

**Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”
UNIGRANRIO**

LÍVIA BORGES LEAL KLING

**O PAPEL DAS PROTEÍNAS TET NA REGULAÇÃO EPIGENÉTICA NA
ENDOMETRIOSE ASSOCIADA À INFERTILIDADE**

RIO DE JANEIRO

2025

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy” UNIGRANRIO

LÍVIA BORGES LEAL KLING

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza
Herdy”, como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Daniel Escorsim Machado

Coorientadora: Luanna Prudencio Araujo

RIO DE JANEIRO

2025

LÍVIA BORGES LEAL KLING

**O PAPEL DAS PROTEÍNAS TET NA REGULAÇÃO EPIGENÉTICA NA
ENDOMETRIOSE ASSOCIADA À INFERTILIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza
Herdy", como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

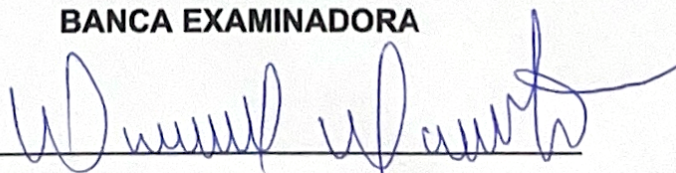
Orientador: Daniel Escorsim Machado

Coorientadora: Luanna Prudencio Araujo

Aprovada em:

Barra da Tijuca, 14 de Novembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Daniel Escorsim Machado

Documento assinado digitalmente

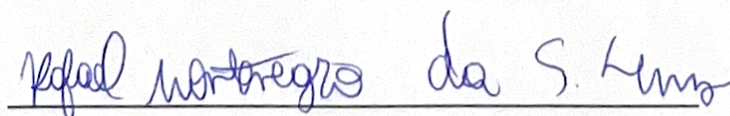


MARCEL FRAJBLAT

Data: 17/11/2025 19:07:59-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Marcel Frajblat



Prof. Rafael Montenegro da Silva Lima

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, registro minha gratidão às mulheres que doaram voluntariamente as amostras e aos animais que foram base fundamental para esta pesquisa. Cada contribuição foi essencial para a realização dos estudos que originaram meus resultados.

Meu reconhecimento ao professor Daniel Machado, orientador deste trabalho, por ter embarcado comigo neste projeto e pela confiança depositada em minha condução. À minha coorientadora, professora Luanna Prudencio, deixo um agradecimento especial por ter aceitado participar mesmo no finalzinho dessa caminhada. Também manifesto o meu apreço aos professores Rafael Montenegro e Marcel Frajblat, que integram minha banca e contribuíram para enriquecer este trabalho e a minha trajetória.

Sou imensamente grata pela minha experiência na Fiocruz, um período que marcou minha formação científica e pessoal. Agradeço à Bárbara Dias, que me ensinou Biologia no ensino médio, ainda quando eu descobria o papel da ciência na minha vida, e que, acreditando em mim, me indicou para a vaga que me abriu tantas portas. Meu reconhecimento ao Marcelo Pelajo, chefe do laboratório, pela confiança, incentivo e pelas oportunidades que me ofereceu. À minha família de laboratório, que se tornou parte da minha vida: Tácio Monteiro, Beatriz Fernandes, Barbara Mol e Mateus Nogueira, grandes amigos e parceiros de jornada, obrigada por tudo. Meu carinho enorme à Milla Paiva, que me acolheu de braços abertos no projeto de SARS-CoV-2 e me ensinou tanto — desde imunofluorescência até a interpretação de alterações patológicas. Ela foi uma verdadeira mentora e inspiração nessa trajetória. Estendo o agradecimento aos demais companheiros de equipe, que tornaram o ambiente de trabalho leve, divertido e produtivo: Gabriela Cardoso, Myllena Bezerra, João Paulo Rodrigues (JP), Rafaela Almeida, John Douglas, Bruno Marques, Marcelo Barbosa, Gisella, Bianca Passos e Luciana Souza.

Valorizo as amizades que caminharam comigo durante os primeiros anos da graduação, em especial Clara Bressan, que foi minha parceira de estágio por um tempo, e às amigas que conquistei neste último ano e que foram essenciais nessa reta final: Ana Luisa Abdon, Julia Bahia e Giselle Silva.

À minha família, um dos meus maiores alicerces. Ao meu pai, Carlos, por ter acreditado em mim, custeado meus estudos e me presenteado com meu primeiro

jaleco, símbolo do início de tudo. Ao meu avô Augusto, que sempre me levava e buscava nos estágios e na faculdade, e se interessava genuinamente pelo meu trabalho. À Marli, que com todo carinho do mundo, ajudou a me criar. À minha avó Lúcia, ao meu tio Flávio, à minha tia Suzana e à minha tia Leila — que até pensa em me dar meu primeiro microscópio —, por sempre estarem presentes. Aos meus primos João Vitor e Juliana, que me inspiram e me apoiam: o João, por compartilhar comigo suas aulas de embriologia; e a Juju, pela cumplicidade e o incentivo constante. Ao meu sobrinho canino Toby, que sempre arranca um sorriso meu, e ao meu filho de quatro patas, Luca, um verdadeiro guerreiro de 13 anos, meu companheiro e apoio incondicional em todas as fases. Carrego também no coração a lembrança dos meus avós Léa e Léo, que hoje me olham lá de cima. Minha avó Léa desejava tanto me ver crescer que, no final, nem pôde me ver entrando no curso de Biomedicina.

À minha irmã de consideração, Maryah Espírito Santo, meu porto seguro. Esteve comigo em todos os momentos, me ouvindo, me acalmando e me fortalecendo sempre que precisei. À Clara Kloslovisk, que sempre me olhou com tanto orgulho; à Sofia Staneck, à Carolina Andrade e à Marcela Charles, pela amizade e apoio em cada etapa, mesmo estando longe.

Por fim, um dos agradecimentos mais importantes: à minha mãe, que esteve presente em absolutamente todos os momentos. Desde os meus primeiros estudos na alfabetização até a revisão final deste trabalho, ela caminhou ao meu lado em tudo. Foi quem me ensinou a ser esforçada, a buscar sempre o melhor, a evoluir e a ser forte diante dos desafios. Ela me mostrou que saber nunca ocupa lugar. Me acolheu nos momentos de crise e se emocionou a cada conquista. Este TCC é tão meu quanto dela.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação Esquemática do processo de metilação do DNA	17
Figura 2: O papel das proteínas TET na desmetilação do DNA	19
Figura 3: Níveis de TET1 (transcrito e proteína) no endométrio de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose na fase média lútea	23
Figura 4: Níveis de TET1 (transcrito e proteína) no endométrio de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose na fase média folicular...	23
Figura 5: Comparação da expressão dos transcritos de TET2 e TET3 no endométrio eutópico de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose, em diferentes fases do ciclo menstrual	24
Figura 6: Variação cíclica da expressão de TET3 no endométrio eutópico de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose	25
Figura 7: Expressão inversamente proporcional de miRNA22-5p e TET2 em amostras de endométrio de mulheres inférteis com endometriose mínima/leve	27
Figura 8: A expressão de MiR22-5p regula TET2 em células do estroma endometrial primárias	28
Figura 9: MiR22-5p afeta a expressão ESR2, mas não de ERS1, em células do estroma endometrial primárias	29
Figura 10: Caracterização e abundância de macrófagos com superexpressão de TET3 em lesões de endometriose humana	31
Figura 11: A expressão de TET3 em macrófagos é induzida por mediadores inflamatórios e pelo microambiente da endometriose em MDMs	32
Figura 12: O <i>knockdown</i> de TET3 em macrófagos induz a apoptose	33
Figura 13: A deleção de TET3 no compartimento mieloide (Mye-Tet3–KO) reduz a carga de endometriose e a inflamação local em camundongos	34
Figura 14: Síntese de mecanismos regulatórios, principalmente relacionados a metilação do DNA, envolvendo TET1, TET2 e TET3 na endometriose e na infertilidade associada	39

LISTA DE ABREVIÇÕES

Anti-GAPDH	Anti-desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato
ASRM	Sociedade americana de medicina reprodutiva (inglês do <i>American Society for Reproductive Medicine</i>)
BER	Via de reparo por excisão de base (do inglês <i>Base Excision Repair</i>)
cDNA	DNA complementar
CM-Endo	Células estromais endometrióticas
CYP19A1	Gene que codifica a enzima aromatase (citocromo P450, família 19, subfamília A, membro 1)
DNMTs	DNA metiltransferases
ERα	Receptor de estrogênio do tipo alfa (do inglês <i>estrogen receptor alpha</i>)
ERβ	Receptor de estrogênio do tipo beta (do inglês <i>estrogen receptor beta</i>)
ESCs	Células estromais endometriais (do inglês <i>endometrial stromal cells</i>)
HDACs	Histonas desacetilases (do inglês <i>Histone deacetylases</i>)
HESC	Células estromais endometriais humanas (do inglês <i>Human Endometrial Stromal Cells</i>)
HRP	Peroxidase de rábano (do inglês <i>Horseradish Peroxidase</i>)
IHC	Imuno-histoquímica
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
M-CSF	Fator estimulador de colônias de Macrófagos (do inglês <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>)
MDMs	Macrófagos derivados de monócitos humanos
MCP1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MeCP2	Proteína 2 que se liga a metil-CpG (do inglês <i>Methyl CpG binding protein 2</i>)
miR-22-5p	microRNA 22 derivado do braço 5' do precursor (microRNA-22-5p)
mRNA	RNA mensageiro
Mye-Tet3-KO	Camundongos deleção específica de TET3 em macrófagos (do inglês <i>Macrophage/myeloid-specific Tet3 knockout</i>)

NF-κB	Fator nuclear potenciador de cadeia leve de células B (do inglês <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)
NLRP3	Receptor semelhante ao NOD com domínio pirina 3 (do inglês <i>NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3</i>)
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PR-B	Receptor de progesterona tipo B (do inglês <i>progesterone receptor B</i>)
rAFS	Sistema de classificação revisado da sociedade americana de fertilidade (do inglês <i>American Fertility Society</i>)
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RPLP0	Proteína ribossomal da subunidade lateral P0
RT-qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa com transcrição reversa
SAH	S-adenosil-homocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SDS-PAGE	Separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio
SFB	Soro fetal bovino
TDG	Glicosilase da timina de DNA (do inglês <i>thymine DNA glycosylase</i>)
TET	Translocação dez-onze (do inglês <i>ten-eleven translocation</i>)
TET3 OE	Superexpressão da proteína TET3 (do inglês <i>TET3 overexpression</i>)
TGF-β1	Fator de crescimento transformador beta 1 (do inglês <i>transforming growth factor beta 1</i>)
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
αKGD	α-cetoglutarato dioxigenases (do inglês <i>alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenases</i>)
5mC	5-metilcitosina
5hmC	5-hidroximetilcitosina
5fC	5-formilcitosina
5caC	5-carboxilcitosina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 	13
2. METODOLOGIA 	20
3. RESULTADOS 	21
4. DISCUSSÃO 	35
5. CONCLUSÃO 	40
6. REFERÊNCIAS 	41

O PAPEL DAS PROTEÍNAS TET NA REGULAÇÃO EPIGENÉTICA DO ENDOMÉTRIO NA ENDOMETRIOSE E NA INFERTILIDADE ASSOCIADA

Lívia Borges Leal Kling ¹

Daniel Escorsim Machado ²

Luanna Prudencio Araujo ³

¹ Graduanda do curso de Biomedicina na Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO.

² Farmacêutico, especialista em Citopatologia Clínica, Mestre em Ciências Morfológicas (UFRJ), Doutor em Ciências Morfológicas (UFRJ), Docente e Pesquisador da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ-Z).

³ Biomédica habilitada em Reprodução humana e Patologia clínica, Mestranda Acadêmica em Ciências Morfológicas/ PCM (UFRJ).

RESUMO

As proteínas TET (TET1, TET2 e TET3) atuam na desmetilação ativa do DNA, convertendo 5-metilcitosina (5mC) principalmente em 5-hidroximetilcitosina (5hmC) e regulando a expressão gênica necessária para a diferenciação e manutenção tecidual. Este processo tem implicações em condições como a endometriose, que é uma condição inflamatória crônica caracterizada pela presença de tecido endometrial funcional fora da cavidade uterina. Por sua vez, a endometriose está frequentemente ligada à infertilidade. A infertilidade corresponde à incapacidade de um casal obter gestação após 12 meses de relações sexuais regulares sem uso de contraceptivos.

Especificamente, na endometriose, o ambiente inflamatório e as alterações moleculares no endométrio comprometem a receptividade uterina e a implantação embrionária, contribuindo para a infertilidade feminina. A nível molecular, a alteração na expressão das proteínas TET no endométrio de mulheres com endometriose favorece a hipermetilação ou hipometilação de genes relacionados à receptividade e à resposta anti-inflamatória, podendo intensificar a progressão da doença e dificultar a fertilidade.

Com isso, o objetivo do trabalho em questão foi investigar de que forma as proteínas TET modulam os mecanismos epigenéticos que contribuem para a progressão da endometriose e para o estabelecimento da infertilidade associada, favorecendo novas perspectivas diagnósticas e terapêuticas. Para isso, foram utilizados as bases PubMed e Elsevier para a busca de artigos publicados entre 2012 e 2024, em inglês e português, sobre proteínas TET, endometriose e infertilidade, dos quais três estudos centrais foram selecionados por sua relevância e consistência metodológica: “Alternância da expressão das translocações 1, 2 e 3 de dez-onze no endométrio eutópico de mulheres com infertilidade associada à endometriose”; “O microRNA-22-5p tem como alvo a translocação dez-onze e regula a expressão do receptor de estrogênio 2 em mulheres inférteis com endometriose mínima/leve durante a janela de implantação”; “Macrófagos com superexpressão de TET3 promovem endometriose”.

Como resultado, foi evidenciado que a desregulação global de TET1, TET2 e TET3 no endométrio eutópico de mulheres com endometriose e infertilidade, seja, por exemplo, pela regulação negativa da TET2 pelo microRNA-22-5p (miR-22-5p) ou pela superexpressão da TET3 em macrófagos, de fato, pode comprometer a regulação epigenética, o que favorece não só a inflamação e a progressão das lesões endometrióticas, mas também gera alterações na expressão de genes relacionados à receptividade endometrial e aos receptores hormonais, impactando negativamente a fertilidade. Com isso o trabalho foi capaz de sintetizar e analisar criticamente os efeitos da desregulação das proteínas TET na endometriose e na infertilidade, identificando padrões moleculares relevantes e lacunas no conhecimento, oferecendo subsídios para futuras pesquisas e potenciais abordagens terapêuticas.

Palavras-chave: Proteínas TET. Endometriose. Infertilidade feminina. Mecanismos epigenéticos. Desmetilação do DNA. Endométrio. Receptividade endometrial. Inflamação crônica.

ABSTRACT

TET proteins (TET1, TET2, and TET3) act in active DNA demethylation, converting 5-methylcytosine (5mC) mainly into 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) and regulating gene expression necessary for tissue differentiation and maintenance. This process has implications in conditions such as endometriosis, which is a chronic inflammatory condition characterized by the presence of functional endometrial tissue outside the uterine cavity. In turn, endometriosis is often linked to infertility. Infertility corresponds to the inability of a couple to achieve pregnancy after 12 months of regular sexual intercourse without the use of contraceptives.

Specifically, in endometriosis, the inflammatory environment and molecular changes in the endometrium compromise uterine receptivity and embryo implantation, contributing to female infertility. At the molecular level, changes in the expression of TET proteins in the endometrium of women with endometriosis favor hypermethylation or hypomethylation of genes related to receptivity and anti-inflammatory response, which can intensify disease progression and hinder fertility.

Therefore, the objective of this study was to investigate how TET proteins modulate the epigenetic mechanisms that contribute to the progression of endometriosis and the establishment of associated infertility, favoring new diagnostic and therapeutic perspectives. To this end, the PubMed and Elsevier databases were used to search for articles published between 2012 and 2024, in English and Portuguese, on TET proteins, endometriosis, and infertility, from which three central studies were selected for their relevance and methodological consistency: "Alternating expression of translocations 1, 2, and 3 of ten-eleven in the eutopic endometrium of women with infertility associated with endometriosis"; "MicroRNA22-5p targets the ten-eleven translocation and regulates estrogen receptor 2 expression in infertile women with minimal/mild endometriosis during the implantation window"; "Macrophages with TET3 overexpression promote endometriosis."

As a result, it was shown that the global dysregulation of TET1, TET2, and TET3 in the eutopic endometrium of women with endometriosis and infertility, whether, for example, through the negative regulation of TET2 by microRNA-22-5p (miR-22-5p) or by the overexpression of TET3 in macrophages, can in fact compromise epigenetic regulation, which not only favors inflammation and the progression of endometriotic lesions, but also generates changes in the expression of genes related to endometrial receptivity and hormone receptors, negatively impacting fertility. As a result, the study was able to synthesize and critically analyze the effects of TET protein dysregulation on endometriosis and infertility, identifying relevant molecular patterns and gaps in knowledge, providing insights for future research and potential therapeutic approaches.

Keyword: TET proteins. Endometriosis. Female infertility. Epigenetic mechanisms. DNA demethylation. Endometrium. Endometrial receptivity. Chronic inflammation.

1. INTRODUÇÃO:

O ciclo menstrual feminino dura em média 28 dias e é regulado por variações hormonais cíclicas que influenciam diretamente a morfologia e a função do útero, especialmente do endométrio. O primeiro dia do ciclo corresponde ao início da menstruação, marcada pela descamação da camada funcional do endométrio em resposta à queda nos níveis de estrogênio e progesterona. Após o término do sangramento menstrual, a partir do 5º dia, inicia-se a fase proliferativa (ou fase folicular), em que o aumento progressivo nos níveis de estrogênio estimula a regeneração endometrial, com intensa atividade mitótica. Com a ovulação, que ocorre por volta do 14º dia, inicia-se a fase secretora (ou lútea), na qual o corpo lúteo ovariano passa a secretar altos níveis de progesterona, promovendo modificações estruturais no endométrio e levando-o a secretar substâncias nutritivas, preparando-se, assim, para uma possível implantação embrionária [Messinis *et al.*, 2014].

O equilíbrio entre estrogênio e progesterona é essencial para manter o endométrio funcional e receptivo. Quando esse equilíbrio é alterado, podem surgir distúrbios que afetam o ambiente uterino e a fertilidade. Um dos principais exemplos é a endometriose, uma condição inflamatória crônica caracterizada pelo crescimento ectópico de tecido estromal e glandular semelhante ao endométrio fora da cavidade uterina, podendo afetar estruturas como os ovários, tubas uterinas e o peritônio [Eskenazi *et al.*, 1997]. Estima-se que a doença afete cerca de 10% das mulheres em idade reprodutiva, o que corresponde a aproximadamente 190 milhões de casos no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde [OMS, 2025]. Embora sua etiopatogênese ainda não seja completamente elucidada, acredita-se que envolva uma interação complexa entre fatores genéticos, hormonais, imunológicos e epigenéticos, que favorecem o estabelecimento e a manutenção das lesões ectópicas e do ambiente inflamatório característico da doença [Guo, 2009].

Independentemente do estágio clínico, a inflamação, cuja intensidade varia conforme a gravidade e a localização das lesões, pode provocar sintomas intensos e debilitantes. Entre os mais frequentes estão a dor pélvica crônica, dismenorreia intensa (cólicas menstruais severas), dispareunia (dor durante a relação sexual) e, em alguns casos, acaba se associando a infertilidade [Chen *et al.*, 2023]. Além do impacto na qualidade de vida, a inflamação compromete funções reprodutivas essenciais,

prejudicando a captação do óvulo pelas fímbrias e, conseqüentemente, dificultando o transporte do blastocisto até a cavidade uterina.

A endometriose é classificada em diferentes formas anatômicas: superficial, ovariana ou profunda, de acordo com a localização e profundidade das lesões. A endometriose superficial (ou peritoneal) corresponde à presença de implantes endometriais restritos à superfície do peritônio, com infiltração menor que 5 mm, geralmente localizados nos ligamentos uterossacros, fossas ovarianas e fundo de saco posterior. Já a endometriose ovariana, também chamada de endometrioma, caracteriza-se pela formação de cistos resultantes da invaginação do epitélio da superfície ovariana por tecido endometrial ectópico, com acúmulo de sangue hemolisado que confere o aspecto típico de “cisto de chocolate”. Por sua vez, a endometriose profunda infiltrante representa a forma mais severa da doença, sendo definida pela infiltração superior a 5 mm abaixo da superfície peritoneal e comprometendo estruturas profundas, como ligamentos uterossacros, septo retovaginal, bexiga e reto. Essa forma está frequentemente associada à dor pélvica intensa, dispareunia profunda e infertilidade [Johnson *et al.*, 2017].

De modo geral, as lesões superficiais predominam nos estágios iniciais (I–II), enquanto os endometriomas e as formas profundas correspondem aos estágios avançados (III–IV) segundo a classificação da American Society for Reproductive Medicine (ASRM). Este sistema classificatório é o mais utilizado para a endometriose e a divide em quatro estágios, conforme a localização, profundidade e extensão das lesões, além da presença de aderências. No estágio I (mínimo), observam-se poucas lesões superficiais no peritônio ou nos ovários, geralmente com ausência ou presença de aderências muito finas. O estágio II (leve) apresenta maior número de lesões, algumas já mais profundas, podendo haver pequenas aderências localizadas. No estágio III (moderado), há lesões profundas, presença de pequenos endometriomas e aderências mais espessas envolvendo ovários e trompas. O estágio IV (grave) caracteriza-se por lesões profundas extensas, grandes endometriomas e aderências densas, frequentemente distorcendo a anatomia pélvica. Cabe ressaltar que essa classificação não reflete diretamente a intensidade dos sintomas ou o impacto sobre a fertilidade, visto que mulheres com estágios iniciais podem apresentar dor intensa, enquanto outras com doença avançada podem ser assintomáticas [Alimi *et al.*, 2018]. Além disso, a classificação da ASRM é mais adequada para descrever formas superficiais e ovarianas da doença, sendo limitada na avaliação da EPI e da

adenomiose, que requerem sistemas complementares, como o *Enzian* [Dirou *et al.*, 2022] e a avaliação morfológica do útero por ultrassonografia (MUSA, 2021) [Moawad *et al.*, 2023], respectivamente.

De forma geral, na endometriose, predominam alterações na esteroidogênese e na sensibilidade hormonal, como o aumento da expressão de aromatase (CYP19A1), enzima responsável pela conversão de andrógenos em estrogênio [Hosseini *et al.*, 2016]. Os receptores de estrogênio ER α (ESR1) e ER β (ESR2) exercem funções complementares na regulação do endométrio: enquanto o ESR1 promove a proliferação celular, o ESR2 atua de forma moduladora, limitando essa resposta. A desregulação desses receptores, associada ao aumento da aromatase, resulta em uma produção local elevada de estrogênio, que favorece um ambiente pró-inflamatório e a proliferação do tecido endometrial ectópico [Chantalat *et al.*, 2020]. Paralelamente, há uma redução na expressão do receptor de progesterona tipo B (PR-B), prejudicando a resposta do endométrio à progesterona, hormônio essencial para a preparação do útero para a implantação embrionária. Essa resistência à progesterona compromete a decidualização do endométrio, processo necessário para tornar o tecido uterino receptivo ao embrião [Wu *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2009].

A endometriose é apenas um dos fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da infertilidade. Esta, por sua vez, é uma condição independente, definida pela incapacidade de conceber após 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas. Essa definição é estabelecida após avaliação minuciosa do histórico médico, sexual e reprodutivo, idade, achados físicos e resultados de exames diagnósticos. Considerada um problema de saúde global que afeta cerca de 15% dos casais em idade reprodutiva [OMS, 2023], a infertilidade pode ter origem masculina, feminina ou mista. É classificada em primária, quando a gestação nunca ocorreu, e secundária, quando há dificuldade em conceber novamente após uma gravidez anterior. A etiologia da infertilidade é ampla, englobando diversas causas — como alterações hormonais, anomalias anatômicas, distúrbios espermáticos e condições inflamatórias — que podem atuar sozinhas ou em conjunto. Entre as condições associadas, a endometriose é reconhecida como uma das principais causas de infertilidade feminina, sendo responsável por 30% a 50% dos casos em mulheres inférteis [ASRM, 2023].

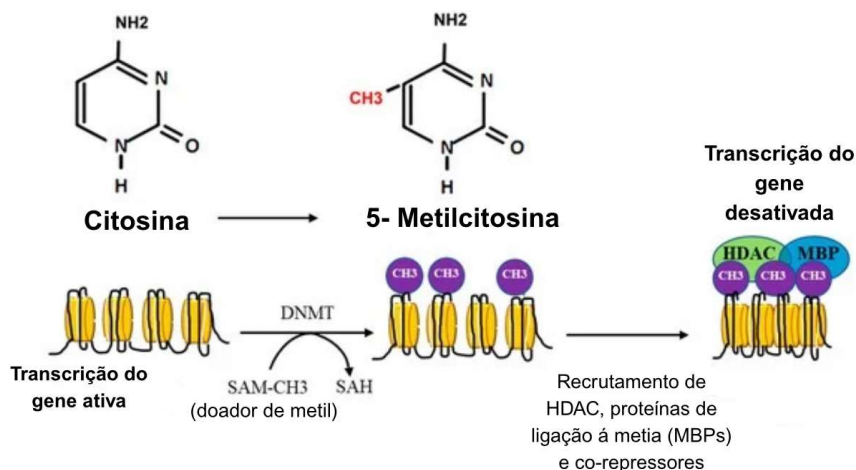
A elucidação dos mecanismos envolvidos nessas condições passa pelo entendimento da base molecular que sustenta a atividade celular, partindo da estrutura

e da organização do material genético, que determinam como as informações necessárias ao funcionamento celular são armazenadas e expressas. Esse material genético, presente no núcleo das células, é constituído principalmente pelo DNA (ácido desoxirribonucleico), uma molécula formada por duas fitas antiparalelas, que se enrolam em proteínas chamadas histonas, organizando-se em nucleossomos. O conjunto de DNA associado às histonas constitui a cromatina, cuja conformação influencia diretamente o acesso às informações genéticas e, conseqüentemente, a regulação da expressão gênica. Cada fita é composta por unidades repetidas chamadas nucleotídeos, e cada um deles contém apenas uma base nitrogenada, que se pareia de forma complementar com a base de um nucleotídeo correspondente na fita oposta: adenina com timina (A-T) e citosina com guanina (C-G), sempre mantidas unidas por ligações de hidrogênio [Paro *et al.*, 2021]. Além dessas interações, algumas sequências específicas de bases desempenham papel funcional na regulação gênica. Um exemplo relevante é o dinucleotídeo CpG, no qual a citosina é seguida diretamente por uma guanina na mesma fita de DNA. Esses sítios estão distribuídos por todo o genoma, mas podem ocorrer em alta densidade em regiões promotoras de genes, formando as chamadas ilhas CpG [Angeloni *et al.*, 2021; Deaton *et al.*, 2011].

Modificações químicas na cromatina, como a metilação do DNA, as alterações pós-traducionais das histonas e a regulação mediada por RNAs não codificantes, podem influenciar a expressão gênica sem alterar a sequência de nucleotídeos do DNA. O campo da genética que estuda esses processos é chamado epigenética [Sarkar *et al.*, 2015]. Essas modificações ocorrem naturalmente no organismo, desempenhando um papel essencial na regulação gênica ao longo do desenvolvimento e da homeostase celular. No entanto, fatores ambientais, estilo de vida e interações celulares podem modular esses mecanismos, exacerbando ou reprimindo determinadas alterações [Miroshnikova *et al.*, 2019].

Entre os diferentes mecanismos epigenéticos, a metilação do DNA tem se destacado por seu impacto direto na regulação da expressão gênica, desempenhando um papel essencial tanto na manutenção da homeostase do tecido endometrial quanto na persistência das lesões endometrióticas [Ducreux *et al.*, 2025; Guo *et al.*, 2009]. A metilação do DNA é um processo epigenético caracterizado pela adição de um grupo químico chamado metil ($-CH_3$) no carbono 5 do anel da base nitrogenada citosina presente em um par CpG, formando a 5mC (Figura 1).

Figura 1: Representação Esquemática do processo de metilação do DNA.



Conversão da citosina em 5mC (por ação da DNMTs) leva ao recrutamento de proteínas repressoras como HDACs e MBPs, resultando na inibição da transcrição gênica. A semelhança estrutural entre citosina e 5mC com impacto funcional na regulação epigenética do DNA. Fonte: Figura adaptada de Mahmoud e Ali, 2019.

Esse evento, em geral, atua como um mecanismo de controle, ajudando a ligar ou desligar genes conforme a necessidade da célula. Esse processo é catalisado por enzimas chamadas DNA metiltransferases (DNMTs), que são proteínas com função enzimática capazes de reconhecerem sequências específicas de DNA, especialmente os dinucleotídeos CpG, ligando-se ao DNA naquele ponto específico e transferindo o grupo metil da S-adenosilmetionina (SAM) para o carbono 5 do anel da citosina, formando a 5mC. Atuando como doador do grupo metil, a molécula SAM se encaixa em um sítio específico na enzima DNMTs [Moore *et al.*, 2013]. Após a doação, ela é convertida em S-adenosil-homocisteína (SAH), que, por sua vez, é descartada ou reciclada. Embora essa modificação não altere a sequência do DNA, ela muda a forma como a citosina é reconhecida pelas proteínas reguladoras, podendo impedir que proteínas de transcrição reconheçam o gene normalmente ou, ainda, atrair proteínas de repressão, como proteína 2 que se liga a metil-CpG (MeCP2) e histonas desacetilases (HDACs), que bloqueiam a ativação do gene, interferindo diretamente na expressão gênica [Baylin *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2021].

Quando esses mecanismos epigenéticos são desregulados, podem comprometer a regulação da expressão gênica. No caso específico da metilação do DNA, o equilíbrio entre hipometilação e hipermetilação é fundamental para a estabilidade genômica. A hipometilação, que representa uma metilação insuficiente, pode ativar regiões instáveis do genoma e levar à instabilidade cromossômica e aumento do risco de mutações. Já a hipermetilação em locais incorretos, como

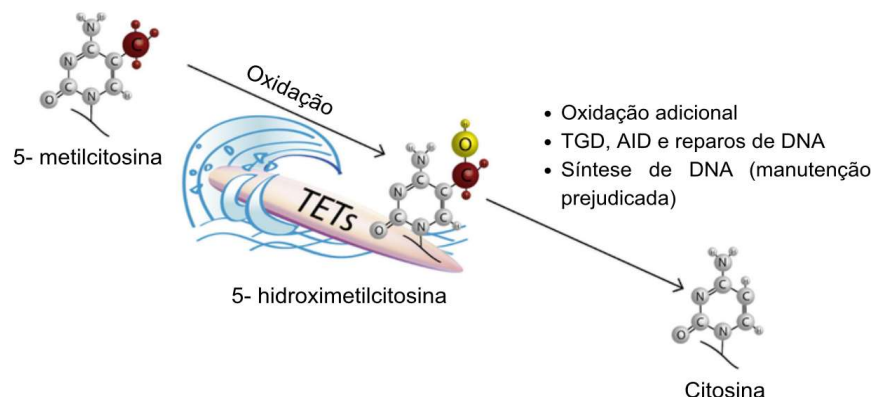
promotores de genes supressores de tumor, pode silenciar genes importantes que normalmente impediriam o desenvolvimento de câncer. Além disso, a citosina metilada é quimicamente instável e pode se transformar em timina ($C \rightarrow T$), o que causa alterações permanentes na sequência do DNA. Assim, a perda do equilíbrio epigenético resulta em ativação ou silenciamento inadequado de genes, comprometendo o funcionamento celular e favorecendo o surgimento de diversas patologias, incluindo câncer, doenças metabólicas e distúrbios inflamatórios. [Greenberg *et al.*, 2019; Jones *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2022].

Nesse contexto, destacam-se as proteínas TET (Ten-Eleven Translocation), que participam da desmetilação ativa do DNA e integram os mecanismos fisiológicos de controle epigenético no endométrio. As proteínas translocação dez-onze (TET) são dioxigenases pertencentes à família das α -cetoglutarato dioxigenases (α KGD), expressas de forma diferencial em diversos tecidos e estágios do desenvolvimento. Essas enzimas catalisam reações de oxidação, inserindo dois átomos de oxigênio molecular (O_2) no substrato, e reconhecem regiões do DNA contendo 5mC, geralmente em ilhas CpG ou regiões regulatórias. Para sua atividade, utilizam O_2 , ferro ferroso (Fe^{2+}) e α KGD como cofator. As TETs promovem a desmetilação do DNA por meio de oxidações sequenciais da 5mC em 5hmC, 5-formilcitosina (5fC) e, por fim, 5-carboxilcitosina (5caC) [Bhutani *et al.*, 2011; Shen *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2017]. Essas modificações tornam a base nitrogenada suscetível à via de reparo por excisão de base (BER), permitindo que a glicosilase da timina de DNA (TDG) remova a base modificada (Figura 2).

Assim, as proteínas TET desempenham papel central na desmetilação do DNA [Ito *et al.*, 2011; He *et al.*, 2011]. Embora o mecanismo de desmetilação seja compartilhado, as três isoformas da família TET (TET1, TET2, e TET3) contribuem de forma distinta, mas complementar, para a regulação epigenética em diversos tecidos. Elas são amplamente estudadas por sua capacidade de regular a expressão gênica e manter a estabilidade epigenética, o que é relevante no contexto da endometriose.

Por exemplo, a TET1 é altamente expressa em células-tronco embrionárias, participando da reprogramação epigenética e da manutenção da pluripotência através da desmetilação de promotores de genes como NANOG, OCT4 e SOX2. Ela pode atuar tanto na ativação quanto na repressão gênica, dependendo do contexto celular, ao interagir com complexos repressores de cromatina [Wu *et al.*, 2011; Ito *et al.*, 2010].

Figura 2: O papel das proteínas TET na desmetilação do DNA.



Conversão da 5mC em citosina através de etapas de oxidação mediadas pelas enzimas TETs (Ten-Eleven Translocation). O intermediário 5-hidroximetilcitosina pode ser revertido a citosina por oxidação adicional, mecanismos de reparo de DNA (TDG, AID) ou durante a replicação do DNA. Imagem adaptada. Fonte: Bagci e Fisher, 2017.

A TET2, por sua vez, exerce papel fundamental em células hematopoiéticas e do sistema imune, regulando genes relacionados à diferenciação, inflamação e tolerância imunológica. Sua disfunção tem sido associada a doenças hematológicas e condições inflamatórias crônicas [Kunimoto *et al.*, 2017; Abegunde *et al.*, 2018]. Já a TET3 apresenta expressão elevada em oócitos e zigotos, sendo essencial para a desmetilação ativa do genoma paterno logo após a fecundação e para a restauração da totipotência embrionária [Gu *et al.*, 2011]. Além do contexto embrionário, a TET3 também modula processos de plasticidade neuronal e resposta imune inata, influenciando a expressão de genes pró-inflamatórios em macrófagos.

Na endometriose, a expressão reduzida das TETs pode estar associada à metilação anômala de seus próprios promotores, levando à desregulação epigenética do tecido endometriótico [Szczepańska *et al.*, 2018]. Essas disfunções, além de intensificarem a inflamação e afetarem a diferenciação celular, favorecem o crescimento descontrolado das lesões e reduzem a receptividade endometrial, dificultando a implantação embrionária [Adamczyk *et al.*, 2022a]. Ademais, uma regulação epigenética alterada pode contribuir para um ambiente uterino desfavorável, agravando o processo inflamatório e comprometendo a qualidade dos oócitos. Essas alterações impactam diretamente os processos de fertilização e implantação, comprometendo a capacidade reprodutiva em mulheres com endometriose [Ochoa Bernal e Fazleabas, 2024].

Diante disso, o presente estudo realiza uma revisão narrativa da literatura com o objetivo de investigar de que forma os mecanismos epigenéticos participam não apenas da manutenção da endometriose, mas também da infertilidade associada à doença, com ênfase na atuação das proteínas TET. A compreensão do papel dessas enzimas pode contribuir para a identificação de biomarcadores epigenéticos e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, promovendo abordagens mais eficazes no tratamento da infertilidade e melhorias na qualidade de vida das pacientes.

2. METODOLOGIA:

Este estudo é uma revisão narrativa da literatura que analisou e discutiu criticamente o papel das proteínas TET na regulação epigenética do endométrio em casos de endometriose e infertilidade.

A busca foi realizada nas bases de dados PubMed e Elsevier, utilizando os seguintes descritores e operadores booleanos: “TET proteins” AND “epigenetic factor” AND “endometriosis” AND “infertility”. Foram incluídos artigos publicados entre 2012 e 2024, em inglês e português, que abordem a relação entre proteínas TET, receptores hormonais e infertilidade na endometriose. Foram excluídos estudos que não mencionavam infertilidade ou revisões sem análise crítica, por não apresentarem relação direta com o tema ou fornecerem evidências relevantes. A seleção dos artigos ocorreu em três etapas: leitura dos títulos e resumos para triagem inicial, seguida pela análise completa dos estudos potencialmente elegíveis e, por fim, a extração dos dados, organizados conforme autor, ano de publicação, objetivo, metodologia, principais achados e conclusões, permitindo uma análise comparativa. A interpretação dos resultados foi realizada por meio de uma síntese qualitativa dos principais achados, enfatizando padrões, divergências e lacunas na literatura atual.

Embora diversos artigos tenham sido analisados, três estudos foram selecionados como centrais por apresentarem maior relevância e consistência metodológica em relação ao tema. Esses artigos foram utilizados como eixo para a apresentação dos resultados, que foram organizados em seções individuais. Em cada seção, foi elaborado um resumo crítico do artigo, acompanhando as figuras mais representativas (quando disponíveis) e suas respectivas legendas, além de uma mini-

conclusão baseada nos dados apresentados e na interpretação dos autores. Essa estratégia permitiu aprofundar a análise, mantendo a perspectiva integrativa da revisão narrativa, já que também foram considerados de forma indireta os demais trabalhos referenciados nesses artigos e outros encontrados na pesquisa. A análise dos estudos focou na compreensão da expressão e regulação funcional das proteínas TET no endométrio e na inflamação associada às lesões endometrióticas, buscando estabelecer a relação entre esses achados, a modulação da metilação do DNA mediada por TET, e os mecanismos que ligam a alteração da atividade dessas proteínas a progressão da endometriose e do desenvolvimento da infertilidade feminina associada. A síntese das informações permitiu uma discussão integrada sobre os achados recentes, ressaltando lacunas no conhecimento e possíveis implicações para novas abordagens terapêuticas.

3. RESULTADOS:

Artigo 1: Alternância da expressão das translocações 1, 2 e 3 de dez-onze no endométrio eutópico de mulheres com infertilidade associada à endometriose.

De acordo com *Szczepańska et al.* (2018), a expressão das proteínas da família TET apresenta alterações significativas no endométrio eutópico de mulheres com infertilidade associada à endometriose. Foram analisadas 18 mulheres férteis e 38 mulheres inférteis com endometriose. O grupo controle incluiu mulheres férteis com dor pélvica crônica, sem alterações identificadas por laparoscopia e sem histórico de infertilidade, apresentando apenas varizes pélvicas. Todas as participantes eram caucasianas, de origem polonesa, e as pacientes com endometriose foram classificadas segundo revisão da ASRM.

Todas as participantes foram submetidas à laparoscopia e, no grupo infértil, também foram realizados exames adicionais, como histeroscopia e análise histológica, para confirmação da endometriose. As amostras consistiram em endométrio eutópico total, contendo uma mistura de células — epitélio colunar, glândulas endometriais e fibroblastos estromais. A coleta foi realizada durante as cirurgias em dois momentos do ciclo menstrual: fase folicular média e fase lútea média (janela de implantação, entre 7 e 9 dias após a ovulação, confirmada por ultrassonografia). A fase do ciclo foi

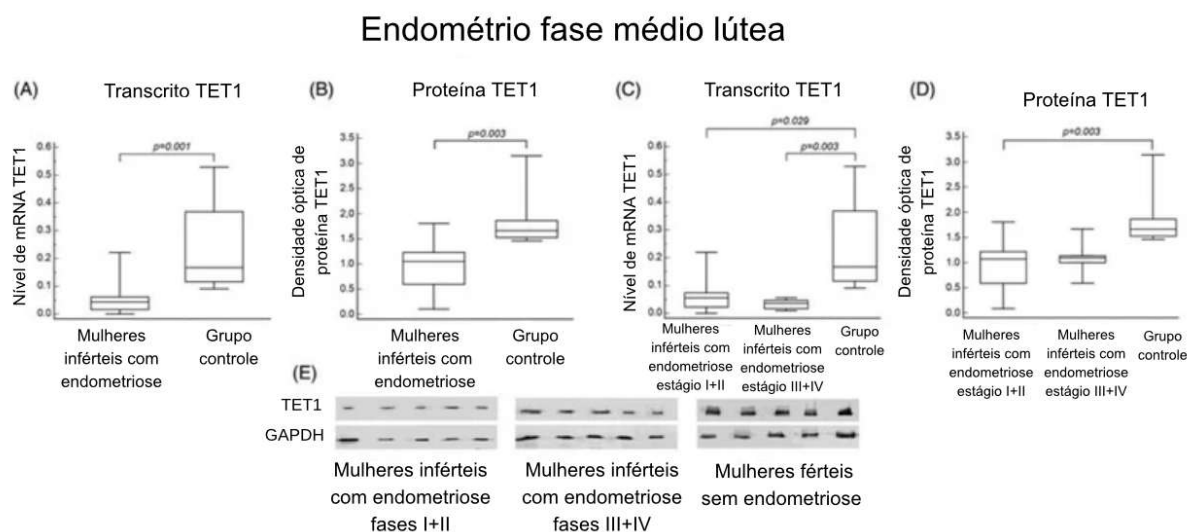
validada por um patologista experiente, por meio de coloração por hematoxilina-eosina e dos critérios de Noyes e Hertig.

Nas análises moleculares, a expressão das proteínas TET foi avaliada por reação em cadeia da polimerase quantitativa com transcrição reversa (RT-qPCR) e western blot. O RNA total foi extraído, tratado com DNase, convertido em DNA complementar (cDNA) e quantificado por RT-qPCR em tempo real, utilizando SYBR Green. A normalização dos dados foi feita com os genes de referência actina beta, ACTB, e proteína ribossomal da subunidade lateral P0 (RPLP0). Para análise proteica, as proteínas foram extraídas, quantificadas, separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), transferidas para membranas de nitrocelulose e incubadas com anticorpos anti-TET1 e anti-desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato (anti-GAPDH), como controle interno, além de um anticorpo secundário anti-rabbit conjugado com peroxidase de rábano (HRP). A detecção foi feita por quimioluminescência, e a expressão da proteína TET1 foi avaliada por meio da razão TET1/GAPDH.

Os resultados do estudo foram apresentados em duas etapas: na primeira, os autores compararam a expressão das proteínas TET entre mulheres férteis e inférteis com endometriose, em diferentes fases do ciclo menstrual. Na segunda, analisaram as variações cíclicas intra-grupo, comparando os níveis de expressão entre as fases folicular e lútea. Durante a fase lútea, mulheres inférteis com endometriose apresentaram redução significativa nos níveis de TET1, tanto em RNA mensageiro (mRNA) quanto em proteína, em comparação com mulheres férteis. A diminuição do mRNA foi observada em todos os estágios da doença (I/II e III/IV), enquanto a redução da proteína TET1 foi estatisticamente significativa apenas nos estágios iniciais (I/II) (Figura 3).

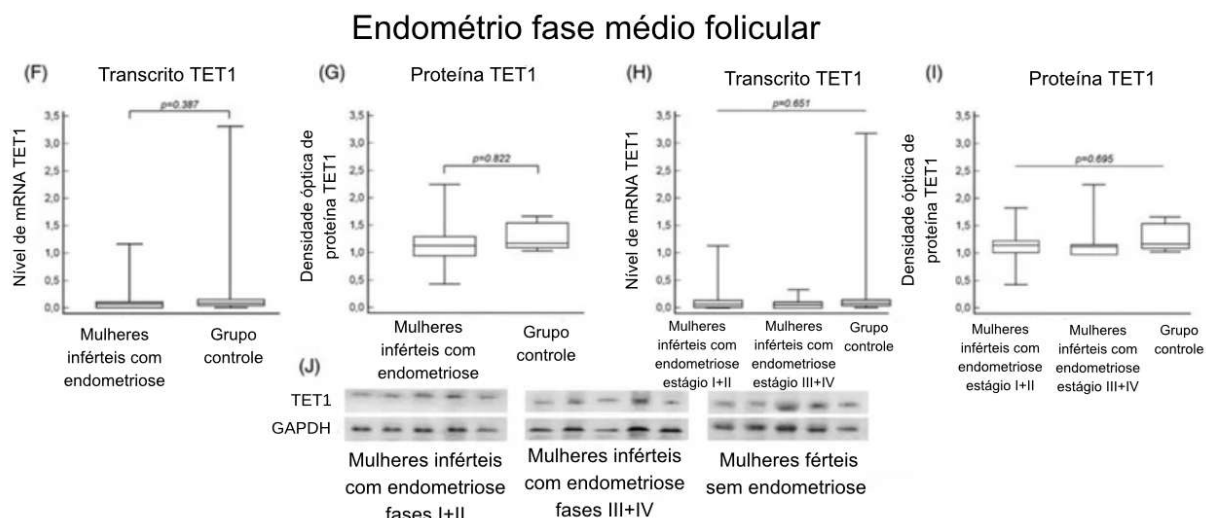
Na fase folicular, os níveis de TET1 foram semelhantes entre os grupos (Figura 4).

Figura 3: Níveis de TET1 (transcrito e proteína) no endométrio de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose na fase média lútea.



Comparação da expressão do transcrito e da proteína TET1 no endométrio eutópico durante a fase médio-lútea. Foram avaliadas mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose em diferentes estágios (I/II e III/IV). Observa-se redução significativa dos níveis de TET1 em pacientes inférteis com endometriose, tanto na análise de RT-qPCR (transcritos) quanto no Western blot (proteína), quando comparadas ao grupo controle.

Figura 4: Níveis de TET1 (transcrito e proteína) no endométrio de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose na fase média folicular.



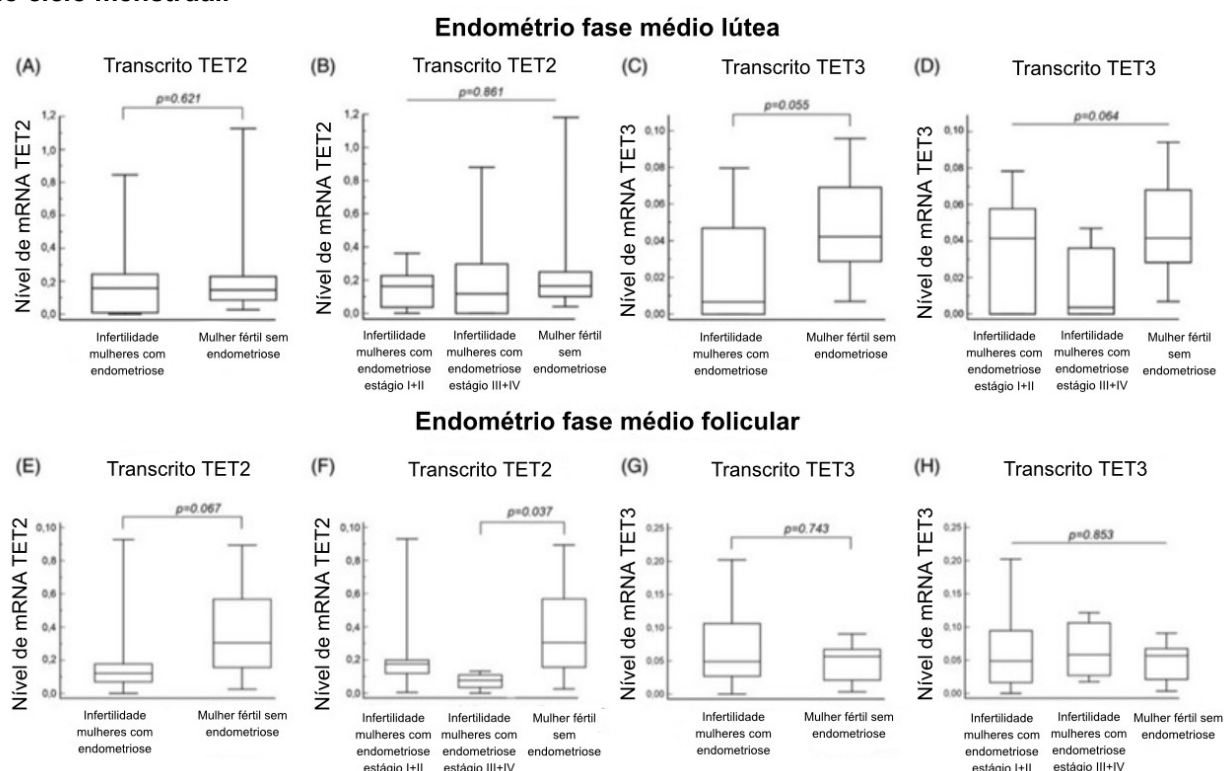
Comparação da expressão do transcrito e da proteína TET1 no endométrio eutópico durante as fases médio-folicular, sob as mesmas condições anteriores. Observa-se que os níveis de TET1 foram semelhantes entre pacientes inférteis com endometriose e o grupo controle, tanto na análise de RT-qPCR (transcritos) quanto no Western blot (proteína).

Por outro lado, a expressão de TET2 e TET3 na fase lútea não apresentou diferenças significativas entre os grupos. Na fase folicular, a TET2 mostrou uma tendência de redução em mulheres com endometriose, tornando-se estatisticamente significativa nos casos de doença em estágio avançado (III/IV). Já a TET3, assim como na fase lútea, permaneceu sem variações expressivas entre os grupos (Figura 5). A

análise cíclica revelou o ponto mais importante: enquanto em mulheres férteis a expressão de TET1, TET2 e TET3 se manteve estável ao longo do ciclo, em mulheres inférteis com endometriose houve uma modulação cíclica anormal da TET3. Nesse grupo, a expressão de TET3 aumentou significativamente da fase folicular para a fase lútea, principalmente nos casos de endometriose em estágios avançados. Esse comportamento sugere que a disfunção da regulação epigenética pode se intensificar conforme a progressão da doença (Figura 6).

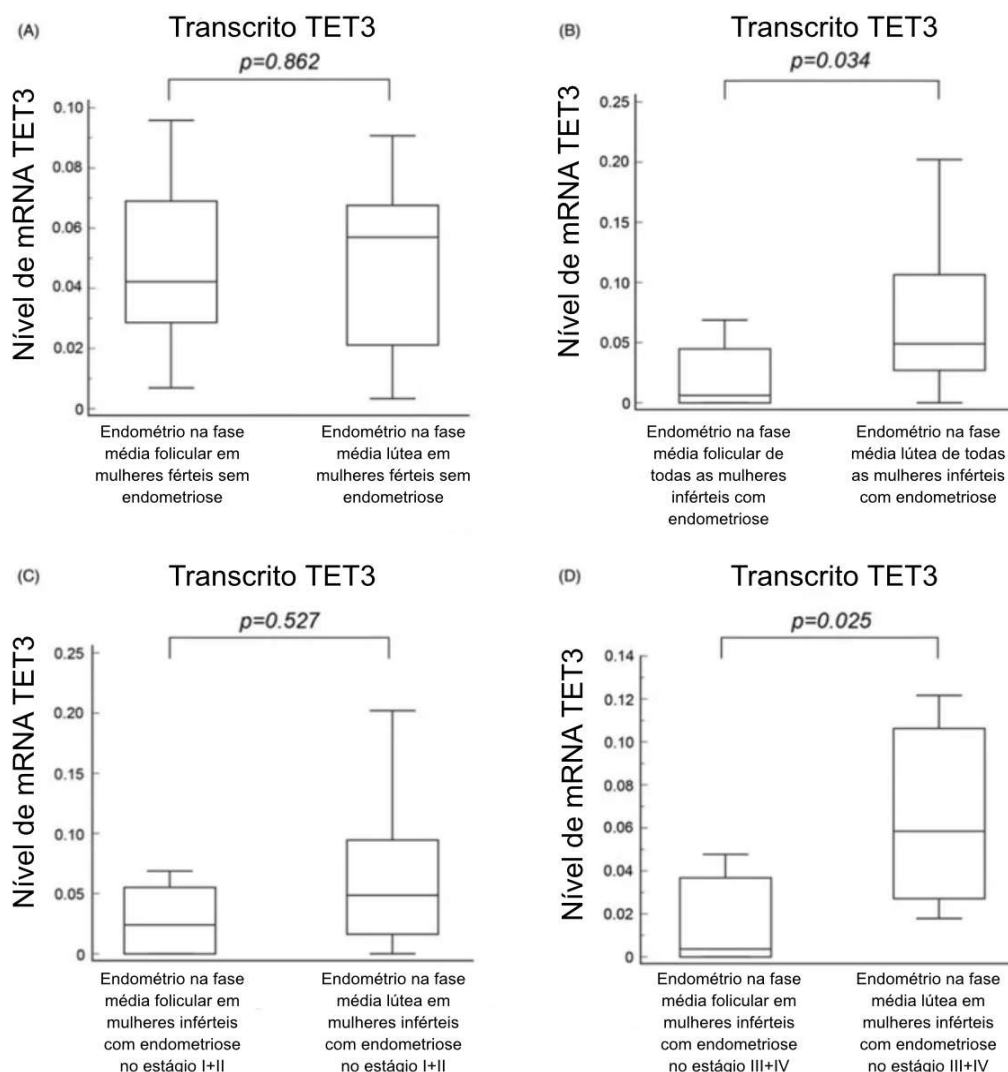
Em conjunto, esses resultados (especialmente a observação de que a regulação cíclica da TET3 está alterada em mulheres com endometriose) reforçam a hipótese de que a disfunção na regulação epigenética constitui um fator-chave na fisiopatologia da infertilidade associada à doença.

Figura 5: Comparação da expressão dos transcritos de TET2 e TET3 no endométrio eutópico de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose, em diferentes fases do ciclo menstrual.



Análise da expressão de TET2 e TET3 no endométrio eutópico, também nas fases médio-lútea e médio-folicular. Comparando mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose (estágios I/II e III/IV), observa-se que os níveis de transcritos de TET2 e TET3 encontram-se diminuídos nos grupos com endometriose, sugerindo uma alteração na regulação epigenética associada à doença.

Figura 6: Variação cíclica da expressão de TET3 no endométrio eutópico de mulheres férteis sem endometriose e mulheres inférteis com endometriose.



Comparação da expressão de TET3 entre as fases médio-folicular e médio-lútea, tanto em mulheres férteis sem endometriose quanto em mulheres inférteis com endometriose (estágios I/II e III/IV). Nos controles, há variação fisiológica da expressão de TET3 entre as fases, enquanto nas pacientes com endometriose essa regulação cíclica encontra-se alterada, indicando um possível desbalanço no mecanismo de controle epigenético relacionado ao ciclo menstrual.

Artigo 2: O microRNA22-5p tem como alvo a translocção dez-onze e regula a expressão do receptor de estrogênio 2 em mulheres inférteis com endometriose mínima/leve durante a janela de implantação.

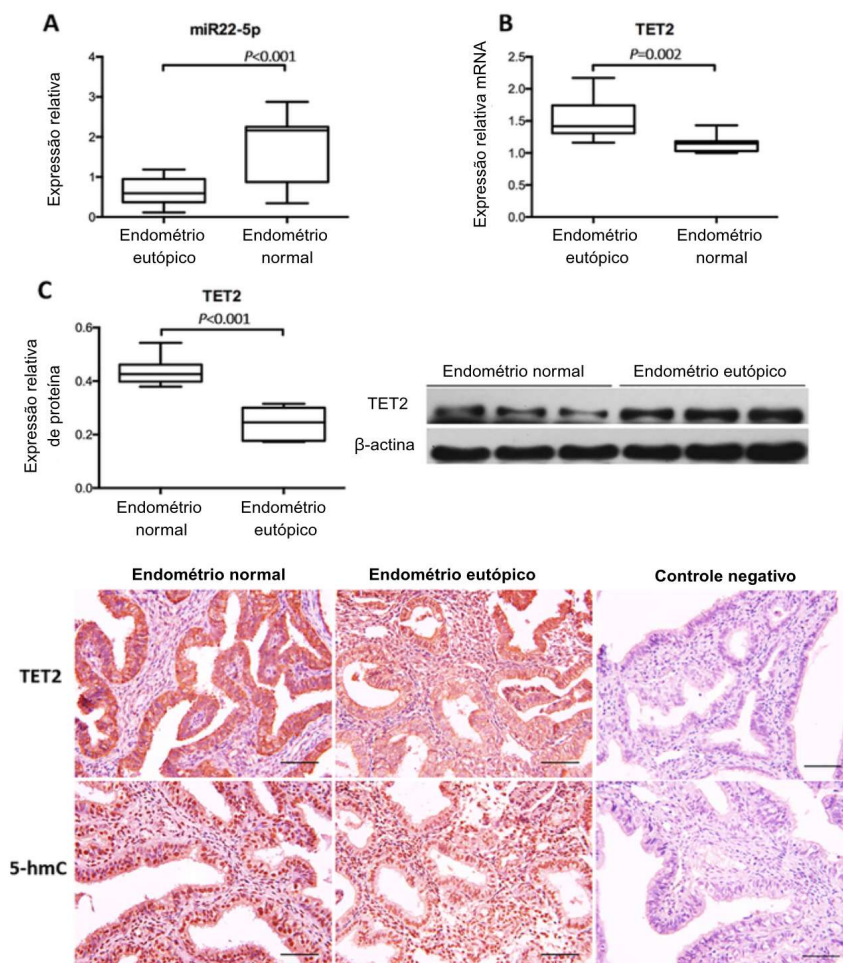
O material de *Xiao et al. (2020)* teve como objetivo investigar o papel do miR-22-5p, uma pequena molécula de RNA não codificante que regula a expressão gênica pós-transcricional, no endométrio eutópico em fase lútea média de mulheres inférteis com e sem endometriose mínima/leve (estágios I e II). O miR-22-5p foi selecionado a

partir de estudos preliminares do mesmo grupo, que identificaram uma série de microRNAs com expressão reduzida no endométrio de pacientes com endometriose, devido ao seu potencial efeito regulatório sobre a enzima TET2 e os receptores de estrogênio. Para isso, os autores utilizaram amostras de tecido endometrial e células estromais endometriais (ESCs) primárias obtidas de 50 pacientes voluntárias, sendo 24 mulheres inférteis sem patologia endometrial e 26 mulheres inférteis com diagnóstico laparoscópico e histológico de endometriose em estágios I e II, de acordo com o sistema de classificação revisado da American Fertility Society (rAFS). Foram excluídas da pesquisa participantes com adenomiose, leiomiomas, hiperplasia endometrial, tumores genitais, doença inflamatória pélvica aguda ou que estivessem sob tratamento hormonal nos três meses anteriores à coleta. Os tecidos endometriais da fase secretora foram então coletados e analisados histologicamente para confirmar a fase do ciclo e a integridade morfológica do endométrio.

O estudo analisou, inicialmente por RT-qPCR, 13 amostras de tecido endometrial de mulheres inférteis com endometriose mínima/ leve e 11 amostras de controle de mulheres férteis sem a doença. Observou-se uma relação inversamente proporcional entre a expressão de miR-22-5p e TET2 nos tecidos endometriais eutópicos das pacientes: o miR-22-5p apresentou expressão significativamente reduzida em comparação ao grupo controle (Figura 7A), enquanto o mRNA de TET2 mostrou aumento expressivo no grupo com endometriose (Figura 7B). A análise por Western blot, realizada com seis amostras do endométrio com endometriose mínima/ leve e cinco controles, confirmou o aumento significativo da proteína TET2 no endométrio com endometriose durante a fase secretora, quando comparado ao grupo controle (Figura 7C). Complementarmente, a imuno-histoquímica (IHC) revelou forte marcação nuclear e citoplasmática de TET2 nas células epiteliais e estromais do endométrio eutópico das mulheres com endometriose mínima/ leve. Em contrapartida, a expressão de 5-hmC, a base nitrogenada associada à atividade das proteínas TET, não apresentou diferenças entre os grupos, sendo fortemente expressa em ambos (Figura 7D).

Além da análise tecidual, os autores isolaram ESCs do endométrio eutópico de mulheres com endometriose mínima/leve (n = 3) e do endométrio normal de mulheres sem a doença (n = 3). As células foram cultivadas em meio DMEM/F12 (1:1) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), a 37°C, até atingirem confluência adequada para posterior manipulação experimental.

Figura 7: Expressão inversamente proporcional de miR-22-5p e TET2 em amostras de endométrio de mulheres inférteis com endometriose mínima/leve.

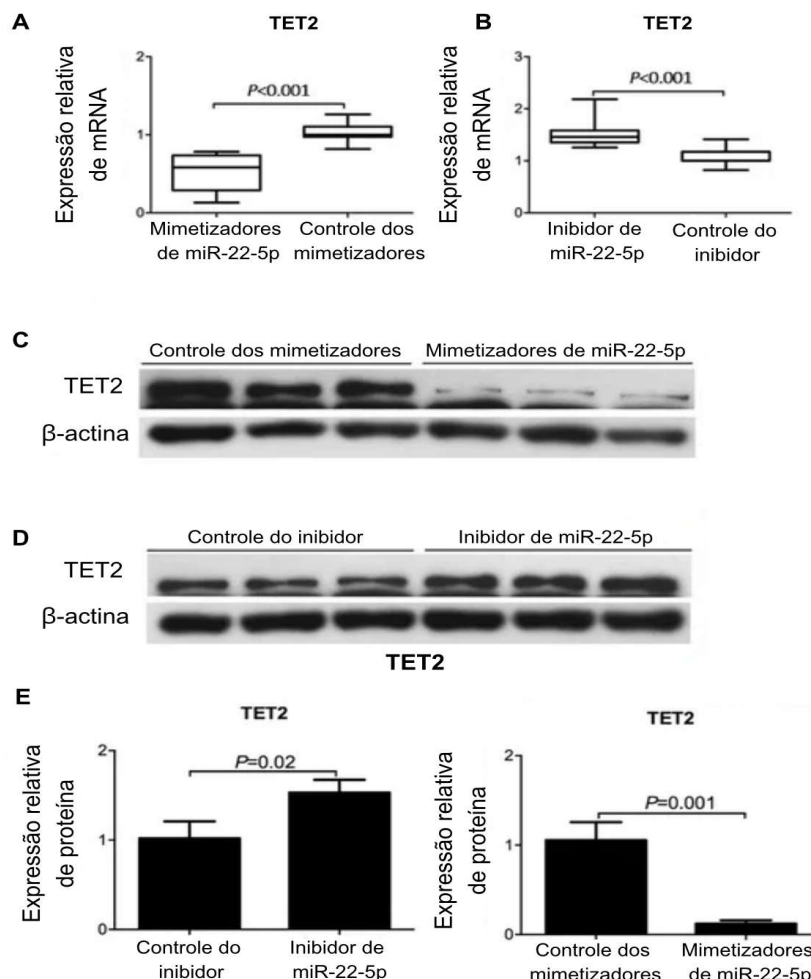


(A) miR-22-5p (RT-qPCR): Redução significativa da expressão de miR-22-5p no grupo com endometriose versus controle. (B) mRNA de TET2 (RT-qPCR): Aumento expressivo do mRNA de *TET2* no grupo com endometriose. (C) Proteína TET2 (Western blot): Maior expressão proteica de TET2 confirmada no endométrio eutópico das pacientes, especialmente na fase secretora. (D) TET2 e 5-hmC (IHC): Marcação intensa e ampla (nuclear e citoplasmática) de TET2 nas células endometriais, mas a expressão de 5-hidroximetilcitosina (5-hmC) permaneceu inalterada entre os grupos.

Para aprofundar a investigação do papel do miR-22-5p na expressão de TET2, realizaram experimentos de transfecção em ESCs utilizando mimetizadores e inibidores do microRNA (Figura 8). A transfecção foi realizada em células em confluência adequada (30–40%), utilizando reagentes comerciais específicos, e mantidas em cultura por 48 - 72h para permitir a modulação efetiva da expressão do miRNA. A transfecção com o mimetizador aumentou significativamente os níveis de miR-22-5p e resultou em redução dos níveis de mRNA (Figura 8A), avaliados por RT-qPCR, e de proteína de TET2 (Figura 8C e 8E), analisada por Western blot. Por outro lado, a transfecção com o inibidor diminuiu significativamente os níveis de miR-22-5p

e levou a aumentos nos níveis de mRNA (Figura 8B) e proteína de TET2 (Figura 8D e 8E).

Figura 8: A expressão de miR-22-5p regula TET2 em células do estroma endometrial primárias.

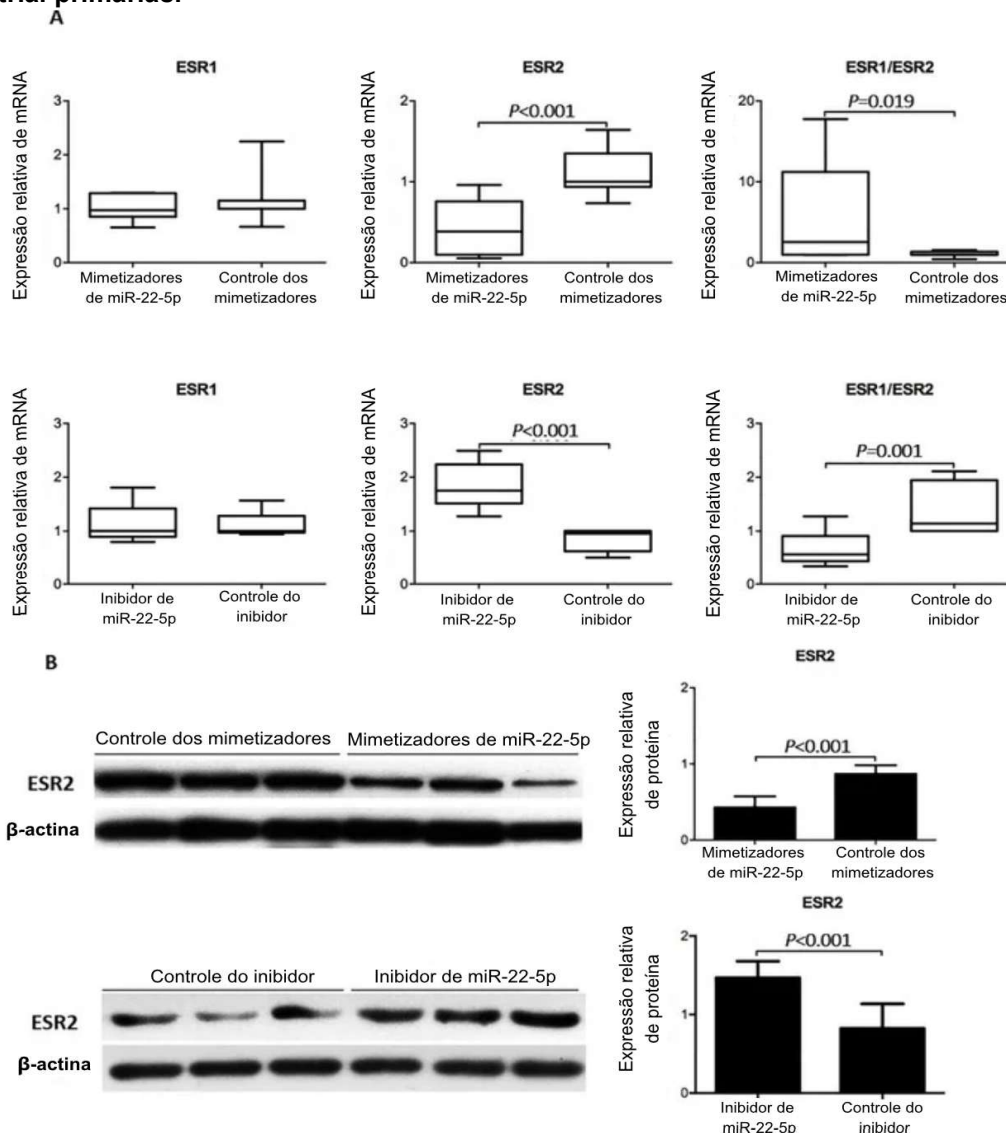


(A) mRNA de TET2 (RT-qPCR): Transfecção com mimetizador de miR22-5p reduziu significativamente os níveis de mRNA de TET2, enquanto o inibidor aumentou sua expressão. (B) TET2 (Western blot – mimetizador): Diminuição da proteína TET2 após transfecção com o mimetizador de miR22-5p em comparação ao controle. (C) TET2 (Western blot – inibidor): Aumento da proteína TET2 após transfecção com o inibidor de miR22-5p. (D) Expressão relativa de proteína (quantificação): Confirma a regulação inversa da TET2 pelo miR22-5p, redução proteica após mimetizador e aumento após inibidor.

Utilizando ESCs transfectadas com mimetizadores ou inibidores do miR-22-5p, investigou-se o efeito deste microRNA na expressão de ESR2 (Figura 9). A análise por RT-qPCR revelou que o mRNA de ESR2 foi significativamente reduzido após a transfecção com mimetizadores, enquanto o tratamento com o inibidor resultou em aumento significativo (Figura 9A). Em nível proteico, a expressão de ESR2 diminuiu nas células tratadas com mimetizadores e aumentou naquelas tratadas com o inibidor, conforme evidenciado pela análise de Western blot (Figura 9B). Não foram observadas

alterações na expressão de ESR1 em nenhum dos tratamentos. Consequentemente, a razão mRNA ESR1/ESR2 aumentou significativamente tanto com os mimetizadores quanto com o inibidor (Figura 9A).

Figura 9: miR-22-5p afeta a expressão ESR2, mas não de ESR1, em células do estroma endometrial primárias.



(A) mRNA de ESR1, ESR2 e razão ESR1/ESR2 (RT-qPCR): Transfecção com mimetizadores de miR22-5p reduziu significativamente o mRNA de ESR2, enquanto o inibidor aumentou sua expressão. O mRNA de ESR1 permanece inalterado em ambos os tratamentos. Como resultado, a razão ESR1/ESR2 aumentou significativamente tanto com mimetizadores quanto com o inibidor. (B) ESR2 (Western blot): Redução da proteína ESR2 após transfecção com mimetizadores e aumento após o tratamento com inibidor de miR22-5p, confirmando a regulação inversa exercida pelo microRNA sobre o ESR2.

Artigo 3: Macrófagos com superexpressão de TET3 promovem endometriose.

A pesquisa de *Lv et al.* (2024) busca elucidar a participação e o papel da proteína TET3 na modulação da inflamação em macrófagos no contexto da endometriose. Para isso, os pesquisadores testaram se a manipulação de TET3 poderia alterar a resposta inflamatória associada à doença. O estudo utilizou amostras de camundongos fêmeas com 7 a 8 semanas de idade, nos quais a endometriose foi induzida cirurgicamente. Os animais foram mantidos por mais de quatro semanas antes da avaliação, que incluiu a abertura da cavidade abdominal e a análise macroscópica e histológica das lesões. Além disso, foram utilizadas amostras humanas obtidas do Yale Pathology Tissue Services e do Nanjing Drum Tower Hospital. As amostras dos pacientes incluíram 15 mL de sangue de doadores voluntários, tecido de endométrio normal de cinco pacientes e lesões de endometriose intraperitoneal de sete pacientes.

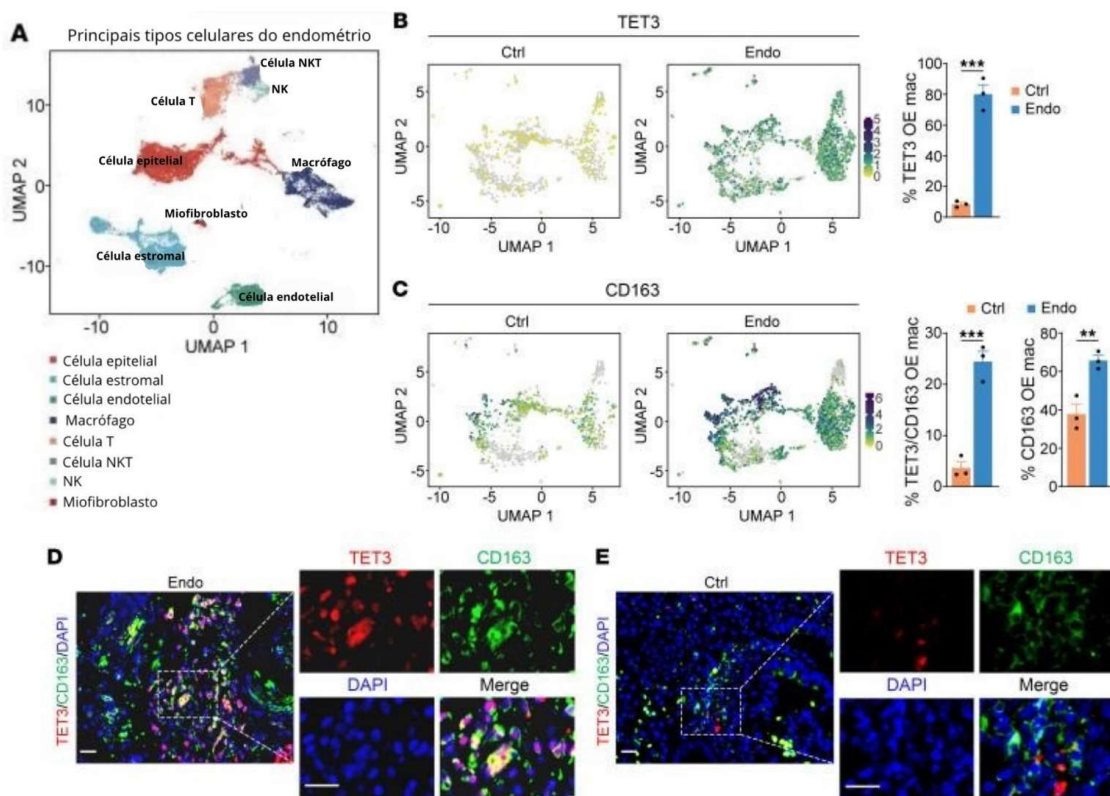
O estudo iniciou-se com a caracterização dos macrófagos endometriais em amostras de endométrio normal e de lesões endometrióticas peritoneais, ovarianas e retovaginais. Essa caracterização foi realizada por imunohistoquímica de fluorescência em amostras humanas, utilizando diversos marcadores: CD163, CD68, CD14, MRC1 e CD86, com o objetivo de distinguir subtipos celulares e estados funcionais. O marcador CD163, associado à polarização M2 (anti-inflamatória), foi detectado em ambas as condições, porém com maior abundância nas lesões endometrióticas, onde se observou um aumento aproximado de duas vezes no número de macrófagos CD163 positivo (CD163⁺) em relação ao grupo controle (Figura 10 C).

Após essa caracterização, a expressão da enzima epigenética TET3 foi investigada nesses subtipos. A especificidade do anticorpo anti-TET3 foi previamente confirmada por ensaio de knockdown em macrófagos derivados de monócitos humanos (MDMs), garantindo a confiabilidade da detecção nas amostras teciduais. O aumento da expressão de TET3 foi detectado tanto em células marcadas apenas por CD163 quanto naquelas identificadas pelo painel combinado de marcadores, o que reforça a consistência do padrão observado entre diferentes abordagens de marcação (Figura 10A e 10B).

Além disso, observou-se que os macrófagos TET3⁺ apresentavam padrão de distribuição heterogêneo nas diferentes lesões endometrióticas e entre pacientes (Figura 10D e 10E). Apesar disso, embora a expressão geral de TET3 estivesse aumentada nas lesões, o incremento mais significativo ocorreu na população de

macrófagos que coexpressavam TET3 e CD163, cuja frequência foi cerca de oito vezes maior em comparação ao endométrio normal (Figura 10C).

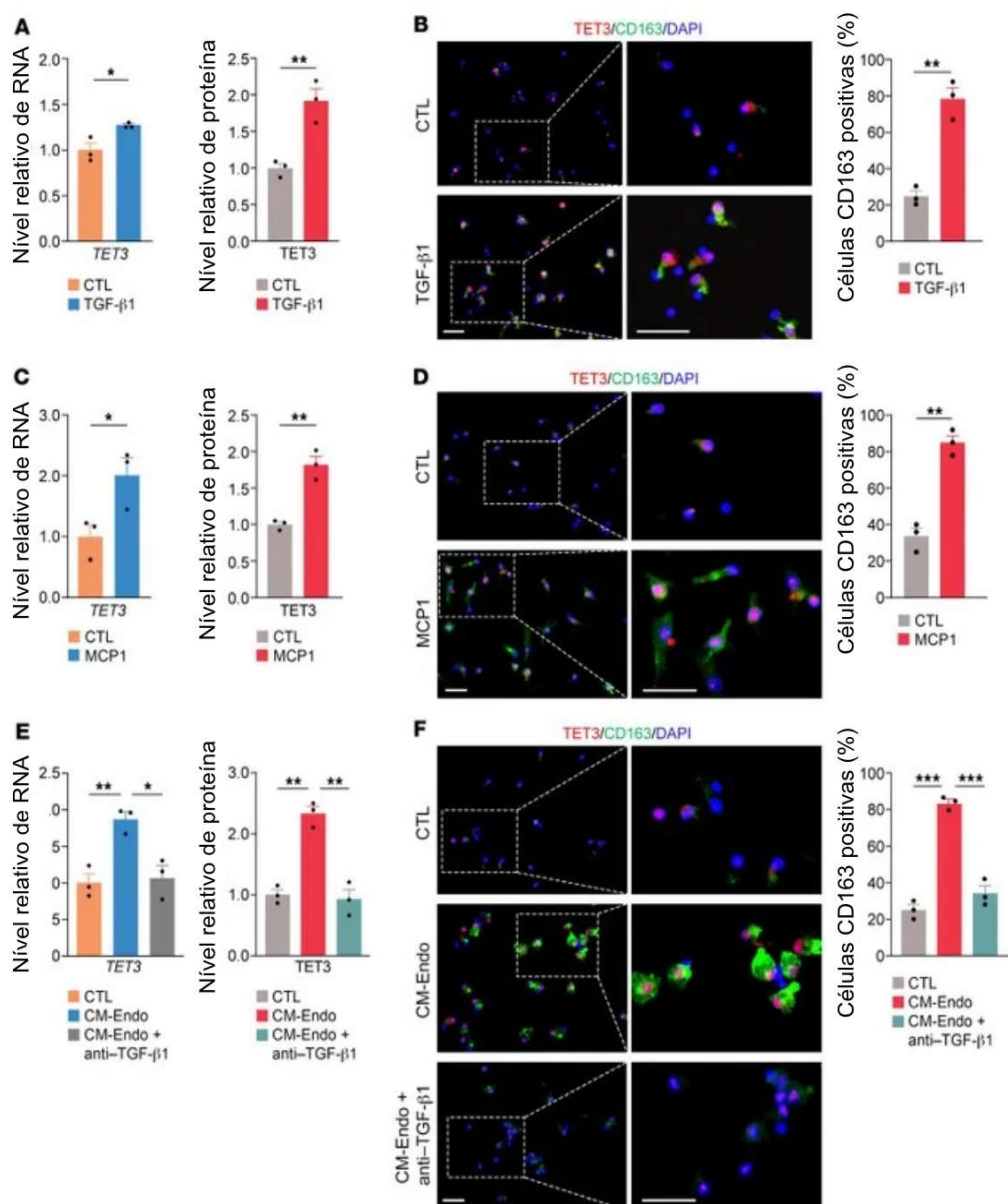
Figura 10: Caracterização e abundância de macrófagos com superexpressão de TET3 em lesões de endometriose humana.



(A) Distribuição das populações celulares de endométrio normal (Ctrl) e lesões de endometriose (Endo) em gráfico UMAP. (B) Expressão da proteína TET3 em macrófagos de amostras Ctrl e Endo, demonstrando a porcentagem de macrófagos com superexpressão de TET3 (TET3 OE) nas lesões. (C) Expressão do marcador CD163 nos macrófagos e as porcentagens de macrófagos com CD163 OE e com a coexpressão TET3/CD163 (duplo OE) em Ctrl e Endo. (D e E) Imagens representativas de Imunofluorescência mostrando a localização da TET3 (vermelho), do CD163 (verde) e dos núcleos (azul) em tecido endometrial normal (n=5) e tecido de endometriose humana (n=7). Fonte: Figuras adaptadas de Lv *et al.*, 2024.

Para investigar a modulação da expressão de TET3 no microambiente, ensaios *in vitro* foram realizados. Em MDMs induzidos por fator estimulador de colônias de Macrófagos (M-CSF), o fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) aumentou a expressão de TET3 (mRNA e proteína), acompanhado por um aumento no número de células CD163+ (Figura 11A e 11B).

Figura 11: A expressão de TET3 em macrófagos é induzida por mediadores inflamatórios e pelo microambiente da endometriose em MDMs.



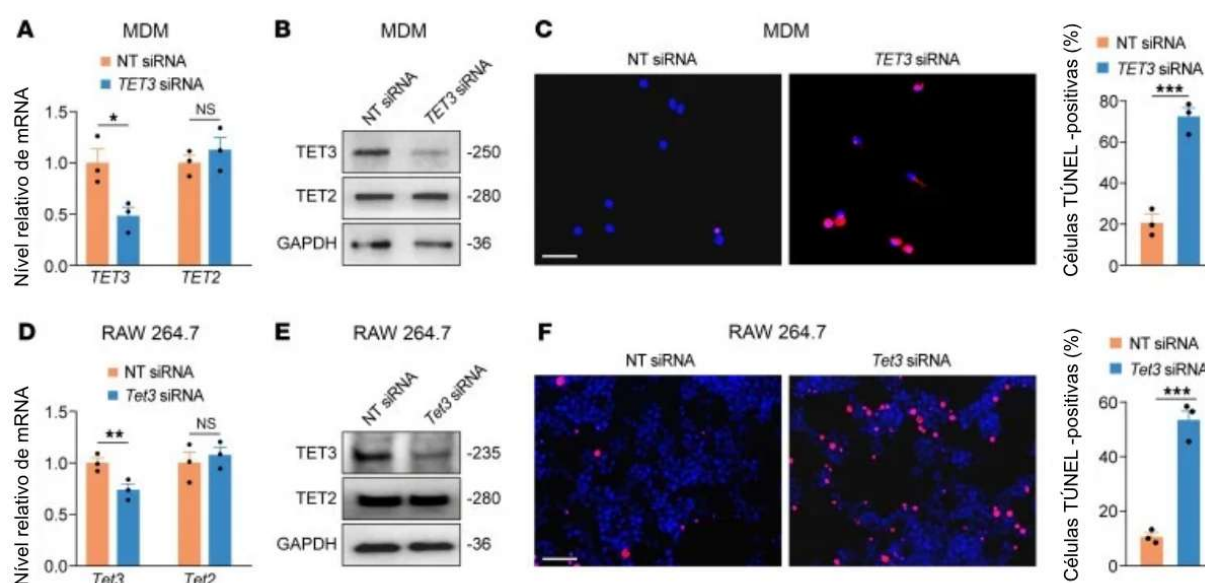
(A e B) Análise da expressão de TET3 em MDMs tratados com TGF- β 1 (10 ng/mL por 48 horas). Os gráficos mostram a quantificação de mRNA por qRT-PCR (A, esquerda) e a quantificação da proteína TET3 por IHC (MFI) (A, direita). B apresenta fotomicrografias representativas da imunocoloração de TET3 (vermelho) e CD163 (verde) nos MDMs. (C e D) Análise semelhante à anterior, mostrando a indução de TET3 (mRNA e proteína) após o tratamento de MDMs com MCP1 (200 ng/mL por 24 horas) (C). D exibe fotomicrografias representativas da imunocoloração. (E e F) Indução de TET3 e CD163 pelo meio condicionado de células estromais endometrióticas (CM-Endo) em MDMs. Os gráficos em E mostram que o aumento de TET3 é revertido pela adição de um anticorpo anti-TGF- β 1. F exibe as fotomicrografias de imunocoloração correspondentes. Fonte: Figuras adaptadas de Lv *et al.*, 2024.

Resultados semelhantes foram observados após incubação com proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP1) e polarização com Interleucina-4 (IL-4) (Figura 11C e 11D). A exposição ao meio condicionado de células estromais endometrióticas (CM-Endo) também aumentou TET3 e CD163+, efeito que foi atenuado quando um

anticorpo específico para TGF- β 1 foi utilizado (Figura 11E e 11F). Em contraste, o meio condicionado de células estromais endometriais humanas (HESC) não alterou a expressão de TET3 ou o número de células CD163+. De forma similar, em macrófagos peritoneais (PMs) isolados de camundongos saudáveis e cultivados *in vitro*, tanto TGF- β 1 quanto MCP1 aumentaram a expressão de TET3 e o número de células CD163+, e o CM-Endo provocou aumento de TET3 e CD163+ de maneira dependente de TGF- β 1.

Na sequência, para investigar a função de TET3 na viabilidade celular, a transfecção de siRNA específico para TET3 em MDMs reduziu a expressão de TET3 (mRNA e proteína), sem alterar a expressão de TET2 (Figura 12A e 12B). A redução de TET3 resultou em aumento de apoptose, efeito também observado em MDMs diferenciados com M-CSF + IL-4 (Figura 12C) e em linhagem celular de macrófagos murinos RAW 264.7 (Figura 12D, 12E e 12F).

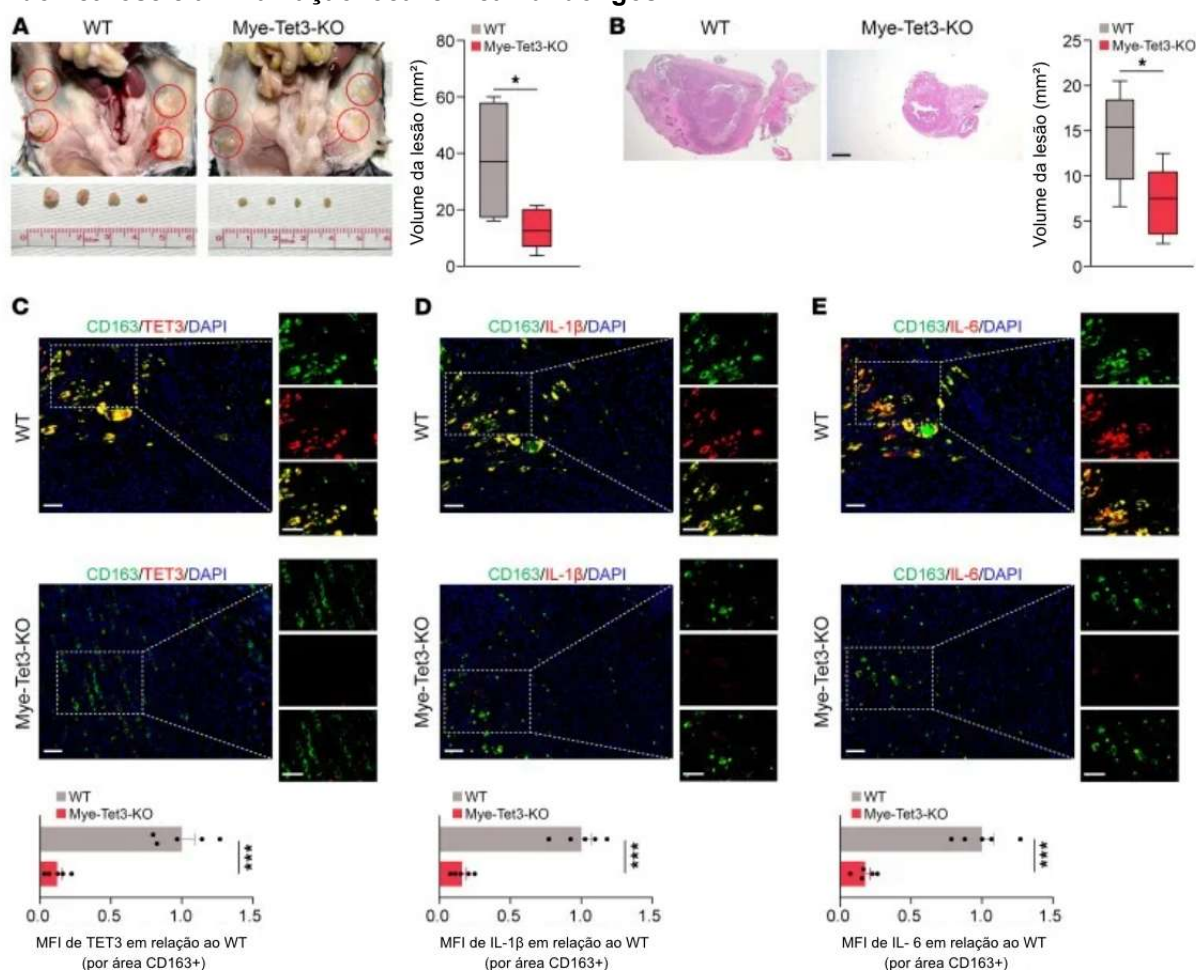
Figura 12: O knockdown de TET3 em macrófagos induz a apoptose.



(A a C) Análise em macrófagos derivados de monócitos humanos (MDMs) tratados com CM-Endo e transfetados com siRNA não direcionado (NT) ou siRNA de TET3: (A) Quantificação de mRNA de TET3 e TET2 por qRT-PCR, demonstrando a eficácia do knockdown de TET3 sem afetar TET2. (B) Imunoblots representativos confirmando a redução nos níveis da proteína TET3 após o knockdown. (C) Fotomicrografias representativas e análise estatística dos ensaios TUNEL+ (vermelho) indicando o aumento da apoptose. (D a F) Análise do knockdown de TET3 em macrófagos murinos RAW 264.7: (D e E) Quantificação de mRNA por qRT-PCR (D) e Imunoblots (E) confirmando a redução específica de TET3 (sem alterar TET2). (F) Fotomicrografias representativas e análise estatística dos ensaios TUNEL+ (vermelho) confirmando o aumento de apoptose nas células RAW 264.7 com knockdown de TET3. Fonte: Figuras adaptadas de Lv *et al.*, 2024.

No entanto, os camundongos deleção específica de TET3 em macrófagos (Mye-Tet3-KO) apresentaram redução significativa no volume das lesões endometrióticas, conforme verificado pela avaliação macroscópica (Figura 13A) e histológica (Figura 13B). A IHC revelou uma diminuição acentuada no número de macrófagos TET3-positivos e na expressão das citocinas pró-inflamatórias interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) nessas lesões (Figura 13C, 13D e 13E). Assim, o modelo Mye-Tet3-KO apresentou menor infiltração de macrófagos TET3 OE e redução da expressão local de mediadores inflamatórios.

Figura 13: A deleção de TET3 no compartimento mieloide (Mye-Tet3-KO) reduz a carga de endometriose e a inflamação local em camundongos.



A deleção de TET3 específica para o compartimento mieloide (Mye-Tet3-KO) em camundongos submetidos à indução cirúrgica da endometriose resultou em uma redução significativa no volume macroscópico das lesões (A). Essa redução foi confirmada pela análise histológica das lesões coradas por H&E (B). A análise de imunocoloração nas lesões demonstrou que os camundongos Mye-Tet3-KO apresentaram uma diminuição significativa na MFI de TET3 nos macrófagos CD163+ (C), bem como uma redução acentuada na expressão local e na MFI das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β (D) e IL-6 (E) em macrófagos CD163+. Fonte: Figuras adaptadas de Lv *et al.*, 2024.

4. DISCUSSÃO:

O presente trabalho teve como objetivo compreender como as proteínas TET participam da regulação epigenética do endométrio e de que forma suas alterações podem contribuir tanto para a infertilidade associada à endometriose quanto para a própria fisiopatogênese da doença.

Em condições normais, a TET1 atua na remoção de marcas de metilação em genes relacionados ao controle do ciclo celular, resposta imune e remodelação da matriz extracelular, processos essenciais para o equilíbrio do endométrio eutópico [Wu *et al.*, 2017]. Na endometriose, entretanto, a redução da TET1 leva à hipermetilação de genes supressores e à ativação anômala de genes pró-inflamatórios e pró-angiogênicos, criando um microambiente favorável à sobrevivência e invasão de células endometriais fora da cavidade uterina. Assim, a TET1 atua como um regulador epigenético central, cuja desregulação contribui tanto para a instalação da endometriose quanto para a infertilidade associada, integrando mecanismos inflamatórios, hormonais e epigenéticos em um mesmo eixo patológico.

Os estudos de Szczepańska *et al.* (2018) e Adamczyk *et al.* (2022b) apresentam convergências importantes, demonstrando redução significativa na expressão de TET1 durante a fase lútea em mulheres inférteis com endometriose. Essa diminuição parece estar associada à hipermetilação de genes essenciais para a receptividade endometrial, como *HOXA10*, *HOXA11* e *PR-B*, sugerindo um papel direto das proteínas TET na regulação epigenética da receptividade e na implantação embrionária [Wu *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2006; Szczepańska *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2007].

Em condições fisiológicas, o endométrio apresenta, antes da implantação, um estado pró-inflamatório controlado, caracterizado pela produção local de citocinas e quimiocinas que favorecem a adesão embrionária e o remodelamento tecidual. Após o contato com o embrião, ocorre um equilíbrio imune mediado pela progesterona e por fatores secretados pelo trofoblasto, que induzem mecanismos anti-inflamatórios e de tolerância materno-fetal.

Nas mulheres com endometriose, esse equilíbrio é rompido, pois o microambiente inflamatório das lesões endometrióticas soma-se à falha na modulação imune do endométrio, agravando a inflamação local. Essa condição é potencializada por alterações hormonais típicas do ciclo lúteo e do início da gestação, nas quais a

progesterona enfrenta resistência tecidual decorrente de um estado epigenético refratário. A hipermetilação do gene TET1 em amostras de endométrio secretor [Adamczyk *et al.*, 2022b] pode representar o evento inicial de um ciclo de retroalimentação negativa, no qual a baixa expressão de TET1 perpetua o desequilíbrio epigenético e a inflamação, explicando em parte a infertilidade associada à endometriose.

Embora Szczepańska *et al.* (2018) e Xiao *et al.* (2020) tenham analisado a expressão de TET2 em tecido endometrial humano, suas diferenças metodológicas permitem interpretações complementares. No estudo de Szczepańska *et al.* (2018), envolvendo mulheres com endometriose associada à infertilidade, observou-se redução significativa de TET2 na fase proliferativa em casos mais graves (graus III e IV), sugerindo que a expressão de TET2 está relacionada à progressão e gravidade da doença. Já Xiao *et al.* (2020), ao analisar mulheres com endometriose mínima ou leve (graus I e II), identificou aumento da expressão de TET2 correlacionado à redução do miR-22-5p durante a fase lútea/secretora.

Assim, os achados não são contraditórios, mas refletem contextos distintos: a TET2 é modulada tanto pela gravidade da doença quanto por mecanismos moleculares específicos, como a regulação por microRNAs. Além disso, o miR-22-5p influencia a expressão do ER2, essencial para a ação do estrogênio no endométrio. O estrogênio, por sua vez, tem papel fundamental na fase secretora, estimulando o crescimento, vascularização e maturação glandular do endométrio, preparando-o para a implantação [Lessey e Young, 2019].

Alterações na expressão do ER2 reduzem a sensibilidade endometrial ao estrogênio, mesmo quando seus níveis séricos estão adequados. Dessa forma, a redução da TET2 compromete a expressão de genes ligados à receptividade e implantação, enquanto a modulação do ER2 interfere diretamente na sinalização estrogênica, impactando tanto a receptividade endometrial quanto a fisiopatologia da endometriose.

Aprofundando o papel da TET2, sua deficiência mantém genes inflamatórios e pró-fibróticos em estado anômalo de ativação ou metilação, favorecendo a persistência da inflamação e da fibrose. A TET2 exerce papel essencial na modulação da identidade celular, regulando a autorrenovação e a diferenciação de macrófagos, linfócitos T e células-tronco hematopoéticas. A alteração do fenótipo dos macrófagos, por exemplo,

leva a um perfil disfuncional, com coexistência de características M1 (pró-inflamatórias) e M2 (pró-fibróticas).

Essa desregulação resulta na secreção exacerbada de fatores de crescimento e citocinas, como IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β e PDGF, que ativam fibroblastos e células estromais, estimulando a deposição de matriz extracelular. O excesso de colágeno e fibronectina provoca espessamento, aderências e rigidez tecidual, características típicas das lesões endometrióticas profundas [Cull *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2020].

Além de regular vias inflamatórias, a TET2 também atua na modulação de genes antioxidantes, como *SOD2*, *CAT*, *GPX1* e *NFE2L2 (NRF2)*, favorecendo o equilíbrio redox celular [Guo *et al.*, 2017]. Embora essa função ainda não tenha sido comprovada no endométrio humano, é plausível que mecanismos semelhantes ocorram, considerando a estreita relação entre inflamação, estresse oxidativo e remodelamento tecidual na endometriose.

Quando a TET2 está reduzida, esses genes antioxidantes tornam-se hipermetilados e menos expressos, diminuindo a capacidade celular de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS). Consequentemente, há aumento da atividade de vias pró-inflamatórias, como fator nuclear potenciador de cadeia leve de células B (NF- κ B) e inflamassoma com receptor semelhante ao NOD com domínio pirina 3 (NLRP3), que intensificam a produção de ROS durante a resposta imune.

Macrófagos ativados cronicamente secretam citocinas e fatores de crescimento que amplificam a ativação de fibroblastos e células estromais — ambos produtores de ROS durante a síntese de matriz extracelular. Além disso, os próprios macrófagos geram ROS via NADPH oxidase e mitocôndrias, reforçando o ciclo de estresse oxidativo. O excesso de ROS reativa NF- κ B e TGF- β , criando um ciclo autossustentável de inflamação, estresse oxidativo e fibrose [Gerecke *et al.*, 2022].

Tradicionalmente, a literatura sobre modulação epigenética em células mieloides focou na TET2, dada sua importância na diferenciação e polarização macrofágica — especialmente na transição entre perfis M1 e M2. No entanto, evidências recentes indicam que outras isoformas da família TET, em especial a TET3, também exercem papéis relevantes nesse contexto.

O estudo de Lv *et al.* (2024) demonstrou que a superexpressão de TET3 em macrófagos CD163⁺ é induzida por citocinas inflamatórias, como TGF- β 1 e MCP-1, promovendo a ativação de genes pró-inflamatórios e a manutenção do microambiente endometriótico. Essa estimulação contínua desencadeia uma reprogramação

fenotípica intensa, na qual os macrófagos perdem marcadores de linhagem e adquirem um perfil funcional alterado, independentemente de sua origem embrionária ou monocítica. A plasticidade induzida pela inflamação reforça o papel do microambiente na modulação epigenética das células imunes [Hogg *et al.*, 2018; Jayakumar *et al.*, 2022; Tan *et al.*, 2022].

A superexpressão de TET3 também estimula a polarização M2 e o aumento da expressão de genes associados a esse fenótipo, possivelmente por desmetilação de promotores regulatórios, embora os níveis de metilação não tenham sido diretamente avaliados. Essa modulação epigenética em macrófagos favorece um ambiente inflamatório persistente e pró-fibrótico, que sustenta processos de remodelamento tecidual e angiogênese. Em contrapartida, o bloqueio de TET3 reduziu a expressão de mediadores inflamatórios e o crescimento de lesões endometrióticas em modelo experimental, indicando um papel funcional direto na progressão da doença.

A função da TET3, entretanto, não se restringe aos macrófagos. Szczepańska *et al.* (2018) ampliaram sua investigação para as três isoformas da família TET e identificaram um aumento anômalo da TET3 no endométrio eutópico durante a fase lútea, especialmente em casos avançados. Esse aumento pode estar relacionado à hipometilação de genes dependentes de estrogênio, como *SF-1*, *CYP19* e *ESR2*, potencialmente intensificando a atividade estrogênica e comprometendo a receptividade endometrial, além de favorecer a progressão da endometriose [Xue *et al.*, 2007a; Xue *et al.*, 2007b; Izawa *et al.*, 2011]. Dessa forma, a TET3 reflete um padrão de desregulação cíclica semelhante ao observado nas demais isoformas da família.

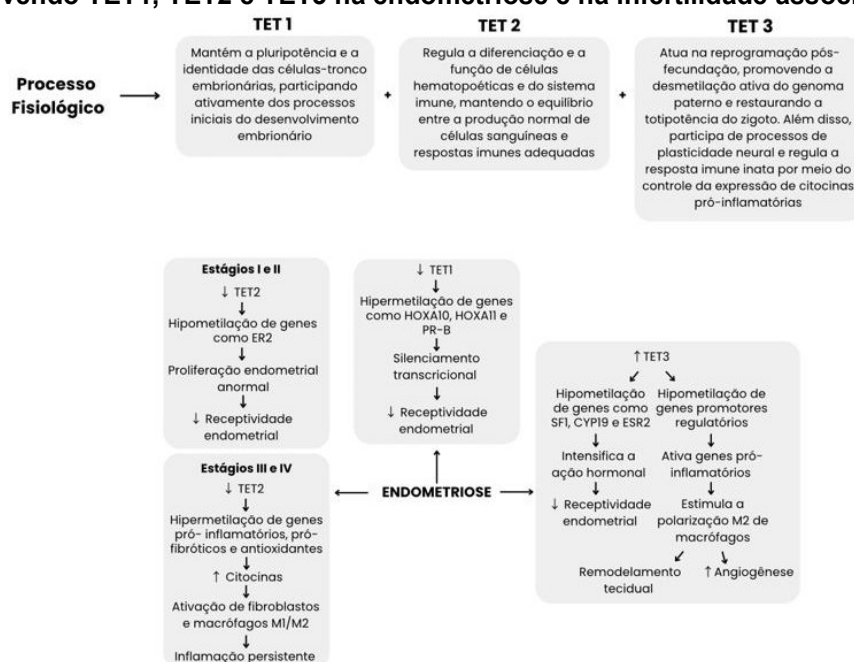
Apesar dos avanços, é necessário reconhecer limitações metodológicas nos estudos analisados. Em Szczepańska *et al.* (2018), as análises foram realizadas em amostras teciduais sem separação precisa entre compartimentos endometriais, dificultando a identificação de efeitos específicos em tipos celulares distintos. No estudo de Lv *et al.* (2024), a principal limitação foi o uso da cepa LysM-Cre para gerar camundongos Tet3-KO específicos para células mieloides, pois, embora amplamente empregada, essa abordagem não garante exclusividade para macrófagos — o promotor LysM também é ativo em granulócitos e células dendríticas. Assim, os efeitos observados podem refletir a contribuição combinada de múltiplos subtipos mieloides.

Além disso, os modelos murinos apresentam restrições inerentes às diferenças entre o ciclo estral e o ciclo menstrual humano, o que dificulta a extrapolação direta

para o contexto clínico. Contudo, o uso de amostras humanas obtidas por histeroscopia e sangue periférico fortalece a relevância translacional dos achados, minimizando parcialmente essas limitações.

De forma mais ampla, observa-se que poucos estudos integraram a análise das TETs com outros reguladores epigenéticos, como DNMTs e HDACs, o que limita a compreensão das redes moleculares envolvidas. Embora *Xiao et al.* (2020) tenham minimizado o impacto hormonal utilizando culturas *in vitro* de células estromais endometriais, nos demais trabalhos, a interpretação dos dados pode ter sido afetada pela variabilidade individual entre pacientes e pela ausência de controle dos níveis hormonais circulantes, fatores que influenciam diretamente a expressão gênica nas diferentes fases do ciclo menstrual.

Figura 14: Síntese de mecanismos regulatórios, principalmente relacionados a metilação do DNA, envolvendo TET1, TET2 e TET3 na endometriose e na infertilidade associada.



Representação esquemática dos principais mecanismos moleculares abordados neste TCC, integrando a atuação das proteínas TET1, TET2 e TET3 e sua relação com alterações regulatórias associadas à endometriose e à infertilidade. Fonte: Esquema autoral.

Os efeitos da endometriose sobre a infertilidade e sobre a inflamação endometrial parecem decorrer da desregulação conjunta das três isoformas TET (TET1, TET2 e TET3), e não da alteração isolada de apenas uma delas. A TET1 regula genes relacionados à receptividade endometrial e à resposta à progesterona, a TET2 modula a função imune, o equilíbrio redox e a secreção de citocinas pró-inflamatórias,

e a TET3 influencia a polarização de macrófagos e a expressão de genes estrogênio-dependentes (Figura 14).

Embora exista certa redundância funcional entre as isoformas, a modulação isolada de uma única TET provavelmente tem efeito limitado, pois não corrige os desequilíbrios epigenéticos provocados pelas demais. Dessa forma, estratégias terapêuticas que restaurem o equilíbrio coordenado entre TET1, TET2 e TET3 podem ter maior potencial para normalizar padrões epigenéticos, reduzir a inflamação e melhorar a receptividade endometrial em mulheres com endometriose.

Ainda assim, o aprofundamento do papel das proteínas TET na regulação epigenética e na modulação da resposta inflamatória abre perspectivas promissoras para novas abordagens terapêuticas. A regulação hormonal dessas proteínas também apresenta relevância translacional, já que a progesterona induz a expressão de TET1, TET2 e TET3 em células epiteliais endometriais [Retis-Resendiz *et al.*, 2021], enquanto a combinação de estradiol e progesterona aumenta a expressão de TET3 [Linowiecka *et al.*, 2024], e o estradiol isolado estimula TET1 em células estromais [Adamczyk *et al.*, 2025].

Esses achados sugerem que o ambiente hormonal influencia diretamente o equilíbrio epigenético do endométrio, modulando a atividade das TETs de forma isoforma- e célula-específica. Embora a maior parte dos dados terapêuticos provenha de modelos experimentais, essas evidências fornecem base racional para futuros estudos translacionais e clínicos, nos quais a regulação das TETs possa se tornar uma estratégia complementar para restaurar o equilíbrio epigenético e melhorar o fenótipo endometrial.

Na prática clínica, abordagens hormonais já são amplamente utilizadas tanto no controle da endometriose quanto na preparação endometrial para reprodução assistida. No entanto, seu uso visando especificamente a modulação das TETs exigiria uma abordagem personalizada, considerando variáveis como fase do ciclo menstrual, gravidade da doença, perfil hormonal basal e responsividade tecidual.

Um desafio adicional seria promover um estímulo hormonal coordenado capaz de restaurar, ao menos parcialmente, a expressão das TETs sem induzir efeitos sistêmicos adversos decorrentes de altas doses hormonais. Futuras investigações poderão esclarecer se a manipulação controlada do eixo hormonal é capaz de romper o ciclo de retroalimentação negativa que mantém a baixa atividade das TETs no

endométrio comprometido, abrindo novas perspectivas terapêuticas na interface entre epigenética e fisiologia reprodutiva.

5. CONCLUSÃO:

A realização desta revisão narrativa da literatura alcançou seu objetivo central ao investigar, de forma integrada e crítica, o papel dos mecanismos epigenéticos — com ênfase nas proteínas TET — na manutenção da endometriose e da infertilidade associada. A análise dos estudos selecionados permitiu construir uma narrativa coesa e consistente, que não apenas descreve alterações moleculares, mas estabelece conexões fundamentais entre a desregulação epigenética e a fisiopatologia da doença.

Os resultados compilados demonstram que as proteínas TET1, TET2 e TET3 atuam de maneira interdependente e complementar, orquestrando diferentes aspectos da patogênese da endometriose. A redução da TET1 está associada à perda da expressão de genes envolvidos na receptividade endometrial e na diferenciação decidual, contribuindo para um microambiente menos favorável à implantação. A diminuição da TET2 compromete a transcrição de genes antioxidantes e moduladores inflamatórios, alterando a polarização celular e favorecendo um estado persistente de estresse oxidativo, inflamação e ativação de vias pró-fibróticas, o que mantém o microambiente endometrial em desequilíbrio. A TET3, por sua vez, apresenta papel dinâmico durante a regeneração endometrial e na resposta hormonal, sendo essencial para a plasticidade celular e a adaptação cíclica do tecido; além disso, sua superexpressão em macrófagos sustenta um estado inflamatório crônico e favorece a progressão das lesões.

Essas evidências reforçam que a infertilidade associada à endometriose resulta não apenas de fatores hormonais ou anatômicos, mas de um desequilíbrio epigenético que afeta múltiplas vias celulares e moleculares. A interação entre as proteínas TET, citocinas inflamatórias e genes modulados por hormônios sexuais compõe uma rede regulatória complexa, cuja disfunção compromete a receptividade endometrial e o equilíbrio imunológico local. O perfil epigenético mediado pelas TETs, portanto, pode representar o elo entre a inflamação crônica e a falha de implantação embrionária.

A elucidação completa dessa rede regulatória poderá ampliar o entendimento sobre os mecanismos epigenéticos da infertilidade e abrir novas perspectivas para terapias mais específicas e eficazes. Ainda assim, são necessários estudos que

integrem análises epigenômicas, transcriptômicas e hormonais, conduzidos em diferentes fases do ciclo menstrual e em modelos celulares e animais que reproduzam mais fielmente o endométrio humano.

6. REFERÊNCIAS:

ABEGUNDE, S. O. *et al.* An inflammatory environment containing TNF α favors Tet2-mutant clonal hematopoiesis. *Experimental Hematology*, v. 59, p. 60–65, jan. 2018. Disponível em: [https://www.exphem.org/article/S0301-472X\(17\)30898-6/fulltext](https://www.exphem.org/article/S0301-472X(17)30898-6/fulltext). Acesso em: 21 ago. 2025.

ADAMCZYK, M. *et al.* Assessment of TET1 gene expression, DNA methylation and H3K27me3 level of its promoter region in eutopic endometrium of women with endometriosis and infertility. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 150, p. 112989, 2022a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222200378X?via%3Dihub>. Acesso em: 16 set. 2025.

ADAMCZYK, M.; WENDER-OZEGOWSKA, E.; KEDZIA, M. Epigenetic Factors in Eutopic Endometrium in Women with Endometriosis and Infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022b. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8998720/>. Acesso em: 15 fev. 2025.

ADAMCZYK, M. *et al.* H3K27me3-mediated epigenetic regulation of TET1 in the eutopic endometrium of women with endometriosis and infertility. *Scientific Reports*, [s.l.], v. 15, n. 1, art. e13618, 10 ago. 2025. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-13618-8>. Acesso em: 26 out. 2025.

ALIMI, Y. *et al.* Clinical anatomy of endometriosis: a review. *Cureus*, San Francisco, v. 10, n. 9, p. e3361, 25 set. 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6257623/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and Sterility*, Birmingham, Alabama, v. 67, n. 5, p. 817–821, May 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9130884/>. Acesso em: 13 out. 2025.

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE (ASRM). *Definition of infertility: a committee opinion*. Washington, D.C.: ASRM Practice Committee, 2023. Disponível em: <https://www.asrm.org/practice-guidance/practice-committee-documents/definition-of-infertility/>. Acesso em: 17 out. 2025.

ANGELONI, A.; BOGDANOVIĆ, O. Sequence determinants, function, and evolution of CpG islands. *Biochemical Society Transactions*, v. 49, n. 3, p. 1109–1119, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8286816/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

BAGCI, H.; FISHER, A. G. DNA Demethylation in Pluripotency and Reprogramming: The Role of Tet Proteins and Cell Division. *Cell Stem Cell*, v. 13, n. 3, p. 265–269, 2017. Disponível em: [https://www.cell.com/cell-stem-cell/fulltext/S1934-5909\(13\)00368-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1934590913003688%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-stem-cell/fulltext/S1934-5909(13)00368-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1934590913003688%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 3 jun. 2025.

BAYLIN, S. B.; BELINSKY, S. A.; HERMAN, J. G. Aberrant methylation of gene promoters in cancer--- concepts, misconcepts, and promise. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 92, n. 18, p. 1460–1461, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10995795/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

BHUTANI, N.; BURNS, D. M.; BLAU, H. M. DNA demethylation dynamics. *Cell*, v. 146, n. 6, p. 866–872, 16 set. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21925312/>. Acesso em: 20 ago. 2025.

CHANTALAT, E. *et al.* Estrogen receptors and endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 21, n. 8, p. 2815, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7215544/>. Acesso em: 28 out. 2025.

CHEN, L.-H. *et al.* A Lifelong Impact on Endometriosis: Pathophysiology and Pharmacological Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 8, p. 7503, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10139092/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

CULL, A. H. *et al.* Tet2 restrains inflammatory gene expression in macrophages. *Experimental Hematology*, Amsterdam, v. 55, p. 56–70.e13, nov. 2017. Disponível em: [https://www.exphem.org/article/S0301-472X\(17\)30716-6/fulltext](https://www.exphem.org/article/S0301-472X(17)30716-6/fulltext). Acesso em: 27 out. 2025.

DEATON, A. M.; BIRD, A. CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & Development*, v. 25, n. 10, p. 1010–1022, 15 maio 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3093116/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

DIROU, C. *et al.* Association of preoperative Enzian score with postoperative fertility in patients with deep pelvic endometriosis. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, Volume 51, Issue 7, September 2022, 102408. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784722000915?via%3Dihub>. Acesso em: 13 out. 2025.

DUCREUX, B. *et al.* Systematic review on the DNA methylation role in endometriosis: current evidence and perspectives. *Clinical Epigenetics*, v. 17, n. 32, 2025. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11846336/>. Acesso em: 3 jun. 2025.

ESKENAZI, B.; WARNER, M. L. Epidemiology of endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, v. 24, n. 2, p. 235–258, jun. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889854505703028?via%3Dihub>. Acesso em: 13 mar. 2025.

GERECKE, C *et al.* The Role of Ten-Eleven Translocation Proteins in Inflammation. *Frontiers in Immunology*, Lausanne, v. 13, p. 861351, 21 mar. 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.861351/full>. Acesso em: 27 out. 2025.

GREENBERG, M. V. C.; BOURC'HIS, D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 20, n. 10, p. 590–607, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41580-019-0159-6>. Acesso em: 15 ago. 2025.

GU, T. P. *et al.* The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature*, v. 477, n. 7366, p. 606–610, set. 2011. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature10443>. Acesso em: 12 out. 2025.

GUO, S.-W. Epigenetics of endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, v. 15, n. 10, p. 587–607, out. 2009. Disponível em: <https://academic.oup.com/molehr/article-abstract/15/10/587/1091964?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 13 mar. 2025.

GUO, S. *et al.* The protective role of TET2 in erythroid iron homeostasis against oxidative stress and erythropoiesis. *Cellular Signalling*, Cambridge, v. 38, p. 106–115, Oct. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0898656817301808?via%3Dihub>. Acesso em: 27 out. 2025.

HE, Y. F. *et al.* Tet-Mediated Formation of 5-Carboxylcytosine and Its Excision by TDG in Mammalian DNA. *Science*, v. 333, n. 6047, p. 1303–1307, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3462231/>. Acesso em: 21 ago. 2025.

HOGG, C. *et al.* Macrophages inhibit and enhance endometriosis depending on their origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 118, n. 6, p. e2013776118, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8017702/>. Acesso em: 4 out. 2025.

HOSSEINI, E. *et al.* Epigenetic alterations of the *CYP19A1* gene in cumulus cells and its relevance to infertility in endometriosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, v. 33, n. 8, p. 1105–1113, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4974225/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

ITO, S. *et al.* Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal, and inner cell mass specification. *Nature*, v. 466, n. 7310, p. 1129–1133, 2010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3491567/>. Acesso em: 21 ago. 2025.

ITO, S. *et al.* Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*, v. 333, n. 6047, p. 1300–1303, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3495246/>. Acesso em: 21 ago. 2025.

IZAWA, M. *et al.* Demethylation of a non-promoter cytosine-phosphate-guanine island in the aromatase gene may cause the aberrant up-regulation in endometriotic tissues. *Fertility and Sterility*, v. 95, n. 1, p. 33–39, 2011. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(10\)00956-8/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(10)00956-8/fulltext). Acesso em: 26 ago. 2025.

JAYAKUMAR, P. *et al.* GATA6(+) peritoneal resident macrophage: the immune custodian in the peritoneal cavity. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, p. 866993, 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8984154/>. Acesso em: 4 out. 2025.

JONES, P. A.; BAYLIN, S. B. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Reviews Genetics*, v. 3, n. 6, p. 415–428, 2002. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg816>. Acesso em: 15 ago. 2025.

JOHNSON, N. P. *et al.* World Endometriosis Society consensus on the classification of endometriosis. *Reproduction*, Oxford, v. 32, n. 2, p. 315–324, 1 fev. 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/humrep/article/32/2/315/2631390?login=true>. Acesso em: 17 out. 2025.

KUNIMOTO, H. *et al.* Cooperative epigenetic remodeling by TET2 loss and NRAS mutation drives myeloid transformation and MEK inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*, v. 33, n. 1, p. 104–118.e6, jan. 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5760367/>. Acesso em: 12 out. 2025.

LEE, B.; DU, H.; TAYLOR, H. S. Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and alteration of gene expression in eutopic endometrium. *Biology of Reproduction*, v. 80, n. 1, p. 79–85, 2009. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2804809/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

LESSEY, B. A.; YOUNG, S. L. What exactly is endometrial receptivity? *Fertility and Sterility*, [s.l.], v. 111, n. 4, p. 611–617, Apr. 2019. Disponível em: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(19\)30120-7/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(19)30120-7/fulltext). Acesso em: 26 out. 2025.

LI, S.; TOLLEFSBOL, T. O. DNA methylation methods: global DNA methylation and methylomic analyses. *Methods*, v. 187, p. 28–43, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7914139/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

LINOWIECKA, K. *et al.* Selective Estrogen Receptor Modulators' (SERMs) influence on TET3 expression in breast cancer cell lines with distinct biological subtypes. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 25, n. 16, p. 8561, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11354732/>. Acesso em: 26 out. 2025.

LV, H. *et al.* TET3-overexpressing macrophages promote endometriosis. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 134, n. 21, e181839, nov. 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11527447/>. Acesso em: 13 mar. 2025.

MAHMOUD, A. M.; ALI, M. M. Methyl donor micronutrients modulate DNA methylation and cancer outcome. *Nutrients*, v. 11, n. 3, p. 608, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30871166/>. Acesso em: 3 jun. 2025.

MESSINIS, I. E.; MESSINI, C. I.; DAFOPOULOS, K. Novel aspects of the endocrinology of the menstrual cycle. *Biomedicina Reprodutiva Online*, Jun/2014, vol. 28, n. 6, p. 714-722. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1472648314001175?via%3Dihub>. Acesso em: 17 out. 2025.

MIROSHNIKOVA, Y. A. *et al.* Epigenetic gene regulation, chromatin structure, and force-induced chromatin remodeling in epidermal development and homeostasis. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2019. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8259782/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

MOAWAD, G. *et al.* Adenomyosis: An Updated Review on Diagnosis and Classification. *Journal of Clinical Medicine*, Basel, v. 12, n. 14, p. 4828, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/12/14/4828>. Acesso em: 13 out. 2025.

MOORE, L. D. *et al.* DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, v. 38, n. 1, p. 23–38, 2013. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3521964/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

OCHOA BERNAL, M. A.; FAZLEABAS, A. T. The known, the unknown, and the future of endometriosis pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 11, p. 5815, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11172035/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Endometriose*. OMS, Genebra, 15 out. 2025. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/endometriosis>. Acesso em: 17 out. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Infertility: key facts*. Genebra: OMS, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>. Acesso em: 25 ago. 2025.

PARO, R. *et al.* Chromatin biology. In: *Introduction to Epigenetics*. Cham (CH): Springer International Publishing, p. 1–28, 2021. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-68670-3_1. Acesso em: 15 ago. 2025.

RETIS-RESENDIZ, A. M. *et al.* The role of epigenetic mechanisms in the regulation of gene expression in the cyclical endometrium. *Clinical Epigenetics*, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8146649/>. Acesso em: 26 out. 2025.

SARKAR, D. *et al.* Epigenetic regulation in human melanoma: past and future. *Epigenetics*, v. 10, n. 2, p. 103–121, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4622872/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

SHEN, L. *et al.* Mechanism and function of oxidative reversal of DNA and RNA methylation. *Annual Review of Biochemistry*, v. 83, p. 585–614, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4786441/>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SZCZEPAŃSKA, M. *et al.* Alternating expression of ten-eleven translocation 1, 2, and 3 in the eutopic endometrium of women with endometriosis-associated infertility. *Gynecological Endocrinology*, v. 34, n. 12, p. 1084–1090, dez. 2018. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/09513590.2018.1490403?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 13 mar. 2025.

SZCZEPAŃSKA, M. *et al.* Expression of HOXA11 in the mid-luteal endometrium from women with endometriosis-associated infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v. 10, p. 1, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3275521/>. Acesso em: 26 ago. 2025.

TAN, Y. *et al.* Single-cell analysis of endometriosis reveals a coordinated transcriptional programme driving immunotolerance and angiogenesis across eutopic and ectopic tissues. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(8):1306–1318. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9901845/>. Acesso em: 4 out. 2025.

WU, H. *et al.* Dual functions of Tet1 in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells. *Nature*, v. 473, n. 7347, p. 389–393, May 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3539771/>. Acesso em: 12 out. 2025.

WU, X.; ZHANG, Y. TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. *Nature Reviews Genetics*, v. 18, n. 9, p. 517–534, set. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg.2017.33>. Acesso em: 20 ago. 2025.

WU, Y. *et al.* Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, v. 193, n. 2, p. 371–380, 2005. Disponível em: [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(05\)00111-0/abstract](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(05)00111-0/abstract). Acesso em: 26 ago. 2025.

WU, Y. *et al.* Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics*, v. 1, n. 2, p. 106–111, 2006. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.4161/epi.1.2.2766?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 18 fev. 2025.

WU, Y.; STARZINSKI-POWITZ, A.; GUO, S. W. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, attenuates invasiveness and reactivates E-cadherin expression in immortalized endometriotic cells. *Reprod Sci*, v. 14, n. 5, p. 374–382, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1177/1933719107302913>. Acesso em: 26 ago. 2025.

XIAO, L. *et al.* MicroRNA22-5p targets ten-eleven translocation and regulates estrogen receptor 2 expression in infertile women with minimal/mild endometriosis during implantation window. *PLoS One*, [s. l.], v. 15, n. 7, e0234086, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7357761/>. Acesso em: 26 out. 2025.

XUE, Q. *et al.* Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis. *Biol Reprod*, v. 77, n. 4, p. 681–687, 2007a. Disponível em: <https://academic.oup.com/biolreprod/article-abstract/77/4/681/2629740?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 26 ago. 2025.

XUE, Q. *et al.* Transcriptional activation of steroidogenic factor-1 by hypomethylation of the 5' CpG island in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 92, n. 8, p. 3261–3267, 2007b. Disponível em: <https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/92/8/3261/2598476?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 26 ago. 2025

ZHANG, S. *et al.* Targeting epigenetic regulators for inflammation: Mechanisms and intervention therapy. *MedComm*, v. 3, n. 4, e173, 2022. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9477794/>. Acesso em: 18 fev. 2025.

ZHANG, Q. *et al.* Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature*, London, v. 583, p. 671–676, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4697747>. Acesso em: 27 out. 2025.

ZHANG, X. *et al.* H19 increases IL-17A/IL-23 release by regulating VDR through interaction with miR-675-5p/miR-22-5p in ankylosing spondylitis. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, New York, v. 19, p. 393–404, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31887550/>. Acesso em: 26 out. 2025.