

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

Ensaio clínico randomizado duplo cego com resveratrol no tratamento da dor por
endometriose

Daniel Mendes da Silva

Porto Alegre, 2017

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia

Ensaio clínico randomizado duplo cego com resveratrol no tratamento da dor por
endometriose

Daniel Mendes da Silva

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo
Francalacci Savaris**

**Tese apresentada como requisito
parcial para obtenção do título de
Doutor no Programa de
Pós-Graduação em Ciências da
Saúde: Ginecologia e Obstetrícia,
Faculdade de Medicina, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.**

Porto Alegre, 2017

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva, Daniel Mendes

O uso do resveratrol como adjuvante na endometriose: um estudo clínico randomizado / Daniel Mendes da Silva. -- 2017.

61 f.

Orientador: Ricardo Francalacci Savaris.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Ginecologia e Obstetrícia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. endometriose. 2. dor. 3. resveratrol. I. Savaris, Ricardo Francalacci, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Dr. Ricardo Francalacci Savaris pelos ensinamentos.

Agradeço à Luiza de Azevedo Gross pela disponibilidade e paciência na sua atuação como Bolsista de Iniciação Científica

Agradeço a todos os professores do Programa de Pós Graduação em Ginecologia e Obstetrícia pela oportunidade de aprendizado.

Agradeço especialmente à minha família.

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo aos meus pais Oberdam e Eugênia pelo exemplo de integridade e perseverança ao longo da vida;

aos meus filhos Lucas e Bruno, para que seja uma motivação para as suas vidas;

à minha esposa Patricia que amo e segue comigo a jornada por este mundo.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	12
REVISÃO DA LITERATURA	14
1. Estratégias para localizar e selecionar as informações	14
2. Marco conceitual	15
3. Endometriose	16
3.1 Aspectos gerais (Epidemiologia, fatores de risco, sintomas)	16
3.2 Fisiopatologia da Endometriose	18
3.3 Biomarcadores da Endometriose	20
3.4. Tratamento Farmacológico da Endometriose	22
Progestágenos	23
3.4.2 Indução de Pseudo menopausa	27
3.4.2.1 Agonistas GnRH	27
3.4.2.2 Danazol	27
3.4.3 Tratamentos alternativos	28
3.4.3.1 Resveratrol	30
3.4.3.1.1 Aspectos gerais	30
3.4.3.1.2 Farmacocinética	32
3.4.3.1.3 Estudos in vitro	33
3.4.3.1.4 Estudos em animais	34
JUSTIFICATIVA	36
HIPÓTESES	37
Variáveis	37
OBJETIVOS	38
Principal	38
Secundários	38
REFERÊNCIAS	39
ARTIGO PUBLICADO	48

CONSIDERAÇÕES FINAIS

60

PERSPECTIVAS

61

LISTA DE ABREVIATURAS

ACO - Anticoncepcionais orais

AINES - Anti-inflamatórios não esteroidais

AVS - Analog visual scale

CA-125 - Antígeno carcinoembrionário

MCP - Monophasic Contraceptive Pill

ESR1 - Receptor de estrogênio

EVA - Escala visual analógica

FCF - Fator de crescimento de fibroblastos .

GEE - Generalized Estimating Equations

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina

HDL - Lipoproteína de alta densidade(High Density Lipoprotein)

IC - Intervalo de confiança

MEEG - Modelo de equações de estimações generalizadas

PAM - Pílula anticoncepcional monofásica

PEDF - Fatores derivados da pigmentação do epitélio

VEGF - Fatores de crescimento endotelial vascular

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Marco conceitual do estudo

Figura 2 - Numeração dos derivados esteróides

Figura 3 - Progesterona e derivados

Figura 4 - Derivados da testosterona e da 19-nortestosterona

Figura 5 - Outros compostos relacionados

Figura 6 - Estrutura molecular do resveratrol de outros derivados do estilbeno

RESUMO

Resveratrol, um fitoestrógeno natural tem sido visto como um opção potencial de tratamento para mulheres com endometriose, porém nenhum estudo clínico adequado foi realizado.

Objetivo: Em comparação com placebo, o resveratrol (40mg/dia) reduz níveis de dor após 42 dias de uso em mulheres com endometriose usando pílula anticoncepcional monofásica (PAM).

Delineamento do estudo: Neste estudo clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo clínico, as mulheres com endometriose foram randomizados para receber PAM por 42 dias, para ser tomado com 42 cápsulas idênticas contendo 40 mg de resveratrol ou placebo em frascos codificados Os escores médios de dor foram medidos utilizando uma escala visual analógica (EVA) nos dias 0, 7, 21 e 42.

Resultados: Este estudo decorreu entre Junho e Setembro de 2015 envolvendo 44 pacientes. Um software foi utilizado para a geração da sequência da randomização. Foram utilizados envelopes opacos selados e codificados para o cegamento. O tamanho da amostra foi calculada para ter uma chance de 95% de detectar, como significativa ao nível de 1%, uma redução de 90% em comparação com placebo e resveratrol em uma escala de 0 a 10 dor. Uma redução significativa nos níveis de dor foi encontrada entre o dia 0 e o dia 42, no grupo placebo ($P = 0,02$ - de Equações estimação generalizada - GEE) e no grupo de resveratrol ($P = 0,003$ -GEE). (95% IC) Os escores médios de dor no dia 0 foram de 5,4 (4,2-6,6) no placebo e 5,7 (4,8-6,6) no grupo de resveratrol. Após 42 dias de tratamento, os

valores de dor mediana foram [3,5 (2,2-4,9); n = 22] e [2,9 (1,8 a 4); n = 22] em relação ao placebo e resveratrol, respectivamente ($p = 0,8$ - GEE); diferença média entre os grupos (95% CI) foi de 0,75 (-1,6 a 2,3).

Conclusão: Em mulheres com endometriose fazendo uso de pílula anticoncepcional monofásica, os escores de dor após 42 dias de utilização diária de 40 mg de resveratrol não foram significativamente diferentes do placebo.

Palavras-chave: Endometriose, dor, resveratrol

ABSTRACT

Background: Resveratrol, a natural phytoestrogen, has been suggested as a possible treatment option for women with endometriosis, but there are no proper randomized clinical trial.

Objective: Compared to placebo, does resveratrol (40 mg/day) reduce pain scores after 42 days of use in women with endometriosis using monophasic contraceptive pill (COC).

Study Design: In this randomized double-blinded, placebo controlled clinical trial, women with endometriosis were randomized to receive COC for 42 days, to be taken with 42 identical capsules containing 40 mg of resveratrol or placebo in coded bottles. Median pain scores measured with an analog visual scale (AVS) on day 42 was the primary outcome.

Results: This trial took place between June and September 2015 and enrolled 44 subjects. A software generated the randomization sequence. Allocation sequence was concealed in coded sequenced opaque sealed envelopes. Sample size was calculated to have a 95% chance of detecting, as significant at the 1% level, a 90% reduction comparing placebo and resveratrol in a 0 to 10 pain scale. A significant reduction in pain levels was found between day 0 and day 42, in placebo ($P=0.02$ -Generalized Estimating Equations - GEE) and in the resveratrol group ($P=0.003$ -GEE). Mean (95%CI) pain scores at day 0 were 5.4 (4.2 to 6.6) in placebo and 5.7(4.8 to 6.6) in resveratrol groups. After 42 days of treatment, median pain values were [3.5 (2.2 to 4.9); n=22] and [2.9 (1.8 to 4); n=22] in the placebo and in the

resveratrol groups, respectively ($P=0.8$ - GEE); median difference between groups (95%CI) was 0.75 (-1.6 to 2.3).

Conclusion: In women with endometriosis in use of monophasic contraceptive pill, pain scores after 42 days of daily use of 40 mg of resveratrol are not significantly different from placebo.

Keywords: Endometriosis, Pain , Resveratrol

INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença que afeta cerca de 176 milhões de mulheres em todo o mundo (JOHNSON, N. P.; HUMMELSHOJ; WORLD ENDOMETRIOSIS SOCIETY MONTPELLIER CONSORTIUM, 2013), e pode estar presente em até cerca de 60% de mulheres adolescentes com dor pélvica crônica ou dismenorrea (JANSSEN *et al.*, 2013a).

A endometriose é definida como a presença de glândulas endometriais e estroma fora da cavidade uterina. Esta condição é caracterizada por aumento da proliferação endometrial, pela capacidade de resposta ao estrogênio, e pela resistência do endométrio a progesterona (BURNEY *et al.*, 2007; JANSSEN *et al.*, 2013b; YOUNG, S.; STEVEN; BRUCE, 2010). O endométrio eutópico e ectópico das mulheres com endometriose têm uma expressão aumentada do receptor de estrogênio (ESR1) (LESSEY *et al.*, 2006); isso pode ocorrer devido a um defeito da ação da progesterona, ou por uma produção excessiva de estrogênio (BULUN *et al.*, 2002; IGARASHI *et al.*, 2005; BULUN *et al.*, 2006). A expressão do receptor beta de estrogênio (ESR2) também se encontra aumentada nos casos com endometriose (FAZLEBAS *et al.*, 2003; BULUN *et al.*, 2010). Recente estudo realizado na Universidade Federal do Rio Grande do Sul verificou que os níveis séricos de prolactina e do antígeno carcinoembrionário (CA-125) tem uma especificidade de 99 e 97%, respectivamente (BILIBIO; CUNHA-FILHO, 2015), podendo ser úteis para o monitoramento da progressão da doença .

O resveratrol (trans-3,5,4'- trihidroxiestilbeno) é um fitoestrógeno natural, sintetizado pelas plantas após a exposição a radiação ultravioleta. Vinho tinto, uvas e morangos têm concentrações significativas deste composto. O resveratrol foi descrito como um composto que apresenta entre outras atividades a atividade antineoplásica (BILIBIO; CUNHA-FILHO, 2015; KINGHORN *et al.*, 2004), anti-inflamatória e antioxidante (JIANG *et al.*, 2009). Além disso, já está descrito

seu potencial para inibir o crescimento de linhagens de células cancerosas (HWANG *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2006; VANAMALA *et al.*, 2011). Alguns estudos investigaram a ação antiproliferativa do resveratrol sobre a endometriose usando modelos animais e em humanos (BRUNER-TRAN *et al.*, 2011; MAIA *et al.*, 2012). A redução do tamanho e da atividade dos implantes de endometriose tem sido observada com a utilização do resveratrol, embora o peso úmido uterino, a proliferação endometrial e a atividade de fosforilação da AKT aumentem nas ratas expostas ao resveratrol (SINGH *et al.*, 2011).

Os efeitos colaterais com o uso de resveratrol são leves e incluem cefaléia frontal, sonolência e mialgia em membros inferiores (ALMEIDA *et al.*, 2009).

Recentemente, o nosso grupo demonstrou que o resveratrol diminui a proliferação de enxertos heterólogos, i.e., endométrio humano implantado em camundongos; essa diminuição se traduzia pela redução da expressão do Ki-67, um marcador de proliferação celular, e dos receptores de estrogênio (ESR1), o que sugere que essa redução ocorra através do ESR1 (ALMEIDA *et al.*, 2009; AMAYA *et al.*, 2014a).

Devido a suas propriedades e a sua ação sobre o endométrio, alguns autores têm sugerido o uso do resveratrol no tratamento da endometriose (RICCI *et al.*, 2013). Outros conduziram um pequeno ensaio clínico não randomizado e aberto com o uso do resveratrol com drospirinona 3mg+etinilestradiol 30µg (MAIA *et al.*, 2012). Nesse estudo, os autores demonstraram que o uso do resveratrol na dose de 30mg ao dia por 2 meses associado ao uso de drospirinona 3mg + 30µg etinilestradiol reduzia os níveis de dor significativamente, quando comparados com o uso de drospirinona 3mg + 30µg etinilestradiol sozinho. O uso de pílulas monofásicas combinadas que utilizam progestinas derivadas do 19-noretisterona é recomendado como forma de tratamento da endometriose (PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2014).

REVISÃO DA LITERATURA

1. Estratégias para localizar e selecionar as informações

A busca de artigos para a revisão da literatura foi realizada no PUBMED e Science Direct utilizando como descritores resveratrol e endometriosis em pesquisa livre de data. .

	Resveratrol	Endometriosis	Resveratrol and Endometriosis
Pubmed	9484	23914	16
Sciencedirect	15138	32486	110

2. Marco conceitual

A escolha do tema surge da necessidade de buscar uma resposta sobre a efetividade de terapias farmacológicas não convencionais, isto é com suplementos alimentares com potencial terapêutico, para o tratamento da dor em em mulheres com diagnóstico de endometriose(Figura 1).

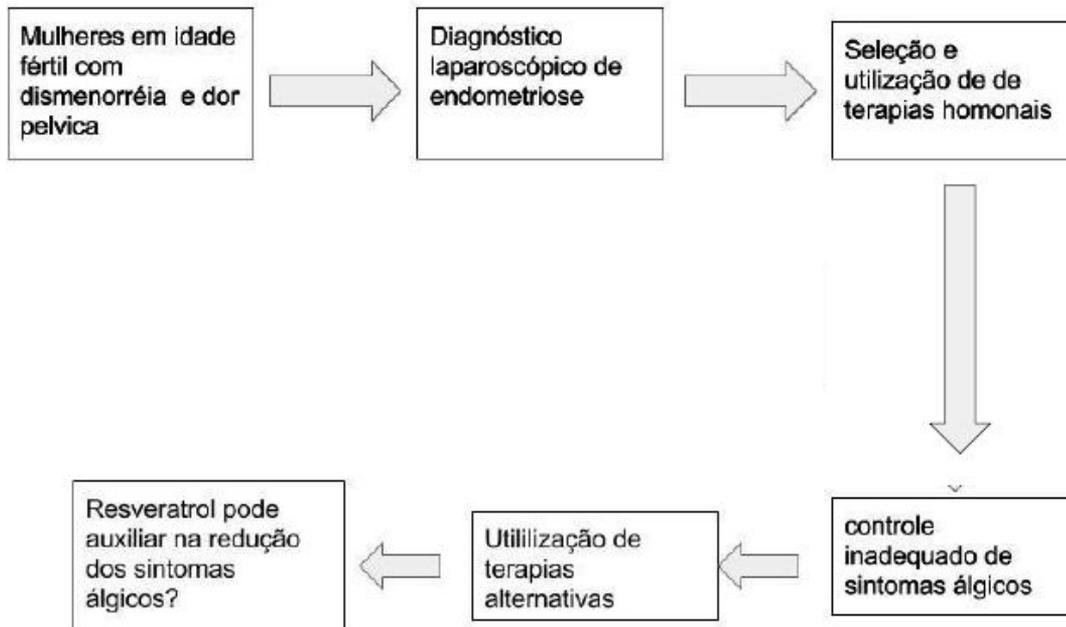


Figura 1. Marco conceitual do estudo

3.Endometriose

3.1 Aspectos gerais (Epidemiologia, fatores de risco, sintomas)

Endometriose é uma doença descrita há mais de 300 anos pelo médico Daniel Cristianus Schrön na Universidade Friedrich Schiller de Jena, Alemanha, em 1690 no seu estudo *The Disputatio Inauguralis Medica de Ulceribus Uteri* (BENAGIANO; GIUSEPPE; IVO, 2011). No século passado, em 1903, um estudo descreve um caso de endometriose secundária, porém devido às peculiaridades da época como o reduzido avanço em microscopia a informação deve ser usada com cautela. Atualmente considera-se o descobridor John A. Sampson, devido aos seus trabalhos realizados na décadas de 1920 e 1930 - "Peritoneal Endometriosis, Due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Peritoneal Cavity" - (SAMPSON, 1927). Apesar destes estudos, foi com o avanço das técnicas de laparoscopia, pela década de 1960, que foi possível diferenciar a endometriose de outras doenças com sintomas similares(BENAGIANO; GIUSEPPE; IVO, 2011).

A prevalência da doença segundo a literatura é variável de 3-10%, porém a estimativa mais atual é que de 10% das mulheres em idade fértil tenha essa doença. Estudos demonstram sua incidência é de de 3/1000 mulheres, podendo variar pela subnotificação, diagnósticos não conclusivos e dificuldade de acesso de populações específicas a recursos necessários para a confirmação do diagnóstico como a laparoscopia (ANDRES *et al.*, 2015; BROWN *et al.*, 2012; BROWN; JULIE; CINDY, 2014; DEROUICH *et al.*, 2015; DESAI, 2012; GIUDICE; EVERS; HEALY, 2012; HARADA, 2014; LIU *et al.*, 2015; ROLLA; EDGARDO, [s.d.]; SUTTON; DAVID ADAMSON; JONES, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2015). Adiciona-se a esta dificuldade de estimativa adequada, o fato de ser uma doença de localização predominantemente intra -abdominal, além de apresentar sintomas não específicos e uma carência atual de metodologia diagnóstica de característica não

invasiva conclusiva incluindo neste ponto a presença de biomarcadores confiáveis (BRAWN *et al.*, 2014).

Em população específica como mulheres com dismenorréia e dor pélvica ou ainda com infertilidade, a estimativa dessa prevalência alcança valores de 40 a 60% (BOZDAG; GURKAN, 2015) .

Diversos são os fatores de risco para a doença como história familiar - parentes em 1º grau ou história de doença autoimune na família- menarca precoce, nuliparidade, ciclos menstruais curtos, exposição à análogos estrogênicos como o dietilbestrol, dieta pobre em frutas e sedentarismo (BOZDAG; GURKAN, 2015; BUCK LOUIS *et al.*, 2013; VIGANO, 2004; ZUBRZYCKA *et al.*, 2015).

Entre seus sintomas característicos destacam-se a dispareunia, a infertilidade, dismenorréia e a dor relacionada ou não a esse sintoma. A dispareunia e a infertilidade podem reduzir a qualidade de vida das pacientes, bem como gerar sofrimento psíquico às portadoras destes sintomas (MEDINA-RAMOS *et al.*, 2006; GIULIANI *et al.*, 2016).

A dor, presente muitas vezes em episódios que podem durar de dias a semanas chegando a se tornar em alguns casos crônica, além de ser um estímulo indesejável que pode ser muitas vezes incapacitante, sujeitando às pacientes à lançar mão do uso de medicamentos analgésicos, anti-inflamatórios de forma constante, sendo assim submetidas adicionalmente ao impacto dos efeitos colaterais destes (MOROTTI; VINCENT; BECKER, 2016).

3.2 Fisiopatologia da Endometriose

As teorias que atualmente são as mais estudadas e propostas se enquadram em padrões específicos de mecanismos dividindo-se segundo (MARUYAMA; YOSHIMURA, 2012) em:

Teoria implantação (Teoria da menstruação retrógrada, teoria metástase vascular e linfática e implante iatrogênico direto)

Teoria da metaplasia (Metaplasia coelômica, teoria do resto embrionário, teoria da indução)

Teoria composta

Teoria das células tronco (Células tronco adultas)

A teoria da implantação pelo mecanismo da menstruação retrógrada proposta por Sampson, proposto no primeiro terço do século passado, passou por aprimoramentos importantes, como recentemente revisitado por PARKIN; FAZLEABAS(2016) e URAL e colaboradores (2015). Adicionalmente à esse aspecto soma-se a possibilidade de metástases de tecidos linfáticos ou até de tecido endometrial surgirem e utilizarem a rede venosa para seu transporte. Ainda sob a égide desta teoria há a hipótese do implante iatrogênico que consiste em transferir material endometrial acidentalmente de um local para outro no mesmo sítio cirúrgico.

A teoria da metaplasia coelômica foi delineada no sentido de tentar achar uma razão para a presença de endometriose em jovens pré-púberes, adolescentes, mulheres que nunca menstruaram ou mulheres que tiveram implantes em locais onde sabe-se que existem células de mesotélio como é o caso dos pulmões. Nestes casos a hipótese é que existam células no mesotélio capazes de se diferenciarem em células endometriais iniciando uma resposta inflamatória clássica. Neste contexto se enquadra a teoria da implantação de restos embrionários que sob estímulos adequados podem se diferenciar em tecido endometrial e em seguida serem implantados em locais fora do útero. Adicionalmente surge outra hipótese, a

teoria da indução, que propõem que fatores presentes na menstruação ou no endométrio podem induzir a diferenciação celular.

De uma forma geral nenhuma das teorias acima consegue estabelecer uma causalidade clara com todas as variantes de endometriose já descritas. Uma teoria composta poderia explicar a diferenciação de locais de implantação e de gravidade da doença.

Atualmente uma teoria que se destaca é a teoria das células tronco presentes no endométrio. Estas células normalmente se encontram na camada basal do endométrio servindo como fonte para a regeneração do endométrio nos sucessivos ciclos menstruais. O centro da teoria consiste em um transporte destas células por mecanismos distintos como menstruação retrógrada, disseminação linfática e vascular, migração direta ou uma combinação de todos até o local de implantação. Neste local, influenciadas por fatores não ainda completamente elucidados, estas células multipotentes iniciam seu processo de proliferação, muitas vezes dependentes dos ciclos hormonais em especial em níveis adequados de estrogênios (BROSENS; IVO; GIUSEPPE, 2013; FARKHAT *et al.*, 2016; FIGUEIRA *et al.*, 2011; GARGETT *et al.*, 2014; HONDA; RITSUO; HIDETAKA, 2014; MARUYAMA; YOSHIMURA, 2012; NAP, 2012; O *et al.*, 2016; SOURIAL; TEMPEST; HAPANGAMA, 2014; TSAI; EING-MEI, 2012; HARADA, T., 2014; LANGAN *et al.*, 2014)

3.3 Biomarcadores da Endometriose

Atualmente apesar do diagnóstico padrão da endometriose ser a laparoscopia com confirmação histológica muitos estudos têm buscado avanços na descoberta de formas menos invasivas e igualmente de adequada precisão como biomarcadores em fluidos corporais como urina e sangue, visando com isso dar continuidade ao estabelecido como as maiores prioridades de pesquisa pelo consenso proposto em 2011 pela Sociedade Mundial de Endometriose (ROGERS *et al.*, 2013).

No contexto da pesquisa de novos biomarcadores há uma longa distância entre a descoberta e a implantação como ferramenta clínica para diagnósticos. O estudo publicado (FASSBENDER *et al.*, 2015) apresenta uma série de estratégias que têm sido desenvolvidas visando a utilização de fluidos corporais para a triagem de pacientes.

Entre os estudos destaca-se a utilização de:

- Glicoproteínas (CA-125, CA19-9, zinco-alpha-2-glycoproteína, Glycodelin A),
- Marcadores imunológicos e citocinas inflamatórias (Proteína C reativa, IL-4, YKL-40, IL-8, TNF- α)
- Espécies envolvidas nos processos de estresse oxidativo (paroxonase (PON-I), lipoproteína de alta densidade (HDL) e plasma superoxide dismutase)
- Espécies envolvidas nos processos de adesão e invasão celular (osteopontina, metaloproteinases - MMP-2, MMP-3 E MMP-9)
- Espécies envolvidas nos processos de angiogênese (Fatores de crescimento endotelial vascular - VEGF, Fatores derivados da pigmentação do epitélio - PEDF, Fator de crescimento de fibroblastos, FGF-2) .
- Hormônios (Prolactina, leptina, Hormônio luteinizante)
- Autoanticorpos (anti-PDIK1L, anti-sIntaxina 5, IMP1, TPM3, SLP2, TMOD3)
- Micro RNAs (miR-199a and miR-122)
- Proteômica
- Metabolômica
- DNA livre (FASSBENDER *et al.*, 2015).

Apesar de extenso material de estudo, uma revisão sistemática publicada por (LIU *et al.*, 2015) demonstrou que não existem evidências suficientes para recomendar algum biomarcador presente na urina de forma segura para o diagnóstico de endometriose.

Considerando o sangue como a matrix de interesse, duas revisões sistemática de estudos envolvendo marcadores no sangue demonstraram que não há comprovação estatística da superioridade de algum biomarcador (NISENBLAT *et al.*, 2016; GUPTA *et al.*, 2016)

3.4.Tratamento Farmacológico da Endometriose

O tratamento farmacológico da endometriose, em especial as estratégias relacionadas ao manejo da dor, vem apresentando ao longo das últimas décadas várias modificações, porém sempre focando em regimes hormonais, que quando cessados permitem o retorno de sintomas álgicos (ANDRES *et al.*, 2015; BERLANDA *et al.*, 2016; BROWN; FARQUHAR, 2015; FERRERO *et al.*, 2015; QUAAS; WEEDIN; HANSEN, 2015; LINDSAY; LUCIANO; LUCIANO, 2015).

Diversos estudos têm sido realizados, culminando com a publicação de consensos que direcionam as melhores alternativas passíveis de utilização no contexto do alívio dos sintomas álgicos relacionados à endometriose nas diferentes gravidades encontradas (PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2008). Um estudo realizado por EVANS e colaboradores (2007) sugere que além do mecanismo de ativação de nociceptores via mediadores inflamatórios, nociceptores silenciados no endométrio normal são sensibilizados na endometriose e possivelmente sendo dispersos ao longo dos tecidos que recebem implantes celulares ao longo do corpo. Este fato demonstra a dificuldade no manejo adequado da sintomatologia relacionada à doença.

Neste contexto, várias são as tentativas de alívio da dor com medicamentos de caráter paliativo como anti-inflamatórios não esteroidais(AINES) (ALLEN *et al.*, 2009) e analgésicos opióides. Devido ao perfil de efeitos colaterais como o impacto gástrico e renal dos AINES, bem como a tolerância e a constipação dos opióides sugere que o uso crônico destas classes de medicamentos deve ser desencorajado.

No que tange à terapia hormonal, apesar de vários fármacos terem sido utilizados nas mais diversas combinações, duas estratégias têm sido empregadas com grande frequência: a indução da pseudo gravidez e a indução da pseudo menopausa. Independentemente da estratégia utilizada deve-se buscar para o tratamento medicamentoso o manejo adequado dos efeitos adversos, adequabilidade às características do paciente, que resultarão em aumento da adesão terapêutica bem como o custo da terapia.

3.4.1 Indução de Pseudo gravidez

Progestágenos

A progesterona é um hormônio esteroide produzido principalmente nos ovários, as glândulas supra-renais e placenta. Seus análogos sintéticos, denominados de progestinas, são compostos que apresentam propriedades farmacológicas similares à progesterona. As progestinas diferem entre si em diversos aspectos como seu perfil e potência da ação sobre o eixo hipotálamo-hipofisário, sobre processos metabólicos, sobre o tecido mamário e sobre os órgãos genitais. Nestes últimos pode estimular um processo de atrofia ou regressão de lesões endometriais (GEZER; ORAL, 2015).

Estima-se que a ação desta classe de fármacos possa ser útil no tratamento de endometriose tanto pela sua ação na inibição do crescimento de endometriomas, mas também para a indução de anovulação, inibição de crescimento de vasos sanguíneos e ação anti-inflamatória. Uma característica comum das progestinas é a redução da liberação de GnRH, o que resulta em uma redução da liberação de FSH e LH. Esta característica permite supressão de síntese de esteróides pelas gônadas e a manutenção de baixos níveis circulantes. O estado atingido, denominado de hipoestrogênico, ocasiona uma modificação tanto no endométrio como nos implantes ectópicos focos da doença (GEZER; ORAL, 2015).

Considerando o mecanismo de ação, os estudos realizados até o presente momento sugerem que a ação dos progestágenos se deva primeiramente à supressão ovariana, mas também aos aspectos relacionados à sua ação sobre o endométrio, possivelmente por promover a atrofia e modificação dos receptores para estrogênio. Adicionalmente seu impacto sobre a modulação da resposta imune, angiogênese, alteração de receptores de progestágenos bem como sua ação sobre as fibras nervosas tem sido entendidos como mecanismos que contribuem para seu potencial clínico (GEZER; ORAL, 2015).

As progestinas (Figura 2) podem ser classificadas de acordo com sua estrutura química em progesterona e derivados (Figura 3), derivados da

testosterona e da 19-nortestosterona (Figura 4) e outros compostos relacionados (Figura 5).

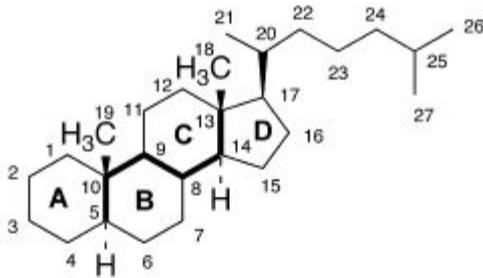


Figura 2 - Numeração dos derivados esteróides - Adaptado de BEALE; BLOCK (2011)

A progesterona tem baixa biodisponibilidade oral devido à sua baixa absorção e ao efeito de 1ª passagem. A modificação estrutural adicionando grupos na posição C17 reduz o metabolismo hepático enquanto a substituição em C6 também reduz o metabolismo além de aumentar a atividade (GEZER; ORAL, 2015).

Os derivados da testosterona e da 19-nortestosterona não apresentam substituinte do no C19, e clinicamente trazem com o seu uso efeitos adversos relacionados à testosterona. A presença de um grupo etil no C17 possibilita a administração oral destes fármacos como também reduz seus efeitos androgênicos. Uma subclasse específica (gonanos) apresenta uma substituição etila no C13, o que representa uma redução na atividade androgênica. Dois fármacos de grande interesse na atualidade ainda fazem parte deste grupo pelo diferenciado perfil de efeitos colaterais: o dienogest e a drospirinona, esta última apresentando um lactona na posição C17 (BEALE; BLOCK, 2011).

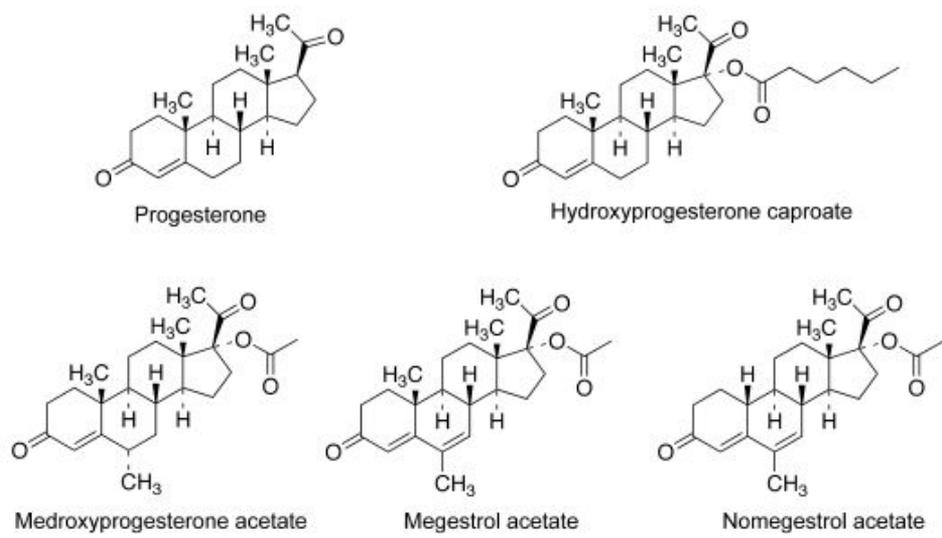


Figura 3 - Progesterona e derivados - Adaptado de BEALE; BLOCK (2011).

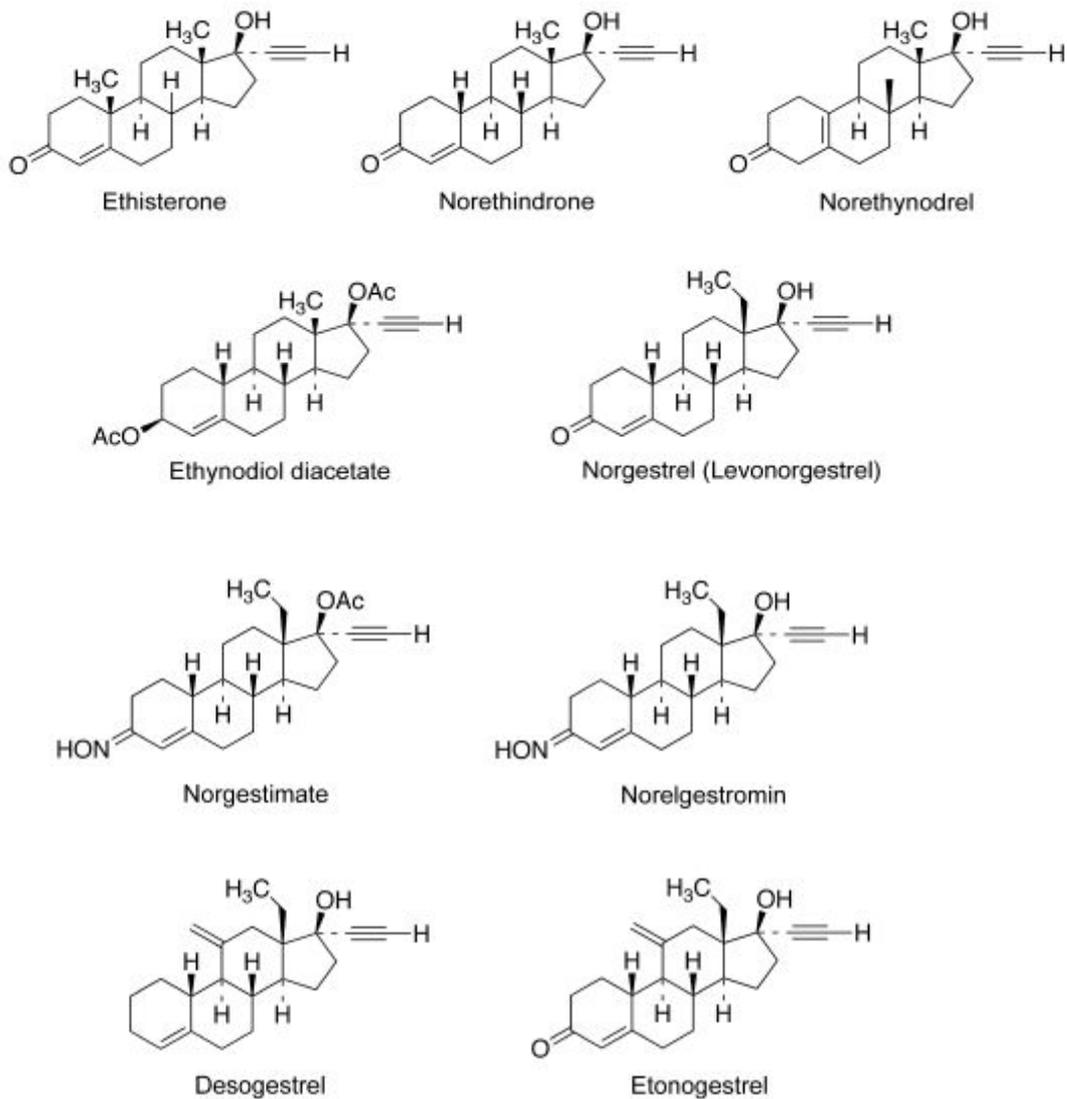


Figura 4 - Derivados da testosterona e da 19-nortestosterona - Adaptado de BEALE; BLOCK (2011).

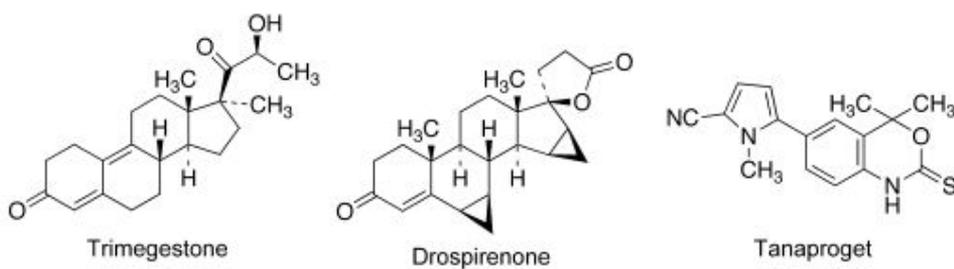


Figura 5 - Outros compostos relacionados - Adaptado de Adaptado de BEALE; BLOCK (2011).

As apresentações comercializadas atualmente podem ser escolhidas segundo a via de administração desejada. Apresentações para administração via oral associadas ou não com estrógenos são muito comuns e com as mais variadas concentrações, dependendo do fármaco escolhido. A possibilidade de utilização de formas farmacêuticas de liberação modificada utilizando a via intramuscular (soluções/suspensões) implantes intradérmicos e dispositivos intrauterinos têm sido disponibilizados no mercado variando de acordo com o interesse comercial das empresas detentoras do direito de comercialização em cada país. Atualmente esta é a 1ª escolha no tratamento da endometriose, junto com as progestinas isoladas, principalmente pela flexibilidade de doses disponíveis, baixo custo e baixa incidência de efeitos adversos (TAFI *et al.*, 2015; ANDRES *et al.*, 2015; BERLANDA *et al.*, 2016; BROWN; FARQUHAR, 2015; FERRERO *et al.*, 2015; DE LEO *et al.*, 2016).

3.4.2 Indução de Pseudo menopausa

3.4.2.1 Agonistas GnRH

Os medicamentos chamados de agonistas do GnRH, representados por leuprolida, triptorelina, toserelina e nafarelina tem como mecanismo de ação a mimetização do efeito do GnRH, sendo utilizados clinicamente entre outras aplicações para a endometriose por causar um estado hipoestrogênico, o que reflete em um estado de pseudo menopausa (BEALE; BLOCK, 2011). Apesar de apresentarem uma diversidade de eventos adversos importantes e terem um custo elevado são considerados como 2ª e por vezes a 3ª linha de tratamento para a endometriose (GEZER; ORAL, 2015; ANDRES *et al.*, 2015; BERLANDA *et al.*, 2016; BROWN; FARQUHAR, 2015; FERRERO *et al.*, 2015). De acordo com o estudo de HOUDA e GRANT (2014) não há superioridade destes medicamentos em relação aos progestágenos no alívio dos sintomas da doença.

3.4.2.2 Danazol

O danazol, um fármaco com fraca atividade androgênica, apresenta como mecanismo de ação a inibição da síntese hepática de estrogênio, além de inibir a liberação de LH e FSH, promovendo um processo de atrofia endometrial (BEALE;

BLOCK, 2011; GODIN; MARCOUX, 2015; TAFI *et al.*, 2015). Este fármaco, por apresentar um perfil de efeitos adversos androgênicos importantes, clinicamente ocupa uma 2ª ou até 3ª linha atual de tratamento para a endometriose (SELAK *et al.*, 2001; GEZER; ORAL, 2015).

3.4.3 Tratamentos alternativos

Outras estratégias atualmente disponíveis como terapia farmacológica tem sido extensivamente estudadas visando dar algum alívio na dor das pacientes com endometriose. Entretanto até o presente momento nenhuma destas escolhas terapêuticas se mostrou superior às já apresentadas.

A utilização de antagonistas do GnRH como o Elagolix, Cetrorelix, Ganirelix, Degarelix e Abarelix, apesar de teoricamente serem capazes de se ligar a receptores de GnRH, inibindo a liberação de gonadotropinas, apresenta uma resposta dose dependente e um perfil de efeitos colaterais desencorajador quando comparados aos protocolos clássicos estabelecidos, incluindo dor de cabeça, náuseas e ansiedade (HUIRNE; LAMBALK, 2001; DIAMOND *et al.*, 2014; DUNSELMAN *et al.*, 2014).

A inibição de etapas chave para a síntese de hormônios esteroidais também foi alvo de estudos, sendo estes os fármacos representados pela classe dos inibidores da aromatase. A proposta teórica é oriunda de estudos que sugerem que há uma expressão inadequada de aromatase em tecidos com implantes endometriais. Assim haveria uma super oferta de estrogênios nestes tecidos, cabendo como medida óbvia a inibição desta enzima chave por substâncias específicas. São exemplares desta classe a testolactona, aminoglutetimida, exemestano, anastrozol e letrozol. Diversos estudos foram realizados (SOYSAL *et al.*, 2004; AILAWADI *et al.*, 2004; ALBORZI *et al.*, 2011), porém devido ao custo elevado, o perfil de efeitos colaterais e o retorno dos sintomas após a finalização do tratamento trazem dúvida quanto a aplicabilidade da sua utilização, sendo recomendados como última escolha (COLETTE; DONNEZ, 2011).

A busca pelo entendimento dos processos inerentes à inflamação tecidual levou pesquisadores a descoberta de altos níveis de mediadores de inflamação tecidual como interleucina 4 e 8 além de fator de necrose tumoral em tecidos

acometidos por endometriose. Este dado corroborou para a proposta de utilizar o infliximab, um anticorpo monoclonal. Apesar do seu potencial terapêutico, até o momento este fármaco não apresentou efeito benéfico sobre a dor na endometriose (KONINCKX *et al.*, 2008).

Outra estratégia farmacológica proposta foi a utilização da pentoxifilina. De acordo com LU e colaboradores (2012) uma revisão realizada em 2009 não demonstrou evidência de benefício de utilização desta substância na melhora de sintomas de subfertilidade e de dor em mulheres com endometriose.

Com todas essas propostas terapêuticas sem êxito considerável tratamentos alternativos surgem como uma última busca de pacientes já refratários aos clássicos tratamentos propostos. Diversos produtos naturais têm sido estudados pelos seus potenciais efeitos pela sua influência positiva nas vias de sinalização dos processos que afetam a endometriose, além das diversas atividades já comprovadas como a ação antiproliferativa, ação antioxidante, anti-inflamatória e analgésica (JEONG *et al.*, 2011; STEPHENS; WHITEHOUSE; POLLEY, 2013; KONG *et al.*, 2014). Dentro desta perspectiva de estudo ressalta-se a utilização de um composto em especial: o resveratrol.

3.4.3.1 Resveratrol

3.4.3.1.1 Aspectos gerais

A busca por estratégias de menor impacto e maior efetividade, além da possibilidade de inclusão em regimes alimentares, vem apresentando cada vez mais um olhar mais detalhado no que se refere à aceitabilidade pela população e ao impacto na saúde das pessoas em especial na endometriose. Diversos são os estudos que apresentam os benefícios de consumo de vegetais, frutas e outros alimentos '*in natura*', por apresentarem diversos fitonutrientes benéficos, se consumidos a longo prazo, como os flavonóides e compostos fenólicos (HALPERN; SCHOR; KOPELMAN, 2015) .

O resveratrol (trans-3,5,4' -trihidroxistilbeno) (figura 5) é um composto de origem natural da classe dos estilbenos - uma fitoalexina produzida em resposta a um processo de stress mecânico ou biológico - com um grande potencial para o tratamento de diversas doenças sendo encontrada em quantidades apreciáveis em diversas fontes naturais. Estima-se que sua concentração possa chegar a 400 microgramas de resveratrol por grama de planta nas folhas, podendo superar essas quantidades nas cascas dos frutos em especial nas cascas de uvas (CUCCIOLLA *et al.*, 2007).

A dificuldade para o registro de propriedade intelectual por parte de empresas e a falta de especificidade do seu mecanismo de ação tem reduzido o interesse mercantil na sua apropriação como um fármaco (CUCCIOLLA *et al.*, 2007), Apesar deste quadro, paradoxalmente, apenas em 2016, mais de 1000 estudos foram realizados trazendo o resveratrol como tema.

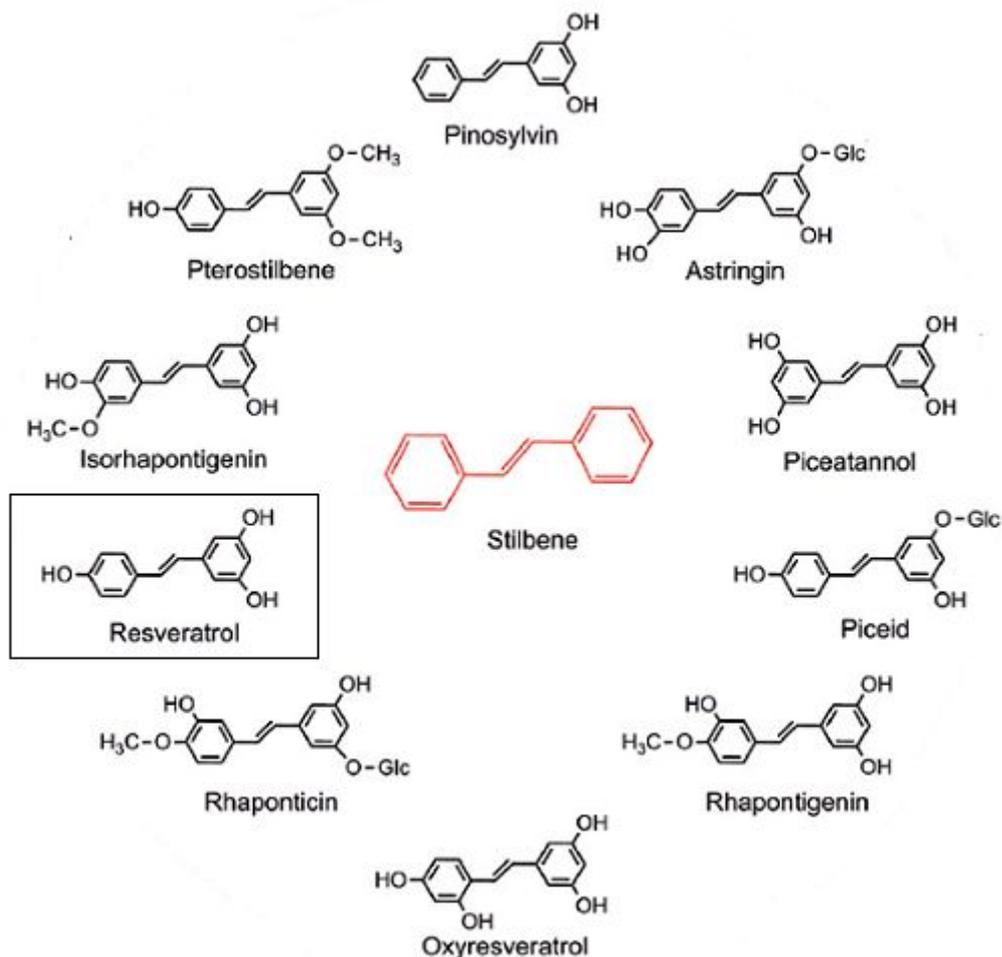


Figura 6 - Estrutura molecular do resveratrol de outros derivados do estilbeno adaptado de ESTRELA e colaboradores (2013)

Um dado importante já ressaltado pelo estudo de VANG (2015) destaca que o resveratrol, normalmente encontrado na natureza dentro de uma matriz complexa junto com outros compostos fenólicos, têm múltiplos alvos de ação, apresentando assim uma grande gama de atividades biológicas já comprovadas. Cabe ressaltar que esta complexidade intrínseca impacta na resposta clínica, devido tanto ao já exposto, como também pela interação de outros compostos com os alvos biológicos e os perfis farmacocinéticos de chegada da substância nos alvos, sua cinética de interação e de depuração dos organismos que são submetidos. Assim sempre que houver um estudo de um composto que se origina de uma matriz complexa, os resultados da análise do produto purificado, seja um fármaco ou um

extrato purificado podem apresentar variações consideráveis em relação ao teoricamente previsto.

3.4.3.1.2 Farmacocinética

Uma revisão sobre a farmacocinética do resveratrol realizada por COTTART e colaboradores (2014) mostra que até a atualidade doses testadas em estudos clínicos variaram entre 73 microgramas até 5 g, com posologias variadas desde 1 vez ao dia até 3 vezes ao dia, tanto na forma pura de trans-resveratrol, como em formas micronizadas e extratos purificados e extratos brutos. Neste contexto a administração ao longo do dia foi variável, podendo ser influenciada pelo ciclo circadiano.

Dados relacionados à absorção indicam que sob regimes de doses baixas (abaixo de 250 mg) o pico de concentração máxima no sangue ($C_{m\acute{a}x}$) fica em cerca de 30 minutos podendo variar para mais (até 2h), quando doses maiores são administradas. A presença de alimentos levou os picos de $C_{m\acute{a}x}$ a valores maiores de 3 horas.

O volume de distribuição, que para doses de 5 g chega a 22000 L tende a cair drasticamente quando doses menores são administradas como é o observado de 750 L com 2g (BOOCOOCK *et al.*, 2007). Sugere-se que devido ao seu caráter lipofílico, o resveratrol pode ser encontrado em quantidades apreciáveis em tecidos com essa característica, quando comparado a outros tecidos (NGUYEN *et al.*, 2009).

Os mecanismos de metabolização do resveratrol envolvem a transformação em um glicuronídeo, em baixas doses, e formação de um sulfonato, em altas doses. Estes sulfonatos continuam a serem encontrados na urina. Dados indicam a formação de outros metabólitos que são encontrados nas fezes, porém potencialmente oriundos da excreção biliar e subsequente metabolismo bacteriano característico no bolo fecal (BURKON; SOMOZA, 2008; COTTART *et al.*, 2010).

3.4.3.1.3 Estudos in vitro

Os estudos em células isoladas ou utilizando tecidos tem sido uma prática muito útil para a busca de novas moléculas potencialmente interessantes no que se refere ao seu potencial terapêutico. O resveratrol tem inúmeros estudos tentando mapear seu perfil de atividades biológicas e mecanismos responsáveis por estas. No que se refere especificamente à endometriose alguns estudos se destacam.

O estudo de VILLANUEVA e colaboradores (2013) demonstrou que o resveratrol tem o potencial de inibir a síntese de colesterol e a expressão de RNA mensageiro que codifica a síntese da hidroximetilglutaril - coenzima A redutase. Como o colesterol é molécula chave para a síntese de membranas celulares possibilitando à essas a fluidez adequada, o impacto na redução desta produção pode ser importante contribuição do resveratrol na terapêutica da endometriose, por dificultar a formação de novos implantes e mesmo o crescimento dos já existentes.

Em 2014, dois estudos apresentaram resultados bem interessantes. O primeiro realizado por TAGUCHI e colaboradores (2014) demonstrou um potencial anti-inflamatório envolvendo a modulação de receptores Sirtuin 1 (SIRT1). A ação inibitória da sirtuin 1 sobre processos inflamatórios pode ser potencializada pelo resveratrol, logo reduzindo potencialmente também a dor. Outro estudo realizado por AMAYA e colaboradores (2014b) contribuiu para o esclarecimento de outro mecanismo de ação do resveratrol por meio de receptores estrogênicos (ERS2). Em altas doses o resveratrol apresentou ação inibitória sobre esses receptores, indicando um potencial terapêutico para essa doença estrogênio-dependente.

Mais recentemente outro estudo realizado por TAGUCHI e colaboradores (2016) demonstrou que o resveratrol também apresenta potencial para o aumento da apoptose, sugerindo um mecanismo de ação adicional para esta molécula.

3.4.3.1.4 Estudos em animais

A busca de moléculas promissoras farmacologicamente passa obrigatoriamente por uma fase de estudos pré-clínicos utilizando uma grande diversidade de modelos animais. No que tange o potencial do resveratrol alguns estudos já foram realizados.

Um estudo relevante realizado em 2011 por BRUNER-TRAN e colaboradores (2011) demonstrou um potencial efeito do resveratrol na redução da invasividade de células estromais tanto em número como em tamanho dos implantes.

Já em 2013 estudos realizados por ERGENOĞLU e colaboradores (2013) e RUDZITIS-AUTH e colaboradores (2013) demonstraram além de uma redução de implantes, redução nos níveis teciduais e plasmáticos de fator de crescimento vascular endotelial, indicando um potencial efeito antiangiogênico.

Outro mecanismo de ação do resveratrol foi explorado pelo estudo de YAVUZ e colaboradores (2014) . Neste trabalho foi evidenciado o potencial antioxidante pelo aumento de enzimas no tecido e no plasma. Já em 2015 estudos realizados por BAYOGLU TEKIN e colaboradores (2015) e OZCAN CENKSOY e colaboradores (2015) demonstraram além da redução do volume dos implantes e do efeito angiogênico uma redução nos níveis de interleucina 6 e 8 e do fator de necrose tecidual alfa.

3.4.3.1.5 Estudos Clínicos

A gama de estudos clínicos realizadas tendo como protagonista o resveratrol é muito ampla, tendo iniciado por trabalhos que buscavam a confirmação da teoria do paradoxo francês (NGUYEN *et al.*, 2017). Uma busca na plataforma 'Clinical trials.gov' apresentou cerca 118 estudos clínicos registrados com resveratrol".

Apesar deste quadro promissor, poucos estudos focaram o problema de pacientes com endometriose. Um estudo realizado por MAIA e colaboradores (2012) demonstrou um potencial interessante da associação resveratrol 30mg + contraceptivos orais no manejo da dor de pacientes com endometriose. Uma análise mais criteriosa porém demonstrou algumas fragilidades metodológicas como o não cegamento e a escala de dor subjetiva..

Assim a falta de estudos clínicos focados na endometriose, bem como o grande potencial já demonstrado na literatura possibilitou criar um novo estudo clínico, alvo desta tese.

A pergunta formulada é: 40 mg de resveratrol diários associados com um anticoncepcional oral (150µg de levonorgestrel + 30 µg de etinilestradiol - Microvlar[®]) é superior placebo associado a anticoncepcional oral (150µg de levonorgestrel + 30 µg de etinilestradiol - Microvlar[®]) na redução da dor em pacientes com endometriose quando utilizado por dois ciclos de 21 dias?

JUSTIFICATIVA

A redução da dor em pacientes com endometriose é um aspecto importante para a qualidade de vida dessas mulheres. O uso de uma medicação com poucos efeitos colaterais e a falta de ensaios clínicos de qualidade justificam a realização do presente estudo. Neste sentido optou-se por uma dose 33% maior de resveratrol associada a um anticoncepcional oral disponível na rede básica de saúde

HIPÓTESES

$$H_0: \text{ACOresv} = \text{ACOplac}$$

A média de dor das usuárias de anticoncepcional oral (ACO) com 40 mg de resveratrol não é diferente das usuárias de ACO com placebo.

$$H_a: \text{ACOresv} \neq \text{ACOplac}$$

A média de dor nas usuárias de ACO com 40 mg de resveratrol é diferente das usuárias de ACO com placebo.

Variáveis

1. grupo de tratamento de ACO com resveratrol
2. grupo de tratamento de ACO com placebo
3. Escala de dor análogo visual
4. Níveis de CA-125 (UI/L) no dia 0 e no dia 42.
5. Níveis de prolactina (ng/mL) no dia 0 e no dia 42.

OBJETIVOS

Principal

Verificar se o uso de 40 mg de resveratrol ao dia associado à pílula anticoncepcional oral (Microvlar®) reduz a dor pélvica no final de 2 meses de tratamento, quando comparado com o uso de Microvlar® com placebo.

Secundários

Verificar os níveis de prolactina no dia 0 e no dia 42 do tratamento

Verificar os níveis de CA-125 no dia 0 e no dia 42 do tratamento

Verificar os efeitos colaterais relatados no dia 7, 21 e 42.

REFERÊNCIAS

AILAWADI, R. K. *et al.* Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. **Fertility and sterility**, fev. 2004. v. 81, n. 2, p. 290–296.

ALBORZI, S. *et al.* A comparison of the effect of short-term aromatase inhibitor (letrozole) and GnRH agonist (triptorelin) versus case control on pregnancy rate and symptom and sign recurrence after laparoscopic treatment of endometriosis. **Archives of gynecology and obstetrics**, jul. 2011. v. 284, n. 1, p. 105–110.

ALLEN, C. *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. **Reviews**. [S.l.]: [s.n.], 2009.

ALMEIDA, L. *et al.* Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. **Molecular nutrition & food research**, 2009. v. 53, n. S1, p. S7–S15.

AMAYA, S. C. *et al.* Resveratrol and Endometrium: A Closer Look at an Active Ingredient of Red Wine Using In Vivo and In Vitro Models. **Reproductive sciences** , 2014a. v. 21, n. 11, p. 1362–1369.

_____ *et al.* Resveratrol and Endometrium: A Closer Look at an Active Ingredient of Red Wine Using In Vivo and In Vitro Models. **Reproductive sciences** , 2014b. v. 21, n. 11, p. 1362–1369.

ANDRES, M. De P. *et al.* Dienogest in the treatment of endometriosis: systematic review. **Archives of gynecology and obstetrics**, set. 2015. v. 292, n. 3, p. 523–529.

BAYOGLU TEKIN, Y. *et al.* Is resveratrol a potential substitute for leuprolide acetate in experimental endometriosis? **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, jan. 2015. v. 184, p. 1–6.

BEALE, J. M.; BLOCK, J. H. **Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**. [S.l.]: Wolters Kluwer Health, 2011.

BENAGIANO, G.; GIUSEPPE, B.; IVO, B. Who identified endometriosis? **Fertility and sterility**, 2011. v. 95, n. 1, p. 13–16.

BERLANDA, N. *et al.* Safety of medical treatments for endometriosis. **Expert opinion on drug safety**, jan. 2016. v. 15, n. 1, p. 21–30.

BILIBIO, J. P.; CUNHA-FILHO, J. S. L. Serum Prolactin and CA-125 Levels as Biomarkers of Peritoneal Endometriosis. **Gynecologic and obstetric investigation**,

20 nov. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1159/000441790>>.

BOOCOCK, D. J. *et al.* Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology**, jun. 2007. v. 16, n. 6, p. 1246–1252.

BOZDAG, G.; GURKAN, B. Recurrence of endometriosis: risk factors, mechanisms and biomarkers. **Women's health**, 2015. v. 11, n. 5, p. 693–699.

BRAWN, J. *et al.* Central changes associated with chronic pelvic pain and endometriosis. **Human reproduction update**, 2014. v. 20, n. 5, p. 737–747.

BROSENS, I.; IVO, B.; GIUSEPPE, B. Is neonatal uterine bleeding involved in the pathogenesis of endometriosis as a source of stem cells? **Fertility and sterility**, 2013. v. 100, n. 3, p. 622–623.

BROWN, J. *et al.* Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews. **Protocols**. [S.l.]: [s.n.], 2012.

_____; FARQUHAR, C. An overview of treatments for endometriosis. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, 20 jan. 2015. v. 313, n. 3, p. 296–297.

_____; JULIE, B.; CINDY, F. Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews. **Reviews**. [S.l.]: [s.n.], 2014.

BRUNER-TRAN, K. L. *et al.* Resveratrol inhibits development of experimental endometriosis in vivo and reduces endometrial stromal cell invasiveness in vitro. **Biology of reproduction**, jan. 2011. v. 84, n. 1, p. 106–112.

BUCK LOUIS, G. M. *et al.* Bisphenol A and phthalates and endometriosis: the Endometriosis: Natural History, Diagnosis and Outcomes Study. **Fertility and sterility**, jul. 2013. v. 100, n. 1, p. 162–9.e1–2.

BULUN, S. E. *et al.* Estrogen Production and Metabolism in Endometriosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 2002. v. 955, n. 1, p. 75–85.

_____ *et al.* Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. **Molecular and cellular endocrinology**, 27 mar. 2006. v. 248, n. 1-2, p. 94–103.

_____ *et al.* Estrogen receptor-beta, estrogen receptor-alpha, and progesterone resistance in endometriosis. **Seminars in reproductive medicine**, jan. 2010. v. 28, n. 1, p. 36–43.

BURKON, A.; SOMOZA, V. Quantification of free and protein-bound trans-resveratrol metabolites and identification of trans-resveratrol-C/O-conjugated diglucuronides - two novel resveratrol metabolites in human plasma. **Molecular**

nutrition & food research, maio. 2008. v. 52, n. 5, p. 549–557.

BURNEY, R. O. *et al.* Gene Expression Analysis of Endometrium Reveals Progesterone Resistance and Candidate Susceptibility Genes in Women with Endometriosis. **Endocrinology**, 2007. v. 148, n. 8, p. 3814–3826.

COLETTE, S.; DONNEZ, J. Are aromatase inhibitors effective in endometriosis treatment? **Expert opinion on investigational drugs**, jul. 2011. v. 20, n. 7, p. 917–931.

COTTART, C.-H. *et al.* Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. **Molecular nutrition & food research**, jan. 2010. v. 54, n. 1, p. 7–16.

_____; NIVET-ANTOINE, V.; BEAUDEUX, J.-L. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. **Molecular nutrition & food research**, jan. 2014. v. 58, n. 1, p. 7–21.

CUCCIOLLA, V. *et al.* Resveratrol: from basic science to the clinic. **Cell cycle**, 15 out. 2007. v. 6, n. 20, p. 2495–2510.

DE LEO, V. *et al.* Hormonal contraceptives: pharmacology tailored to women's health. **Human reproduction update**, set. 2016. v. 22, n. 5, p. 634–646.

DEROUICH, S. *et al.* Medical treatment of endometriosis. **La Tunisie medicale**, jul. 2015. v. 93, n. 7, p. 407–412.

DESAI, S. **Endometriosis - ECAB**. [S.l.]: Elsevier Health Sciences, 2012.

DIAMOND, M. P. *et al.* Elagolix treatment for endometriosis-associated pain: results from a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Reproductive sciences**, mar. 2014. v. 21, n. 3, p. 363–371.

DUNSELMAN, G. A. J. *et al.* ESHRE guideline: management of women with endometriosis. **Human reproduction**, mar. 2014. v. 29, n. 3, p. 400–412.

ERGENOĞLU, A. M. *et al.* Regression of endometrial implants by resveratrol in an experimentally induced endometriosis model in rats. **Reproductive sciences**, out. 2013. v. 20, n. 10, p. 1230–1236.

ESTRELA, J. M. *et al.* Pterostilbene: Biomedical applications. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, maio. 2013. v. 50, n. 3, p. 65–78.

EVANS, S. *et al.* Pain and endometriosis. **Pain**, 2007. v. 132, p. S22–S25.

FARKHAT, K. N. *et al.* The role of stem cells in the pathogenesis of endometriosis (a review). **Problemy reproduktsii**, 2016. v. 22, n. 1, p. 20.

FASSBENDER, A. *et al.* Update on Biomarkers for the Detection of Endometriosis. **BioMed research international**, 9 jul. 2015. v. 2015. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/130854/>>. Acesso em: 31 jul. 2016.

FAZLEABAS, A. T. *et al.* Steroid receptor and aromatase expression in baboon endometriotic lesions. **Fertility and sterility**, set. 2003. v. 80 Suppl 2, p. 820–827.

FERRERO, S. *et al.* Treatment of pain associated with deep endometriosis: alternatives and evidence. **Fertility and sterility**, out. 2015. v. 104, n. 4, p. 771–792.

FIGUEIRA, P. G. M. *et al.* Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 2011. v. 1221, n. 1, p. 10–17.

GARGETT, C. E. *et al.* Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early-onset endometriosis. **Molecular human reproduction**, jul. 2014. v. 20, n. 7, p. 591–598.

GEZER, A.; ORAL, E. Progestin therapy in endometriosis. **Women's health**, ago. 2015. v. 11, n. 5, p. 643–652.

GIUDICE, L. C.; EVERS, J. L. H.; HEALY, D. L. **Endometriosis: Science and Practice**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2012.

GIULIANI, M. *et al.* Quality of life and sexual satisfaction in women suffering from endometriosis: An Italian preliminary study. **Sexologies**, 2016. v. 25, n. 1, p. e12–e19.

GODIN, R.; MARCOUX, V. Vaginally Administered Danazol: An Overlooked Option in the Treatment of Rectovaginal Endometriosis? **Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada: JOGC**, dez. 2015. v. 37, n. 12, p. 1098–1103.

GUPTA, D. *et al.* Endometrial biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews**, 20 abr. 2016. v. 4, p. CD012165.

HALPERN, G.; SCHOR, E.; KOPELMAN, A. Nutritional aspects related to endometriosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, nov. 2015. v. 61, n. 6, p. 519–523.

HARADA, T. **Endometriosis: Pathogenesis and Treatment**. [S.l.]: Springer, 2014.

HONDA, R.; RITSUO, H.; HIDETAKA, K. Pathological Aspect and Pathogenesis of Endometriosis. **Endometriosis**. [S.l.]: [s.n.], 2014, p. 9–18.

HOUDA, M. R.; GRANT, N. H. Gonadotrophin antagonists for pain associated with endometriosis. **Protocols**. [S.l.]: [s.n.], 2014.

HUIRNE, J. A. F.; LAMBALK, C. B. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. **The Lancet**, nov. 2001. v. 358, n. 9295, p. 1793–1803.

HWANG, J.-T. *et al.* Resveratrol induces apoptosis in chemoresistant cancer cells via modulation of AMPK signaling pathway. **Annals of the New York Academy of**

Sciences, jan. 2007. v. 1095, p. 441–448.

IGARASHI, T. M. *et al.* Reduced expression of progesterone receptor-B in the endometrium of women with endometriosis and in cocultures of endometrial cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **Fertility and sterility**, jul. 2005. v. 84, n. 1, p. 67–74.

JANSSEN, E. B. *et al.* Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. **Human reproduction update**, 2013a. v. 19, n. 5, p. 570–582.

_____ *et al.* Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. **Human reproduction update**, 2013b. v. 19, n. 5, p. 570–582.

JEONG, S.-J. *et al.* Antiangiogenic phytochemicals and medicinal herbs. **Phytotherapy research: PTR**, jan. 2011. v. 25, n. 1, p. 1–10.

JIANG, H. *et al.* Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. **Journal of experimental therapeutics & oncology**, 2009. v. 8, n. 1, p. 25–33.

JOHNSON, N. P.; HUMMELSHOJ, L.; WORLD ENDOMETRIOSIS SOCIETY MONTPELLIER CONSORTIUM. Consensus on current management of endometriosis. **Human reproduction**, jun. 2013. v. 28, n. 6, p. 1552–1568.

KINGHORN, A. D. *et al.* Natural inhibitors of carcinogenesis. **Planta medica**, ago. 2004. v. 70, n. 8, p. 691–705.

KONG, S. *et al.* The complementary and alternative medicine for endometriosis: a review of utilization and mechanism. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**, 19 fev. 2014. v. 2014, p. 146383.

KONINCKX, P. R. *et al.* Anti-TNF-alpha treatment for deep endometriosis-associated pain: a randomized placebo-controlled trial. **Human reproduction**, set. 2008. v. 23, n. 9, p. 2017–2023.

LANGAN, K. L. *et al.* Endometriosis: translation of molecular insights to management. **Minerva endocrinológica**, set. 2014. v. 39, n. 3, p. 141–154.

LESSEY, B. A. *et al.* Estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and defects in uterine receptivity in women. **Reproductive biology and endocrinology: RB&E**, 2006. v. 4 Suppl 1, p. S9.

LINDSAY, S. F.; LUCIANO, D. E.; LUCIANO, A. A. Emerging therapy for endometriosis. **Expert opinion on emerging drugs**, set. 2015. v. 20, n. 3, p. 449–461.

LIU, E. *et al.* Urinary biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews**, 23 dez. 2015. v. 12, p. CD012019.

LU, D. *et al.* Pentoxifylline for endometriosis. **Cochrane database of systematic reviews** , 18 jan. 2012. v. 1, p. CD007677.

MAIA, H., Jr *et al.* Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain. **International journal of women's health**, 10 out. 2012. v. 4, p. 543–549.

MARUYAMA, T.; YOSHIMURA, Y. Stem cell theory for the pathogenesis of endometriosis. **Frontiers in bioscience** , 1 jun. 2012. v. 4, p. 2854–2863.

MEDINA-RAMOS, N. *et al.* Dispareunia y coitorragia como manifestaciones de un foco de endometriosis vaginal. **Progresos de Obstetricia y Ginecología**, 2006. v. 49, n. 2, p. 89–92.

MOROTTI, M.; VINCENT, K.; BECKER, C. M. Mechanisms of pain in endometriosis. **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, 3 ago. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.07.497>>.

NAP, A. W. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. **Science and Practice**. [S.l.]: [s.n.], 2012, p. 42–53.

NGUYEN, A. V. *et al.* Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. **Cancer management and research**, 3 abr. 2009. v. 1, p. 25–37.

NGUYEN, C. *et al.* Resveratrol, Potential Therapeutic Interest in Joint Disorders: A Critical Narrative Review. **Nutrients**, 6 jan. 2017. v. 9, n. 1. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/nu9010045>>.

NISENBLAT, V. *et al.* Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. **Reviews**. [S.l.]: [s.n.], 2016.

O, D. F. *et al.* The Presence of Endometrial Cells in Peritoneal Fluid of Women With and Without Endometriosis. **Reproductive sciences** , 20 jun. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/1933719116653677>>.

OZCAN CENKSOY, P. *et al.* A potential novel treatment strategy: inhibition of angiogenesis and inflammation by resveratrol for regression of endometriosis in an experimental rat model. **Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology**, mar. 2015. v. 31, n. 3, p. 219–224.

PARKIN, K. L.; FAZLEABAS, A. T. Uterine Leukocyte Function and Dysfunction: A Hypothesis on the Impact of Endometriosis. **American journal of reproductive immunology** , 19 jan. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/aji.12487>>.

Peritoneal Endometriosis, Due to the Menstrual Dissemination of Endometrial Tissue into the Peritoneal Cavity. **American journal of obstetrics and gynecology**, 1928. v. 15, n. 1, p. 101–110.

PRACTICE COMMITTEE OF AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis. **Fertility and sterility**, nov. 2008. v. 90, n. 5 Suppl, p. S260–9.

PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion. **Fertility and sterility**, abr. 2014. v. 101, n. 4, p. 927–935.

QUAAS, A. M.; WEEDIN, E. A.; HANSEN, K. R. On-label and off-label drug use in the treatment of endometriosis. **Fertility and sterility**, mar. 2015. v. 103, n. 3, p. 612–625.

RICCI, A. G. *et al.* Natural therapies assessment for the treatment of endometriosis. **Human reproduction**, jan. 2013. v. 28, n. 1, p. 178–188.

ROGERS, P. A. W. *et al.* Defining future directions for endometriosis research: workshop report from the 2011 World Congress of Endometriosis In Montpellier, France. **Reproductive sciences**, maio. 2013. v. 20, n. 5, p. 483–499.

ROLLA, E.; EDGARDO, R. **Faculty of 1000 evaluation for Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews. F1000 - Post-publication peer review of the biomedical literature.** Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3410/f.718304612.793492466>>.

RUDZITIS-AUTH, J.; MENGER, M. D.; LASCHKE, M. W. Resveratrol is a potent inhibitor of vascularization and cell proliferation in experimental endometriosis. **Human reproduction**, maio. 2013. v. 28, n. 5, p. 1339–1347.

SAMPSON, J. A. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. **American journal of obstetrics and gynecology**, 1927. v. 14, n. 4, p. 422–469.

SELAK, V. *et al.* Danazol for pelvic pain associated with endometriosis. **Reviews**. [S.l.]: [s.n.], 2001.

SINGH, M. *et al.* Resveratrol modulates the expression of PTGS2 and cellular proliferation in the normal rat endometrium in an AKT-dependent manner. **Biology of reproduction**, maio. 2011. v. 84, n. 5, p. 1045–1052.

SOURIAL, S.; TEMPEST, N.; HAPANGAMA, D. K. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. **International Journal of Reproductive Medicine**, 12 fev. 2014. v. 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijrmed/2014/179515/>>. Acesso em: 28 jul. 2016.

SOYSAL, S. *et al.* The effects of post-surgical administration of goserelin plus anastrozole compared to goserelin alone in patients with severe endometriosis: a prospective randomized trial. **Human reproduction**, jan. 2004. v. 19, n. 1, p. 160–167.

STEPHENS, L.; WHITEHOUSE, J.; POLLEY, M. Western herbal medicine,

epigenetics, and endometriosis. **Journal of alternative and complementary medicine** , nov. 2013. v. 19, n. 11, p. 853–859.

SUN, C. *et al.* Resveratrol downregulates the constitutive activation of nuclear factor- κ B in multiple myeloma cells, leading to suppression of proliferation and invasion, arrest of cell cycle, and induction of apoptosis. **Cancer genetics and cytogenetics**, fev. 2006. v. 165, n. 1, p. 9–19.

SUTTON, C.; DAVID ADAMSON, G.; JONES, K. D. **Modern Management of Endometriosis**. [S.I.]: CRC Press, 2005.

TAFI, E. *et al.* Advances in pharmacotherapy for treating endometriosis. **Expert opinion on pharmacotherapy**, 7 set. 2015. v. 16, n. 16, p. 2465–2483.

TAGUCHI, A. *et al.* Resveratrol suppresses inflammatory responses in endometrial stromal cells derived from endometriosis: a possible role of the sirtuin 1 pathway. **The journal of obstetrics and gynaecology research**, mar. 2014. v. 40, n. 3, p. 770–778.

_____ *et al.* Resveratrol Enhances Apoptosis in Endometriotic Stromal Cells. **American journal of reproductive immunology** , abr. 2016. v. 75, n. 4, p. 486–492.

TSAI, E.-M.; EING-MEI, T. Stem Cell as the Novel Pathogenesis of Endometriosis. **Endometriosis - Basic Concepts and Current Research Trends**. [S.I.]: [s.n.], 2012.

URAL, U. M. *et al.* Serum YKL-40 levels as a novel marker of inflammation in patients with endometriosis. **Clinical and experimental obstetrics & gynecology**, 2015. v. 42, n. 4, p. 495–497.

VANAMALA, J. *et al.* Resveratrol suppresses human colon cancer cell proliferation and induces apoptosis via targeting the pentose phosphate and the talin-FAK signaling pathways-A proteomic approach. **Proteome science**, 17 ago. 2011. v. 9, n. 1, p. 49.

VANG, O. Resveratrol: challenges in analyzing its biological effects. **Annals of the New York Academy of Sciences**, ago. 2015. v. 1348, n. 1, p. 161–170.

VIGANO, P.; P, V. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. **Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology**, 2004. v. 18, n. 2, p. 177–200.

VILLANUEVA, J. A. *et al.* Resveratrol potentiates effect of simvastatin on inhibition of mevalonate pathway in human endometrial stromal cells. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, mar. 2013. v. 98, n. 3, p. E455–62.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Health Statistics 2014**. [S.I.]: Ice Press, 2015.

YAVUZ, S. *et al.* Resveratrol successfully treats experimental endometriosis through

modulation of oxidative stress and lipid peroxidation. **Journal of cancer research and therapeutics**, abr. 2014. v. 10, n. 2, p. 324–329.

YOUNG, S.; STEVEN, Y.; BRUCE, L. Progesterone Function in Human Endometrium: Clinical Perspectives. **Seminars in reproductive medicine**, 2010. v. 28, n. 01, p. 005–016.

ZUBRZYCKA, A. *et al.* New Horizons in the Etiopathogenesis and Non-Invasive Diagnosis of Endometriosis. **Current molecular medicine**, 2015. v. 15, n. 8, p. 697–713.

ARTIGO PUBLICADO

The Use of Resveratrol as an Adjuvant Treatment of Pain in Endometriosis: A Randomized Clinical Trial

Daniel Mendes da Silva,¹ Luiza Azevedo Gross,² Ernesto de Paula Guedes Neto,³ Bruce A. Lessey,⁴ and Ricardo Francalacci Savaris^{1,2}

¹Postgraduate Program in Health Science: Gynecology and Obstetrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90035-903; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90035-903; ³Clínica Mulher, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90570-060; and ⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Greenville Health System, Greenville, South Carolina

Context: Resveratrol has been used for the treatment of endometriosis.

Objective: To compare resveratrol (40 mg/d) with monophasic contraceptive pill (COC) to COC with placebo for the reduction of pain scores.

Design: A randomized clinical trial.

Setting: University Hospital.

Patients: Women (ages 20 to 50) with laparoscopic diagnosis of endometriosis were eligible for the study. Exclusion criteria: pregnancy, allergy to resveratrol, or contraindications to COC, use of agonists of gonadotropin release hormone or danazol in the last month, or had used depot medroxyprogesterone acetate or Mirena®.

Intervention: Subjects were randomized using a computer-generated randomization list to receive COC for 42 days to be taken with identical capsules containing 40 mg of resveratrol or placebo in coded bottles (1:1 ratio). Allocation was concealed in coded, sequenced, opaque-sealed envelopes.

Main Outcome: Median pain scores measured with a visual analog scale on day 42.

Results: Between 18 June and 6 November 2015, 44 subjects were enrolled. Mean [95% confidence interval (CI)] pain scores on day 0 were 5.4 (4.2 to 6.6) in the placebo group and 5.7 (4.8 to 6.6) in resveratrol groups. After treatment, pain values were [3.9 (2.2 to 5); n = 22] and [3.2 (2.1 to 4.3); n = 22] in the placebo and resveratrol groups, respectively ($P = 0.7$; Mann-Whitney U test). Median (95% CI) difference between groups was 0.75 (−1.6 to 2.3).

Conclusion: Resveratrol is not superior to placebo for treatment of pain in endometriosis.

Copyright © 2017 Endocrine Society

This article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License (CC BY-NC-ND; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Freeform/Key Words: endometriosis, pain, resveratrol

Endometriosis, defined as the presence of endometrial glands and stroma outside the uterine cavity, affects 176 million women worldwide [1], and it is present in up to 60% of adolescent women with chronic pelvic pain or dysmenorrhea [2]. Increased endometrial proliferation and

Abbreviations: CI, confidence interval; COC, monophasic oral contraceptive; GEE, generalized estimating equation; ITT, intention to treat; PP, per protocol; RM-2 Way ANOVA, repeated-measures, two-way analysis of variance; VAS, visual analog scale.

Received 13 January 2017
Accepted 10 March 2017
First Published Online 15 March 2017

April 2017 | Vol. 1, Iss. 4
doi: 10.1210/js.2017-00053 | Journal of the Endocrine Society | 359–369

estrogen responsiveness are hallmarks of endometriosis [2–4]. The eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis have an increased expression of estrogen receptors (ESR1) [1, 5], thought to be due to a defect in the action of progesterone, (progesterone resistance) [4, 6], or by an excessive production of estrogen [7–9]. Estrogen receptor beta expression (ESR2) is also increased in the endometrium of women with endometriosis [10, 11]. Given these changes, endometriosis is considered a predominantly estrogen-dependent disease, and therefore hormonal suppression might be an attractive medical approach to treat this disease and its symptoms [12].

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) is a natural phytoestrogen synthesized by plants, such as dark grapes and blueberries, after exposure to UV radiation. Side effects with the use of resveratrol are mild, mainly related to headache and somnolence [13, 14]; the use of resveratrol has been suggested to treat endometriosis, due to its antiproliferative action on endometriotic implants in *in vitro* and animal models [15–17].

The mechanism of action for resveratrol in the treatment of endometriosis is not obvious but likely reflects changes in estrogen responsiveness. Resveratrol binds to the estrogen receptors (ESR1 and ESR2) [18] and can act as an agonist or antagonist, depending on the clinical context [19]. In breast cancer cells, for example, resveratrol acts as an agonist by binding to ESR1 [19]. We have previously shown that resveratrol acts as an antagonist in an animal model of endometriosis [20]. As resveratrol has a much higher affinity for ESR2, compared with ESR1 [21], and because ESR2 is dramatically overexpressed in endometriosis [22], this preferential binding of resveratrol to ESR2 may explain the observed antagonist effect on ESR1 by resveratrol, blocking the ability of estrogen to induce its own receptor. We previously showed that ESR1 is reduced by resveratrol in the mouse xenograft model [20].

In women with endometriosis, resveratrol, with drospirenone 3 mg and ethinyl estradiol 30 µg, was previously investigated in a small nonrandomized, open-label trial [23]. These researchers demonstrated that pain scores were significantly reduced by resveratrol compared with drospirenone 3 mg and ethinyl estradiol 30 µg alone [23]. The ESHRE guidelines do not support the use of nutritional supplements in the treatment of endometriosis, because the potential benefits and/or harms have not been demonstrated [12]. Therefore, the primary objective of this study was to verify whether the use of a monophasic contraceptive pill (COC) plus 40 mg per day of resveratrol was superior to placebo to reduce pain values in patients with endometriosis using a randomized, double-blind, placebo-controlled study design. As a secondary objective, we compared: (1) the use of medication for pain, (2) plasma levels of carcinoembryonic antigen (CA-125) and prolactin before and after treatment as biomarkers for follow-up of endometriosis treatment [6, 24, 25], (3) side effects observed in the trial, and (4) reduction of pain levels in each treatment arm compared with pain level at the initial visit.

1. Material and Methods

A. Trial Design

This study was designed as a parallel, double-blind, randomized, placebo-controlled trial with a 1:1 ratio.

B. Participants

Women between the ages of 20 and 50 with laparoscopic-proven diagnosis of endometriosis were eligible for the study. Subjects were excluded if they were pregnant, had known allergy to resveratrol or contraindications to monophasic contraceptive pills, according to World Health Organization eligibility criteria [26], or used GnRH agonists or danazol in the last month. The use of medroxyprogesterone acetate depot in the last 12 weeks and current use of Mirena® were added as ineligibility criteria after the trial started because both could

introduce bias in the reporting of pain scores. Pregnancy was also an exclusion criteria because it is a contraindication for the use of COCs.

The trial took place at the Clinical Research Center of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil, between 18 June and 6 November 2015.

C. Intervention

At the first consultation (day 1), pregnancy was ruled out with a negative urinary pregnancy test. After a standard questionnaire, subjects were randomized to receive the first part of the treatment: one pack of COC (levonorgestrel 0.15 mg/ethinyl estradiol 0.03 mg) to be taken daily for 21 days without pause and a coded bottle that contained 21 identical capsules of either 40 mg of resveratrol or placebo. Capsules were prepared by a local pharmacy. Patients started both medications (contraceptive pill and a capsule) on day 1. They were instructed to record any side effects and to use analgesics as needed. Specific analgesics were prescribed, and subjects were instructed to use them in the following order: dipyron 500 mg up to 6/6 hours, ibuprofen 600 mg up to 8/8 hours, and codeine 30 mg up to 6/6 hours. Subjects were also instructed to report the use of any other medication and to return on day 21 and again on day 42 of treatment. Seven days after the first consultation, patients were contacted by telephone to determine if they had any early complications of therapy and to provide initial pain scores. On day 21, patients returned to receive the second installment of the treatment. On day 42, patients returned for the final visit. Compliance was verified by the presence of empty packs of contraceptive pills and the capsules in the coded bottle on days 21 and 42.

D. Outcomes: Primary Outcome Measures

Pain was assessed using a visual analog scale (VAS) scale as previously described [27] and was the primary outcome. VAS is the most commonly used instrument for the assessment of pain in endometriosis [28]. Briefly, a standard question was read by one of the investigators, and a 10-cm slide ruler, marked at regular intervals in millimeters, was presented to the patient. A scale of 0 to 10 was printed on the back of the ruler, facing the investigator, and a pain intensity drawing without numbers was facing the patient. Subjects were asked to move the slide somewhere along the scale to describe their average pain in the last 7 days. Pain scale varied from 0 (no pain) to 10 (worst imaginable pain). The pain scores were evaluated on days 1, 7, 21, and 42, using the same standard question. The follow-up period of 42 days was based on two consecutive cycles of COCs. Reduction of levels of pain caused by endometriosis has been observed after the first month of treatment by many authors using different hormonal treatments [29–34].

E. Secondary Outcome Measures

Serum levels of CA-125 and prolactin were measured by enzyme-linked immunosorbent assay at a local endocrine laboratory using electrochemiluminescence immunoassay (Elecsys 2010, Modular Analytics E170, Roche Diagnostic GmbH, D-68305, Indianapolis, IN), with a sensitivity of 0.6 U/mL and 0.047 ng/mL for CA-125 and prolactin, respectively. Repeatability and intermedia precision in both methods were <2 for CA-125 and prolactin, respectively. Serum levels were measured on days 1 and 42.

The use of analgesics and side effects of COCs plus placebo or resveratrol were compared in both groups after entering the trial.

Reduction of pain after 7, 21, and 42 days was compared with baseline pain scores in each group.

F. Sample Size

A sample size was calculated for a superiority trial of resveratrol over placebo for a final difference of pain score between groups, based on data derived from Maia *et al.* [23]. A sample size of at least 21 patients per arm would be necessary to have a 90% chance of detecting, as significant

at the 1% level, a decrease in the median pain levels from 5 in the placebo group to a median pain level of 2 in the resveratrol group, after 42 days of treatment. A standard deviation of 2.5 was obtained from a pilot study with 10 cases. Due to the nature of resveratrol, a nutritional supplement available as an over-the-counter drug, no stopping guidelines were established.

G. Randomization Sequence Generation

Participants were randomly assigned to resveratrol (treatment A) or placebo (treatment B) according to a computer-generated randomization list (www.randomization.com). Subjects were allocated in blocks of four, as suggested in the literature [35].

H. Allocation Concealment Mechanism

Allocation sequence was concealed using coded, numerically sequenced, opaque-sealed envelopes, which were opened after patients were included in the study. Two investigators, blinded to treatments, were responsible for assignment, enrollment, and follow-up of the subjects.

I. Statistical Methods

Normal distribution of data was verified with a Kolmogorov-Smirnov normality test. If normal distribution was not present, data were transformed into a logarithmic scale for CA-125 and prolactin levels. Direct comparison between pain scores in both groups at day 1 and day 42 was performed using a Mann-Whitney *U* test and unpaired *t* test with Welch's correction, according to data distribution. Data on CA-125 and prolactin were analyzed using repeated-measures, two-way analysis of variance (RM-2 Way ANOVA), because we compared the effect of resveratrol and placebo on the plasma concentration of CA-125 and prolactin on days 1 and 42.

Generalized estimating equations (GEEs) were used for further statistical analysis, having the patients as the subject variable, time (visits), as within-subject variable, pain scores (VAS) as the dependent variable, treatment type (placebo or resveratrol), use of medication for pain (yes/no), and time were the factors analyzed (visits on days 0, 7, 21, and 42). The analysis used a linear-scale response for pain score and a factorial model analysis for the analyzed factors. A maximum-likelihood estimate, where estimates and standard errors are based on the likelihood function given the observed data, was used in the analysis, as suggested in the literature [36]; correction for multiple comparisons was made using a Bonferroni test. GEE is recommended for missing data in clinical trials, because calculation with missing data is considered in the GEE algorithm.

Sensitivity analysis was performed on data with missing values, *i.e.*, intention to treat (ITT), and compared with data without missing values [per protocol (PP)]. In PP analysis, only patients who complied with trial protocol were considered in the analysis. In ITT analysis, patients who were lost on follow-up had their last registry on pain values or plasma level measurements repeated in the follow-up consultation. If no systematic differences were observed between participants with complete data and those with missing information, data were considered to be missing at random. Data were analyzed using GraphPad Prism 6.0 for Mac (GraphPad Software, La Jolla, CA) and SPSS version 23 for Mac (IBM Software Group, Chicago, IL).

J. Ethical Issues

This study was approved by the Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (no. 14-626) and was registered at ClinicalTrials.gov (no. NCT02475564).

2. Results

A. Participants

Two hundred and forty-three women with diagnosis of endometriosis were screened for acceptance into the study between 18 June and 6 November 2015. Of these, 199 were excluded

for not meeting the inclusion criteria. Forty-four subjects were randomly assigned to one of the two treatment regimens. Forty-three women received treatment as allocated. Five women were removed from the PP analysis. One discontinued the study after signing the informed consent, one was removed from the study for intense abnormal uterine bleeding that stopped after medical intervention, and three were lost to follow-up (Fig. 1).

For each group, 22 subjects were analyzed as ITT. Outcomes PP were analyzed in 21 and 18 subjects in the resveratrol and placebo arms, respectively.

Baseline data of the studied population are depicted in Table 1.

B. Primary Outcome: Pain Score

After 7 days of treatment, pain scores were significantly reduced in the resveratrol group, compared with the placebo group. After 42 days of treatment, however, no difference was observed in pain scores between treatment groups. The median difference between groups was 0.75 [95% confidence interval (CI): -1.6 to 2.3; Table 2; ITT results; $P = 0.7$, Mann-Whitney

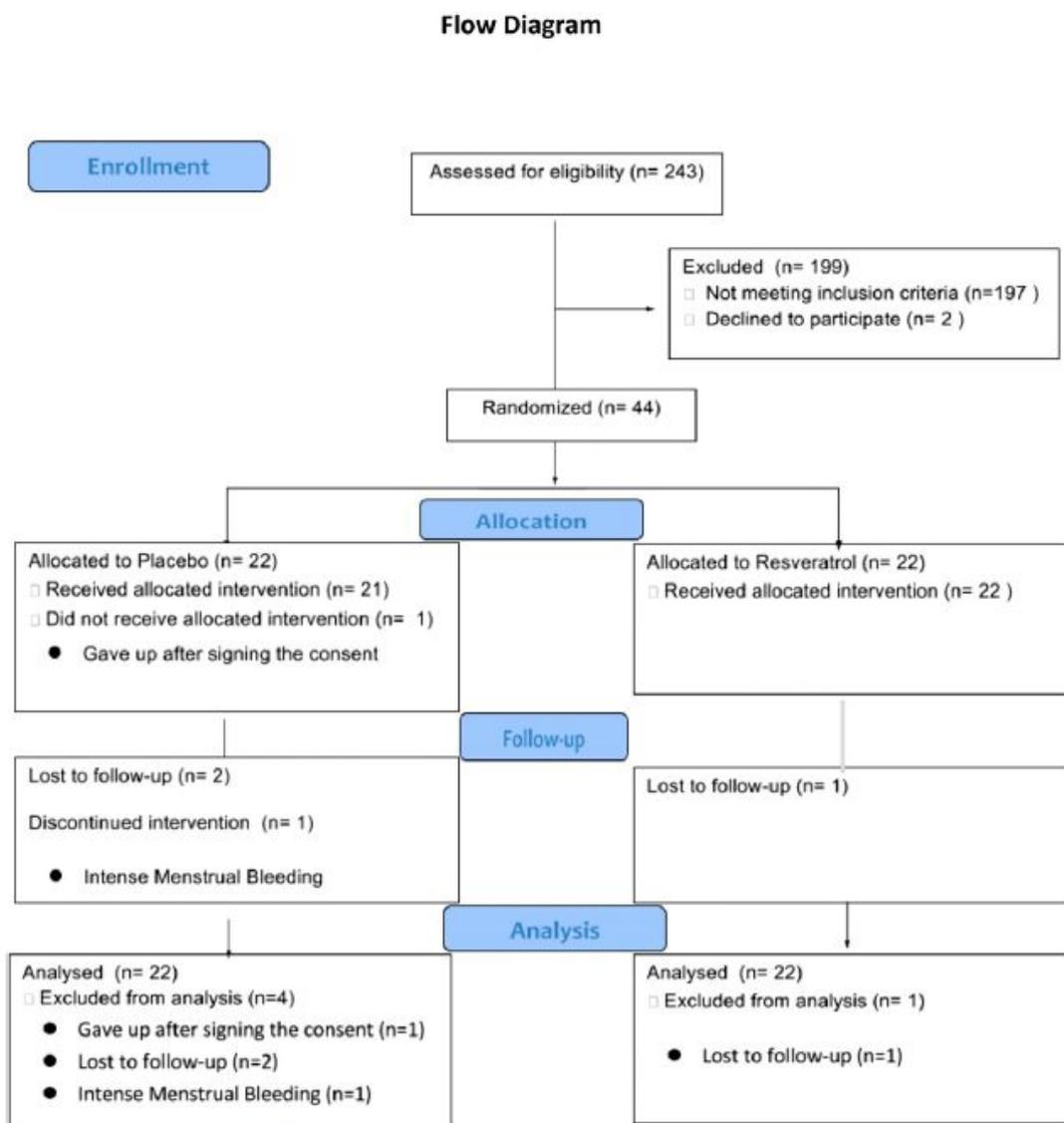


Figure 1. Flow diagram of study population randomized to two treatment groups.

Table 1. Demographic and Clinical Characteristic of the Studied Population

Characteristic	Resveratrol (n = 220)	Placebo (n = 22)	P Value
Mean age \pm standard deviation (y)	35.4 \pm 7.1	32.4 \pm 7	0.1 ^c
Ethnic group (n [%])			1 ^d
White	16 (72)	15 (68)	
Black	6 (28)	7 (32)	
Baseline levels (mean \pm standard deviation)			
Pain score (VAS)	5.4 \pm 2.6	5.7 \pm 2	0.6 ^c
CA-125 (U/mL) ^{a,b}	14.1 (3.3 to 49.5)	18.7 (5.7 to 123.6)	0.2 ^c
Prolactin (ng/mL) ^b	12.65 \pm 5.9	14.27 \pm 6.6	0.4 ^c

^aRaw values are median (range). Analysis after transformation using $Y = \log(Y)$ was performed, and no difference was found using Student *t* test. Transformed data are shown in Figure 2.

^bn = 21 for serum levels; one case of the placebo group dropped out before collecting blood.

^cMann-Whitney *U* test.

^dFisher's exact test.

^eStudent *t* test.

U test]. Subgroup analysis was performed on subjects that followed protocol and did not use any medication for pain. Final pain scores were not significantly different between groups by PP analysis or by use or not of analgesics (Table 2). Similar results were found using a Student *t* test after data normalization (data not shown).

Further analysis using GEEs and the possible confounding factor (use of medication, time to follow-up) revealed no difference between groups [Fig. 2(a); all analyses were made using GEEs]. Further details are provided in Supplemental Table 1.

Table 2. Outcomes Measured in Both Groups

Characteristic	Resveratrol (n = 22)	Placebo (n = 22)	P Value
Subjects that used pain medication (n)	7	8	
Dipyron, mg: mean (standard deviation) [n]	1944 (1793) [5]	625 (250) [5]	0.09 ^c
Ibuprofen, mg: mean (standard deviation) [n]	1200 (848) [5]	5640 (328) [5]	0.09 ^c
Codeine, mg (n)	0	30 (1)	
Reported side effects (n)			
Diplopia	1	0	
Headache	6	7	
Reduced libido	1	0	
Nausea	1	2	
Breast tenderness	1	0	
Hot flushes	1	0	
Increased uterine bleeding	1	0	
Candidiasis	1	0	
Dyspareunia	0	1	
Pain levels at day 42			
ITT ^a	3.2 (0 to 8)	3.9 (0 to 8.9)	0.7 ^b
Difference between medians (95% CI)		0.75 (-1.6 to 2.3)	
PP ^a	3 (0 to 8) [n = 21]	2.65 (0 to 8.9) [n = 18]	0.9 ^b
Difference between medians (95% CI)		0.35 (-2.3 to 2)	
PP no use of pain medication ^a	3 (0 to 7.7) (n = 15)	2.65 (0 to 8.9) (n = 14)	0.8 ^b
Difference between medians (95% CI)		0.35 (-2.3 to 2.8)	
CA-125 (U/mL) at day 42 ^a	11.7 (4.9 to 29.9)	13.7 (5 to 61)	0.1 ^b
Prolactin (ng/mL) at day 42 ^a	12 (4.3 to 32.1)	11.1 (4.2 to 31.6)	0.8 ^b

^aValues are median (range).

^bMann-Whitney *U* test.

^cUnpaired *t* test with Welch's correction.

C. Secondary Outcome

C-1. CA-125 and prolactin

CA-125 levels were reduced after 42 days of treatment in placebo ($P = 0.01$; RM-2 Way ANOVA) and the resveratrol group ($P = 0.02$; RM-2 Way ANOVA). Prolactin levels did not vary by treatment type or over time [Fig. 2(b) and 2(c)].

C-2. Use of analgesics

In both arms, subjects used a similar amount of pain medication. Reported side effects were comparable in both groups and were mild (Table 2).

3. Discussion

The use of complementary and alternative medicine has been widely studied for the treatment of endometriosis [37]. Plant-based products including genistein, green tea, and resveratrol have each been reported to exhibit efficacy against endometriosis in animal studies [20, 38–41]; however, no proper clinical trials have been reported for these compounds for the treatment of endometriosis in humans.

This study investigated whether 40 mg/d of resveratrol with a COC would reduce pain scores after 42 days of use in women with endometriosis, compared with a placebo arm with a COC alone. No difference was found between treatments when pain scores were compared between groups after treatment. These results were the same when data were analyzed using ITT or PP analysis (Table 2). Likewise, no difference was found between groups when the use of analgesics and differences in pain score over time were considered (Supplemental Table 1).

This is a randomized, double-blind, controlled comparison of resveratrol vs placebo for the treatment of endometriosis-related pain. A smaller nonrandomized, open-label study by Maia *et al.* [23] reported reduced pain in response to resveratrol. Possible explanations for these differences in reported outcomes could be related to methodology, including length of treatment, pain score scales, or statistical analysis. For practical reasons, we used a more commonly available birth control pill with 21 days of active medication for two cycles (extending the treatment to 42 days) compared with their 56 days of treatment. Because *in vivo* and *in vitro* studies have shown greater benefit at higher doses [20, 41], we used a higher dose of resveratrol compared with the prior study.

This double-blinded, controlled, randomized clinical trial followed the CONSORT guidelines [42]; Maia *et al.* used a before-and-after treatment without randomization. We used a more commonly used linear pain scale (VAS) [28], whereas Maia *et al.* used a three-point scale [23]. This study used levonorgestrel as progestin, whereas drospirenone was used in the previous study; however, a difference in progestins is unlikely to be responsible for the discrepant results [43, 44].

Secondary outcomes were also examined in our study. CA-125 and prolactin levels have been shown to decrease after treatment with resveratrol [17, 45]. CA-125, but not prolactin plasma levels, were significantly reduced after treatment in both groups in our study (Fig. 2). CA-125 results are similar to those reported by de Sá Rosa e Silva *et al.* [46]. They reported that intrauterine devices with levonorgestrel reduce CA-125 plasma levels after 6 months of treatment. Although we see a reduction in CA-125, we did not find the same changes in prolactin as previously reported.

This trial has several strengths, including the controlled, randomized, double-blind study design. Less than 20% of the study population was lost to follow-up (only five cases out of 44). PP analysis was done with 39 subjects (88%). A more robust statistical analysis (GEE) was used, and similar results were observed in the PP, ITT, and sensitivity analysis (Table 2). In addition to the subjective measure of pain, nonsubjective results, including CA-125 and prolactin, were measured.

We documented activity of the treatment in both groups, with a reduction found in CA-125 levels, in both the placebo and resveratrol group (Fig. 2). In addition, a final median difference

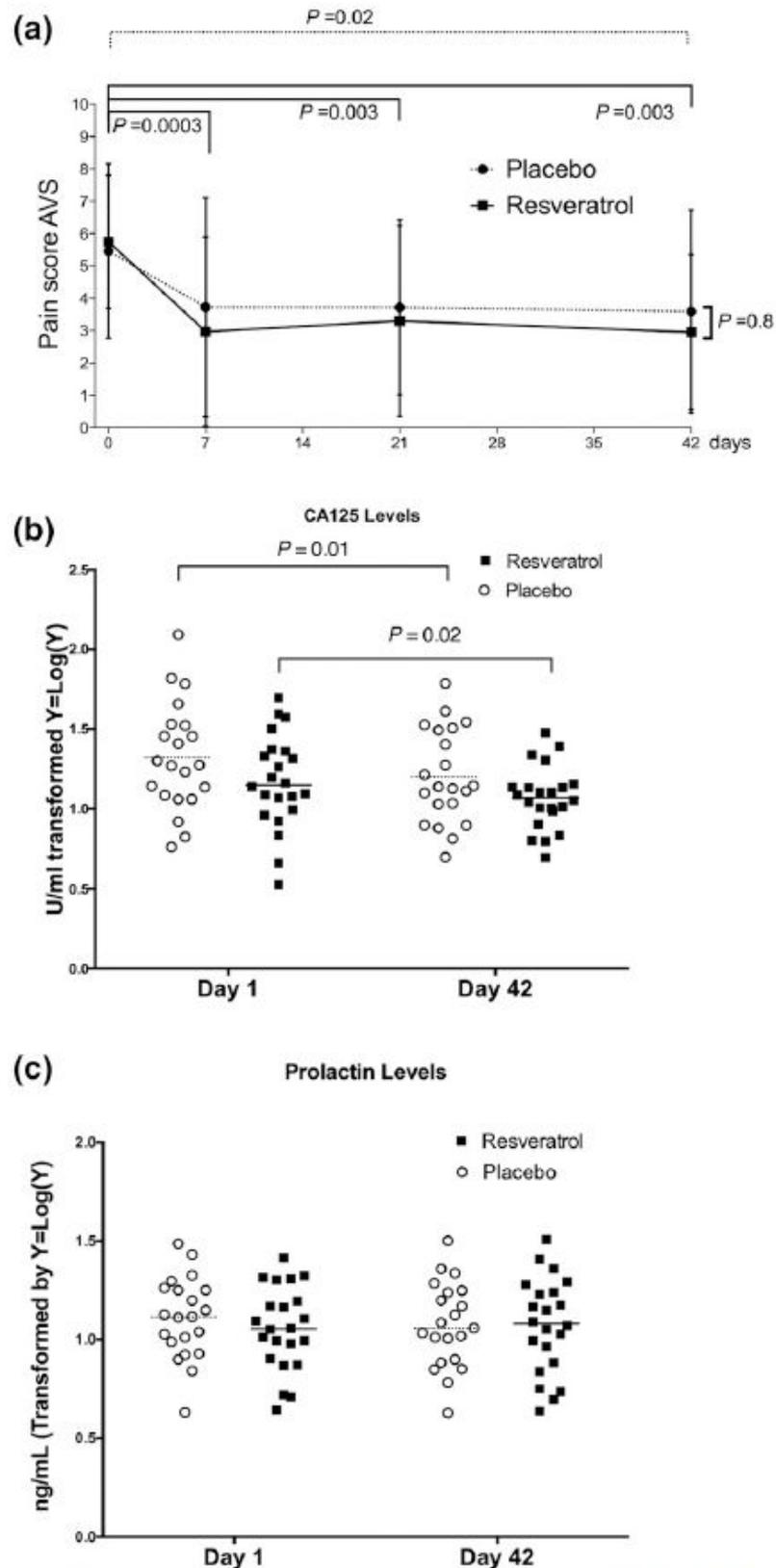


Figure 2. (a) Variation of pain scores between groups and compared with baseline; data were analyzed using GEEs. (b) CA-125 and (c) prolactin levels before and after treatment with monophasic contraceptive pill with or without resveratrol. Data were transformed into $Y = \log(Y)$ for achieving normal distribution and analyzed using RM-2 Way ANOVA. Bars represent means for each variable studied.

of 0.75 (95% CI: -1.6 to 2.3; Table 2; ITT results) was noted between groups. Based on this small median difference in outcome, we estimate that 3285 subjects would be required in each arm to detect a significant difference.

There are few limitations to this study. We treated subjects for 42 days. A longer course of treatment might give different results. However, a plateau was reached between 7 and 42 days of treatment, suggesting that longer treatment would be unlikely to change the final outcome (Fig. 2). Many other authors using different hormonal treatments have observed significant reduction of pain scores, compared with baseline, in treatments that lasted less than 6 months [29–34]. Petta *et al.* [34] found that pain scores were significantly reduced after only 30 days of treatment with the intrauterine device containing levonorgestrel [34].

Pain scores are prone to recall bias. Although we used a standard sentence for every subject to recall the mean levels of pain in the preceding week, it is possible that subjects graded their pain score according to the highest pain that they experienced; the randomization, however, should have balanced this potential bias. The registration of use of pain medications (dipyrone, ibuprofen, and codeine) may also be prone to bias. However, the randomization and the similarity of the amount of pain medication used between groups make this unlikely. A higher mean use of dipyrone was observed in the resveratrol group, but it did not reach statistical significance. Although prior laparoscopy was required to confirm a history of endometriosis, we did not examine the stage of disease between groups, as suggested by the American Society of Reproductive Medicine [47]. It is well established, however, that stage of endometriosis does not correlate well with the experience of pain [48].

Our studied population is likely to have external validity; women with pelvic pain were recruited from social media and not from a single outpatient clinic.

In conclusion, daily use of 40 mg of resveratrol, combined with continuous use of a COC, was not superior to a COC alone for the treatment of pain in women with endometriosis.

Acknowledgments

Address all correspondence to: Ricardo Francalacci Savaris, MD, MSc, PhD, Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350/1124, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, 90035-903. E-mail: rsavaris@hcpa.edu.br.

This work was supported by Fundação de Incentivo à Pesquisa e Ensino, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Grant 14-626, which provided financial support for medications used in this study and for laboratory analysis, and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Grant 99999.003035/2015-08 (to B.A.L.).

Clinical trial registry: ClinicalTrials.gov no. NCT02475564 (registered 11 June 2015).

Disclosure Summary: The authors have nothing to disclose.

References and Notes

1. Backonja U, Buck Louis GM, Lauver DR. Overall adiposity, adipose tissue distribution, and endometriosis: a systematic review. *Nurs Res*. 2016;**65**(2):151–166.
2. Janssen EB, Rijkers ACM, Hoppenbrouwers K, Meuleman C, D'Hooghe TM. Prevalence of endometriosis diagnosed by laparoscopy in adolescents with dysmenorrhea or chronic pelvic pain: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2013;**19**(5):570–582.
3. Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Nyegaard M, Nezhat CR, Lessey BA, Giudice LC. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology*. 2007;**148**(8):3814–3826.
4. Young SL, Lessey BA. Progesterone function in human endometrium: clinical perspectives. *Semin Reprod Med*. 2010;**28**(1):5–16.
5. Lessey BA, Palomino WA, Apparao KB, Young SL, Lininger RA. Estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and defects in uterine receptivity in women. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;**4**(Suppl 1):S9.
6. Bilibio JP, Souza CAB, Rodini GP, Andreoli CG, Genro VK, de Conto E, Cunha-Filho JS. Serum prolactin and CA-125 levels as biomarkers of peritoneal endometriosis. *Gynecol Obstet Invest*. 2014;**78**(1):45–52.

7. Igarashi TM, Bruner-Tran KL, Yeaman GR, Lessey BA, Edwards DP, Eisenberg E, Osteen KG. Reduced expression of progesterone receptor-B in the endometrium of women with endometriosis and in cocultures of endometrial cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fertil Steril*. 2005;**84**(1):67–74.
8. Bulun SE, Cheng Y-H, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;**248**(1-2):94–103.
9. Bulun SE, Yang S, Fang Z, Gurates B, Tamura M, Sebastian S. Estrogen production and metabolism in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;**955**:75–85.
10. Fazleabas AT, Brudney A, Chai D, Langoi D, Bulun SE. Steroid receptor and aromatase expression in baboon endometriotic lesions. *Fertil Steril*. 2003;**80**(Suppl 2):820–827.
11. Bulun SE, Cheng Y-H, Pavone ME, Xue Q, Attar E, Trukhacheva E, Tokunaga H, Utsunomiya H, Yin P, Luo X, Lin Z, Imir G, Thung S, Su EJ, Kim JJ. Estrogen receptor-beta, estrogen receptor-alpha, and progesterone resistance in endometriosis. *Semin Reprod Med*. 2010;**28**(1):36–43.
12. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, Heikinheimo O, Horne AW, Kiesel L, Nap A, Prentice A, Saridogan E, Soriano D, Nelen W; European Society of Human Reproduction and Embryology. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2014;**29**(3):400–412.
13. Singh M, Parent S, Leblanc V, Asselin E. Resveratrol modulates the expression of PTGS2 and cellular proliferation in the normal rat endometrium in an AKT-dependent manner. *Biol Reprod*. 2011;**84**(5):1045–1052.
14. Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcão A, Soares E, Costa R, Loureiro AI, Fernandes-Lopes C, Rocha JF, Nunes T, Wright L, Soares-da-Silva P. Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res*. 2009;**53**(Suppl 1):S7–S15.
15. Bruner-Tran KL, Osteen KG, Taylor HS, Sokalska A, Haines K, Duleba AJ. Resveratrol inhibits development of experimental endometriosis in vivo and reduces endometrial stromal cell invasiveness in vitro. *Biol Reprod*. 2011;**84**(1):106–112.
16. Ricci AG, Olivares CN, Bilotas MA, Bastón JI, Singla JJ, Meresman GF, Barañao RI. Natural therapies assessment for the treatment of endometriosis. *Hum Reprod*. 2013;**28**(1):178–188.
17. Rudzitis-Auth J, Menger MD, Laschke MW. Resveratrol is a potent inhibitor of vascularization and cell proliferation in experimental endometriosis. *Hum Reprod*. 2013;**28**(5):1339–1347.
18. Saleh MC, Connell BJ, Saleh TM. Resveratrol induced neuroprotection is mediated via both estrogen receptor subtypes, ER(α) and ER(β). *Neurosci Lett*. 2013;**548**:217–221.
19. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;**94**(25):14138–14143.
20. Amaya SC, Savaris RF, Filipovic CJ, Wise JD, Hestermann E, Young SL, Lessey BA. Resveratrol and endometrium: a closer look at an active ingredient of red wine using in vivo and in vitro models. *Reprod Sci*. 2014;**21**(11):1362–1369.
21. Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*. 2000;**141**:3657–3667.
22. Bulun SE, Monsavais D, Pavone ME, Dyson M, Xue Q, Attar E, Tokunaga H, Su EJ. Role of estrogen receptor- β in endometriosis. *Semin Reprod Med*. 2012;**30**(1):39–45.
23. Maia H, Jr, Haddad C, Pinheiro N, Casoy J. Advantages of the association of resveratrol with oral contraceptives for management of endometriosis-related pain. *Int J Womens Health*. 2012;**4**:543–549.
24. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, Bossuyt PM. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1998;**70**(6):1101–1108.
25. Chen FP, Soong YK, Lee N, Lo SK. The use of serum CA-125 as a marker for endometriosis in patients with dysmenorrhea for monitoring therapy and for recurrence of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1998;**77**(6):665–670.
26. WHO. *Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use*. 5th ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2015: 267.
27. Savaris RF, Teixeira LM, Torres TG, Edelweiss MIA, Moncada J, Schachter J. Comparing ceftriaxone plus azithromycin or doxycycline for pelvic inflammatory disease: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2007;**110**(1):53–60.
28. Bourdel N, Alves J, Pickering G, Ramilo I, Roman H, Canis M. Systematic review of endometriosis pain assessment: how to choose a scale? *Hum Reprod Update*. 2015;**21**(1):136–152.
29. Shokeir T, Mousa S. A randomized, placebo-controlled, double-blind study of hysteroscopic-guided pertubal diluted bupivacaine infusion for endometriosis-associated chronic pelvic pain. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015;**130**(3):219–222.

30. Schwertner A, Conceição Dos Santos CC, Costa GD, Deitos A, de Souza A, de Souza IC, Torres IL, da Cunha Filho JS, Caumo W. Efficacy of melatonin in the treatment of endometriosis: a phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain*. 2013;**154**(6):874–881.
31. Strowitzki T, Marr J, Gerlinger C, Faustmann T, Seitz C. Detailed analysis of a randomized, multi-center, comparative trial of dienogest versus leuprolide acetate in endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet*. 2012;**117**(3):228–233.
32. Petraglia F, Hornung D, Seitz C, Faustmann T, Gerlinger C, Luisi S, Lazzeri L, Strowitzki T. Reduced pelvic pain in women with endometriosis: efficacy of long-term dienogest treatment. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;**285**(1):167–173.
33. Guzik DS, Huang L-S, Broadman BA, Nealon M, Hornstein MD. Randomized trial of leuprolide versus continuous oral contraceptives in the treatment of endometriosis-associated pelvic pain. *Fertil Steril*. 2011;**95**(5):1568–1573.
34. Petta CA, Ferriani RA, Abrao MS, Hassan D, Rosa E Silva JC, Podgaec S, Bahamondes L. Randomized clinical trial of a levonorgestrel-releasing intrauterine system and a depot GnRH analogue for the treatment of chronic pelvic pain in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2005;**20**(7):1993–1998.
35. Altman DG, Bland JM. Statistics notes: How to randomise. *BMJ*. 1999;**319**:703–704.
36. Little RJ, D'Agostino R, Cohen ML, Dickersin K, Emerson SS, Farrar JT, Frangakis C, Hogan JW, Molenberghs G, Murphy SA, Neaton JD, Rotnitzky A, Scharfstein D, Shih WJ, Siegel JP, Stern H. The prevention and treatment of missing data in clinical trials. *N Engl J Med*. 2012;**367**(14):1355–1360.
37. Flower A, Andrew F, Liu JP, George L, Paul L, Qing L. *Chinese herbal medicine for endometriosis*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;**5**:CD006568.
38. Xu H, Lui WT, Chu CY, Ng PS, Wang CC, Rogers MS. Anti-angiogenic effects of green tea catechin on an experimental endometriosis mouse model. *Hum Reprod*. 2009;**24**(3):608–618.
39. Yavuz S, Aydin NE, Celik O, Yilmaz E, Ozerol E, Tanbek K. Resveratrol successfully treats experimental endometriosis through modulation of oxidative stress and lipid peroxidation. *J Cancer Res Ther*. 2014;**10**(2):324–329.
40. Ozcan Cenksoy P, Oktem M, Erdem O, Karakaya C, Cenksoy C, Erdem A, Guner H, Karabacak O. A potential novel treatment strategy: inhibition of angiogenesis and inflammation by resveratrol for regression of endometriosis in an experimental rat model. *Gynecol Endocrinol*. 2015;**31**(3):219–224.
41. Lu R, Serrero G. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *J Cell Physiol*. 1999;**179**(3):297–304.
42. Boers M. Updated Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT): it just gets better. *J Clin Epidemiol*. 2010;**63**(8):813–814.
43. Vlahos N, Vlachos A, Triantafyllidou O, Vitoratos N, Creatsas G. Continuous versus cyclic use of oral contraceptives after surgery for symptomatic endometriosis: a prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2013;**100**(5):1337–1342.
44. Davis L, Kennedy SS, Moore J, Prentice A. Oral contraceptives for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007; (3):CD001019.
45. Raj MHG, Abd Elmageed ZY, Zhou J, Gaur RL, Nguyen L, Azam GA, Braley P, Rao PN, Fathi IM, Ouhtit A. Synergistic action of dietary phyto-antioxidants on survival and proliferation of ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol*. 2008;**110**(3):432–438.
46. de Sá Rosa e Silva AC, Rosa e Silva JC, Nogueira AA, Petta CA, Abrão MS, Ferriani RA. The levonorgestrel-releasing intrauterine device reduces CA-125 serum levels in patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2006;**86**(3):742–744.
47. American Society for Reproductive. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*. 1997;**67**(5):817–821.
48. Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O, Cortesi I, Parazzini F, Crosignani PG. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertil Steril*. 1996;**65**(2):299–304.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No contexto estudado pode-se observar que o tratamento combinado de ACO e compostos polifenólicos como o resveratrol pode ser uma alternativa útil para o manejo da dor em mulheres com endometriose.

A grande variabilidade dos sintomas e sua flutuação ao longo do ciclo menstrual gera a necessidade de manejo de doses de acordo com as características do indivíduo.

Apesar do grande número de estudos com o resveratrol nos últimos anos no Brasil este composto químico é vendido como nutracêutico, fato que diminui o rigor da Anvisa sobre este produto.

Cabe aos pesquisadores de produtos naturais um árduo trabalho de comprovação científica através de estudos clínicos visando assegurar um nível adequado de segurança e eficácia para estes produtos, tornando-os passíveis de uso em grande escala.

PERSPECTIVAS

Diversos são os compostos polifenólicos com potencial terapêutico.

A pouca importância regulamentar atual que se destina aos compostos nutracêuticos abre importantes nichos de pesquisa para novos medicamentos. O desenvolvimento de novos estudos com este alvo pode ser um marco estratégico para o nosso país.

O resveratrol em especial, precisa ser mais estudado no contexto da doença em questão. Possibilidades como aumento de doses, terapia mais prolongada, estratificação da população alvo com ajustes de doses além da utilização com tratamentos clássicos já utilizados podem trazer muitos benefícios.

Outra perspectiva que surge é otimizar a absorção do fármaco ou utilizar análogos com um perfil de absorção mais favorável à administração oral.