2.não) ☐ Não se lembra. **Se não, passe à questão 11.**
- 9.5) Quantos dias durava no mês? dias ☐ Não se lembra

Para o investigador : Padrão de sangramento: 9.6) Quanto ao intervalo:
(1.eumenorréia 2.espaniomenorréia 3.polimenorréia 4.metrorragia 5.amenorréia)

9.7) Quanto ao número de dias de fluxo: (1. hipomenorréia 2.normal 3. hipermenorréia)

9.8) Quanto ao volume do fluxo : (1.oligomenorréia 2.normal 3. menorragia)

10) Após iniciar este método anticoncepcional

1. ☐ Não menstrua há 3 meses ou mais. **Encerre a entrevista. Preencha o item 15.**
2. ☐ Está menstruando. **Passe à questão 11.**
3. ☐ Está menstruando e apresentando spotting. **Passe à questão 12.**
4. ☐ Está apresentando apenas spotting. **Passe à questão 13.**

11) Nos últimos 3 meses

Qual o intervalo entre suas menstruações ? ☐☐ dias ☐ Não se lembra

11.1) Quantos dias dura suas menstruações? ☐☐ dias ☐ Não se lembra

11.2) Quantos absorventes você usa por dia? ☐☐ absorventes ☐ Não se lembra

11.3) Os absorventes ficam encharcados? ☐ (1.sim 2.não) ☐ Não se lembra

Passe à questão 14

Para o investigador : Padrão de sangramento: 11.4) Quanto ao intervalo: ☐
(1.eumenorréia 2.espaniomenorréia 3.polimenorréia 4.metrorragia)

11.5) Quanto ao número de dias de fluxo: ☐ (1. hipomenorréia 2. normal
3. hipermenorréia)

11.6) Quanto ao volume do fluxo : ☐ (1.oligomenorréia 2.normal 3. menorragia
4.aumentada)

12) Nos últimos 3 meses

Qual o intervalo entre suas menstruações ? ☐☐ dias ☐ Não se lembra

12.1) Quantos dias dura suas menstruações? ☐☐ dias ☐ Não se lembra

12.2) Quantos absorventes você usa por dia? ☐☐ absorventes ☐ Não se lembra

12.3) Os absorventes ficam encharcados? ☐ (1.sim 2.não) ☐ Não se lembra

12.4) Os spottings ocorrem até quantos dias por mês? ☐☐ dias ☐ Não se lembra

Passe à questão 14

Para o investigador : Padrão de sangramento: 12.5) Quanto ao intervalo: ☐
(1.eumenorréia 2.espaniomenorréia 3.polimenorréia 4.metrorragia)

12.6) Quanto ao número de dias de fluxo: ☐ (1. hipomenorréia 2. normal
3. hipermenorréia)

12.7) Quanto ao volume do fluxo menstrual: ☐ (1.oligomenorréia 2.normal
3. menorragia 4. aumentada)

13) Nos últimos 3 meses

Os spottings ocorrem até quantos dias por mês? dias ☐ Não se lembra

14) Você está menstruada ou com spotting hoje? ☐ (1.sim 2. não)

Encerre a entrevista. Preencha o item 15.

15) Dados do prontuário:

15.1) Tempo de uso do método: meses

15.2) Peso: , kg

15.3) Altura: , m

15.4) IMC =

Histopatológico:

16) Avaliação qualitativa

- 16.1) Endométrio progestacional ☐
- 16.2) Endométrio atrófico ☐
- 16.3) Endométrio secretor ☐
- 16.4) Endométrio proliferativo ☐
- 16.5) Hiperplasia endometrial típica ☐
- 16.6) Hiperplasia endometrial atípica ☐
- 16.7) Câncer endometrial ☐
- 16.8) Endometrite ☐
- 16.9) Necrose estromal ☐
- 16.10) Erosão de superfície com reepitelização focal ☐
- 16.11) Colapso Estromal ☐
- 16.12) Pseudo-estratificação ☐ (0. Nenhuma; 1.< 25%; 2. 25-50%; 3. Intenso)
- 16.13) Edema ☐ (0. Ausente; 1. Leve; 2. Moderado; 3. Intenso)

17) Avaliação quantitativa

- 17.1) Mitoses (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐
- 17.2) Leucócitos (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐☐
- 17.3) Eosinófilos (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐
- 17.4) Plasmócitos (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐
- 17.5) Glândulas (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐
- 17.6) Mitoses glandulares (nº/5 campos de grande aumento) ☐☐
- 17.7) Área glandular (μm) ☐☐☐☐☐
- 17.8) Perímetro glandular (μm) ☐☐☐
- 17.9) Maior diâmetro glandular (μm) ☐☐☐
- 17.10) Menor diâmetro glandular (μm) ☐☐☐
- 17.11) Altura glandular (μm) ☐☐