

ISSN-1413-2087

VOL 22 – JULHO - SETEMBRO - 2007

# & Reprodução & Climatério



Sociedade Brasileira de  
Reprodução Humana



Sociedade Brasileira do  
Climatério



Sociedade Brasileira  
de Ginecologia  
Endócrina



# XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Humana

**26 a 29 de novembro de 2008**

Centro de Convenções Frei Caneca  
São Paulo - SP

## Convidados Internacionais

- Cursos Pré-Congresso
- Mesas Redondas
- Conferências
- Ponto e Contra-Ponto
- Pôsteres

Antecipe sua inscrição!



São Paulo



### Informações:

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

[www.sbrh.org.br](http://www.sbrh.org.br)

[sbrh@terra.com.br](mailto:sbrh@terra.com.br)

Tel.: 11 5055-6494 / 5055-2438

# Reprodução & Climatério

A revista REPRODUÇÃO & CLIMATÉRIO, anteriormente denominada REPRODUÇÃO, é órgão oficial de divulgação da SBRH, SOBRAGE e SOBRAC. Está registrada sob nº ISSN 1413-2087, e indexada no Index Medicus Latino Americano. Sua distribuição se faz a todos os sócios das sociedades participantes e aos principais serviços universitários da América Latina.

## Editor:

*Mario Cavagna*

## Editores Associados

*Eduardo Pandolfi Passos*

*João Sabino Pinho Neto*

*Paulo Spinola*

## Editores Anteriores

Araken Irerê Pinto  
Dirceu Mendes Pereira  
Edmund Chada Baracat

Nelson Vitielo  
Nilson Donadio  
Nilson Roberto de Melo

Newton Eduardo Busso  
Rui Alberto Ferriani  
Marcos Felipe Silva de Sá

## Conselho Editorial

Aarão Mendes Pinto Neto, Campinas, SP  
Agnaldo Pereira Cedenho, São Paulo, SP  
Alberto Soares Pereira Filho, Rio de Janeiro, RJ  
Alkindar Soares, Rio de Janeiro, RJ  
Almir Antonio Urbanetz, Curitiba, PR  
Álvaro Petracco, Porto Alegre, RS  
Anaglória Pontes, Botucatu, SP  
Angela Maggio da Fonseca, São Paulo, SP  
Aroldo Fernando Camargos, Belo Horizonte, MG  
Artur Dzik, São Paulo, SP  
César Eduardo Fernandes, São Paulo, SP  
Edmund Chada Baracat, São Paulo, SP  
Eduardo Leme Alves da Motta, São Paulo, SP  
Elsimar Metzger Coutinho, Salvador, BA

Fernando Freitas, Porto Alegre, RS  
Gilberto Costa Freitas, São Paulo, SP  
Hans Wolfgang Halbe, São Paulo, SP  
Hugo Maia Filho, Salvador, BA  
João Carlos Mantese, São Paulo, SP  
José Carlos de Lima, Recife, PE  
José Mendes Aldrighi, São Paulo, SP  
Juliano Augusto Brum Scheffer, Belo Horizonte, MG  
Lucas Vianna Machado, Belo Horizonte, MG  
Marco Aurélio Albernaz, Goiânia, GO  
Marcos Felipe Silva de Sá, Ribeirão Preto, SP  
Maria Celeste Osório Wender, Porto Alegre, RS  
Maria Yolanda Makuch - Campinas - SP  
Marta Finotti, Goiânia, GO

Maurício Simões Abrão, São Paulo, SP  
Newton Eduardo Busso, São Paulo, SP  
Nilson Roberto de Melo, São Paulo, SP  
Polimara Spritzer, Porto Alegre, RS  
Ricardo Baruffi, Ribeirão Preto, SP  
Ricardo Melo Marinho, Belo Horizonte, MG  
Rogério Bonassi Machado, São Paulo, SP  
Ronald Bossemeyer, Santa Maria, RS  
Rosaly Rulli Costa, Brasília, DF  
Rui Alberto Ferriani, Ribeirão Preto, SP  
Sebastião Freitas de Medeiros, Cuiabá, MT  
Selmo Geber, Belo Horizonte, MG  
Sonia Maria Rolim Rosa Lima, São Paulo, SP  
Wagner José Gonçalves, São Paulo, SP

## Conselho Editorial Internacional

Cesare Aragona, Roma, Italia  
Gian Benedetto Melis, Cagliari, Italia  
Paolo E. Levi Setti, Milão, Italia

## Editoração e Impressão

Ponto Comunicação & Editora S/C Ltda.

Rua Coronel Joviniiano Brandão, nº 601 - São Paulo - SP - Cep 03127-175

Fones: 2272-6372 / 0800-7723023 - www.pontoline.com.br

E-mail: atendimento@pontoline.com.br



## Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

Av. Jandira, 257 conj. 146 – CEP: 04080-001 – São Paulo - SP

Tel.: (11) 5055-6494 / 5055-2438

E-mail: sbrh@terra.com.br Site: www.sbrh.org.br

### Diretoria Biênio 2007-2008

**Presidente**

Dirceu Henrique Mendes Pereira

**Secretário Executivo**

Artur Dzik

**Tesoureiro - Adjunto**

Marcelino Hofmeister Poli

**1º Vice-Presidente**

Sebastião de Freitas Medeiros

**Secretário Adjunto**

Claudio Barros Leal

**Diretora Científica**

Claudete Reggiani

**2º Vice-Presidente**

Ricardo Mello Marinho

**Tesoureira - Geral**

Nilka Fernandes Donadio

**Presidente do Conselho de Delegados**

Waldemar Naves do Amaral

### Delegados da SBRH – Biênio 2007-2008

AC - JULIO EDUARDO GOMES PEREIRA

PB - RICARDO LUCENA RAMOS

AL - FABIO CASTANHEIRA

PE - VILMA GUIMARÃES DE MENDONÇA

AM - LOURIVALDO RODRIGUES DE SOUSA

PI - JOAQUIM CASTELO BRANCO BARROS

AP - ALJERRY DIAS DO REGO

PR - JAIME KULAK

BA - KARINA DE SÁ ADAMI GONÇALVES

RJ - CARLOS ANDRÉ HENRIQUES

CE - MARCELO BORGES CAVALCANTE

RN - GEORGE DANTAS DE AZEVEDO

DF - HITOMI MIURA NAKAGAVA

RO - MARINES RODRIGUES SANTOS CESAR

ES - JULES WHYTE SOARES SOUSA

RR - JOSÉ ANTONIO NASCIMENTO FILHO

GO - MARIO APROBATTO

RS - MARIA CELESTE OSORIO WENDER

MA - LUCIANE MARIA OLIVEIRA BRITO

SC - UBIRATAN CUNHA BARBOSA

MG - TULIO TADEU MARCOLINI

SE - GEORGE HAMILTON CALDAS SILVEIRA

MS - ALEX BORTOTTO GARCIA

SP - VILMON DE FREITAS

MT - MARCIA MARLY WINCK YAMAMOTO

TO - FÁBIO ROBERTO RUIZ DE MORAES

PA - NELSON LUIZ DE OLIVEIRA SANTOS

### Editorial

93

---

### Atualização

#### Androgênios em mulheres: uma revisão

Jaime Kulak Júnior  
Almir Antônio Urbanetz  
Carolina Aguiar Moreira Kulak  
Vivória Zegbi Cochenski Borba  
César Luiz Boguszewski

94

Androgens in women: a review.

*Os autores tem como objetivo ressaltar as principais ações dos androgênios em diferentes aspectos da saúde feminina.*

#### A Drospirenona e a pressão arterial – uma associação positiva ou não dentro da terapia hormonal?

Luiz Gustavo Oliveira Brito  
Luciane Maria Oliveira Brito  
José Albuquerque de Figueiredo Neto  
Maria Bethânia da Costa Chein  
Iohana Gabriella Silva Ribeiro  
Rui Alberto Ferriani  
Paula Andrea de Albuquerque  
Salles Navarro

98

Drospirenone and blood pressure – a positive or negative association inside hormone therapy ?

*Os autores analisam os efeitos da drospirenona sobre a pressão arterial sistêmica*

#### Estresse oxidativo e reprodução humana feminina

Rodolpho Cruz Vieira  
Ionara Barcellos  
Rui Alberto Ferriani  
Paula Andrea de A. S. Navarro

103

Oxidative stress and female human reproduction

*Os autores relatam a influência das espécies reativas de oxigênio sobre o trato reprodutivo feminino e suas implicações na fertilidade feminina e na etiopatogênese de doenças relacionadas à infertilidade.*

#### Causas genéticas para a infertilidade masculina

Jalsi Tacon Arruda  
Patricia Ribeiro dos Santos  
Wyara Elanne de Jesus Castro Mesquita  
Katia Karina Verolli de Oliveira Moura

112

Genetic causes for the male infertility

*O fator masculino na infertilidade tem se tornado cada vez mais importante na investigação dos casais inférteis. Diferentes anormalidades genéticas têm sido identificadas, sendo que atualmente representam uma parte considerável deste problema.*

---

### Trabalhos Originais

#### Estado nutricional, consumo alimentar e perfil lipídico de mulheres na pós-menopausa

Nutritional status, food intake, and lipid profile in post-menopausal women

*A investigação tem por objetivo avaliar o estado nutricional de mulheres em pós-menopausa e relacionar o índice de massa corporal (IMC) com o perfil lipídico e consumo alimentar.*

Maria Cecília Merege  
Ricardo Luiz Ribeiro  
Yara Juliano  
Maria Cristina Faria da Silva Cury  
Dirce Maria Sigulem  
Mario Cavagna  
João Carlos Mantese

119

#### Mutações do gene codificador da enzima metilenotetraidrofolato redutase e sua associação com a trissomia do cromossomo 21

Nutritional status, food intake, and lipid profile in post-menopausal women

*A presença de heterozigose conjunta no gene codificador da MTHFR levou a um maior risco de ocorrência da trissomia do cromossomo 21. Podemos estar perto de identificar os primeiros contribuintes genéticos conhecidos para a segregação meiótica incorreta de cromossomos na espécie humana, sujeito à diminuição de risco por suplementação da dieta com ácido fólico.*

*Prêmio Campos da Paz 2004*

Gregório Lorenzo Acácio  
Ricardo Barini  
Carmen Silvia Bertuzzo  
Egle Cristina Couto  
Joyce Maria Annichini-Bizacchi  
Walter Pinto Jr

126

---

### Breve Comunicação

#### Eficácia do hCG em baixa dose para completar a estimulação ovariana iniciada com FSH recombinante

Efficacy of low dose hCG alone following recombinant FSH for controlled ovarian stimulation

*Os autores apresentam os resultados da estimulação ovariana com baixa dose de hCG no final da fase folicular.*

Fernanda Montenegro Valente  
Karen de Pauw  
Mario Cavagna  
Artur Dzik  
Gilberto C. Freitas  
Jonathas B. Soares  
Priscila C. Andrade  
Luiz Henrique Gebrim

133

---

### Instruções aos Autores

135

## Um bálsamo para o ponto nevrálgico atual da TRH

A chamada Terapêutica de Reposição Hormonal (TRH) teve o seu início no final dos anos sessenta do século passado. Estávamos naquele momento sob a influência da publicação de um ginecologista nova-iorquino, o doutor Robert Wilson, que no ano de 1966 escreveu um “best-seller” intitulado *Feminine Forever*, enfatizando os benefícios da terapêutica estrogênica. Este livro, segundo o seu autor com base em sua experiência pessoal, afirmava que a TRH promovia o alívio dos sintomas menopáusicos, melhorava a qualidade de vida, a sexualidade e reduzia as consequências do envelhecimento. Nos primeiros seis meses que se seguiram ao lançamento, este livro vendeu mais de cem mil cópias nos EUA e, após um ano, encontrava-se disponível em dezessete países.

Como se pode facilmente imaginar, possivelmente pelos exageros de benefícios atribuídos pelo doutor Wilson aos estrogênios naquele momento, a publicação do seu livro despertou paixões e também muitas controvérsias. Assim nasceu o que hoje se conhece como a TRH das mulheres no climatério, enevoadas de paixões e controvérsias desde a sua concepção original. Esta parece ser a sina da TRH. Viver entre seus entusiastas e detratores ao sabor de cada efeito novo que a ela é atribuído.

Pois bem. O doutor Wilson morreu em 1981 e a polêmica continua. Inúmeros estudos observacionais e controlados foram realizados desde então na procura de esclarecer os aspectos de eficácia e segurança da TH. Qual a grande questão do momento? O ponto nevrálgico? A questão que mais preocupa do início dos anos 2000 para cá, emerge do estudo WHI e diz respeito à sua segurança cardiovascular. Cumpre lembrar, que a avaliação de um estudo clínico com metodologia de medicina baseada em evidências tem como pontos principais: a capacidade da amostra de responder às questões estabelecidas como objetivos principais, afastar os vieses que poderiam falsear os resultados, controlados por placebo, ter baixo índice de perda de seguimento e usar avaliação estatística do tipo “Intention to Treat Analyses”. Outro aspecto importante é a sua capacidade de ser extrapolado para outras mulheres.

Os resultados do estudo WHI sob a ótica das considerações acima, elencam algumas questões que precisam ser analisadas. Seria possível estender os efeitos verificados sobre o risco das doenças cardiovasculares (DVC), com a terapêutica estroprogestativa empregada no estudo WHI, para qualquer paciente, independente da etapa em que se encontra no período pós-menopáusicos? Não haveria um momento oportuno para iniciá-la? Uma janela de oportunidade para empregá-la? Poderíamos extrapolar esses efeitos para o uso de outros hormônios, doses, vias e regimes de reposição hormonal? Inúmeras tentativas de responder estas questões têm sido feitas nos últimos anos através de consensos internacionalmente publicados.

Preocupada com esta polêmica, a SOBRAC realizou no último mês de agosto um encontro entre ginecologistas, cardiologistas e endocrinologistas experimentados no assunto com o propósito de realizar um **consenso brasileiro a respeito das influências da TRH sobre as DCV em mulheres climatéricas**. Este consenso deverá ser publicado em breve. O que gostaríamos de antecipar é que estes especialistas conseguiram fechar uma conclusão consensual, segundo a qual “não se encontra indicação exclusiva da TRH para a redução do risco de DCV em mulheres na perimenopausa ou na pós-menopausa, embora se reconheçam evidências de seus benefícios cardiovasculares quando a TRH é iniciada na janela de oportunidade e de riscos quando iniciada tardiamente em relação à ocorrência do último episódio menstrual”

Creio tratar-se de uma notícia alvissareira. Parece que os diferentes especialistas envolvidos com o tema começam a falar a mesma língua. Sem dúvida, quem mais se beneficiará desta uniformidade de entendimento será a paciente que vive a extensa fase do período climatérico. Parece, com estas conclusões consensuais vindas deste encontro promovido pela SOBRAC, que mais este ponto nevrálgico da TRH vai se clareando. E a TRH continua adiante sem, no entanto, livrar-se definitivamente de sua fortuna de entusiasmos e desencantos.

**César Eduardo Fernandes**

# Androgênios em mulheres: uma revisão.

Androgens in women: a review.

Jaime Kulak Júnior<sup>1</sup>, Almir Antônio Urbanetz<sup>1</sup>, Carolina Aguiar Moreira Kulak<sup>2</sup>,  
 Victória Zegbi Cochenski Borba<sup>2</sup>, César Luiz Boguszewski<sup>2</sup>



Jaime Kulak

O Dr. Jaime Kulak é Professor Assistente do Departamento de Tocoginecologia da Universidade Federal do Paraná. É Ex-Fellow no Center for Menopause Hormonal Disorders and Women's Health da Universidade de Columbia em New York. Possui Mestrado em Medicina Interna pela UFPR. É Delegado da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana - Regional Paraná.

## RESUMO

A prática da ooforectomia profilática tem sido comumente utilizada em mulheres de meia idade que são submetidas a histerectomia por patologia benigna do útero. A redução que ocorre na produção dos androgênios gonadais não tem sido alvo de muitas pesquisas, assim como as conseqüências que a deficiência de androgênios pode causar a longo prazo na saúde feminina. A presente revisão tem como objetivo ressaltar as principais ações dos androgênios em diferentes aspectos da saúde feminina.

**UNITERMOS:** androgênios; terapia hormonal; saúde da mulher

## Histórico

O termo androgênio refere-se a um grupo de hormônios esteróides derivados do carbono 19 que estão associados à masculinização e indução de caracteres sexuais secundários masculinos. Em mulheres os androgênios circulam em concentrações menores (nanomol a micromol) em contraste com os estrogênios que circulam em picomol.

Embora os conceitos a respeito do uso da terapia estro-androgênica na menopausa possam ser considerados por alguns como uma recente descoberta, a verdade é que este tratamento tem sido divulgado na literatura médica desde os anos 50, quando foi sugerido que os androgênios seriam capazes

de melhorar a motivação e o desejo sexual<sup>1</sup>. Nos anos 70 o efeito positivo que os androgênios exercem na qualidade de vida em mulheres pós-menopausadas foi adicionado aos benefícios desta terapia. Em estudos conduzidos nos anos 80 confirmou-se que a reposição de androgênios, em algumas mulheres na pós-menopausa, pode agir como motivador do desejo, excitação, e das fantasias sexuais<sup>2</sup>.

A função dos androgênios na fisiologia feminina não foi extensivamente investigada até recentemente. Apenas nas duas últimas décadas é que as pesquisas têm sido direcionadas a algumas importantes informações com respeito à origem dos androgênios plasmáticos em mulheres, o seu estado físico no plasma, seu declínio com a idade e também os efeitos da deficiência androgênica nas mulheres.

## Fisiologia dos androgênios nas mulheres

A biossíntese dos androgênios ocorre nas supra renais e nos ovários, envolvendo uma série de reações enzimáticas que se iniciam com a estimulação das adrenais pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)<sup>3</sup> e dos ovários

<sup>1</sup> Serviço de Tocoginecologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná;

<sup>2</sup> Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (SEMPR)

Correspondência:

Jaime Kulak Júnior

Avenida Agostinho Leão Junior, 285 (Alto da Glória)

Curitiba-Paraná Cep: 80030-110

Fone: 41 3360-7876

Email: jkulak@ufpr.br

pelo hormônio luteinizante (LH), culminando com ação da enzima 5 $\alpha$ -redutase que transforma T em DHT e da enzima aromatase que converte T em estradiol (E2) (Figura 1). Na mulher, a T é transportada no sangue através de uma proteína chamada de globulina transportadora dos hormônios sexuais (SHBG) ou através da albumina, sendo que somente 1% da T circula livremente no sangue periférico.

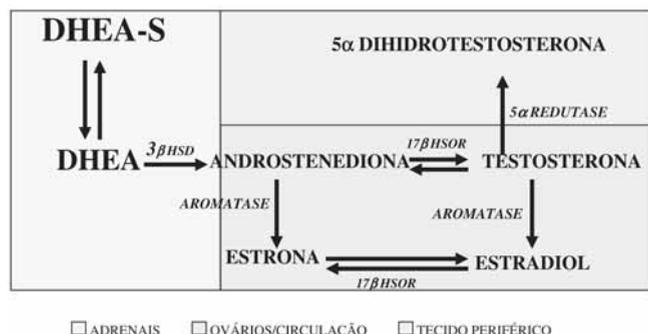


Gráfico 1 - Metabolismo dos androgênios

A DHT é o androgênio circulante mais potente e com maior capacidade de ligação ao receptor de testosterona. Na pós-menopausa, quando os ovários param de produzir estrogênio, a concentração sérica de E2 cai e sua produção passa a ser derivada a partir da aromatização de T em tecidos extra-gonadais, tendo sua ação biológica limitada ao órgão com capacidade de aromatizar T em E2, independentemente das concentrações plasmáticas<sup>4</sup>. Portanto, a conversão periférica de T em E2 torna-se de fundamental importância para a mulher na pós-menopausa, quando os estrogênios circulam em concentrações séricas insuficientes.

Os mais potentes androgênios em mulheres incluem T e DHT, pois ambos exercem uma alta afinidade de ligação com o receptor de androgênio. A biossíntese dos androgênios em mulheres ocorre nos ovários e nas adrenais moduladas principalmente por duas enzimas derivadas do citocromo P450: P450 Scc e P450 C17. Os ovários também sintetizam e secretam pequenas quantidades de DHEA, mas as adrenais são a principal fonte de DHEA e DHEA-S<sup>5</sup>. Em condições normais os ovários produzem cerca de 50% de AN, 5 a 20% de T, 1 a 10% de DHEA e 0 a 5% de DHEAS. Já a supra-renal secreta 50% de AN 0 a 30% de T, 90% de DHEA e 95% de DHEAS<sup>6</sup>.

O metabolismo dos androgênios envolve ainda outras importantes enzimas, a 3- $\alpha$  hidroxisteróide desidrogenase (3 $\alpha$ -HSD) que catalisa a conversão de pregnenolona em progesterona e DHEA em AN, e a 17- $\alpha$ -hidroxisteróide-desidrogenase (17 $\alpha$ -HSOR) que catalisa a conversão de AN em T. Aproximadamente 50% da T plasmática na vida reprodutiva da mulher é derivada da conversão periférica de AN, e daí ao metabólito ativo DHT<sup>7</sup>. Em alguns tecidos tais como a pele da região genital, os grandes lábios e os folículos pilosos, a DHT é o androgênio biologicamente ativo.

No plasma, apenas 1% da T é livre, aproximadamente 20-25% é fracamente ligada à albumina e o restante é fortemente ligada à SHBG<sup>8</sup>. A idade é um importante fator que leva à diminuição das concentrações séricas de T, sendo que a partir dos 20-25 anos estes níveis começam a cair estando

40% menores aos 50 anos<sup>9</sup>. Apenas a fração de T que não é ligada à SHBG é biologicamente ativa. DHEA e DHEA-S são, respectivamente, fracamente e fortemente ligadas à albumina. Desta forma, todos os fatores que afetam os níveis de SHBG também afetam os níveis de TT e TL. Estrogênios e o hormônio tireoideano são capazes de aumentar os níveis de SHBG<sup>10</sup>, assim como situações caracterizadas pelo aumento da resistência à insulina ou hiperinsulinismo (obesidade, diabetes não insulino dependente, e síndrome do ovário policístico) são caracterizadas por baixos níveis de SHBG e aumento da TL<sup>11</sup>.

#### A menopausa cirúrgica

A menopausa, que ocorre naturalmente por volta dos 50 anos, pode ser também provocada cirurgicamente através da retirada dos ovários antes da parada das menstruações. Geralmente tal procedimento é feito concomitante à histerectomia.

A histerectomia é um procedimento cirúrgico comum em nosso meio e também em países desenvolvidos. Em uma revisão feita nos Estados Unidos, foram documentadas aproximadamente um milhão e setecentas mil histerectomias entre os anos de 1988 e 1990<sup>12</sup>. Este mesmo levantamento demonstrou que a maior parte das cirurgias ocorreu entre as idades de 30 a 54 anos. Setenta e cinco por cento de todas as cirurgias foram por via abdominal, sendo que em 37% das mulheres abaixo de 45 anos e 68% das mulheres acima de 45 anos submetidas a salpingo-ooforectomia bilateral concomitante. As mulheres com ooforectomia bilateral podem ter uma queda significativa nos níveis de androgênios circulantes sendo candidatas à reposição de T associada à terapia hormonal (TH).

#### Efeitos dos androgênios na sintomatologia climatérica

A terapia de reposição estrogênica é eficaz para aliviar os sintomas mais comuns relacionados à menopausa, como fogachos, dispareunia e atrofia do trato gênito-urinário. Porém, mesmo esta expressiva eficácia da reposição estrogênica não confere o desejado alívio dos sintomas a todas as mulheres, especialmente àquelas que experimentam um início súbito da menopausa como resultado de ooforectomia. Além disto, em muitas mulheres as quais respondem bem ao tratamento estrogênico, obtendo um adequado alívio dos sintomas, a eficácia desta terapia tende a diminuir com o tempo<sup>13</sup>. Nestas mulheres, os sintomas que são atribuídos à deficiência androgênica incluem perda da libido e diminuição da sensação de bem estar geral, o que pode ocorrer mesmo após 10 anos do último período menstrual. Em um estudo prospectivo e randomizado que avaliou os efeitos da terapia combinada por um período de dois anos ficou demonstrado que a adição de T produziu melhora significativa com relação à atividade sexual (prazer, fantasias, orgasmo) quando comparada à terapia estrogênica isolada<sup>13</sup>. Em um estudo australiano a adição de T foi capaz de aumentar o alívio dos sintomas vasomotores em mulheres que estavam previamente sob terapia estrogênica isolada<sup>14</sup>. Assim sendo, parece que a terapia androgênica confere um benefício adicional a um subgrupo de mulheres as quais não respondem de maneira adequada ao tratamento estrogênico isolado.

### ***Efeitos dos androgênios na densidade mineral óssea (DMO)***

Existem evidências que os androgênios exercem uma importante função na prevenção da perda óssea. Os efeitos dos androgênios sobre o metabolismo ósseo podem ser consequência de uma ação direta ou indireta a partir da transformação em estrogênios. Os osteoblastos humanos possuem receptores para androgênios<sup>15</sup>, e tem sido demonstrado que os androgênios estimulam diretamente a proliferação e a diferenciação das células ósseas *in vitro*<sup>16</sup>. Em um estudo conduzido nos anos 80 foi demonstrada uma correlação negativa entre SHBG e DMO e uma correlação positiva entre TL e DMO<sup>17</sup>. Há mais de uma década sabe-se que os androgênios têm um importante papel também na aquisição de massa óssea.

Um estudo duplo-cego e randomizado foi conduzido para avaliar o papel dos androgênios em 66 mulheres de 21 a 60 anos submetidas à histerectomia com ooforectomia bilateral. As pacientes receberam estrogênio isolado ou estrogênio mais androgênio por dois anos, e foram monitoradas quanto a DMO da coluna lombar e do quadril, sintomas menopáusicos e perfil lipídico. A perda óssea foi prevenida nos dois grupos de tratamento, porém os investigadores encontraram um significativo aumento da DMO na coluna no grupo tomando estrogênio combinado a androgênio<sup>18</sup>.

Em um estudo comparando os efeitos do estrogênio e estrogênio combinado a androgênio nos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo, o grupo tratado apenas com estrogênio obteve uma redução nos marcadores de formação óssea, enquanto que o grupo com tratamento combinado teve um aumento em todos os marcadores séricos de formação óssea<sup>19</sup>. Estudos conduzidos em mulheres OOF que utilizaram terapia androgênica ou terapia estro-androgênica revelaram que os androgênios podem ter um importante efeito aditivo sobre o ganho de massa óssea<sup>20</sup>.

### ***Efeitos da terapia estro/androgênica no aparelho cardiovascular***

Já são bem conhecidos os efeitos da terapia estrogênica ao nível de perfil lipídico e consequente proteção do aparelho cardiovascular contra deposição aterogênica a nível endotelial. A adição de testosterona em doses fisiológicas à terapia atenua em parte os efeitos protetores do estrogênio, conferindo uma queda de 11% no colesterol total (contra os quase 20% da terapia isolada) e 17% no LDL-C. Porém, neste estudo não foi demonstrado efeito significativo no HDL-C ou triglicérides, os quais possuem um aumento médio de 15-20% e 10-15% respectivamente com a terapia estrogênica isolada<sup>21</sup>. Tem sido relatado através de estudos epidemiológicos que usuárias da terapia de reposição estrogênica possuem uma redução de 50% na mortalidade por doença cardiovascular em comparação com as não usuárias. O fato é que o estrogênio fornece benefícios cardio-protetores independentes do efeito hormonal nos lipídios plasmáticos<sup>22</sup>. O estrógeno age na parede das artérias relaxando o tecido muscular liso e diminuindo

do a resistência vascular. Este mecanismo ocorre através do chamado fator de relaxamento derivado do endotélio representado pelo óxido nítrico. A produção de óxido nítrico é mediada pelos receptores de estrógeno localizados no endotélio das artérias coronarianas, podendo este, ter um importante papel na regulação do tônus vascular. Este efeito direto do estrogênio a nível endotelial tem sido considerado uma das principais razões pela qual a reposição estrogênica reduz o risco de doença coronariana em mulheres na pós-menopausa, sendo que este benefício não é reduzido pela adição de andrógenos à terapia<sup>23</sup>.

### **Abstract**

Prophylactic ooforectomy have been a usual practice in women undergone to hysterectomy for benign disease of the uterus. The reduction of androgens levels that occurs as a consequence, have not been in the scenario of many researches as well as the consequences of long term androgen deprivation. The aim of this review is to emphasize the main actions of androgens in women's health.

**UNITERMS:** androgens; hormonal therapy; woman's health

### **Referências bibliográficas**

1. Greenblat RB, Barfoeld WE, Garnier JF. Evaluation of an estrogen, androgen and estrogen-androgen combination, and a placebo in the treatment of menopause, *J Clin Endocrinol Metab.* 1950;10:1547-1558.
2. Sherwin BB, Gelfand MM. The role of androgen in the maintenance of sexual functioning in ooforectomized women. *Psychosom Med.* 1992;79:286-294.
3. Vaitukaitis JL, Dale SL, Meidby JC. Role of ACTH in the secretion of free dehydroepiandrosterone and its sulfate ester in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969; 29:1443-1447.
4. Simpson ER, Rubin G, Clyne C, Robertson K, O'Donnell L, Jones M. The role of local estrogen biosynthesis in males and females. *Trends Endocrinol Metab.* 2000; 11:184-188.
5. Endoh A, Kristiansen SB, Casson RP, Buster JE, Hornsby PJ. The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex, resulting from its low expression of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 78:113-18.
6. Adashi EY. The climacteric ovary: a viable endocrine organ. *Semin Reprod Endocrinol.* 1991; 9: 200-205.
7. Judd HL, Yen SS. Serum androstenedione and testosterone levels during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973; 36:475-481.
8. Vermulen A, Verdon KL, Van der Straeten M, Oric N. Capacity of the testosterone binding globulin human

- plasma and influence of specific binding of testosterone on the metabolic clearance rate. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969; 29:1470-1480.
9. Zumoff B, Strain GW, Miller LK, Rosner W. Twenty-four hour mean plasma testosterone concentration declines with age in normal premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80:1429-1430.
  10. Van look PFA, Frolich M. Effects of etinyloestradiol on plasma levels of pituitary gonadotropins, testicular steroids and sex hormone binding globulin in normal men. *Clin Endocrinol.* 1981; 14:237-243.
  11. Barbieri RL, Makris A, Randall RW, Daniels G, Kistner RW, Ryan KJ. Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 62:904-910.
  12. Wilcox LS, Koonin LM, Pokras R, Strauss LT, Zhisen X, Peterson HB. Hysterectomy in the United States, 1988-1990. *Obstet Gynecol.* 1994; 83:549-555.
  13. Davis SR, Mccloud P, Strauss BJ, Burguer H. Testosterone enhances estradiol's effects on postmenopausal bone density and sexuality. *Maturitas* 1991; 21: 227-236.
  14. Burger HG, Hailes J, Menelaus M, Nelson J, Hudson B, Balazs N. The management of persistent menopausal symptoms with oestradiol-testosterone implants: clinical, lipid and hormonal results. *Maturitas.* 1984; 6:351-358.
  15. Colvard DS, Eriksen EF, Keeting PE. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989; 86:854-857.
  16. Kasperk CH, Wergedal JE, Farley JR, Linkhart TA, Turner RT, Baylink DJ. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells in vitro. *Endocrinology.* 1989; 124:1576-1578.
  17. Nilas L, Christiansen C. Bone mass and its relationship to age and the menopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 65:697-699.
  18. Watts NB, Notelovitz M, Timmons MC, Addison WA, Wiita B, Downey LJ. Comparison of oral estrogens plus androgen on bone mineral density, menopausal symptoms and lipid-lipoprotein profile in surgical menopause. *Obstet Gynecol.* 1995; 85:529-537.
  19. Raisz LG, Wiita B, Artis A, Bowen A, Schwartz S, Trahiotis M, Shoukri K, Smith J. Comparison of the effects of estrogen alone and estrogen plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81(1):37-43.
  20. Barret-Connor E, Young R, Notelowitz M, Sullivan J. A two year double-blind comparison of estrogen-androgen and conjugated estrogens in surgically menopausal women. *J Reprod Med.* 1999; 44: 1012-1020.
  21. Davis SR, Burger HG. Androgens and the postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81:2759-2763.
  22. Vita J, Keaney JF Jr. Hormone replacement therapy and endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 1867-1869.
  23. Sarrel PM, Wiita B. Vasodilator effects are not diminished by androgen in postmenopausal women. *Fertil Steril.* 1997; 68:1125-1127.

## A Drospirenona e a pressão arterial – uma associação positiva ou não dentro da terapia hormonal?

Drospirenone and blood pressure – a positive or negative association inside hormone therapy ?

Luiz Gustavo Oliveira Brito<sup>1</sup>, Luciane Maria Oliveira Brito<sup>2</sup>, José Albuquerque de Figueiredo Neto<sup>2</sup>, Maria Bethânia da Costa Chein<sup>2</sup>, Iohana Gabriella Silva Ribeiro<sup>2</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1</sup>, Paula Andrea de Albuquerque Salles Navarro<sup>1</sup>



Luiz Gustavo Oliveira Brito

Luiz Gustavo Oliveira Brito é médico formado pela Universidade Federal do Maranhão. Atualmente é residente de Mastologia e Oncologia Pélvica do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo desde 2007. Neste mesmo local, realizou sua residência em Ginecologia e Obstetrícia.

### RESUMO

A drospirenona é um novo progestágeno com atividade antagonista do receptor de aldosterona, que está sendo utilizado em associação com o estradiol, tanto como terapia hormonal de baixa dose (TH), para mulheres pós-menopáusicas, como anticoncepcional de baixa dosagem, para pacientes no menacme. Sabe-se que a aldosterona está implicada na patogênese da hipertensão arterial e do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV's), e que o bloqueio da sua ação pode promover um maior controle na progressão dessas condições. Pesquisas recentes, em que a drospirenona associada ao estradiol foi utilizada como TH para mulheres hipertensas na pós-menopausa, utilizando ou não medicações anti-hipertensivas concomitantemente, têm apontado para um efeito positivo deste progestágeno em reduzir os níveis pressóricos neste grupo particular de pacientes. Há dados evidenciando que esta TH não interfere com a homeostase do potássio, não produzindo elevação dos níveis séricos deste eletrólito, o que é frequentemente observado quando do uso de drogas que bloqueiam a aldosterona. Contudo, trabalhos com maior casuística, avaliando os efeitos potenciais desta TH em pacientes com os diversos estágios da hipertensão arterial, além de variados grupos de risco, necessitam ser realizados para termos um maior nível de evidência acerca da ação desse fármaco, inclusive sobre a qualidade de vida de suas usuárias.

**UNITERMOS:** drospirenona; terapia hormonal; menopausa; pressão arterial

### Introdução

A hipertensão arterial (HA) representa um fator de risco independente, linear e contínuo para doença cardiovascular, ocasionando custos médicos e socioeconômicos elevados, decorrentes principalmente das suas complicações, tais como: doença cerebrovascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e doença vascular de extremidades. Sua prevalência varia, segundo inquéritos

populacionais no Brasil, de 22,3% a 49,3%, mostrando-se uma patologia de importância do ponto de vista de Saúde Pública, pois é direta e indiretamente responsável por uma alta frequência de internações<sup>1</sup>.

Contudo, apenas metade dos brasileiros sabe ser portadora de HA (50,8%), um pouco menos da metade a tratam e apenas 10% tem níveis pressóricos controlados<sup>2</sup>, gerando um grande número de internações decorrentes das complicações da HA, e por consequência, altos custos hospitalares. Segundo o Ministério da Saúde<sup>3</sup>, em 2006 ocorreram 1.144.075 internações por doenças cardiovasculares, com custo global de R\$ 1.348.090.639,72.

O período da pós-menopausa é associado a um aumento progressivo no risco de doenças cardiovasculares e hipertensão arterial, sendo que o hipostrogenismo parece atuar como co-adjuvante nesse processo. Dessa forma, a terapia hormonal (TH) surgiu como uma estratégia promissora visando melhorar o risco de ocorrência de eventos

1 – Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

2 – Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil e da Liga Acadêmica de Ginecologia Endócrina e Climatério da Universidade Federal do Maranhão

Correspondência:

Luiz Gustavo Oliveira Brito  
Rua Maracaju, 1521/7, Monte Alegre  
14051-120 - Ribeirão Preto - SP  
lgobrito@gmail.com

cardiovasculares, além de produzir o alívio de sintomas vasomotores e a redução de eventos adversos secundários à osteoporose<sup>4</sup>.

Contudo, a grande maioria dos ensaios clínicos controlados, avaliando os efeitos da TH clássica, com formulações padrão e doses hormonais habituais, não evidenciou esse efeito protetor cardiovascular imaginado, por razões até o presente momento não bem estabelecidas<sup>(5,6,7)</sup>. O estudo WHI (Women’s Health Initiative), publicado em 2002, evidenciou que a TH além de não promover a prevenção primária de DCVs, esteve associada a um discreto aumento da ocorrência de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, não fatais. Estes resultados podem ser atribuídos a diversas variáveis presentes neste estudo, dentre as quais a idade média de idade de início do uso do esquema de TH estudado (62 anos). O estudo HERS II, também publicado em 2002, não evidenciou redução dos riscos de DCVs em mulheres com história pregressa destes eventos (prevenção secundária), após uma média de 6,8 anos de seguimento<sup>8</sup>. Vestegaard et al. (2003) registraram que mulheres na pós-menopausa que realizaram TH durante cinco anos não vieram a apresentar alterações consideráveis dos níveis tanto de pressão sistólica, quanto de pressão diastólica<sup>9</sup>. A TH ideal neste grupo de pacientes seria, portanto, aquela que promovesse o alívio sintomático, secundário ao hipoestrogenismo, sem gerar aumento do risco de complicações cardiovasculares, ou, idealmente, contribuísse para um decréscimo dos níveis pressóricos, ou de fatores que pudessem auxiliar na redução dos efeitos colaterais indesejáveis produzidos por algumas drogas anti-hipertensivas (p.ex. espoliação de potássio produzido por algumas drogas diuréticas). Assim, novos esquemas terapêuticos de TH são desejáveis, dentre os quais, citamos a potencial utilização de esquemas de baixa dose, utilizando a drospirenona como progestágeno.

**Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona**

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é um mediador progressivo e bem conhecido de doença renal e cardiovascular, tendo maior destaque dentre os componentes, a aldosterona<sup>10,11,12</sup>. É um dos mais importantes sistemas humorais, responsável pelo controle da PA (PA), do metabolismo hidrossalino e de outras importantes funções orgânicas. Diversos estudos sob os mais variados aspectos: anatômico, funcional, genético, farmacológico e clínico, tem demonstrado que o SRAA desempenha importante papel na patogenia e nas seqüelas da hipertensão arterial<sup>13</sup>.

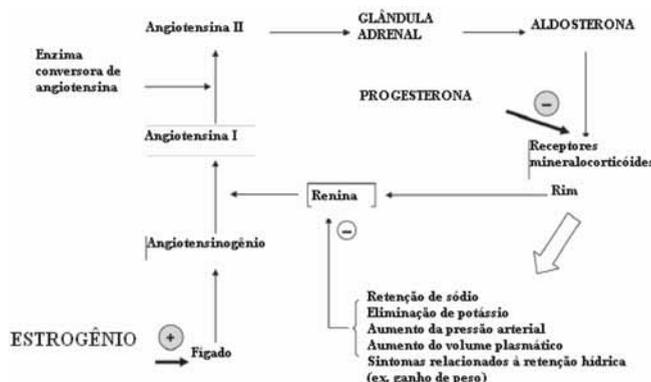
Um número crescente de trabalhos sugere que a aldosterona, independentemente da angiotensina II, exerce uma variedade de efeitos adversos cardiovasculares, por meio de diversos mecanismos. Estudos experimentais já demonstraram sua ação direta no coração, rins e vasos<sup>14</sup>. Estudos clínicos têm comprovado o papel da aldosterona na lesão de órgãos-alvo nos pacientes com hipertensão, caracterizando-a como um fator de risco independente para a doença cardiovascular<sup>5,6,7,15</sup>.

Pitt et al (1999) demonstraram que o uso da espironolactona, antagonista do receptor da aldosterona,

melhora os índices de morbimortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca<sup>16</sup>. Esse antagonismo à aldosterona gerou interesse no desenvolvimento de drogas que pudessem aumentar ou potencializar essa ação, dando destaque a drogas inibidoras da enzima conversora de angiotensina (IECA) e antagonistas do receptor II de angiotensina (ATA-II).

Varias das ações da angiotensina II parecem ser mediadas pela aldosterona, realçando seu papel como um importante fator de risco cardiovascular. Em estudo experimental, o bloqueio do receptor de aldosterona pela espironolactona, foi capaz de atenuar as alterações estruturais e a disfunção endotelial em artérias de resistência, bem como prevenir o remodelamento vascular hipertrófico e o aumento da rigidez da parede vascular induzidos pela angiotensina II<sup>17</sup>.

O estrogênio, tanto endógeno quanto exógeno, atuando em nível hepático, promove o aumento do angiotensinogênio (Figura 2). Em consequência, há uma produção maior de angiotensina II, vasoconstrictor potente, que pode promover a elevação dos níveis tensionais e da aldosterona, que, por sua vez, aumentaria o percentual de retenção hídrica e ganho de peso<sup>18</sup>. Desta forma, a TH combinada, sobretudo, quando administrada por via oral, tende a propiciar a elevação dos níveis pressóricos, o que é particularmente indesejável em mulheres hipertensas e com outros fatores de risco cardiovasculares sobrepostos.



**Figura 2** - Influência do estrogênio e progesterona no Sistema Renina Angiotensina-Aldosterona (SRAA). (Adaptado de Palacios et al., 2006)

**Drospirenona – Farmacologia e Farmacocinética**

A drospirenona (DRSP), ou 6b,7b,15b,16b-dimetileno-3-oxo-17a-pregn-4-eno-21,17-carbolactona, é um derivado progestínico da 17-alfa-espironolactona (Figura 1), ou seja, é um análogo da espironolactona, possuindo uma ação antagonista da aldosterona em torno de 7 vezes maior que seu similar. A afinidade da DRSP por receptores mineralocorticóides é responsável por essa ação antagonista da aldosterona<sup>19</sup>. Segundo Sitruk-Ware<sup>20</sup>, essa afinidade da DRSP é cerca de cinco vezes maior que a da própria aldosterona.

A DRSP tem perfil farmacológico único e é, na atualidade, dos progestágenos sintéticos o mais similar à progesterona endógena. Além deste efeito progestínico, exerce atividade clínica antiandrogênica e antialdosterona relevante, uma característica que outros progestógenos sintéticos

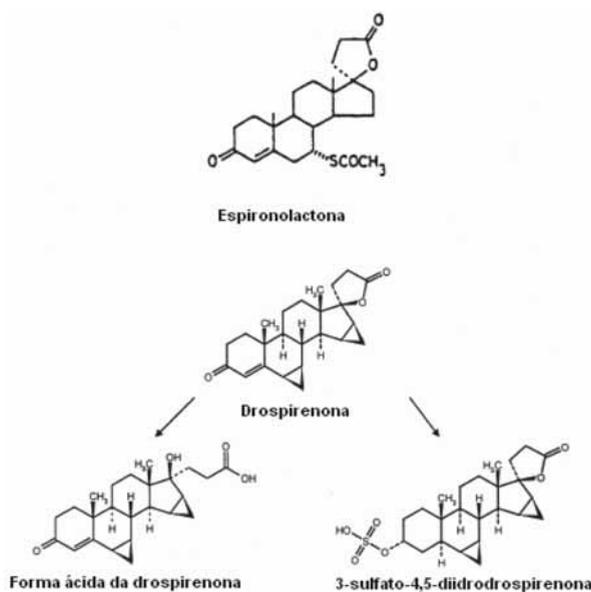
não apresentam, sem, contudo apresentar propriedades estrogênicas, androgênicas, glicocorticóideas ou antiglicocorticóideas<sup>19,21</sup>(Quadro 1).

progéstágenos convencionais<sup>22</sup>. Em outro estudo, a adição de DRSP à terapia hormonal com 17-beta-estradiol em ratos tratados cronicamente com aldosterona e dieta hipersódica

**Quadro 1** - Relação das Atividades Hormonais dos Progéstágenos (Adaptado de Schindler et al, 2003; Wiegratz & Kuhl, 2004).

	AtividadeProgéstágena	AtividadeAndrogênica	AtividadeAnti-Androgênica	AtividadeAnti-Mineralo-corticóide	Atividade Glico-corticóide
Progesterona	+	-	(+)	+	+
Drospirenona	+	-	+	+	-
Trimegestona	+	-	(+)	(+)	-
Medroxiprogesterona	+	(+)	-	-	+
Noretisterona	+	+	-	-	-
Norgestimato	+	+	-	-	-
Levonorgestrel	+	+	-	-	-
Tibolona	+	++	-	-	-
Ciproterona	+	-	++	-	+

++ atividade fortemente significativa; + atividade significativa; (+) atividade fracamente significativa; - sem atividade



**Figura 1** - Estrutura química da espironolactona, drospirenona, e de seus principais metabólitos (Adaptado de Krattenmacher, 2000).

Elger et al<sup>22</sup> sugerem que a potência antiandrogênica e antimineralocorticóide da drospirenona seja superior a do seu análogo espironolactona. Dessa forma, a DRSP mantém as propriedades vasoativas e anti-aldosterona dos progéstágenos que declinam com a menopausa. Além disso, inibe a estimulação estrogênica do SRAA<sup>23</sup>.

A meia-vida da DRSP é longa, cerca de 32 horas, e sua biodisponibilidade é de aproximadamente 76%, com propriedades farmacodinâmicas muito similares as da progesterona<sup>20</sup>

Em associação com 1 mg de 17-beta-estradiol (E2), a drospirenona está sendo utilizada como TH de baixa dose, nas doses de 1, 2 ou 3 mg<sup>24</sup>

Em ratos espontaneamente hipertensos, a PAS e a PAD sofreram decréscimo ou não mudaram por um período acima de 27 dias após administração de DRSP, em comparação a

por um período de 8 semanas mostrou um sinergismo no benefício do estrogênio em minimizar danos ao aparelho cardiovascular (menor hipertrofia miocárdica, fibrose perivascular, uso de óxido nítrico endotelial)<sup>25</sup>.

A combinação de DRSP e E2 mostrou-se eficaz na proteção contra hiperplasia endometrial, na redução do sangramento endometrial, no alívio dos sintomas vasomotores típicos do climatério, melhorando a qualidade de vida das pacientes que fizeram uso desta associação. Proporciona também redução da PA em mulheres hipertensas e parece ter um efeito positivo na função lipídica<sup>26</sup>.

Segundo Tanko et al.<sup>27</sup> quando em doses de até 2 mg, a DRSP em associação com E2, não interage com o tecido adiposo e sua função secretora, e, portanto não resulta em incremento do risco cardiovascular. Em contrapartida doses de 3 mg determinaram um discreto aumento da glicemia e dos triglicérides e uma pequena redução do HDL-colesterol.

Warming et al.<sup>28</sup> demonstraram os efeitos benéficos da combinação de 17-beta E2 e DRSP em mulheres climatéricas, pela sua atuação na melhoria do perfil lipídico, com redução do colesterol total, envolvendo principalmente o LDL colesterol; além disso, registram o efeito positivo da combinação sobre a densidade mineral óssea. Em mulheres no menacme, a DRSP aumentou a natriurese em relação ao placebo ou à ciproterona<sup>23</sup>.

### Drospirenona e Hipertensão Arterial

Quando utilizada como TH de baixa dose, a DRSP (3 mg) em combinação com o 17-beta E2 (1 mg), promoveu uma redução significativa da PA (sistólica e diastólica), em mulheres climatéricas que estavam sob terapêutica por 12 semanas. Essa redução foi observada tanto quando se lançou mão da monitorização ambulatorial da PA (MAPA), quanto na monitorização clínica. Além disso, esse mesmo regime de terapia também não ocasionou mudanças significativas dos níveis de potássio. As características desse tipo específico de TH parecem implicar em benefícios para o sistema cardiovascular e redução de riscos para as mulheres em tra-

tamento<sup>29</sup>.

Elger et al.<sup>22</sup> registram que as apresentações de drospirenona e etinil estradiol (EE) utilizadas como contraceptivos (3 mg de DRSP + 30 mcg de EE) não ocasionaram aumento da PA, nem aumento de peso ponderal.

Mulheres hipertensas leves, fazendo uso de enalapril, um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA) muito comum no tratamento da hipertensão, ao realizarem TH de baixa dose com DRSP e 17-beta E2, se beneficiaram de melhoria dos resultados terapêuticos quanto à diminuição da PA. As mesmas mulheres apresentaram ainda um aumento dos níveis séricos de aldosterona, o que comprova a eficácia antiminerlocorticóide da drospirenona sem, contudo, alterar os níveis de potássio endógeno das pacientes. Isso representa uma otimização do tratamento contra hipertensão em mulheres climatéricas, obtida com a TH, por meio de um mecanismo que potencialmente reduz os riscos cardiovasculares<sup>30</sup>.

White et al.<sup>31</sup> demonstraram que a associação de 2 e 3 mg de DRSP a 1 mg de E2, apresentou uma ação anti-hipertensiva bastante eficaz em mulheres hipertensas climatéricas, ao passo que, a associação de 1mg de DRSP ao E2, ou ainda a utilização do E2 sozinho, não foram tão eficazes na redução da PA. No mesmo estudo observaram ainda que, independente da dose de DRSP, a concentração de potássio sérico não foi significativamente alterada, evidenciando que a drospirenona, diferentemente de outras drogas com ação anti-aldosterona, não interfere na homeostase deste eletrólito.

Em estudo randomizado, controlado, com 36 mulheres hipertensas leves utilizando 25 mg de hidroclorotiazida, a utilização de drospirenona (3 mg) levou a uma redução média tanto da pressão arterial sistólica como diastólica (redução de 7,2 e 4,5 mmHg, respectivamente) em análise de monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA), com uma espoliação menor de potássio (0,2 mEq/L) em relação ao grupo placebo<sup>32</sup>.

A utilização da DRSP em mulheres diabéticas parece não trazer más conseqüências. Preston et al.<sup>33</sup> apontaram que não houve diferenças significativas quanto aos resultados obtidos em pacientes que apresentavam diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão, todas tratadas com um inibidor da ECA ou com um antagonista do receptor II da angiotensina. A TH levou a um declínio importante da PA tanto em pacientes diabéticas quanto em não diabéticas.

A afinidade da DRSP pelos receptores de aldosterona é responsável por antagonizar a retenção de água e sódio, o que ajuda a reduzir o acúmulo de líquido corporal experimentado por algumas mulheres quando em TH. Dessa maneira, a DRSP possibilitou a redução da PA nas pacientes que fizeram o uso combinado com o E2 e que sofriam de hipertensão leve a moderada<sup>34</sup>.

Os dados da literatura permitem concluir que a associação da DRSP com o 17-Beta E2, como nova opção de TH de baixa dose em mulheres pós-menopáusicas, parece ser efetiva no alívio dos sintomas climatéricos, bem tolerada e aparentemente benéfica ou, pelo menos, não deletéria em termos de alteração dos níveis pressóricos em mulheres hipertensas na pós-menopausa. Estudos clínicos randomizados, controlados, com maiores casuísticas e que avaliem as potenciais conseqü-

ências a médio e longo prazo da utilização deste esquema terapêutico ainda não estão disponíveis.

## Abstract

Drospirenone is a novel progestagen with antagonistic activity on aldosterone receptor, and it has been used with estradiol such as a low-dose hormone therapy (HT) for postmenopausal women as a low-dose oral contraceptive for youngsters. It is known that aldosterone is implicated at the pathogenesis of arterial hypertension and into development of other cardiovascular diseases, and when its action is suppressed, it leads to a better control on the progression of these conditions. Recent papers in which drospirenone associated with estradiol was used as HT for hypertensive, postmenopausal women, added or not with anti-hypertensive drugs, have appointed for a positive effect of this progestagen in reducing blood pressure levels at this specific group. Data are available showing that this HT does not interfere with potassium homeostasis and therefore, does not yield a raise in its serum levels, which it has been seen when other drugs are used. However, researchs with major sampling and evaluating potential effects of this HT in patients in various stages of arterial hypertension and also in multiple risk groups need to be realized in order to have a better evidence level about this drug and its influence in quality of life of its users.

**UNITERMS:** drospirenone; hormone therapy; menopause; blood pressure

## Referências bibliográficas

1. Sociedade Brasileira de Hipertensão. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. 2006. 50p.
2. Firmo JOA, Barreto SM, Lima-Costa MF. The Bambui Health and Aging Study (BHAS): factors associated with the treatment of hypertension in older adults in the community. *Cad Saude Publica* 2003;19:817-27
3. Ministério da Saúde. URL:<http://www.datasus.gov.br> Acessado em 08 de abril de 2007.
4. Fernandes CE, Stephan C, Nasser EJ, Ferreira JAS, Melo NR, Peixoto S. Síndrome do Climatério – como diagnosticar e tratar. *Rev Bras Med.* 2005, 62 Edição especial: 50-61.
5. Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB, Sharp PC, Shumaker SA, Snyder TE et al. Effects of estrogen replacement on the progression of coronary artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:522–529.
6. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998;280:605–613.
7. Pradan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS,

- Mouton CP, Rifai N et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002;288(8):980-7.
8. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, et al. Cardiovascular Disease Outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288(1): 49-57
  9. Vestergaard P, Hermann AP, Stilgren L, Tofteng CL, Sørensen OH, Eiken P et al. Effects of 5 years of hormonal replacement therapy on menopausal symptoms and blood pressure—a randomised controlled study. *Maturitas* 2003; 46(2):123-32
  10. Rocha R, Chander PN, Khanna K, Zuckerman A, Stier CT. Mineralocorticoid blockade reduces vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension* 1998;31:451–458.
  11. Duprez D, De Buyzere M, Rietzchel ER, Clement DL. Aldosterone and vascular damage. *Curr Hypertens Repts* 2000;2:327–334.
  12. Barbagallo M, Dominguez LJ, Licata G, Shan J, Bing L, Karpinski E et al. Vascular effects of progesterone: Role of cellular calcium regulation. *Hypertension* 2001;37:142–147.
  13. Haber E, Zusman R, Burton J, Dzau VJ, Barger AC. Is renin a factor in the etiology of essential hypertension? *Hypertension*, 1983;5 Suppl 5:8-15
  14. Rocha R, Stier Jr CT. Pathophysiological effects of aldosterone in cardiovascular tissues. *Trends Endocrinol Metab*, 2001;12:308-14
  15. Neves MF, Schiffrin EL. Aldosterone: a risk factor for vascular disease. *Curr Hypertens Rep*, 2003;5:59-65
  16. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *N Engl J Med* 1999;341:709–717.
  17. Virdis A, Neves MF, Amiri F, Viel E, Touyz RM, Schiffrin EL. Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress. *Hypertension*, 2002;40:504-10
  18. Palacios S, Foidart JM, Genazziani AR. Advances in hormone replacement therapy with drospirenone, a unique progestogen with aldosterone receptor antagonism. *Maturitas* 2006;55:297-307.
  19. Rubig A. Drospirenone: a new cardiovascular-active progestin with antialdosterone and antiandrogenic properties *Climacteric*, 2003 3:49-54
  20. Sitruk-Ware R. Pharmacology of different progestogens: the especial case of drospirenone. *Climacteric* 2005; Suppl 3:4-12
  21. Krattenmacher R. Drospirenone: Pharmacology and pharmacokinetics of a unique progestogen. *Contraception* 2000;62:29–38.
  22. Elger W; Beier S; Pollow K; Garfield R; Shi SQ; Hillisch A. Conception and pharmacodynamic profile of drospirenone. *Steroids* 2003; 68(10-13):891-905
  23. Oelkers W. Effects of estrogens and progestogens on the rennin-aldosterone system and blood pressure. *Steroids* 1996;61:166–171.
  24. Muhn P, Fuhrmann U, Fritzemeier KH, Krattenmacher R, Schillinger E. Drospirenone: A novel progestogen with antimineralocorticoid and antiandrogenic activity. *Ann NY Acad Sci* 1995;761:311–335.
  25. Arias-Loza PA, Hu K, Schafer A, Bauersachs J, Quaschnig T, Galle J et al. Medroxyprogesterone acetate but not drospirenone ablates the protective function of 17-beta-estradiol in aldosterone salt-treated rats. *Hypertension* 2006; 48(5):994-1001.
  26. Archer DF, Thorneycroft IH, Foegh M, Hanes V, Glant MD, Bitterman P et al. Long-term safety of drospirenone-estradiol for hormone therapy: a randomized, double-blind, multicenter trial. *Menopause* 2005; 12(6):716-27.
  27. Tanko LB, Christiansen C. Effects of 17beta-oestradiol plus different doses of drospirenone on adipose tissue, adiponectin and atherogenic metabolites in postmenopausal women. *J Intern Med* 2005, 2005 ;258(6):544-53.
  28. Warming L, Ravn P, Nielsen T, Christiansen C. Safety and efficacy of drospirenone used in a continuous combination with 17 beta-estradiol for prevention of postmenopausal osteoporosis. *Climacteric*. 2004 Mar;7(1):103-11
  29. White WB, Pitt B, Preston RA, Hanes V. Antihypertensive effects of drospirenone with 17beta-estradiol, a novel hormone treatment in postmenopausal women with stage 1 hypertension. *Circulation* 2005; 112(13):1979-84.
  30. Preston RA, Alonso A, Panzitta D, Zhang P, Karara AH. Additive effect of drospirenone/17 beta-estradiol in hypertensive postmenopausal women receiving enalapril. *Am J Hypertens* 2002;15(9):816-22.
  31. White WB, Hanes V, Chauhan V, Pitt B. Effects of a New Hormone Therapy, Drospirenone and 17-β-Estradiol, in Postmenopausal Women With Hypertension. *Hypertension* 2006; 48(2):246-53
  32. Preston RA, Norris PM, Alonso AB, Pingping N, Hanes V, Karara AH. Randomized, placebo-controlled trial of the effects of drospirenone-estradiol on blood pressure and potassium balance in hypertensive postmenopausal women receiving hydrochlorothiazide. *Menopause* 2007;14(3):1-7.
  33. Preston RA, White WB, Pitt B, Bakris G, Norris PM, Hanes V. Effects of drospirenone/17-beta estradiol on blood pressure and potassium balance in hypertensive postmenopausal women. *Am J Hypertens* 2005;18(6):797-804.
  34. Stevenson JC. A new hormone replacement therapy containing a progestogen with anti-mineralocorticoid activity. *J Br Menopause Soc* 2006; 12(S1):8-10.

# Estresse oxidativo e reprodução humana feminina

Oxidative stress and female human reproduction

Rodolpho Cruz Vieira, Ionara Barcellos, Rui Alberto Ferriani, Paula Andrea de Albuquerque Salles Navarro



Rodolpho Cruz Vieira

O Dr. Rodolpho é graduado em medicina pela Universidade do Estado do Pará no ano de 2000, e concluiu residência médica em Ginecologia e Obstetrícia pelo Hospital Guilherme Álvaro – Santos. Realizou 3º ano de residência médica em Reprodução Humana no Hospital Municipal Odilon Behrens, Belo Horizonte. Possui título de especialista em Ginecologia e Obstetrícia pela FEBRASGO. É pós-graduando do programa de mestrado em tocoginecologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo.

## RESUMO

A mulher sofre a influência do metabolismo oxidativo ao longo de toda a vida reprodutiva. Baixas concentrações de espécies reativas de oxigênio têm importância na modulação de inúmeros processos fisiológicos do trato reprodutivo feminino, como a maturação oocitária, a atresia folicular, a função do corpo lúteo, a interação gamética, a fertilização, o desenvolvimento e a implantação embrionária, bem como o declínio da fertilidade relacionado à idade. Quando há um desequilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e os mecanismos antioxidantes de defesa do organismo, pode ocorrer o estresse oxidativo, que tem sido envolvido na etiopatogênese da endometriose e de outras doenças do trato reprodutivo feminino. Alguns relatos suportam a influência deletéria do estresse oxidativo tanto em nível de fertilidade natural, como após a realização de técnicas de reprodução assistida. Portanto, o objetivo desta revisão é sintetizar a influência dos radicais livres e dos diferentes antioxidantes na fisiologia dos processos reprodutivos femininos e destacar o seu potencial papel na etiopatogênese de importantes causas de infertilidade feminina, com destaque para a síndrome dos ovários policísticos, endometriose e disfunções tubárias.

**UNITERMOS:** estresse oxidativo, espécies reativas do oxigênio, antioxidantes, infertilidade feminina, reprodução assistida

## Introdução

O papel das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) no trato reprodutivo masculino já é objeto de extensa pesquisa ao redor do mundo. Por outro lado, dispomos de dados escassos e controversos acerca do papel dos radicais livres no trato reprodutivo feminino. Baixas concentrações de espécies reativas de oxigênio têm importância na modulação de inúmeros

processos fisiológicos do trato reprodutivo feminino, como a maturação oocitária, a atresia folicular, a função do corpo lúteo, a interação gamética, a fertilização, o desenvolvimento e a implantação embrionária, bem como o declínio da fertilidade relacionado à idade. Quando há um desequilíbrio entre os agentes pró-oxidantes (radicais livres) e os mecanismos antioxidantes de defesa do organismo, pode ocorrer o estresse oxidativo, que tem sido envolvido na etiopatogênese da endometriose e da infertilidade de causa tubária, tubo-peritoneal e sem causa aparente. Também há estudos que mostram seu potencial papel na etiopatogênese da pré-eclâmpsia, mola hidatiforme, de alguns defeitos ao nascimento induzidos por radicais livres e em outras situações, como abortamentos. Os fluidos peritoneais, foliculares e de hidrossalpinge são microambientes reprodutivos, que abrigam gametas, zigotos e embriões por tempo variável. Alterações em sua composição química podem ter efeitos adversos nos processos reprodutivos, sendo que a presença de ROS e

Setor de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Correspondência:

Rodolpho Cruz Vieira

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Av. Bandeirantes, 3900. Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP

CEP: 14049-000

Fone: 16-3602 2821 / Fax: 16-3633 0946

E-mail: rodolpho.vieira@superig.com.br

Fonte de Auxílio:

Rodolpho Cruz Vieira é bolsista de Mestrado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

antioxidantes já foi demonstrada nestes microambientes.<sup>1</sup>

Os mecanismos que envolvem a produção e ação dos radicais livres, bem como a prevenção da gênese do estresse oxidativo por antioxidantes endógenos, em processos fisiológicos e patológicos do sistema reprodutivo feminino, ainda necessitam de maior elucidação. Porém, os resultados de alguns estudos pertinentes permitem aos pesquisadores delinear hipóteses e elaborar novas estratégias visando o combate ao estresse oxidativo e a melhora da fertilidade natural ou após a realização de técnicas de reprodução assistida. Portanto, o objetivo desta revisão é sintetizar a influência dos radicais livres e dos diferentes antioxidantes nos processos reprodutivos fisiológicos e destacar o seu potencial papel na etiopatogênese de importantes causas de infertilidade feminina, com destaque para a síndrome dos ovários policísticos, endometriose e disfunções tubárias. O papel do estresse oxidativo nos resultados das técnicas de reprodução assistida de alta complexidade também será sucintamente abordado.

O equilíbrio oxidativo do trato reprodutivo depende de alguns tipos de radicais livres e dos diferentes mecanismos antioxidantes que os neutralizam.

Existem 2 grandes grupos de radicais livres: **espécies reativas de oxigênio (ROS)** e **espécies reativas de nitrogênio (RNOS)**. Devido a sua instabilidade e sua alta reatividade, precisam adquirir elétrons de algum substrato, como ácidos nucleicos, lipídios, proteínas, carboidratos ou qualquer molécula em sua volta para se tornarem estáveis, causando uma reação em cadeia que pode culminar em dano celular e tecidual.<sup>1</sup>

### 1- Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)

As ROS têm funções fisiológicas e patológicas no trato reprodutivo feminino. Fisiologicamente estão envolvidas em funções reprodutivas como a maturação oocitária, a esteroidogênese ovariana, a função lútea e a luteólise, a interação gamética, além do metabolismo embrionário. Os distúrbios de fertilidade relacionados a ROS apresentam fatores etiopatogênicos comuns<sup>1</sup>. Estas espécies reativas são geradas a partir de reações orgânicas enzimáticas ou não-enzimáticas. As reações biológicas via transferência de elétrons ou via oxigenase, que utilizam moléculas de oxigênio (O<sub>2</sub>) como substrato, geram grande quantidade de ROS. Como a cadeia respiratória mitocondrial é o principal sistema de consumo de O<sub>2</sub> nas células, a maior parte de ROS é produzida por este sistema sob condições fisiológicas.<sup>2</sup> O radical **superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)** é produzido quando há vazamento da cadeia de transporte de elétrons por redução (O<sub>2</sub> + e<sup>-</sup> → O<sub>2</sub><sup>-</sup>)<sup>1</sup>. A dismutação de superóxidos e algumas enzimas oxidases podem gerar diretamente **peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)** (2 O<sub>2</sub><sup>-</sup> + 2 H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub>)<sup>1</sup>. O mesmo também pode ser gerado pela redução do O<sub>2</sub><sup>-</sup> (O<sub>2</sub><sup>-</sup> + e<sup>-</sup> + 2 H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sup>3</sup>. O íon **hidroxila (OH<sup>-</sup>)** é formado da aquisição de 1 elétron pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + e<sup>-</sup> + H<sup>+</sup> → ·OH + H<sub>2</sub>O)<sup>3</sup>. Este radical é altamente reativo e pode modificar purinas e pirimidinas causando quebras no feixe de DNA<sup>1</sup>.

Outros sistemas enzimáticos conhecidos que produzem ROS são:

- **Xantina desidrogenase**, uma enzima envolvida no metabolismo das purinas, quando convertida em xantina

oxidase gera superóxido em condições de isquemia do aparelho cardiovascular;<sup>2</sup>

- **Ciclooxigenase**, via que cataliza o passo inicial da oxidação na conversão de ácido araquidônico para prostanoídeos e é induzida em processos inflamatórios;<sup>2</sup>

- **Citocromo P450** também gera ROS e é importante durante o processo metabólico de síntese de esteróides a partir do colesterol;<sup>2</sup>

- **NADPH-oxidase**, contida em fagócitos como os neutrófilos, produz uma enorme quantidade de superóxido com propósito microbicida.<sup>2</sup>

### 2- Espécies Reativas de Nitrogênio (RNOS)

As mais comuns são derivadas do Óxido Nítrico (NO) e do dióxido de nitrogênio. O NO é sintetizado durante a conversão enzimática de L-arginina a L-citrulina pela óxido nítrico sintetase (NOS) que é codificada por 3 genes diferentes: nNOS (neuronal), iNOS (induzível) e eNOS (endotelial), utilizando a NADPH como doador de elétrons. As nNOS e eNOS são constitutivas e responsáveis pela liberação contínua de óxido nítrico. A iNOS está presente em fagócitos mononucleares e é ativada por citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 e TNF- $\alpha$ , e lipopolissacarídeos em resposta a estímulos imunológicos<sup>1</sup>. A NOS endotelial é expressa em células da teca, granulosa e na superfície do oócito durante o desenvolvimento folicular. Sua expressão está aumentada no pico de hormônio luteinizante ou de gonadotrofina coriônica humana<sup>2</sup>.

Admite-se que os efeitos do óxido nítrico são mediados pelo GMP cíclico (GMPc) como segundo mensageiro ou pela geração de ROS após interação com radicais superóxido. Como efetor imune final, o óxido nítrico produzido pela NOS induzível, destrói patógenos e células anormais. Porém, com um elétron não pareado, o óxido nítrico torna-se um radical livre altamente reativo, danifica proteínas, carboidratos, nucleotídeos, lipídios e, juntamente com outros mediadores inflamatórios, resulta em dano celular e tecidual, inflamação de baixo grau e adesões. Já que uma relativa fração de óxido nítrico é convertida em RNOS altamente reativo, como o peroxinitrito, por reação com O<sub>2</sub><sup>-</sup> (O<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO → OONO<sup>-</sup> + H<sup>+</sup> → ? NO<sub>2</sub><sup>+</sup> + OH<sup>-</sup>), o estresse oxidativo pela produção de espécies reativas do nitrogênio (estresse nitrosativo) ocorre simultaneamente com a produção de ROS<sup>1,2,3</sup>.

### 3- Antioxidantes

Em condições normais, todos os organismos têm mecanismos enzimáticos e não enzimáticos capazes de neutralizar as espécies pró-oxidantes e/ou de reparar os danos causados pelas ROS, convertendo-as em H<sub>2</sub>O, para prevenir a sua superprodução. Muitos antioxidantes de baixo peso molecular como vitaminas e polifenóis estão normalmente presentes em nutrientes, embora a neutralização enzimática das ROS seja o mecanismo mais eficiente<sup>1,2</sup>.

#### 3.1- Antioxidantes não-enzimáticos

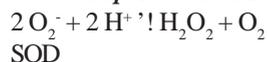
Também conhecidos como antioxidantes sintéticos ou

suplementos dietéticos, este grupo influencia de maneira exógena o sistema de defesa antioxidante do organismo. Os mais comuns são: Vitaminas C e E, selênio, zinco, taurina, hipotaurina, glutatona, beta-caroteno e caroteno. A vitamina C é um antioxidante que interrompe a propagação do processo peroxidativo. Também ajuda a reciclar a vitamina E e a glutatona oxidada (GSSG). Taurina, hipotaurina e transferrina são principalmente encontradas nos fluidos tubário e folicular, onde protegem o embrião do estresse oxidativo. A glutatona está presente no oócito e no fluido tubário e desempenha importante função permissiva para o desenvolvimento do zigoto além do estágio de 2 células, até os estágios de mórula e de blastocisto.<sup>1</sup>

### 3.2- Antioxidantes enzimáticos

As defesas enzimáticas responsáveis pela a neutralização de espécies reativas do oxigênio são representadas pela superóxido dismutase (SOD), catalase, glutatona peroxidases (GPx) dependente e independente de selênio e glutatona redutases (GR)<sup>2</sup>:

· **Superóxido dismutase (SOD):**



O ânion superóxido é produzido pela redução de um elétron de uma molécula de oxigênio, o que inicia a reação em cadeia. Acredita-se que o papel da SOD na conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio seja fundamental nas reações antioxidativas. Três isoenzimas são produzidas em mamíferos:

- SOD1 codifica CuZn-SOD que é amplamente citosólico;
- SOD2 codifica Mn-SOD, uma isoforma mitocondrial;
- SOD3 codifica a forma extracelular (EC-SOD), estruturalmente similar a CuZn-SOD.<sup>2</sup>

Um das conseqüências observadas em camundongos com deficiência de SOD1 é a infertilidade, sugerindo um potencial papel desta enzima na fecundidade feminina. A SOD2 é induzida sob várias condições de estresse oxidativo e processos inflamatórios. A EC-SOD está presente em altos níveis no epidídimo, túbulos seminíferos e nos pulmões<sup>2</sup>.

· **Peroxidases:**

A **catalase** neutraliza exclusivamente o peróxido de hidrogênio e não necessita de doador de elétrons ( $2 H_2O_2 \xrightarrow{C} 2 H_2O + O_2$ ). Esta enzima participa de funções hepáticas, mas sua função específica no trato genital ainda não foi elucidada<sup>2</sup>.

A glutatona é um tripeptídeo e está presente tanto no estágio reduzido (GSH), quanto no estágio oxidado (GSSG) por meio de ligações dissulfídicas. Ela possui funções pleiotrópicas que incluem a manutenção de células em um estado reduzido e a formação de conjugados com alguns compostos endógenos e xenobióticos danosos. A **glutatona peroxidase (GPx)** tem papel fundamental na neutralização de peróxidos, utilizando a forma reduzida da glutatona (GSH) como doadora de elétrons ( $2 GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPx} GSSG + 2 H_2O$ ). Pelo

menos quatro isoenzimas de GPx dependentes de selênio são produzidas em mamíferos:

- A forma citosólica de GPx1 é amplamente distribuída nos tecidos e tem sido a forma mais extensivamente investigada, apesar de camundongos *knockouts* para GPx1 não mostrarem alteração no fenótipo, incluindo na capacidade reprodutiva;
- GPx2 codifica uma forma gastrointestinal e não há função reprodutiva específica conhecida para esta isoenzima;
- GPx3 está presente no plasma e no fluido epididimal;
- GPx4 codifica uma isoforma que neutraliza especificamente o hidroperóxido fosfolipídico, por isso chamada PhGPx4, está expressa em altos níveis nos testículos. Suspeita-se que um defeito em GPx4 possa causar infertilidade masculina desencadeada por deficiência de selênio, embora não haja evidência direta para este fato<sup>2</sup>.

Na reação promovida pela peroxidase, a GSH sofre oxidação para GSSG. A regeneração de GSH é, conseqüentemente, de fundamental importância na capacidade das células em combater a exposição a metabólitos oxidantes. Seus níveis são mantidos por síntese *de novo* catalisada por 2 enzimas,  $\alpha$ -glutamylcisteína sintetase ( $\alpha$ -GCS) e glutatona sintetase (GS). A redução de GSSG é catalisada pela **glutatona redutase (GR)** usando NADPH como doador de elétrons ( $2 GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2 GSH + NADP^+$ ). A GR é inibida por compostos produzidos em resposta ao estresse nitrosativo, como a nitrosoglutatona. No sistema reprodutivo feminino, GSH participa reduzindo o estresse oxidativo por interação direta com ROS, por meio do **sistema glutatona redox**, ou doando elétrons a GPx<sup>2</sup>.

### 4- Estresse oxidativo e a fisiologia do trato reprodutivo feminino

Estudos recentes buscam entender como as espécies reativas do oxigênio afetam algumas funções fisiológicas femininas, como a maturação oocitária, a esteroidogênese ovariana, a ovulação, a luteólise, a implantação, a embriogênese precoce, e a manutenção lútea na gravidez, e de que forma o equilíbrio entre a produção de ROS e a sua neutralização pelos diferentes sistemas antioxidantes é mantido em condições fisiológicas e, possivelmente, alterado em processos patológicos.<sup>1</sup>

A presença de ROS e antioxidantes no trato reprodutivo feminino, como a SOD, GPx, peróxidos lipídicos, substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico, glutaredoxina, fragmentos oxidados de DNA, Capacidade Antioxidante Total (TAC), entre outros, tem sido demonstrada em diferentes compartimentos, incluindo o fluido folicular, peritoneal, tubáreo, as células da granulosa e os oócitos<sup>1</sup>.

#### 4.1- ROS e a fisiologia ovariana

O ovário é um órgão metabolicamente ativo e, portanto, está continuamente produzindo ROS. Em 1980 já se acreditava que as ROS desempenhavam uma função fisiológica

durante a ovulação, a qual era parecida em alguns aspectos a uma resposta inflamatória, sendo liberada durante a ruptura folicular<sup>4</sup>. Miyazki e colaboradores descobriram que, ao inibir as ROS com SOD e/ ou com catalase *in vitro*, ocorria a interrupção da ovulação<sup>5</sup>.

Vários autores estudando modelos animais observaram que os níveis de ROS no corpo lúteo elevam-se durante a luteólise e que a geração de superóxido, dependente de NADPH no ovário, aumenta durante a fase pré-ovulatória precoce em fêmeas ovulatórias e durante a fase lútea em prenhas. Tanto esta produção ovariana de superóxido quanto a uterina parecem ser induzidas por LH. Portanto, ROS e seus derivados podem funcionar como reguladores intracelulares da esteroidogênese e da liberação de progesterona no corpo lúteo<sup>2</sup>.

O folículo pré-ovulatório tem uma potente defesa antioxidante, a qual é ineficaz quando há intensa peroxidação<sup>6</sup>. Células da granulosa e células luteínicas respondem ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com bloqueio da ação gonadotrófica e inibição da secreção de progesterona e estradiol. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diminui *in vitro* a esteroidogênese dependente e independentemente de AMP cíclico, promove a quebra da vesícula germinativa e o desaparecimento do nucléolo em oócitos imaturos e inibe a extrusão do primeiro corpúsculo polar em oócitos maduros, previamente ao aparecimento de alterações morfológicas características da apoptose celular<sup>7</sup>. Em folículos em crescimento, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induz *in vitro* a apoptose e a necrose oocitária na dependência de dose e de tempo de exposição<sup>8</sup>. Foi demonstrado que o aumento da produção de ROS pelas células da granulosa humana luteinizadas, obtidas em ciclos estimulados com gonadotrofinas, esteve associado a redução tanto do número de oócitos captados, como da implantação embriônica<sup>9</sup>.

#### 4.2- SOD e a fisiologia ovariana

A presença de SOD em folículos em crescimento, na camada granulosa dos folículos de Graaf, nos folículos ovulatórios, nas células da teca interna dos folículos antrais, em corpos lúteos gestacionais e nos vasos sanguíneos, assim como, mudanças cíclicas em seus níveis durante o ciclo menstrual, tem relação inversa aos níveis de superóxido, sugerindo que esta enzima possa participar da regulação do desenvolvimento folicular, da ovulação e das funções lúteas<sup>2</sup>.

A expressão da Mn-SOD e da Cu-Zn-SOD nas células da teca e da granulosa parece estar intimamente correlacionada com a esteroidogênese ovariana humana. A Mn-SOD parece desempenhar um importante papel no processo de regressão do corpo lúteo. Em condições não gravídicas, a expressão de CuZn-SOD acompanha os níveis de progesterona no corpo lúteo, aumentando da fase lútea precoce até a fase lútea média e diminuindo durante a regressão do corpo lúteo<sup>10</sup>. Por outro lado, quando ocorre a gestação, o aumento da expressão da Cu-Zn-SOD nas células lúteas, induzido pela gonadotrofina coriônica humana, parece ser importante para a manutenção da integridade do corpo lúteo<sup>11</sup>.

A atividade de SOD está presente no fluido folicular pré-ovulatório em níveis mais altos que no soro. Esses altos níveis parecem conferir proteção contra o dano oxidativo oocitário<sup>12</sup>.

#### 4.3- Glutathione e a fisiologia ovariana

Em colaboração com outros sistemas antioxidantes, os sistemas redox são também importantes no sentido de proteger os órgãos contra os malefícios do estresse oxidativo. As células do cumulus-oophorus participam da neutralização de ROS aumentando o conteúdo de GSH no ovário, que agiria juntamente com as enzimas antioxidantes, na inibição de apoptose<sup>13</sup>. Os oócitos, células da granulosa, células luteínicas e epitélio tubário expressam altos níveis de Glutathione Redutase (GR). A GSH gerada protegeria os oócitos contra a produção excessiva de ROS durante a maturação oocitária e a ovulação, preservando o potencial de fertilização oocitária<sup>14</sup>.

#### 4.4- RNOS / NOS e a fisiologia ovariana

Os neurônios, vasos sanguíneos e células do sistema imune são fundamentais para o funcionamento harmônico dos órgãos reprodutivos e, devido a importância do óxido nítrico nesses sistemas, é muito provável que o mesmo seja um importante regulador biológico e fisiológico do sistema reprodutivo<sup>2</sup>.

A foliculogênese ovariana é dependente tanto da ação coordenada de gonadotrofinas e esteróides, quanto de fatores parácrinos e autócrinos. O óxido nítrico é um dos fatores locais envolvidos na foliculogênese e esteroidogênese ovariana<sup>15</sup>. O óxido nítrico (NO) do fluido folicular parece ser produzido tanto pela NOS endotelial (eNOS) quanto pela NOS induzível (iNOS).

Alguns autores demonstraram que tanto a administração de gonadotrofina coriônica humana, quanto a utilização de um inibidor da iNOS promoveram a quebra da vesícula germinativa, com conseqüente retomada da divisão meiótica oocitária. Por outro lado, a utilização de um doador de óxido nítrico produziu uma inibição dose-dependente da quebra da vesícula germinativa em oócitos desnudos, evidenciando um papel inibitório do NO na maturação oocitária. Desta forma, estes autores evidenciaram que o eixo iNOS-NOS-cGMP possa desempenhar um importante papel na maturação meiótica oocitária<sup>16</sup>.

Durante a foliculogênese, baixas concentrações de óxido nítrico podem prevenir a apoptose, porém, altas concentrações de NO e produção aumentada de superóxido pela NOS, devido à falta de arginina, podem promover morte celular pela produção de peroxinitrito. Estes dados, em conjunto, sugerem um papel importante de concentrações fisiológicas de óxido nítrico, não apenas na regulação da maturação meiótica oocitária, mas também da apoptose folicular. Todavia, não dispomos, até o presente momento, de estudos que tenham determinado as concentrações fisiológicas de óxido nítrico em fluidos foliculares pré-ovulatórios em ciclos naturais (não estimulados com gonadotrofinas) de mulheres férteis saudáveis.

O óxido nítrico inibe a esteroidogênese das células da granulosa não luteinizadas e luteinizadas e tem uma ação proteolítica mediada por prostaglandinas e apoptose<sup>17</sup>. O NO gerado pela NOS, presente nas células da granulosa e nas células luteínicas humanas, parece inibir a secreção de estradiol por inibição direta da aromatase<sup>18</sup>. Contrariamente,

Anteby e colaboradores<sup>19</sup> observaram correlação positiva entre os níveis de nitrato e nitrito no fluido folicular, o volume folicular e a concentração folicular de estradiol.

Também encontramos resultados divergentes na literatura quando se procurou correlacionar os níveis de óxido nítrico e de seus derivados no fluido folicular, com a maturidade e qualidade oocitárias. Lee e colaboradores<sup>20</sup> constataram que os níveis de NO no fluido folicular não tiveram correlação com a qualidade oocitária, contudo, estiveram alterados em doenças associadas à infertilidade. Diferentemente, Barrionuevo e colaboradores<sup>21</sup> demonstraram que níveis significativamente menores de NO no fluido folicular estiveram associados a melhores taxas de fertilização oocitária e clivagem embrionária.

Conjuntamente, estes dados evidenciaram a necessidade de estudos bem delineados e com adequada casuística, capazes de definirem a influência potencial do NO na qualidade oocitária, embrionária e esteroidogênese ovariana.

#### 4.5- Citocinas e ROS na fisiologia ovariana

Fatores autócrinos e parácrinos afetam a modulação de várias funções ovarianas, incluindo a esteroidogênese. Alguns autores propõem que a ovulação ou ruptura folicular em mamíferos sejam resultantes de alterações vasculares e proteolíticas, sendo que a comunicação entre estes dois mecanismos parece ser mediada por citocinas, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), ROS e RNOS. A fonte de citocinas no fluido folicular tem sido postulada ser, tanto do plasma sanguíneo, quanto de macrófagos e monócitos que compõe 5 a 15% das células foliculares<sup>1</sup>. Radicais livres e citocinas parecem estar interligados e agem como mensageiros intercelulares e intracelulares no ovário. Concentrações de Interleucina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) encontram-se mais elevadas no fluido folicular obtido de folículos contendo oócitos maduros. Porém, Barrionuevo e colaboradores não observaram correlação entre os níveis foliculares de óxido nítrico e os de Interleucina-1 $\alpha$ , sugerindo que, se houver alguma correlação positiva, esta seja em nível celular. A IL-1 $\alpha$  também está presente, regulando a produção de NO em ovários luteinizados e participando da supressão da apoptose em folículos ovarianos de ratas.<sup>21</sup>

#### 4.6- Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) e estresse oxidativo

Um dos mecanismos possivelmente envolvidos na alteração da foliculogênese observada na SOP consiste na diminuição do apoptose nos estágios iniciais do crescimento folicular, o que permitiria a um número maior de folículos desenvolver uma teca capaz de sintetizar andrógenos, levando à atresia folicular. Há relatos de que as ROS são capazes de iniciar a cascata apoptótica nas células da granulosa humanas, secundariamente a distúrbios na função mitocondrial, e de que os antioxidantes exerceriam um efeito anti-apoptótico em folículos pré-ovulatórios cultivados *in vitro*<sup>8</sup>. Existem dados evidenciando também que antioxidantes desempenham um importante papel tanto na síntese de colágeno, essencial para a construção da membrana basal ao longo do crescimen-

to folicular, como na biossíntese de androgênios induzida pelo hormônio luteinizante. Os antioxidantes também estão envolvidos na regulação da função de enzimas esteroidogênicas dependentes do citocromo P450. Tanto o ácido ascórbico, como a superóxido dismutase exercem efeitos inibitórios sobre a aromatase, enzima responsável pela conversão de andrógenos a estrógenos. Corroborando todos estes achados, Ferda Verit e colaboradores<sup>22</sup> demonstraram que pacientes com SOMP, resistentes ao citrato de clomifeno, apresentaram maiores níveis de Capacidade Antioxidante Total (TAC) do que pacientes que ovularam com o citrato de clomifeno (CC). Estes autores mostraram que a TAC apresentou-se como o melhor fator preditivo para presença ou não de resposta à indução da ovulação com CC, encontrando-se significativamente mais elevada nas pacientes não respondedoras, reforçando o potencial efeito detrimental de alteração no balanço de antioxidantes para a ovulação<sup>22</sup>.

Em conjunto, estes dados sugerem que um desequilíbrio entre a produção e a neutralização das ROS, possa ser um dos mecanismos envolvidos na etiopatogênese da SOMP, o que precisa ser mais bem elucidado.

#### 4.7- ROS / SOD e o endométrio

No endométrio humano, a atividade da SOD diminui e os níveis de ROS se elevam na fase secretora tardia, sugerindo que estas mudanças na SOD e nas ROS possam estar envolvidas na descamação endometrial. As concentrações de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) no endométrio, um dos principais fatores responsáveis pela descamação endometrial, também aumentam na fase secretora tardia, atingindo níveis máximos na época da menstruação. Alguns autores demonstraram que a queda dos esteróides ovarianos, observada na fase secretora tardia, promove uma redução da Cu-Zn-SOD nas células endometriais estromais humanas, e que as ROS estimula a produção de PGF2 $\alpha$ , via ciclooxigenase-2 (COX-2), principal enzima envolvida no controle da síntese de prostaglandinas pelas células decíduais humanas. Associando estes dados, Sugino e colaboradores<sup>23</sup> observaram que a queda dos esteróides ovarianos, observada na fase secretora tardia, promoveu tanto a diminuição da atividade da Cu-Zn-SOD nas células endometriais estromais humanas, como o aumento das ROS, desencadeando a menstruação, pelo estímulo da produção de PGF2 $\alpha$ , via aumento da expressão da COX-2. O mecanismo pelo qual as ROS aumentam a expressão da COX-2, parece ser pela ativação do fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), que por sua vez regula a expressão da COX-2<sup>23</sup>.

#### 4.8- NOS, RNOS e o endométrio

O óxido nítrico regula as funções endometriais, miometriais e microvasculares no útero por ação parácrina, sendo importante na menstruação e na regulação da contratilidade uterina<sup>1</sup>. A NOS endotelial foi originalmente identificada em células do endotélio vascular e atualmente se sabe que está distribuída em células epiteliais glandulares no endométrio humano e que um agente antiprogestacional com ação antioxidante, a mifepristona, inibe a sua expressão no processo de implantação. O NO tem papel na decidualização

do endométrio por meio de NOS induzível e na preparação do endométrio para a implantação por meio de NOS endotelial<sup>24</sup>

#### 4.9- Endometriose e estresse oxidativo

Alguns autores sugeriram a possibilidade da endometriose ser uma patologia originada ou associada ao estresse oxidativo<sup>25,26</sup>. Na vigência de endometriose pélvica, haveria a ativação dos macrófagos na cavidade peritoneal, o que poderia promover aumento da produção de ROS, RNOS, citocinas, prostaglandinas e fatores de crescimento<sup>27</sup> e, conseqüentemente, estresse oxidativo, gerando peroxidação dos lipídeos, de seus produtos de degradação e dos produtos formados pela sua interação com as lipoproteínas de baixa densidade e outras proteínas. Os lipídeos peroxidados, ao se submeterem à decomposição, gerariam produtos como o malondialdeído (MDA) e poderiam ser reconhecidos como corpos estranhos, desencadeando resposta antigênica, com conseqüente produção de anticorpos. Este processo cursaria com danos oxidativos às células vermelhas do sangue, às células endometriais e peritoneais, o que, por sua vez, estimularia o recrutamento e ativação de mais fagócitos mononucleares, perpetuando os danos oxidativos à cavidade pélvica. O estresse oxidativo também danifica células mesoteliais e pode induzir o aparecimento de sítios de adesão para células endometriais, favorecendo o desenvolvimento e a progressão dos focos de endometriose<sup>27</sup>.

A ativação de leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, observada em portadoras de endometriose, pode ser desencadeada por uma série de fatores, incluindo a presença de hemácias danificadas, de células endometriais apoptóticas, de debris celulares e de outras células inflamatórias. Na endometriose, a ação destes macrófagos peritoneais parece ser estimulada *in vitro* por resposta imune ou por agentes como os ínterferons  $\alpha$  e  $\beta$ , aumentando a expressão de NOS induzível, produzindo mais NO e compostos de nitrato e nitrato<sup>1</sup>. Contudo, convém ressaltarmos que encontramos dados inconclusivos acerca dos níveis de óxido nítrico, peróxidos lipídicos e ROS no fluido peritoneal de pacientes com e sem endometriose<sup>25</sup>.

Embora a expressão do RNA mensageiro de NOS seja cíclica nas glândulas epiteliais do endométrio humano, a expressão de NOS endotelial no endométrio ectópico de pacientes com endometriose ou adenomiose mantém-se aumentada durante todo o ciclo menstrual, assim como a produção de peroxinitrito, nas portadoras de adenomiose. Segundo alguns autores, o tratamento com agonista de GnRH reduz significativamente tanto a expressão de NOS endotelial no endométrio ectópico, quanto a produção de peroxinitrito<sup>27</sup>.

Em mulheres com endometriose e adenomiose observa-se também uma maior expressão da Mn-SOD e CuZn-SOD no endométrio, durante todo o ciclo menstrual, além de expressões aberrantes de glutathione peroxidase (GPx) e de xantina oxidase (XO), tanto em endométrio eutópico quanto ectópico. A atividade de SOD parece estar significativamente mais alta no endométrio ectópico de endometriomas do que no endométrio eutópico<sup>27</sup>.

Se, por um lado, observa-se uma tendência a maior

produção de radicais livres nas portadoras de endometriose, por outro, alguns dados disponíveis, sucintamente relatados anteriormente, sugerem uma potencial alteração da capacidade antioxidante em portadoras de endometriose, o que, supostamente, poderia contribuir para a ocorrência de estresse oxidativo, que poderia estar relacionado à etiopatogênese da doença e à sua progressão.

Até o presente momento, pouco é conhecido acerca da associação entre endometriose e infertilidade, especialmente nos casos mínimos e leves, em que não se observam alterações significativas da anatomia pélvica. Alguns autores sugerem que a endometriose possa comprometer a qualidade oocitária e a receptividade endometrial. Entre as moléculas de adesão, os melhores marcadores de receptividade uterina parecerem ser a  $\alpha$  e a  $\beta$  integrinas, que possuem um padrão similar de expressão ao da NOS endotelial durante o ciclo menstrual. Porém, na endometriose, quando a expressão de NOS endotelial no epitélio glandular e luminal aumenta, a expressão de  $\alpha$  e  $\beta$  integrina diminui. O aumento pronunciado de eNOS durante a fase lútea média e a diminuição nas moléculas de adesão podem contribuir para os problemas de implantação observados em algumas portadoras de endometriose. Já que o NO pode induzir a apoptose de células endometriais, altos níveis de NO no endométrio podem, também, desregular os processos de implantação e de desenvolvimento embrionário.<sup>27</sup>

Se, por um lado, apesar de controversos, encontramos dados sugerindo que o aumento da produção de ROS e de peróxidos lipídicos, assim como a diminuição da capacidade antioxidante total (TAC) encontrados no fluido peritoneal de mulheres com endometriose, possam estar envolvidos na etiopatogênese desta doença<sup>26</sup>. Por outro, não está bem estabelecido se o estresse oxidativo desempenha algum papel na patogênese da infertilidade associada à endometriose.

#### 4.10-ROS / RNOS e tubas uterinas

O NO tem um efeito relaxante sobre a contratilidade tubária. Postula-se que, se por um lado, a deficiência de NO poderia levar a disfunção da motilidade tubária, por outro lado, níveis aumentados de NO nas tubas uterinas poderiam ser tóxicos para o espermatozóide<sup>1</sup>.

Os mecanismos responsáveis pela embriotoxicidade do fluido presente nas hidrossalpinges são foram elucidados até o presente momento. Alguns autores evidenciaram a presença de ROS, peróxidos lipídicos e capacidade antioxidante total em fluidos de hidrossalpinges humanas. Estes autores sugeriram que a presença de baixos níveis de ROS poderia ocorrer em hidrossalpinges funcionais, não apresentando toxicidade embrionária, ao passo que níveis indetectáveis de ROS poderiam ser derivados de hidrossalpinges com dano endossalpingeo mais extenso. Convém ressaltarmos que estes dados precisam ser mais bem elucidados, inclusive quanto a determinação de níveis fisiológicos de ROS nos fluidos tubários<sup>26</sup>.

#### 4.11-Embriogênese e estresse oxidativo

Assim como outras células aeróbicas, os embriões utili-

zam oxigênio para gerar energia por meio da fosforilação oxidativa mitocondrial, podendo produzir ROS por diferentes vias, como a fosforilação oxidativa, a via da nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato oxidase (NADPO) e a da xantina oxidase (XO)<sup>28</sup>. A produção de ROS é notadamente maior em embriões cultivados *in vitro*, do que naqueles *in vivo*. Todavia, ainda precisa ser esclarecido se este aumento da produção de ROS observado em embriões cultivados *in vitro* se deve a mudanças intrínsecas no metabolismo embrionário, a alterações na sua capacidade de neutralizar ROS e/ou a fatores ambientais característicos do cultivo *in vitro*, como as maiores concentrações de O<sub>2</sub>. Também não está claro se a micromanipulação oocitária possa ter algum efeito no balanço oxidativo geral dos embriões<sup>29</sup>. Contudo, acredita-se que as ROS possam promover danos as membranas celulares, causar fragmentação do DNA e induzir a apoptose, podendo estar envolvidas na pior qualidade embrionária observada em embriões fragmentados, que, por sua vez, apresentam aumento da apoptose.

O sistema glutaciona redox também está envolvido na embriogênese. Após a fertilização, um alto poder redox é necessário para a formação do pró-núcleo masculino, por meio da redução de ligações dissulfídicas nos oócitos, favorecendo o adequado desenvolvimento embrionário. A origem desse poder redutor parece ser a glutaciona (GSH), a maior fonte do potencial redox dos oócitos, que também são ricos em glutaciona redutase (GR). Em cultura, a oxidação diminui os níveis de GSH em maior extensão no blastocisto, do que no embrião de duas células. Por outro lado, a síntese de GSH e a sua reversão aumentam entre o estágio de duas células e o de blastocisto. A reciclagem de GSSG (glutaciona oxidada) deve desempenhar um papel importante na manutenção dos níveis de GSH intracelular até o embrião no estágio de duas células<sup>2</sup>.

### 5- Efeitos do estresse oxidativo sobre os resultados das Técnicas de Reprodução Assistida (TRA)

Marcadores de estresse oxidativo foram localizados no fluido folicular, no meio de preparo de espermatozoides e no meio de cultivo de embriões de pacientes que se submetem a fertilização *in vitro* (FIV) / transferência embrionária (TE)<sup>1</sup>. As ROS podem ser produzidas pelos gametas, células do cumulus, células inflamatórias, entre outros.

Dados previamente citados sugerem que a produção de ROS é notadamente maior em embriões cultivados *in vitro*, do que naqueles produzidos *in vivo*. A maior produção de ROS tem sido atribuída a alguns fatores presentes quando do emprego de TRA. A centrifugação de espermatozoides imaturos durante o preparo do sêmen, a falta de plasma seminal rico em antioxidantes e a contaminação por leucócitos são algumas fontes de radicais livres. Da mesma forma, as células do cumulus, os oócitos e embriões também contribuem para o aumento dos níveis de ROS, produzidas pelo seu metabolismo e pelo possível déficit de mecanismos antioxidantes. Todavia, o mais importante fator externo que pode afetar a viabilidade de gametas e embriões *in vitro* parece ser a pressão de oxigênio (pO<sub>2</sub>), mais elevada do que a presente *in vivo*.

Durante a Injeção Intra-Citoplasmática de

Espermatozoides (ICSI) o tempo de incubação dos complexos *cumulus-oophorus* é mais curto que na FIV, diminuindo a sua exposição a pO<sub>2</sub>. A incubação é iniciada após o desnudamento das células do cumulus que são outra fonte potencial de produção de ROS. O tempo de contato entre esperma e oócito também é minimizado.<sup>29</sup>

Pelo acima exposto, parece claro que a micromanipulação e o cultivo *in vitro* de gametas e de embriões possam favorecer o risco de exposição dos mesmos a níveis suprafisiológicos de ROS. Se o aumento da produção de ROS não for contrabalançado pelo aumento das defesas antioxidantes, poderá ocorrer o estresse oxidativo, ao qual têm sido atribuídos danos a lipídios, proteínas e DNA, e, possivelmente, comprometimento dos resultados das TRA. Todavia, têm sido identificadas algumas condições potencialmente modificáveis, presentes quando do emprego de TRA, passíveis de minimizar os efeitos tóxicos das ROS, como: a escolha e a adição de suplementos antioxidantes ao meio de cultura, a redução do tempo de manipulação oocitário e a diminuição da exposição a meios que possam favorecer a produção de ROS<sup>29</sup>.

O microambiente folicular tem um papel crucial na determinação da qualidade oocitária, que se reflete nas taxas de fertilização e na qualidade embrionária. Convém ressaltarmos que não dispomos de estudos que tenham avaliado os níveis fisiológicos de espécies reativas do oxigênio e de antioxidantes no fluido folicular de mulheres normais férteis em ciclos não estimulados com gonadotrofinas exógenas. Desta forma, não dispomos de dados acerca da potencial influência de níveis fisiológicos de ROS e antioxidantes no fluido folicular sobre a qualidade oocitária e, conseqüentemente, sobre a qualidade embrionária e o sucesso da gestação subsequente. Os dados disponíveis acerca dos efeitos deletérios e/ou benéficos das ROS sobre a qualidade oocitária, taxa de fertilização, qualidade embrionária e outros marcadores do sucesso das TRA são inconsistentes e conflitantes. Apesar de alguns autores terem recentemente demonstrado que elevados níveis de ROS no fluido folicular de mulheres inférteis submetidas a FIV/ TE associaram-se a redução do potencial de fertilização oocitário e aumento da produção de embriões de pior qualidade, existem dados controversos. Diversas variáveis podem justificar as diferenças encontradas na literatura, entre elas os diferentes critérios de seleção das pacientes, os protocolos de estimulação ovariana utilizados, os diferentes marcadores e métodos utilizados para sua mensuração, características particulares dos diferentes laboratórios de FIV, entre tantos outros. Assim, certamente estudos com maiores casuísticas, metodologicamente bem delineados, serão cruciais para elucidarem o papel das ROS no fluido folicular na fisiologia reprodutiva e na etiopatogênese da infertilidade.

### Conclusão

Temos observado um aumento considerável no número de estudos publicados nos últimos 10 anos avaliando a potencial importância do estresse oxidativo na reprodução

feminina. Ainda há muito a ser pesquisado no sentido de esclarecer a função dos radicais livres e dos mecanismos de defesa antioxidantes em múltiplos processos fisiológicos reprodutivos. Podemos afirmar o mesmo acerca do possível papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da infertilidade relacionada a diversas doenças, com destaque para a endometriose, a SOMP, as afecções tubárias e, talvez, alguns casos considerados hoje como de origem indeterminada. Para que os resultados obtidos até o presente momento possam ser melhor compreendidos e permitam a obtenção de conclusões mais solidificadas, outros estudos bem delineados precisam ser realizados, procurando eliminar os vieses detectados nos estudos disponíveis, como a falta de uniformidade nas metodologias empregadas e a natureza do material estudado, as variações inter-laboratoriais e inter-observadores, a pequena amostra populacional estudada, entre tantos outros. A eliminação dos vieses poderá fornecer suporte para abordagens terapêuticas baseadas em boas evidências. A sensibilidade e especificidade dos vários marcadores do estresse oxidativo, os valores de referência de ROS e de antioxidantes nos diferentes compartimentos fisiológicos, as concentrações mínimas seguras ou fisiologicamente benéficas ainda precisam ser estabelecidos. No aspecto terapêutico, para se evitar a indução da produção excessiva de ROS quando do emprego de TRA, medidas de controle de qualidade técnica devem ser adotadas no ambiente laboratorial no preparo do sêmen, na micromanipulação oocitária e na escolha adequada do meio de cultura embrionária. Estratégias de tratamento utilizando a suplementação de diferentes antioxidantes para a redução do estresse oxidativo, seja *in vivo* e/ ou *in vitro*, precisam ser investigadas em ensaios controlados e randomizados, antes de se preconizar o seu uso rotineiramente na prática clínica.

### Abstract

Women are under the influence of oxidative metabolism throughout their reproductive life. Low concentrations of reactive oxygen species are important for the modulation of countless physiological processes in the female reproductive tract, such as oocyte maturation, follicular atresia, corpus luteum function, gamete interaction, fertilization, embryo development and implantation, as well as the age-related decline in fertility. When there is a disequilibrium between pro-oxidant agents and antioxidant mechanisms of defense of the organism, oxidative stress may occur, which has been implicated in the pathogenesis of endometriosis and of other diseases of the female reproductive tract. Some reports support the deleterious influence of oxidative stress both at the level of natural fertility and after the execution of assisted reproduction techniques. Thus, the objective of the present review was to present a synthetic description of the influence of free radicals and of different antioxidants on the physiology of female reproductive processes and to point out their potential role in the etiopathogenesis of important causes of female infertility, with emphasis on polycystic ovary syndrome, endometriosis and tube dysfunction.

**UNITERMS:** oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants, female infertility, assisted reproduction.

### Referências bibliográficas

1. Agarwal A, Gupta S, Sharma R. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005;3:28.
2. Fujii J, Iuchi Y, Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005;3:43.
3. Babior BM. Superoxide: a two-edged sword. *Bras J Biol Res.* 1997;30:141-155.
4. Espey LL. Ovulation as an inflammatory reaction – a hypothesis. *Biol Reprod.* 1980;22:73-106.
5. Miyazaki T, Sueoka K, Dharmarajan AM, Atlas SJ, Bulkley GB, Wallach EE. Effect of inhibition of oxygen free radical on ovulation and progesterone production by the *in vitro* perfused rabbit ovary. *J Reprod Fertil.* 1991;91:207-212.
6. Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowicz M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod.* 1999;5:409-413.
7. Chaube SK, Prasad PV, Thakur SC, Shrivastav TG. Hydrogen peroxide modulates meiotic cell cycle and induces morphological features characteristic of apoptosis in rat oocytes cultured *in vitro*. *Apoptosis.* 2005;10:863-874.
8. Zhang X, Li XH, Ma X, Wang ZH, Lu S, Guo YL. Redox-induced apoptosis of human oocytes in resting follicles *in vitro*. *J Soc Gynecol Investig.* 2006;13(6):451-8.
9. Jancar N, Kopitar AN, Ihan A, Klun IV, Bokal EV. Effect of apoptosis and reactive oxygen species production in human granulosa cells on oocyte fertilization and blastocyst development. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24:91-97.
10. Suzuki T, Sugino N, Fukaya T, Sugiyama S, Uda T, Takaya R, Yajima A, Sasano H. Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertil Steril.* 1999;72:720-726.
11. Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Mol Hum Reprod.* 2000;6:19-25.
12. Tatemoto H, Muto N, Sunagawa I, Shinjo A, Nakada T. Protection of porcine oocytes against cell damage caused by oxidative stress during *in vitro* maturation: role of superoxide dismutase activity in porcine follicular fluid. *Biol Reprod.* 2004;71:1150-1157.
13. Tatemoto H, Sakurai N, Muto N. Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during *in vitro* maturation: role of cumulus cells. *Biol Reprod.* 2000;63:805-810.
14. Kaneko T, Iuchi Y, Kawachiya S, Fujii T, Saito H, Kurachi H, Fujii J. Alteration of glutathione reductase expression in the female reproductive organs during the estrous cycle. *Biol Reprod.* 2001;65:1410-1416.
15. Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S,

- Kurachi H. Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril*. 2002;77:1184-1190.
16. Friden BE, Runesson E, Hahlin M, Brannstrom M. Evidence for nitric oxide acting as a luteolytic factor in the human corpus luteum. *Mol Hum Reprod*. 2000;6:397-403.
17. Nakamura Y, Yamagata Y, Sugino N, Takayama H, Kato H. Nitric oxide inhibits oocyte meiotic maturation. *Biol Reprod*. 2002;67:1588-1592.
18. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998;4:3-24.
19. Lee KS, Joo BS, Na YJ, Yoon MS, Choi OH, Kim WW. Relationships between concentrations of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide in follicular fluid and oocyte quality. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17:222-228.
20. Anteby EY, Hurwitz A, Korach O, Revel A, Simon A, Finci-Yeheskel Z, Mayer M, Laufer N. Human follicular nitric oxide pathway: relationship to follicular size, oestradiol concentrations and ovarian blood flow. *Hum Reprod*. 1996;11:1947-1951.
21. Barrionuevo MJ, Schwandt RA, Rao PS, Graham LB, Maisel LP, Yeko TR. Nitric oxide (NO) and interleukin-1beta (IL-1beta) in follicular fluid and their correlation with fertilization and embryo cleavage. *Am J Reprod Immunol*. 2000;44:359-364.
22. Ferda Verit F, Erel O, Kocyigit A. Association of increased total antioxidant capacity and anovulation in nonobese infertile patients with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2007;12.[Epub ahead of print]
23. Sugino N, Karube-Harada A, Taketani T, Sakata A, Nakamura Y. Withdrawal of ovarian steroids stimulates prostaglandin F2alpha production through nuclear factor-kappaB activation via oxygen radicals in human endometrial stromal cells: potential relevance to menstruation. *J Reprod Dev*. 2004;50:215-225.
24. Sun X, Qiu X, Gemzell-Danielsson K. Effects of mifepristone on expression of endothelial nitric oxide synthase in human endometrium during the implantation phase. *Fertil Steril*. 2003;80:1454-60.
25. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003;79:829-843.
26. Szczepanska M, Kozlik J, Skrzypczak J, Mikolajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril*. 2003;79:1288-1293.
27. Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Female infertility and free radicals: potential role in adhesions and endometriosis. *J Soc Gynecol Investig*. 2006;13(6):390-8.
28. Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update*. 2001;7:175-189.
29. Agarwal A, Said TM, Bedaiwy MA, Banerjee J, Alvarez JG. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril*. 2006;86(3):503-12.
30. Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, Chaudhury K. Reactive oxygen species level in follicular fluid—embryo quality marker in IVF? *Hum Reprod*. 2006;21(9):2403-7.

# Causas genéticas para a infertilidade masculina

Genetic causes for the male infertility

Jalsi Tacon Arruda, Patricia Ribeiro dos Santos, Wyara Elanne de Jesus Castro Mesquita, Katia Karina Verolli de Oliveira Moura



Jalsi Tacon Arruda

A Dra. Jalsi Tacon Arruda possui graduação em Biologia pela Universidade Católica de Goiás obtida no ano de 2005 - bacharelado e licenciatura. É pós-graduanda em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal de Goiás, em nível de Mestrado, e bolsista do CNPq. Possui o título de especialista em Genética pela Universidade Católica de Goiás obtido no ano de 2007. Atua como pesquisadora no Núcleo de Pesquisas Replicon - UCG desde o ano de 2003.

## RESUMO

A infertilidade masculina não consiste em uma doença, mas sim em uma síndrome multifatorial que abrange uma grande variedade de desordens, que podem ser congênitas ou adquiridas. O fator masculino na infertilidade tem se tornado cada vez mais importante na investigação dos casais inférteis. Tal fato é representado por uma queda considerável na qualidade do sêmen de indivíduos saudáveis e jovens nos últimos anos. As condições mais frequentes associadas à infertilidade masculina podem ser classificadas em pré-testiculares onde as alterações ocorrem no sistema hormonal que impedem a produção de espermatozoides adequados; em testiculares quando doenças acometem o testículo e as pós-testiculares que abrangem problemas no sistema de ductos que transportam os gametas masculinos para o exterior. Um homem fértil pode se tornar infértil ou até mesmo estéril devido a problemas ocorridos ao longo da vida. Muitas causas têm sido atribuídas como fatores ambientais e genéticos, sendo este último responsável por cerca de 60% dos casos. Diferentes anormalidades genéticas têm sido identificadas, sendo que atualmente representam uma parte considerável deste problema.

**UNITERMOS:** infertilidade, fator masculino, anormalidades genéticas.

## Introdução

A reprodução é uma característica comum a todo ser vivo e fundamental para a manutenção da espécie. Alguns organismos se reproduzem por simples processos de divisão celular, enquanto que em outros a reprodução é um fenômeno complexo que envolve várias estruturas e etapas, requerendo um perfeito equilíbrio (1). Para a espécie humana o desejo de ter filhos é um sentimento inato e a fertilidade está relacionada à realização pessoal.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) conceitua um casal como sendo infértil após 12 ciclos menstruais consecutivos com relações sexuais sem o uso de métodos contraceptivos (2). A causa da infertilidade pode ser masculina, feminina ou do casal. Estudos têm demonstrado que apro-

ximadamente 20% dos casais apresentam problemas de infertilidade e cerca de 40% dos casos se deve aos fatores masculinos que estão ligados a produção de espermatozoides (2). A infertilidade masculina não consiste em uma doença, mas sim em uma síndrome multifatorial que abrange uma grande variedade de desordens, que podem ser congênitas ou adquiridas. O fator masculino na infertilidade tem se tornado cada vez mais importante na investigação dos casais inférteis. Tal fato é representado por uma queda considerável na qualidade do sêmen entre indivíduos saudáveis e jovens nos últimos anos (3).

A infertilidade masculina está relacionada com a produção de espermatozoides e é constatada inicialmente através de alterações encontradas no espermiograma, que é um exame simples e de baixo custo. A avaliação do sêmen é importante para detecção de várias alterações. O homem pode ser azoospermico quando apresenta ausência total de espermatozoides no ejaculado, oligozoospermico quando ocorre uma diminuição do número produzido (d' 20 milhões por mL). As alterações na forma do espermatozoide caracterizam a teratozoospermia, quando a capacidade de movimenta-

Núcleo de Pesquisas Replicon, Universidade Católica de Goiás.  
Correspondência para K.K.V.O. Moura  
Email: kkverolli@ucg.br  
Universidade Católica de Goiás - Núcleo de Pesquisas Replicon  
Av. Universitária, nº 1069, Setor Universitário, Goiânia-GO  
CEP: 74605-010  
Tel: 62-36461385  
Fax: 62-93461443

ção está alterada apresenta astenozoospermia ou a necrozoospermia quanto à vitalidade do espermatozóide (4). Em caso de alterações um novo espermograma deve ser solicitado, com pelo menos três meses de intervalo, porque este é o período necessário para ocorrer a espermatogênese que é um processo complexo pelo qual a espermatogônia se diferencia em espermatozoides, envolvendo mudanças estruturais e bioquímicas (3).

As condições mais freqüentes associadas à infertilidade masculina podem ser classificadas em pré-testiculares onde as alterações ocorrem no sistema hormonal que impedem a produção de espermatozoides adequados; em testiculares quando doenças acometem o testículo e as pós-testiculares que abrangem problemas no sistema de ductos que transportam os gametas masculinos para o exterior. Um homem fértil pode se tornar infértil ou até mesmo estéril devido a problemas ocorridos ao longo da vida. Além disso, o próprio envelhecimento provoca alterações que reduzem a produção espermática. Muitas causas têm sido atribuídas à infertilidade masculina como fatores ambientais e genéticos, sendo este último responsável por cerca de 60% dos casos. Dentre as causas genéticas podem ser encontradas alterações cromossômicas numéricas ou estruturais e as mutações gênicas que podem envolver um ou mais genes importantes (5).

Nos últimos anos o conhecimento sobre o genoma humano e os genes envolvidos na fertilidade humana vem ampliando graças aos avanços no campo da biologia molecular e da genética. Estudos indicam que mais de 3000 genes são expressos nas células germinativas e muitos deste estão relacionados à infertilidade. Diferentes anormalidades genéticas têm sido identificadas, sendo que atualmente representam uma parte considerável deste problema (6).

### *Alterações Cromossômicas*

As anormalidades cromossômicas associadas à infertilidade podem ser caracterizadas em dois grupos: alterações numéricas ou estruturais que podem afetar tanto as células somáticas quanto as germinativas e as anormalidades meióticas que afetam somente as células germinativas (7). Aneuploidias ou aberrações estruturais entre cromossomos autossômicos são menos freqüentes do que anormalidades envolvendo os cromossomos sexuais, entretanto, aberrações estruturais como translocações recíprocas ou Robertsonianas, inversões ou deleções, são mais freqüentes em homens inférteis do que na população normal e são encontradas em 14% dos homens azoospermicos e 5% dos oligozoospermicos (8;9). Especialmente inversões pericêntricas nos cromossomos 1, 3, 5, 6, ou 10, parecem interferir na meiose principal reduzindo o número de espermatozoides ou até mesmo em azoospermia (10). Estudos indicam que a freqüência de anormalidades cromossômicas aumenta à medida que reduz o número de espermatozoides (11).

Em 1942 o doutor Harry Klinefelter relatou um caso raro no qual um homem apresentava uma síndrome caracterizada por ginecomastia, aspermatogênese e aumento da excreção de hormônio folículo estimulante (FSH). A Síndrome de Klinefelter é uma das causas mais freqüentes de infertilidade masculina afetando 1:1000 homens e os indivíduos portado-

res dessa síndrome apresentam cariótipo 47,XXY em sua forma clássica e cerca de 20% podem ser mosaicos 46,XY/47,XXY, sendo que 4% dos homens inférteis possuem essa síndrome (12). Embora pacientes com a síndrome sejam usualmente azoospermicos, indivíduos com baixo número de espermatozoides podem ser encontrados. O cromossomo X extra surge na metade dos casos por erros de não-disjunção dos cromossomos sexuais durante a meiose I das células germinativas masculinas, um terço por erros na meiose I materna e os demais casos por erros na meiose II ou mitóticos pós-zigóticos levando ao mosaico. Pacientes com uma grande quantidade de X no cariótipo (48,XXXXY; 49,XXXXXY) apresentam fenótipo sexual feminino. A dosagem extra de X causa defeitos no desenvolvimento da gônada masculina e o equilíbrio cromossomal é crucial para o processo inicial da diferenciação sexual na embriogênese (13). O característico é que esses homens apresentem testículos pequenos e firmes, maturação sexual tardia, azoospermia e ginecomastia. Os mosaicos exibem características menos graves e podem produzir espermatozoides sendo oligozoospermicos.

A Síndrome de Noonan foi descrita em 1963 por Jacqueline Noonan e afeta 1:2500 homens. Também conhecida como a Síndrome de Turner masculina por apresentar um cariótipo mosaico 45,X0/46,XY. Estes homens apresentam criptorquidia e conseqüente infertilidade por afetar a produção de espermatozoides. O cariótipo mosaico é tipicamente infértil por causa da instabilidade genética nas gônadas e é estabelecido em pacientes que apresentam genitália ambígua com micropênis, hipospadia e testículos pequenos. A ocorrência de fenótipos femininos com o mesmo cariótipo indica também que são pontos delicados para o balanço cromossômico e decisivo no desenvolvimento sexual durante a embriogênese (13). Fenótipos intersexuais podem ser observados quando ocorre a fusão do cromossomo X com o Y em pontos específicos de quebra próximos ao gene SRY (*Sex-determining Region Y*) que é um dos responsáveis pela diferenciação sexual masculina (14).

Pacientes com oligozoospermia apresentam cerca de 3 a 8% de alterações cromossômicas, sendo 2/3 rearranjos cromossômicos autossômicos restando 1/3 para os cromossomos sexuais. A alteração mais freqüente consiste em translocações Robertsonianas. A proporção em que a contagem de espermatozoides decresce, as anormalidades cromossômicas são mais freqüentes, sendo que as autossômicas prevalecem sobre as sexuais (15). Homens que apresentam dois Y no cariótipo (47,XYY) são pouco freqüentes, mas a fertilidade é variável e geralmente são oligozoospermicos. O cromossomo Y bivalente é observado durante o paquíteno no núcleo do espermátócito em 45 a 47% dos casos sugerindo que nestes homens a formação normal do pareamento X-Y nas células germinativas é inibido, sendo assim mais uma fonte para a infertilidade (10).

Os fatores que interferem na fertilidade masculina são mais associados com variações no processo de divisão celular. Isso pode ser bem visualizado na variação que ocorre na região sináptica do cromossomo com o complexo sinaptonêmico. Isso pode supor que toda anormalidade

cromossômica é geralmente contraposta por mecanismos de segmentação meiótica (12). As anormalidades encontradas em linfócitos podem não estar presentes nas células germinativas pós-meióticas. Contudo, uma alta incidência de aneuploidias nos cromossomos sexuais tem sido observada em amostras de sêmen quando essa apresenta baixa qualidade morfológica e o cariótipo em linfócitos apresenta-se normal. Isso ocorre por causa da não-disjunção paterna dos cromossomos meióticos incluindo principalmente os sexuais, enquanto que as aneuploidias dos cromossomos 13, 16, 18 e 21 ocorrem com mais frequência por erros maternos (16). Um cariótipo normal encontrado nos linfócitos dos pacientes não exclui um aumento na taxa de aneuploidias nas células germinativas pós-meióticas, o que sugere um novo exame de cariótipo feito a partir dos espermatozoides.

Essas alterações cromossômicas estão associadas a danos severos na espermatogênese e a realização de estudos cromossômicos deve ser considerada nesses homens para a detecção das alterações cromossômicas (9). A etiologia mais comum para azoospermia é genética e cerca de 10 a 15% dos pacientes apresentam alterações cromossômicas. Nos quase 20% de casos em que a infertilidade masculina não pode ser atribuída a qualquer outra causa, o papel de alterações genéticas está sendo cada vez mais esmiuçado (17).

#### Alterações Moleculares

Vários genes envolvidos com a fertilidade humana já foram identificados e a maioria desses genes é homóloga aos de roedores (6). Análises das seqüências gênicas mostraram que 10% são seqüências divergentes, o que indica que houve uma rápida evolução das seqüências que codificam proteínas envolvidas na reprodução humana (18). Alterações na constituição do cromossomo Y também podem interferir na fertilidade, dificultando ou impedindo a produção adequada dos espermatozoides. Recentes estudos demonstram a associação da infertilidade masculina com microdeleções intersticiais (submicroscópicas, não detectáveis no cariótipo) na região definida como AZF (*Azoospermic Factor*) localizada no Yq que permitiu perceber que neste local residem genes responsáveis pela espermatogênese e cerca de 38% dos homens azoospermicos e 23% oligozoospermicos severos apresentam essas microdeleções (19). Apesar de ainda não existir uma concordância definitiva entre o tipo de microdeleção e a gravidade do defeito espermatogênico, as microdeleções em AZFa condicionam a síndrome de células únicas de Sertoli, em AZFb provocam uma parada na meiose I da espermatogênese e em AZFc condicionam a hipoespermatogênese que leva a oligozoospermia ou a azoospermia (20;21;22;23).

Tiepolo e Zuffardi (24) foram os primeiros a correlacionar as deleções encontradas por estudos citogenéticos no cromossomo Y com a infertilidade masculina. Demonstraram que os pais dos pacientes com deleções possuíam um Y normal, indicando que estas mutações eram eventos “*de novo*”, ou seja, que aconteciam aleatoriamente e eram restritos ao cromossomo Y do paciente e não estava presente no Y de outros membros masculinos da família (25). Estudos relatam uma incidência de 3 a 55% de microdeleções

em AZF e são mais frequentes em pacientes com azoospermia (19). Recentemente foi demonstrado que as microdeleções em AZFc condicionam um quadro evolutivo que se inicia com oligozoospermia progredindo para azoospermia (26;27). É esta situação evolutiva que permite explicar como homens com microdeleções podem ter filhos. Isso é possível devido à ampla variedade de quadros histopatológicos em homens com microdeleções em AZFc e no mesmo paciente pode co-existir túbulos seminíferos com diferentes tipos de células germinais (5;28;29;30;31).

Outros fatores genéticos podem estar envolvidos nos casos em que apresentam azoospermia obstrutiva como em homens portadores de Fibrose Cística, que é uma doença autossômica recessiva e que afeta em torno de 1:2500 crianças caucasóides, mas essa frequência pode variar entre grupos étnicos específicos (32). A doença é causada por mutações no gene regulador da condutância transmembrânica da fibrose cística (CFTR) localizado no cromossomo 7, afetando a produção da proteína responsável no transporte transmembrânico de cloro. A fibrose cística é uma doença letal cuja expectativa de sobrevivência é de 28 anos nos EUA e 6 anos após o diagnóstico no Brasil. A fibrose cística pode ser causada por uma série de diferentes mutações e a mais freqüente é a deleção de um códon na posição 508 que produz o aminoácido fenilalanina (ΔF508) responsável por 90% dos casos encontrados na Europa e de 70% em outros países (33). No Brasil, 47% dos casos apresentam essa mutação, mas essa porcentagem varia drasticamente devido a grande miscigenação, podendo variar de 27 a 53% dependendo da região no país (34).

Mutações que causam a fibrose cística estão envolvidas em muitas formas de azoospermia obstrutiva. Podem ser verificados casos com ausência congênita bilateral dos vasos deferentes (CBAVD), ausência congênita unilateral dos vasos deferentes (CUAVD) e outras condições congênitas como a obstrução bilateral dos ductos ejaculatórios e azoospermia obstrutiva epididimal (33). A CBAVD é diagnosticada em 1,5% dos casos de infertilidade masculina e representa 60% de mutações heterozigotas no gene CFTR, na forma de “heterozigotos confusos”, ou seja, mutações diferentes em cada alelo do gene. Pacientes com CBAVD e heterozigotos confusos com alelo 5T em uma das cópias do gene e uma mutação Arg117 para Hist117 (R117H) no exon 4 na segunda cópia do gene, tem um fenótipo mais grave de fibrose cística, entretanto, se a variante presente for a do alelo 7T o fenótipo resultante será somente CBAVD. Homens com CBAVD devem ser rastreados para as mutações no gene CFTR, porém, este rastreamento é muito complexo, já que mais de 1.519 mutações no gene CFTR e 223 variantes já foram identificadas e algumas dessas mutações são muito raras, próprias de grupos étnicos específicos (35). Mais de 95% dos homens com fibrose cística são inférteis devido a CBAVD, que, por sua vez, contribui com 2% da infertilidade masculina (34). Os homens que apresentam somente CBAVD podem ter tipos diferentes de mutações, quando comparados com pacientes com os sintomas clássicos de fibrose cística, por isso, os protocolos para o rastreamento de homens inférteis com CBAVD podem diferir da rotina de rastreamento de pacientes com fibrose cística.

A Síndrome de Insensibilidade aos Andrógenos (SIA) é uma doença com herança ligada ao cromossomo X que afeta pacientes com cariótipo normal 46,XY nos quais há prejuízo total ou parcial do processo de masculinização intra-uterina devido à alteração funcional do receptor de andrógeno (36). Cerca de trezentas mutações diferentes no gene que codifica o receptor androgênico (AR) já foram descritas. As mutações que alteram a seqüência primária da proteína acarretam na perda de função do receptor e as mutações que levam à substituição de aminoácidos podem resultar na síndrome em decorrência de alterações que afetam a capacidade de ligação do hormônio ao receptor, afetando a estabilidade dessa interação ou ainda a capacidade de reconhecimento das seqüências alvo de genes que têm sua transcrição regulada pelo complexo hormônio-receptor (37). Tais mutações podem ser causadas por substituições, deleções do gene total ou por aumentos das repetições CAG (polimorfismos) localizadas em diferentes regiões do receptor, acarretando no fenótipo azoospermico (38;39). Essas mutações também são outra causa genética para a infertilidade masculina. Os andrógenos são hormônios esteróides sintetizados principalmente pelas células de Leydig no testículo e são essenciais para a expressão do fenótipo masculino tanto na diferenciação sexual quanto no desenvolvimento e manutenção dos caracteres e para a estimulação da espermatogênese (40). O mecanismo de ação começa com a união do hormônio a um receptor de andrógeno específico na superfície celular ocorrendo assim a formação do complexo que ativa os mecanismos de transcrição e síntese de andrógenos. As mudanças estruturais que ocorrem no receptor de andrógeno são uma das causas de defeitos na espermatogênese.

A Síndrome de Kallmann é uma desordem com herança ligada ao X e está comumente relacionada com a infertilidade masculina acometendo 1:10000 homens. Deleções intragênicas no gene KAL-1 ou mutações pontuais incluindo também elementos funcionais de outros genes próximos como o DAX-1, causa hipogonadismo hipogonadotrópico associado com a hipoplasia congênita adrenal na infância. Os pacientes podem ser tratados com terapia de reposição hormonal, porém são geralmente oligozoospermicos (6;41).

A Distrofia Muscular Miotônica é uma doença neuromuscular autossômica dominante e o gene DM-1 está localizado no cromossomo 19. Caracterizada por atrofia muscular progressiva, miotonia, catarata, perda da libido, atrofia testicular e hipogonadismo resultando em infertilidade (6). É causada por mutações no exon 15 que apresenta repetições de CTG produzindo um RNA alterado. Indivíduos normais podem apresentar de 5 a 35 repetições de CTG, enquanto que mais de 37 repetições de CTG correspondem a uma pré-mutação e os pacientes afetados apresentam de 50 a 8000 repetições (42). Existe um aumento dessas mutações de uma geração para outra e um fator não usual é que os sintomas se tornam mais severos a cada geração.

O sistema reprodutor masculino é dependente de hormônios que regulam sua função e a hipófise produz as gonadotropinas sob o controle do hipotálamo. O hormônio folículo estimulante (FSH) é requerido para a espermatogênese

e o hormônio luteinizante (LH) estimula a produção de andrógenos testiculares pelas células de Leydig. O processo da espermatogênese é dependente de testosterona testicular para se manter. A secreção de LH é regulada em função da concentração plasmática de testosterona, que controla a secreção endócrina da hipófise e do hipotálamo. A secreção de FSH é regulada pela testosterona plasmática e também pela inibina que é um hormônio peptídico produzido pelas células de Sertoli (41). Os receptores de FSH e LH pertencem à família dos receptores acoplados a G-proteína e são caracterizados por um grande domínio extracelular que se liga especificamente aos heterodímeros do LH ou do FSH. Os genes FSHR e LHR respectivamente, estão localizados no cromossomo 2. Mutações no gene LHR levam a hipoplasia das células de Leydig atrasando o desenvolvimento masculino fetal e a um pseudo-hermafroditismo que pode ser causado pela ausência de diferenciação das células de Leydig. A infertilidade ocorre por causa da disgenesia masculina das gônadas, micropênis e hipospadia. É uma doença autossômica dominante causada por duas mutações em LHR (D578G e M571I) e a variação dos fenótipos patológicos associados é similar ao que é encontrado nas mutações do gene receptor de andrógeno.

Durante as últimas décadas de estudos relacionados ao DNA mitocondrial (mtDNA), foram identificadas evidências do seu envolvimento com a infertilidade masculina. Associado primeiramente com fenótipos de astenozoospermia ou oligoastenozoospermia em pacientes que sofriam de desordens mitocondriais típicas, envolvendo mutações pontuais ou deleções múltiplas no mtDNA. O espermatozóide demonstra uma propensão particular ao desenvolvimento de deleções no mtDNA que estão associadas com a diminuição da motilidade e foi encontrada uma correlação entre a qualidade do sêmen e a funcionalidade da cadeia respiratória das mitocôndrias presentes nos espermatozoides. Mutações pontuais, polimorfismos e haplogrupos no mtDNA podem influenciar na qualidade do sêmen e essa alta taxa de deleções e substituições observadas podem prejudicar a manutenção mitocondrial ou resultar em efeitos deletérios por estresse oxidativo (43;44). Estudos recentes identificaram um gene codificado pelo genoma nuclear, exclusivo das mitocôndrias que tem sido associado com a infertilidade masculina. O gene POLG (*Polymerase Gamma*) localizado no cromossomo 15 transcreve a subunidade catalítica da DNA polimerase mitocondrial. Contém 10 unidades trinucleotídicas CAG que codificam uma poliglutamina próxima ao trecho N-terminal da proteína madura (45). As alterações nas repetições CAG estão associadas com a perda da qualidade espermática e contribui em cerca de 5 a 10% na infertilidade masculina em países europeus (46). A variação nas repetições CAG na seqüência do mtDNA de espermatozoides pode alterar 2 ou 3 parâmetros que são analisados no espermograma (44).

## Conclusão

Embora a infertilidade masculina seja mais fácil de ser detectada, é mais difícil de ser tratada do que a feminina. Um a cada seis casais em idade reprodutiva apresenta algum problema de infertilidade. Como causas para a infertilidade mas-

culina têm sido identificadas mutações gênicas, alterações cromossômicas, além de uma série de outras doenças que afetam o sistema reprodutor masculino. Em 50% dos casos a infertilidade masculina é considerada idiopática (47). O diagnóstico molecular se baseia na análise das mutações, cuja maioria é particular em populações específicas ou grupos étnicos, fator que contribui para a diminuição da sensibilidade de detecção como um método de diagnóstico de rotina, uma vez que a análise molecular é baseada nas mutações mais comuns em populações européias. Em função disso é aconselhável que sejam analisados o maior número de mutações disponíveis, levando-se em conta o perfil mutacional de cada população.

Pacientes com diagnósticos alterados do espermograma deveriam passar por uma investigação completa sobre a causa da infertilidade, para um posterior encaminhamento para técnicas de reprodução assistida. A importância do diagnóstico reside no fato de que a maioria destes indivíduos há alguns anos atrás não podia conceber, o que atualmente, com as técnicas de reprodução assistida já é possível, apesar do elevado risco de transmissão das anormalidades. Isto faz com que exames de detecção de cromossomopatias e outras alterações genéticas se tornem fundamentais na investigação para a redução deste problema. Várias iniciativas vêm sendo tomadas durante os últimos anos com o objetivo de assegurar a qualidade do tratamento de infertilidade. A fim de que a sociedade continue tendo confiança na conduta das clínicas de infertilidade, tanto públicas como particulares, é necessário que elas tornem-se responsáveis em fornecer informações e aconselhamento aos casais que apresentam um risco aumentado de transmitir doenças genéticas. Como na maioria das doenças genéticas, o conhecimento do público sobre as bases genéticas, o curso e o prognóstico da doença é praticamente inexistente. O entendimento dos testes diagnósticos para doenças genéticas, envolve conceitos complexos tais como sensibilidade, status do portador, padrões de herança, risco e probabilidade, correlação genótipo-fenótipo. Durante a investigação sobre as causas da infertilidade, devem ser incluídas explicações sobre o consentimento informado e o aconselhamento genético. O aconselhamento é um processo de comunicação que lida com problemas humanos relacionados à ocorrência ou risco de recorrência de uma doença genética. As principais indicações para o aconselhamento são as que envolvem doenças genéticas hereditárias, idade materna avançada, exposição à teratógenos, consangüinidade e abortos sucessivos. Pacientes com alterações cromossômicas ou mutações gênicas devem ser submetidos ao aconselhamento genético para um rastreamento da probabilidade de sucesso na reprodução assistida.

A partir dos resultados obtidos com o desenvolvimento do Projeto Genoma Humano, diagnósticos moleculares como o pré-implantacional e o pré-natal de alta tecnologia, vêm sendo realizados. Cada inovação nos métodos diagnósticos implica em modificações técnicas e conseqüências inimagináveis. Estes métodos devem ser analisados mais detalhadamente a partir da análise dos possíveis riscos e benefícios, tanto para os pais quanto para os filhos. Muitos dos casais desistem da

reprodução assistida quando descobrem que são portadores de alguma anormalidade genética, devido ao alto risco de gerar embriões com as mesmas anomalias ou outras desconhecidas. Para esses casos pode ser aplicado o diagnóstico genético pré-implantacional que permite analisar a recorrência de alterações genéticas nos embriões antes da implantação no útero materno, podendo assim possibilitar a esses casais o nascimento de crianças saudáveis.

A infertilidade masculina ainda é vista como tabu pela maioria dos homens, porque admitir a possibilidade de não poder ter filhos mexe com a cabeça e com a auto-estima que, por vaidade ou por puro machismo, associam a fertilidade à virilidade e à masculinidade. A infertilidade pode ter várias causas, desde disfunções hormonais, anatômicas ou até mesmo psicológicas. Para um homem ser fértil, não basta apenas que ele tenha ereção e ejaculações, mas que tenha uma quantidade razoável de espermatozoides no sêmen. Um homem que produz mais de 20 milhões de espermatozoides é considerado normal e não necessita de métodos artificiais para reprodução se sua parceira também for saudável. Com os avanços da biotecnologia no campo da medicina reprodutiva, o sonho de casais com problemas de infertilidade pode tornar-se realidade.

## Abstract

Male infertility is a multifactorial syndrome. The investigation of the male factor is a very important item in the fertility work-up and some authors have reported a decrease in semen quality over time. Male infertility has many causes, which may be classified into three groups: pre-testicular (hormonal disorders), testicular (disorders in testicular sperm production), and post-testicular (related to defects in the tubular structures that transport seminal fluid and sperm.) The most common male infertility factors include azoospermia (no sperm cells are produced) and oligospermia (few sperm cells are produced). Infertility in men, in some cases, is caused by a genetic disease or a chromosomal abnormality. Genetic abnormalities are responsible for 60% of male infertility problems, and different genetic diseases have been identified.

**UNITERMS:** infertility, male factor, genetic disorders.

## Referências bibliográficas

1. De Mello MP, Assumpção JG, Hackel C. Genes envolvidos na determinação diferenciação do sexo. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49:14-25.
2. WHO - World Health Organization. Reproductive health indicators for global monitoring: Report of the second interagency meeting, England Cambridge. 2001.
3. Mori MM, Cedenho AP, Koifman S, Srougi M. Sperm characteristics in a sample of healthy adolescents in São Paulo, Brazil. *Cad. Saude Publica.* 2002;18:525-30.
4. WHO - World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 4th Ed. England Cambridge. UK. 1999.

5. SãoPedro SL, Fraietta R, Spaine D, Porto CS, Srougi M, Cedenho AP, Avellar MCW. Prevalence of Y chromosome deletions in a Brazilian population of nonobstructive azoospermic and severely oligozoospermic men Yq deletions in Brazilian infertile men. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36:787-93.
6. Vogt PH. Molecular genetic of human male infertility: from genes to new therapeutic perspectives. *Curr Pharm Des.* 2004;10:471-500.
7. Thompson & Thompson. *Genética Médica.* 6ª Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.
8. Maduro MR, Lamb DJ. Understanding new genetics of male infertility. *J Urol.* 2002;168:2197-205.
9. Pernice F, Mazza G, Puglisi D, Luppino MG, Frisina N. Nonrobertsonian translocation t(6;11) is associated with infertility in an oligoazoospermic male. *Fertil Steril.* 2002;78:192-94.
10. McElreavey K, Cortes LS. X-Y translocations and sex differentiations. *Semin Reprod Med.* 2001;19:133-39.
11. Kucheria K, Jobanputra V, Talwar R, Ahmad ME, Dada R, Sivakumaran TA. Human molecular cytogenetics: diagnosis, prognosis, and disease management. *Teratog Carcinog Mutag.* 2003;23:225-33.
12. Miharu N. Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: oligozoospermia. *Cytogenet Genome Res.* 2005;111:347-51.
13. Domenice S, Costa EMF, Corrêa RV, Mendonça BB. Aspectos moleculares da determinação e diferenciação sexual. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002;46:433-43.
14. Assumpção JG, Benedetti CE, Maciel-Guerra AT, Guerra-Junior G, Baptista MT, Scolfaro MR, de Mello MP. Novel mutations affecting SRY DNA-binding activity: the HMG box N65H associated with 46,XY pure gonadal dysgenesis and the familial non-HMG box R30I associated with variable phenotypes. *J Mol Med.* 2002;80:782-90.
15. Carrara RCV, Yamasaki R, Mazucatto LF, Veludo MAL, Sartorato EL, Pina-Neto JM. Somatic and germ cell cytogenetic studies and AZF microdeletion screening in infertile men. *Genet Mol Biol.* 2004 ;27:477-82.
16. Le Bourhis C, Siffroi JP, Mcelreavey K, Dadoune JP. Y Chromosome microdeletions and germinal mosaicism in infertile males. *Mol Hum Reprod.* 2000;6:688-93.
17. Olesen C, Hansen C, Bendsen E, Byskov AG, Schwinger E, Lopez-Pajares I, et al. Identification of human candidate genes for male infertility by digital differential display. *Mol Hum Reprod.* v. 7, p. 11-20, 2001.
18. Pina-Neto JM, Carrara RCV, Bisinella R, Mazzucatto LF, Martins MD, Sartorato E, Yamasaki R. Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39:555-61.
19. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Yq Microdeletions – Azoospermic Factor candidate gene and spermatogenic arrest. *J Biomol Tech.* 2004;15:176-83.
20. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev.* 2001;22:226-39.
21. Kamp C, Huellen K, Fernandes S, Sousa M, Schlegel PN, Mielnik A, et al. High deletion frequency of the complete AZFa sequence occurs only in men with Sertoli-cell-only syndrome. *Mol Hum Reprod.* 2001;7:987-94.
22. Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, Waterston RH, et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet.* 2001;29:279-86.
23. Ferrás C, Fernandes S, Marques CJ, Carvalho F, Alves C, Silva J, et al. AZF and DAZ gene copy specific deletion analysis in maturation arrest and Sertoli cell only syndrome. *Mol Hum Reprod.* 2004;10:755-61.
24. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet.* 1976;34:119-24.
25. Krausz C, Forti G, Mcelreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl.* 2003;26:70-75.
26. Vogt PH, Fernandes S. Polymorphic DAZ gene family in polymorphic structure of AZFc locus: artwork or functional for human spermatogenesis? *Acta Pathol Microbiol Immunol Scandinav.* 2003;111:115-27.
27. Fernandes S, Paracchini S, Meyer LH, Florida G, Tyler-Smith C, Vogt PH. A large AZFc deletion removes DAZ3/DAZ4 and nearby genes from men in Y haplogroup N. *Am J Hum Genet.* 2004;74:180-87.
28. Loginova JA, Nagornaya II, Shlikova SA, Petrova LI, Ribakova MV, Kuznetsova TV, Baranov VS. Molecular genetic analysis of Y-chromosome microdeletions in men with severe spermatogenic defects. *Mol Biol.* 2003;37:67-73.
29. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN Best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art 2004. *Int J Androl.* 2004;27:240-49.
30. Kihale PE, Atsushi Y, Yoshihiro S. Prospective assessment of Y-chromosome microdeletions and reproductive outcomes among infertile couples of Japanese and African origin. *J Exp Clin Assist Reprod.* 2005;2:9.
31. Hellani A, Al-Hassan S, Iqbal MA, Coskun S. Y Chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia. *J Exp Clin Assist Reprod.* 2006;3:1.
32. Rowntree RK, Harris A. The Phenotypic Consequences of CFTR Mutations. *Ann Hum Genet.* 2003;67:471-85.
33. Morea A, Cameran M, Rebuffi AG, Marzenta D, Maragon O, Picci L, et al. Gender-sensitive association of CFTR gene mutations and 5T allele emerging from a large survey on infertility. *Mol Hum Reprod.* 2005;11:607-14.
34. Pagani F, Stuani C, Tzetis M, Kanavakis E, Efthymiadou A, Doudounaskis S, et al. New type of disease causing

- mutations: the example of the composite exonic regulatory elements of splicing in CFTR exon 12. *Hum Mol Genet.* 2003;12:1111-120.
35. Cystic Fibrosis Mutations Database. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html> Acessado em: 20-07-07.
36. Melo KFS, Mendonça BB, Billerbeck AEC, Costa EMF, Latronico AC, Arnhold IJP. Síndrome de insensibilidade aos andrógenos: análise clínica, hormonal e molecular de 33 casos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49:87-97.
37. Li ZX, Tang WH, Wang ZH, Wang L, Wang YY, Ma LL, Ma X. (CAG)<sub>n</sub> polymorphism of androgen receptor gene in idiopathic azoospermic and oligozoospermic Chinese men. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2005;11:335-42.
38. Brinkmann AO, Trapman J. Genetic analysis of androgen receptors in development and disease. *Adv Pharmacol.* 2000;417:317-41.
39. Chu J, Zhang R, Zhao Z, Zou W, Han Y, Qi Q, et al. Male fertility is compatible with an Arg<sup>840</sup>Cys substitution in the AR in a large Chinese family affected with divergent phenotypes of AR insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:347-51.
40. Corrêa RV, Wey JC, Billerbeck AEC, Melo KFS, Mendonça BB, Wey MV, Arnhold IJP. Insensibilidade completa aos andrógenos em pacientes brasileiras causada pela mutação P766A no gene do receptor androgênico. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49:98-102.
41. Uribe LH, Marin IH, Aguilar RC, Ayala AR. Frecuencia y etiología de azoospermia en el estudio de parejas infértiles. *Ginecol Obstet Mex.* 2001;69.
42. Nishioka SAD, Martinelli Filho M, Marie S, Zatz M, Costa R. Distrofia Miotônica e Cardiopatia: comportamento dos eventos arrítmicos e dos distúrbios de condução. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84.
43. May-Panloup P, Chrétien MF, Savagner F, Vasseur C, Jean M, Malthiery Y, Reynier P. Increased sperm mitochondrial DNA Content in male infertility. *Hum Reprod.* 2003;18:550-56.
44. Rovio AT, Marchington DR, Donat S, Schuppe HC, Abel J, Fritsche E, et al. Mutations at the mitochondrial DNA polymerase (POLG) locus associated with male infertility. *Nat Genet.* 2001;29:261-62.
45. Rovio AT, Abel J, Ahola AR, Andrés AM, Bertranpetit J, Blancher A, et al. A prevalent POLG CAG microsatellite length allele in humans and African great apes. *Mamm Genome.* 2004;15:492-502.
46. Longley MJ, Graziewicz MA, Bienstock RJ, Copeland WC. Consequences of mutations in human DNA polymerase  $\beta$ . *Gene.* 2005;354:125-31.
47. Orello M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implication in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod.*

# Estado nutricional, consumo alimentar e perfil lipídico de mulheres na pós-menopausa

Nutritional status, food intake, and lipid profile in post-menopausal women

Maria Cecília Merege, Ricardo Luiz Ribeiro, Yara Juliano, Maria Cristina Faria da Silva Cury, Dirce Maria Sigulem, Mario Cavagna, João Carlos Mantese



Maria Cecília Merege

Maria Cecília Merege é formada em Nutrição no Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL (Londrina –PR). É Especialista em Saúde Pública e Ação Comunitária pela Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da região do Pantanal – UNIDERP - Campo Grande –MS. É Mestre em Saúde Materno Infantil pela Universidade de Santo Amaro – UNISA - São Paulo.

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar o estado nutricional de mulheres em pós-menopausa e relacionar o índice de massa corporal (IMC) com o perfil lipídico e consumo alimentar.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Em um estudo observacional de corte transversal, foram avaliadas 105 pacientes matriculadas na Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, na cidade de São Paulo, com idade média de 57,7 anos. As variáveis analisadas foram IMC, porcentagem de gordura corporal, consumo de macronutrientes, fibras e colesterol e perfil lipídico. Foram consideradas informações de idade, etnia, escolaridade, renda familiar, estado civil, profissão, número de gestações, atividade física e antecedentes pessoais e familiares de obesidade. Na análise estatística utilizaram-se os testes de Kruskal–Wallis, com técnica da diferença mínima significativa (DMS), e teste qui-quadrado, com nível de significância de 5%.

**RESULTADOS:** Constataram-se percentuais de gordura corporal elevados, estatisticamente significante, tanto para as participantes eutróficas (valor mediano: 33%) quanto para aquelas com sobrepeso (37%) e com obesidade (41%). As médias dos valores de consumo energético total, carboidratos, proteínas, lipídios, fibras e colesterol foram respectivamente 1 367 kcal, 190 g, 64 g, 39 g, 13 g e 159 mg para eutróficas; 1 424 kcal, 179 g, 69 g, 48 g, 16 g e 168 mg para as com sobrepeso; 1 388 kcal, 164 g, 75 g, 48 g, 11 g e 124 mg para as obesas.

**CONCLUSÃO:** As pacientes eutróficas, com sobrepeso e obesas apresentaram valores elevados de índice de massa corporal, distribuição de gordura corporal na região central, perfil lipídico alterado e consumo elevado de alimentos ricos principalmente em gorduras saturadas e proteínas, com precedência da quantidade dos alimentos ingeridos sobre a qualidade destes.

**UNITERMOS:** menopausa, estado nutricional, perfil lipídico, percentual de gordura corporal.

## Introdução

Estado nutricional é uma medida da extensão na qual a necessidade fisiológica do indivíduo por nutrientes é alcançada.<sup>1,2</sup>

Tem como objetivo identificar os distúrbios nutricionais ocasionados pelo desequilíbrio entre a ingestão de nutrientes e necessidade de nutrientes, possibilitando uma intervenção adequada de forma a auxiliar na recuperação e/ou

manutenção do estado de saúde do indivíduo<sup>1,2</sup>.

Os seguintes métodos podem ser utilizados para avaliar o estado nutricional: antropometria, parâmetros bioquímicos, consumo alimentar e exame físico. É importante ressaltar que um parâmetro isolado não caracteriza a condição nutricional do indivíduo, é necessário empregar uma associação de indicadores para melhorar a precisão e a acurácia do diagnóstico nutricional<sup>1</sup>.

De acordo com a adequação do peso o estado nutricional do indivíduo pode ser classificado em desnutrição, eutrofia, sobrepeso e obesidade<sup>1</sup>.

O aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade tem se mostrado crescente, particularmente no sexo feminino, em vários países, incluindo o Brasil<sup>3,4</sup>. Diversos fatores estariam envolvidos nesta chamada epidemia: desde uma possível

Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro – UNISA

Correspondência:

Maria Cecília Merege

Avenida Coronel Porto Carreiro 771, Jardim Vilas Boas.

79051-140 - Campo Grande (MS).

e-mail: cecilianutri@hotmail.com

predisposição genética, cujo mecanismo é pouco claro, até fatores como idade e sexo, número e intervalo entre as gestações e determinantes socioculturais (como renda e escolaridade) e comportamentais (incluindo fumo, excesso de álcool, atividade física e nutrição)<sup>5</sup>.

A menopausa é o principal evento do climatério, ocorrendo em torno dos 50 anos de idade, com o aparecimento de expressivas modificações biológicas e sociais, refletindo o estado nutricional da mulher nessa fase da vida<sup>6,7,8</sup>.

Dentre as mudanças observadas no perfil biofísico feminino, tanto estudos anteriores quanto publicações recentes destacam as ocorridas no padrão de gordura corporal, associadas à obesidade ou dela independentes. Essas mudanças ocorrem em função do envelhecimento, das condições hormonais do climatério e pós-menopausa, do tempo de menopausa, fatores genéticos, ambientais e comportamentais (como sedentarismo, dietas com predomínio de gorduras saturadas, tabagismo e etilismo)<sup>9,10,11,12,13</sup>.

As alterações hormonais podem alterar o perfil lipídico, pelo fato de que o hipostrogenismo, vigente na pós-menopausa, aumenta o nível de colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol), que é aterogênica, e diminui o de lipoproteína de alta densidade (HDL-colesterol), que é cardioprotetora. Assim, o perfil lipídico, que na menacme poderia ser fator protetor para a mulher, após a menopausa passa a oferecer risco cardiovascular. Nessa fase há redução da lipase lipoprotéica nos tecidos, levando o aumento de peso na menopausa e ganho de gordura na região abdominal, aumentando assim a predisposição para doenças cardiovasculares. Contrapondo-se a distribuição de gordura na região periférica preponderante no período reprodutivo e pré-menopausa<sup>7,14,15</sup>.

Hábitos alimentares impróprios, com preferência por produtos alimentícios com inadequado valor nutricional — ou seja, com elevado teor de gordura saturada e colesterol e com grande quantidade de sal e açúcares — constituem importante fator de risco para inúmeras doenças crônicas não-transmissíveis (cardiovasculares, obesidade, osteoporose)<sup>14,16</sup>.

A obesidade é uma doença complexa e multifatorial caracterizada pelo acúmulo de triglicérides nas células adiposas, determinado por um desequilíbrio entre o consumo e o gasto de energia. Acomete cerca de 60% das mulheres na pós-menopausa<sup>17</sup>.

Devido ao aumento prevalente dessas doenças crônicas não-degenerativas e a disponibilidade de poucos estudos sobre a nutrição de mulheres na pós-menopausa, constata-se a necessidade de avançar nessa área de conhecimento, já que a própria Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>18</sup> recomenda pesquisas que permitam um melhor entendimento das relações entre distúrbios alimentares e agravos à saúde.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estado nutricional de mulheres na pós-menopausa, relacionando seu índice de massa corporal (IMC) com seu perfil lipídico e consumo alimentar.

## Material e Métodos

Este é um estudo transversal de uma população de 105 mulheres vivendo o período de pós-menopausa (ausência de

menstruação por período igual ou superior a 12 meses ou níveis séricos de FSH superiores a 40 mUI/mL), com idade mínima de 45 anos e máxima de 89 (mediana de 57 anos) e matriculadas na Unidade Básica de Saúde (UBS) Jardim Clíper, situada na subprefeitura de Capela do Socorro, Zona Sul da cidade de São Paulo.

As pacientes foram atendidas na UBS de janeiro a setembro de 2005, com consultas agendadas. Em cada consulta foi explicado o objetivo da pesquisa e solicitada assinatura de um termo de consentimento.

A avaliação do estado nutricional foi feita a partir dos seguintes parâmetros: peso, estatura, pregas cutâneas, relação cintura/quadril, anamnese e exames bioquímicos.

Para a mensuração do peso, utilizou-se uma balança digital portátil Kratos com capacidade mínima de 1,25 kg, divisões de 50 g e capacidade máxima de 150 kg, adotando-se os procedimentos descritos por Cuppari<sup>1</sup>.

Na mensuração da estatura foi utilizado um antropômetro portátil Alturaexata, para altura máxima de 2,13 m.

O IMC é a medida definida pelo quociente entre o peso em quilogramas e o quadrado da altura em metros. Para o diagnóstico do estado nutricional, utilizou-se a classificação proposta pela OMS<sup>18</sup>. Os níveis de corte de IMC adotados para essa classificação foram os de 18,5 kg/m<sup>2</sup> a 24,9 kg/m<sup>2</sup> para eutrofia, de 25,0 kg/m<sup>2</sup> a 29,9 kg/m<sup>2</sup> para sobrepeso e de 30,0 kg/m<sup>2</sup> ou mais para obesidade<sup>19</sup>.

O padrão de distribuição da gordura corporal foi definido pela relação entre as circunferências da cintura e do quadril, que foram medidas segundo o método descrito por Heyward e Stolarczyk<sup>20</sup>, permitindo categorização em ginóide (ou periférico), quando o valor dessa razão era menor ou igual a 0,80, e em andróide (ou abdominal) se maior que 0,80, segundo Pouliot<sup>21</sup> e Poehlman<sup>22</sup>.

A partir do valor da relação entre as circunferências de cintura e quadril, foi possível identificar o tipo de distribuição de gordura e o risco de desenvolvimento de doenças crônicas<sup>23,24</sup>.

Para determinação da porcentagem de gordura, mediram-se as principais dobras cutâneas (tricipital, bicipital, subescapular e supra-ílica) com procedimentos padronizados, utilizando-se adipômetro Jamar calibrado<sup>19,21</sup>.

As medidas das quatro dobras cutâneas, em milímetros, foram somadas para obtenção da porcentagem de gordura corporal, utilizando a tabela descrita por Durnin e Womersley<sup>24</sup>. Em casos de IMC maior que 40 kg/m<sup>2</sup>, a porcentagem de gordura corporal foi calculada pela soma das circunferências do abdômen, coxa e panturrilha, segundo Pollock e Wilmore<sup>25</sup>.

Exames laboratoriais de triglicérides, colesterol total e suas frações LDL-colesterol e HDL-colesterol foram solicitados por médicos da UBS e os resultados foram registrados nesta pesquisa para avaliação das pacientes.

Na anamnese foram estudados os seguintes tópicos: consumo alimentar, situação sócio-econômica e demográfica.

Para a verificação do consumo alimentar, foi utilizado o método recordatório de 24 horas, que consiste no relato de todos os alimentos consumidos desde a primeira até a última refeição realizada nesse intervalo de tempo. Esse método tem

sido freqüentemente utilizado em estudos de epidemiologia sobre saúde, doenças e consumo alimentar, pois permite uma estimativa mais exata do consumo médio diário e constitui um procedimento cuja aplicação não demanda longo tempo<sup>16,26</sup>.

Os alimentos e preparações informados pelas entrevistadas foram convertidos em medidas caseiras e posteriormente em gramas. Com base em relatos, procurou-se identificar o tipo de preparação, o modo de preparo e os ingredientes.

Os cálculos para quantificar o valor energético total da dieta (VET), os macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios), as fibras e o colesterol foram realizados com auxílio do Software Diet Pro, versão 4.0 (Agromídia Software, Viçosa, MG)<sup>27</sup>.

Foi aplicado também um questionário de freqüência alimentar, a fim de estimar o consumo semanal dos grupos de alimentos.

Os padrões de referência utilizados foram as recomendações nutricionais Dietary Reference Intakes (DRI), da National Academy of Sciences, Estados Unidos<sup>1</sup>. Para fibras, considerou-se como adequada uma dieta contendo cerca de 25 g<sup>28,29</sup>; para colesterol, uma dieta que apresentasse valores inferiores a 200 mg. Para a distribuição percentual das proteínas, consideram-se adequadas às dietas que apresentassem de 10% a 15% de conteúdo protéico. Para as gorduras, adotaram-se como adequados os percentuais de 25% a 30%; para carboidratos, de 50% a 60% do VET<sup>28</sup>.

Uma vez codificados e quantificados, os dados obtidos foram duplamente digitados em planilhas Microsoft Excel.

Para a análise estatística utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis<sup>30</sup>, com a técnica da diferença mínima significativa (DMS)<sup>31</sup>, e o teste qui-quadrado<sup>30</sup>. Os cálculos foram realizados com o programa SigmaStat<sup>32</sup>. Adotou-se um risco a d' 0,05 para rejeição da hipótese de nulidade. Os resultados significantes foram assinalados com asteriscos.

## Resultados

Durante a pesquisa não houve perdas de participantes nem recusas à participação.

A Tabela 1 descreve a casuística estudada. Observa-se um predomínio de mulheres brancas. Quanto ao perfil sócio-demográfico, prevaleceram mulheres com quatro anos de escolaridade (60%); 54,3% viviam com companheiro; a maioria tivera de três a quatro gestações (22,9% a 46,6%, respectivamente); 79% eram do lar; 61% tinham renda familiar de dois a cinco salários mínimos; na maioria (48,6%) dos domicílios residiam três a quatro pessoas.

Em relação ao IMC encontrou-se que 22,86% das pacientes entrevistadas eram eutróficas, 41,90% com sobrepeso e 35,24% obesas.

A Tabela 2 mostra que todas as participantes apresentaram elevado percentual de gordura corporal, que, correlacionado com o diagnóstico nutricional, aponta uma diferença estatística significativa ( $p < 0,001$ ). A técnica de DMS revela que a obesidade prevalece.

Tanto as mulheres eutróficas como as com sobrepeso e obesidade apresentaram valores de colesterol total superiores a 200 mg/dL conforme indica a mediana (Tabela 3). No caso do HDL-colesterol, a mediana revela que seus valores esta-

**Tabela 1** - Perfil socioeconômico e demográfico de mulheres em pós-menopausa. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Variáveis	Freqüência absoluta (%)	Freqüência relativa (%)
Situação marital		
Sem companheiro	48	45,7
Com companheiro	57	54,3
Total	105	100,0
Número de gestações		
0	9	8,6
1	6	5,7
2	17	16,2
3	24	22,9
4	49	46,6
Total	105	100,0
Anos completos de escolaridade		
0	18	17,1
4	63	60
8	16	15,3
11	8	7,6
Total	105	100,0
Profissão		
Do lar	83	79
Outras	22	21
Total	105	
Renda familiar (salários mínimos)		
< 2	41	39
2 a 5	64	61
Total	105	100,0
Etnia		
Não Branco	43	41
Branco	62	59
Total	105	100,0
Número de pessoas na família		
> 5	19	18,1
1 a 2	35	33,3
3 a 4	51	48,6
Total	105	100,0

**Tabela 2** - Porcentagem de gordura corporal em mulheres na pós-menopausa, segundo diagnóstico nutricional. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Gordura corporal (%)	Diagnóstico nutricional			Total	Kruskal-Wallis
	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade		
Mediana	33	37	41	38	$C^2 = 43,223^*$ $p < 0,001$
Percentil 75	39	43	53	53	
Percentil 25	26	31	34	26	

\*eutrófico<sobrepeso<obesidade.

\*sobrepeso<obesidade

**Tabela 3** - Colesterol total, suas frações e triglicérides em mulheres na pós-menopausa, segundo diagnóstico nutricional. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Perfil lipídico	Diagnóstico nutricional				Kruskal-Wallis
	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade	Total	
Colesterol total (mg/dL)					$\chi^2 = 0,506$ $p = 0,776$ NS
Mediana	223	220	237	224	
Percentil 75	294	320	293	320	
Percentil 25	143	146	131	131	
HDL-colesterol (mg/dL)					$\chi^2 = 0,338$ $p = 0,884$ NS
Mediana	66	62	60	62	
Percentil 75	99	94	92	99	
Percentil 25	32	36	36	32	
LDL-colesterol (mg/dL)					$\chi^2 = 0,610$ $p = 0,737$ NS
Mediana	120,4	127	124	125	
Percentil 75	218	202	195	218	
Percentil 25	65	51	68	51	
VLDL-colesterol (mg/dL)					$\chi^2 = 2,136$ $p = 0,344$ NS
Mediana	25,5	29	27	28	
Percentil 75	50	80	80	80	
Percentil 25	10	8	6	6	
Triglicérides (mg/dL)					$\chi^2 = 0,365$ $p = 0,833$ NS
Mediana	139	140,5	135	139	
Percentil 75	249	380	326	380	
Percentil 25	69	42	62	42	

vam acima do nível desejável de 35 mg/dL. O mesmo ocorre com a fração LDL-colesterol, embora em grau mais acentuado, superando o nível desejável de 130 mg/dL tanto nas mulheres eutróficas quanto nas que apresentavam sobrepeso e obesidade, e alcançando valores maiores entre as classificadas como eutróficas e com sobrepeso (percentil 75, Tabela 3). No caso dos triglicérides (Tabela 3), a mediana situou-se na faixa de normalidade (inferior a 160 mg/dL) sem diferença significativa.

Na Tabela 4, segundo os índices de Castelli I e II, associados ao diagnóstico nutricional, nota-se que não houve diferença significativa.

**Tabela 4** - Índices de Castelli em mulheres na pós-menopausa, segundo diagnóstico nutricional. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Índice	Diagnóstico nutricional				Teste qui-quadrado
	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade	Total	
Castelli 1					$\chi^2 = 1,358$ $p = 0,507$ NS
Risco	4	7	3	14	
Sem risco	20	37	34	91	
Total	24	44	37	105	
Castelli 2					$\chi^2 = 0,642$ $p = 0,725$ NS
Risco	3	6	3	12	
Sem risco	21	38	34	93	
Total	24	44	37	105	

O consumo mediano de nutrientes em gramas é mostrado Tabela 5. Em mulheres na pós-menopausa, esse consumo não apresentou diferença significativa entre as eutróficas, com sobrepeso e obesas.

Quanto ao consumo de fibras (Tabela 5) nota-se que não houve diferença significativa.

**Tabela 5** - Consumo de nutrientes na dieta de mulheres na pós-menopausa, segundo diagnóstico nutricional. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Consumo mediano de nutrientes	Diagnóstico nutricional			Kruskal-Wallis	
	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade	$\chi^2$	p
Carboidratos (g)	190	179	164	<1,00	<1,00
Proteínas (g)	64	69	75	0,18	<1,00
Lipídios (g)	39	48	48	0,56	<1,00
Colesterol (mg)	159	168	124	2,743	0,254
Fibras (g)	13	16	11	1,018	0,601

A Tabela 6 mostra que o consumo de energia total assemelhou-se em mulheres eutróficas, com sobrepeso e obesas. O consumo de carboidratos tampouco diferiu significativamente entre os três grupos. Assim como o consumo de proteínas e lipídios, nas mulheres eutróficas, com sobrepeso e com obesidade.

**Tabela 6** - Consumo energético total e de macronutrientes em Kcal por mulheres na pós-menopausa, segundo diagnóstico nutricional. Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper, São Paulo, SP, janeiro a setembro de 2005.

Consumo mediano de nutrientes	Diagnóstico nutricional			Kruskal-Wallis	
	Eutrofia	Sobrepeso	Obesidade	$\chi^2$	p
Energia (kcal)	1 367	1 424	1 388	0,777	0,678
Carboidratos (kcal)	760	716	656	0,165	0,921
Proteínas (kcal)	256	276	300	0,878	0,645
Lipídios (kcal)	351	432	432	1,699	0,428

## Discussão

Em relação a escolaridade as mulheres na pós-menopausa tinham escolaridade de até quatro anos e que viviam com companheiro, resultados esses que concordam com os de outros estudos que avaliaram o IMC dessa população, realizados tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, e que evidenciaram uma maior prevalência de sobrepeso, seguida de obesidade — achados esses preocupantes, já que o risco de morbimortalidade aumenta com a obesidade<sup>17,34</sup>.

A análise dos fatores socioeconômicos, principalmente renda e escolaridade, permitiram constatar que a maioria das mulheres pesquisadas cursou o ensino fundamental (até a quarta série), o que pode em grande parte decorrer da procedência dessas mulheres, cuja maioria tem suas origens na Região Nordeste do país e não tiveram acesso a um ensino escolar adequado. Esses dados são concordantes com outros estudos realizados com mulheres brasileiras, nos quais, segundo Monteiro<sup>34</sup>, verificou-se forte associação inversa entre obesidade e escolaridade<sup>35</sup>.

Em relação ao número de gestações predominou as mulheres com cerca de 3 e 4 gestações (69%).

Cabe salientar que o número de gestações constitui-se em fator de risco para o desenvolvimento da obesidade<sup>36</sup>, já que gestantes que ganham peso excessivamente no primeiro trimestre de gravidez são mais propensas a reter o peso excessivo após o parto do que aquelas que engordam predominantemente no terceiro trimestre<sup>37</sup>.

Em mulheres com maior número de gestações, os índices de sobrepeso e obesidade apresentam maiores prevalências, segundo estudo retrospectivo realizado por Björkelund et al.<sup>38</sup>, em que se relacionou a história reprodutiva com a composição corporal de mulheres suíças em coortes de 38, 46, 50, 54 e 60 anos. Os autores concluíram que os efeitos da história reprodutiva sobre o peso corporal e sobre a distribuição de gordura se manifestam a partir do parto e continuam ao longo da vida, aumentando especialmente na pós-menopausa.

Este dado é confirmado pelos achados do presente estudo (Tabela 2), que apontam acentuado ganho de peso corporal, seguido de elevada porcentagem de gordura corporal neste período na pós-menopausa, alterações explicáveis pelo fato de que o estrogênio regula o acúmulo de gordura e sua distribuição pela redução da lipase lipoprotéica nos tecidos, levando assim a ganho de peso durante a menopausa e a ganho de gordura na região abdominal, em vez da região periférica. Esse efeito, associado a hábitos alimentares inadequados, acentua tal acúmulo e distribuição de gordura, gerando o resultado significativo aqui. Pode-se supor também a diminuição de atividade física com aumento da idade.

Os resultados revelam alterações no perfil lipídico das mulheres na pós-menopausa, tanto para colesterol total quanto suas frações LDL-colesterol e HDL-colesterol, podendo ser devidas as modificações hormonais que ocorrem nessa fase da vida, com queda dos níveis de estrogênio, levando a um aumento acentuado do colesterol total, principalmente às custas do valor elevado do LDL-colesterol. Desse modo, pode representar um aumento do risco cardiovascular, particularmente quando há associação com fatores genéticos e com fatores ambientais, tais como ingestão de calórica excessiva e baixo nível de atividade física. Isso foi constatado entre as participantes do presente estudo que praticavam algum tipo de exercício físico, as quais apresentavam resposta mais perceptível à aula de alongamento com música, com duração de aproximadamente uma hora, de que participam três vezes por semana. O gasto energético com essa atividade é porém, mínimo, segundo a literatura<sup>19</sup>, e, se confrontado com a aquisição de energia advinda do consumo de alimentos, revela um desequilíbrio entre consumo e gasto, resultando em sobrepeso e obesidade a médio e longo prazo<sup>40</sup>.

Tais alterações no perfil lipídico contribuem ainda mais para o acúmulo da gordura corporal, principalmente, na região abdominal, tanto em mulheres eutróficas quanto nas que apresentam sobrepeso e obesidade<sup>39,41</sup>.

Os valores medianos de triglicérides obtidos, situados na faixa de normalidade, podem ser devido à diminuição da produção hepática de lipoproteína de muito baixa densidade

(VLDL-colesterol) e aumento dos níveis séricos de LDL-colesterol pela diminuição do número de receptores para essa lipoproteína, que por isso passa a ser metabolizada mais lentamente<sup>14</sup>.

Os índices de Castelli I e II são usados para análise do risco aterogênico, correspondendo respectivamente aos quocientes entre colesterol total e HDL-colesterol e entre LDL-colesterol e HDL-colesterol. Constata-se que, mesmo com alterações no perfil lipídico para colesterol total e LDL-colesterol principalmente, a maioria das mulheres investigadas não apresenta risco de doenças cardiovasculares, devido ao elevado valor do HDL-colesterol. Ainda assim, torna-se necessário exercer certo grau de controle, já que as taxas de mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil são mais elevadas que em países desenvolvidos para mulheres com faixa etária de 45 a 65 anos<sup>39,42</sup>.

O consumo alimentar de nutrientes (em gramas), para todas as participantes, mostrou-se maior que a necessidade de nutrientes (em gramas por quilograma de peso corporal), segundo o conjunto de recordatórios de 24 horas, com consumo excessivo de carboidratos (4 a 6 g/kg de peso corporal), proteínas (0,8 a 1 g/kg) e lipídios (1 a 2 g/kg), o que caracteriza uma ingestão de alimentos de perfil mais quantitativo que qualitativo, permitindo concluir que a composição corporal das mulheres eutróficas tende a se aproximar daquela das mulheres com sobrepeso e obesidade<sup>28</sup>.

Mesmo com um consumo de colesterol inferior a 200 mg, como indicado pela mediana, os valores gerais, de todas as participantes tenderam a se aproximar do limite (200 mg). Isso se justifica também pelo que já foi exposto quanto aos hábitos alimentares, que incluem ingestão da gordura visível da carne, de gordura de frango e de leite integral, consumido por mais da metade das participantes.

O consumo inadequado de fibras inferior ao ideal, de 25g/dia, conforme demonstra os valores da mediana, deve-se ao fato de que as participantes nem sempre estão cientes dos benefícios dessa ingestão, assim como os resultantes do consumo de hortaliças, que, como descrevem, limitam-se basicamente a alface e tomate e em quantidades significativamente pequenas. O mesmo ocorre com a ingestão de frutas, que se restringe basicamente a bananas, consumidas quase que diariamente, mas que são pobres em fibras. Tanto para verduras como para frutas, fica evidente que a variedade e um maior consumo dependem da renda familiar.

A distribuição dos macronutrientes, segundo seu consumo mediano, revelou-se inadequada, principalmente quanto às gorduras e proteínas, o que sugere uma tendência a se preferirem alimentos gordurosos e protéicos. Isso se evidencia na ingestão quase diária de carnes fritas e gordurosas, leite e seus derivados integrais e uso de óleo vegetal em demasia no preparo do arroz e do feijão. Esta distribuição situa-se fora dos padrões estabelecidos pela pirâmide alimentar.

Analisando-se o consumo desses macronutrientes em termos de porcentagens recomendadas, nota-se que a maioria das participantes tiveram uma ingestão superior a 30% de lipídios e de proteína superior a 15%,

Tais preferências são sabidamente prejudiciais à saúde

de da mulher na pós-menopausa, já que o excesso de gordura na dieta favorece a obesidade, as doenças cardiovasculares, câncer de mama e do endométrio. O excesso proteico pode gerar aumento na excreção renal do cálcio, favorecendo a osteoporose<sup>43,44,45</sup>.

Em conclusão, a análise dos dados obtidos permite concluir que:

- O estado nutricional dessas mulheres na pós-menopausa, segundo o índice de massa corporal, apresenta um elevado número de sobrepeso e obesidade (77,14% conjuntamente) acompanhados de significativa distribuição de gordura na região abdominal;

- Não houve alteração do perfil lipídico em mulheres na pós-menopausa classificadas em eutróficas, com sobrepeso e obesas.

- Quanto ao consumo de alimentos observa-se um predomínio da quantidade em relação à qualidade, prevalecendo alimentos proteicos (mais que 15% das necessidades nutricionais) e ricos em gorduras animais (mais que 30% das necessidades nutricionais) e pobres em fibras, tanto para mulheres eutróficas, com sobrepeso e obesas.

- Em relação à distribuição de gordura as mulheres entrevistadas apresentam uma distribuição de gordura preponderante na região abdominal com classificação do diagnóstico nutricional em sua maioria em sobrepeso e obesidade podendo aumentar o risco para doença cardiovascular.

Em resumo, as pacientes na pós-menopausa de renda familiar e escolaridade baixo e hábitos alimentares inadequados apresentaram uma predominância de sobrepeso e obesidade seguida de elevada porcentagem de gordura corporal e com normalidade no perfil lipídico.

## Abstract

**OBJECTIVE:** To evaluate the nutritional status of postmenopausal women and to relate body mass index (BMI) to lipid profile and food intake. Patients and method: This observational cross-sectional study evaluated 105 patients (mean age: 57.7 years) registered at a Unidade Básica de Saúde Jardim Clíper in the city of São Paulo. The variables analyzed were BMI, body fat percentage, intake of macronutrients, fibers, and cholesterol, and lipid profile. Additional were collected on age, ethnic group, instructional level, household income, marital status, occupation, number of pregnancies, physical activity, and personal and family history of obesity. The tests used in the statistical analysis were Kruskal-Wallis, with the least significant difference (LSD) technique, and chi-square, with a significance level of 5%.

**RESULTS:** Significantly high body fat percentages all participants: eutrophic (median: 33%), overweight (37%), and obese (41%). The mean values of total energy intake, carbohydrates, proteins, lipids, fibers, and cholesterol were respectively 1367 kcal, 190 g, 64 g, 39 g, 13 g, and 159 mg for eutrophic participants; 1424 kcal, 179 g, 69 g, 48 g, 16 g, and 168 mg for those overweight; and 1388 kcal, 164 g, 75 g, 48 g, 11 g, and 124 mg for those with obesity. Conclusions: The woman's eutrophic, overweight and obesity as revealed by high

BMI, body fat percentage, central body fat distribution, altered lipid profile, and high consumption of foods rich in saturated fat and proteins, with dietary quantity taking precedence over quality.

**UNTERMS:** menopause, nutritional status, lipid profile, body fat percentage.

## Referências bibliográficas

1. Cuppari L. Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto. Barueri: Manole; 2002.
2. Mahan LK, Arlin MT. Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 8ª ed. São Paulo: Roca; 1998.
3. Coitinho DC. Condições nutricionais de adultos e idosos no Brasil. [S.l.]: Comim/SE/MS; 1995.
4. Taubes G. As obesity rates rise, experts struggle to explain why: regulation of body weight. *Science*. 1998;280(29):1367-8.
5. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO; 1995.
6. Byyny RL, Speroff L. The rectangularization of life. In: Byyny RL, Speroff L. [editors]. A clinical guide for the care of older women: primary and preventive care. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 1-19.
7. Montilla RNG, Mauricci MFN, Aldrighi JM. Avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de mulheres no climatério. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(1):91-95.
8. Atkinson RL, Atkinson RC, Smith EE, Bem DJ. Introduction to psychology. New York: Harcourt, Brace & Company; 1993.
9. Tremollières FA, Pouilles JM, Ribot CA. Relative influence of age and menopause on total and regional body composition changes in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:1594-600.
10. Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Prud'Homme D, Tremblay A, Bouchard C, et al. Plasma high-density lipoprotein cholesterol but not apolipoprotein A-I is a good correlate of the visceral obesity-insulin resistance dyslipidemic syndrome. *Metabolism*. 1996;45:882-8.
11. Willett WC, Dietz WH, Colditz GA. Guidelines for healthy weight. *N Engl J Med*. 1999;341:427-34.
12. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999;99:1165-72.
13. Turcato E, Zamboni M, De Pergola G, Armellini F, Zivelonghi A, Bergamo-Andreis IA. Interrelationships between weight loss, body fat distribution and sex hormones in pre- and postmenopausal obese women. *J Intern Med*. 1997;241:363-72.
14. Biffi EFA. O fenômeno da menopausa: uma perspectiva

- de compreensão [dissertação]. Ribeirão Preto: Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo; 1991.
15. Fernandes CE, Melo NR, Wehba S. Climatério feminino: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Lemos; 1999.
  16. Garcia GCB, Gambardella AMD, Frutuoso MFP. Estado nutricional e consumo alimentar de adolescentes de um centro de juventude da cidade de São Paulo. *Ver Nutri*. 2003;16(1):41-50.
  17. Filip Raskin DB, Pinto-Neto AM, Costa Paiva LHS, Raskin A, Martinez EZ. Fatores associados à obesidade e ao padrão andróide de distribuição da gordura corporal em mulheres climatéricas. *RBGO*. 2000;22(7):435-41.
  18. World Health Organization. Report meeting of the subcommittees of the WPACHR on environmental health, health promotion, on health systems research. Manila, Philippines: Regional Office for the Western Pacific; 1996. Report Series RS/95/GE/29 (PHL).
  19. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Report. Consultation on Obesity. Geneva: WHO; 1997.
  20. Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. São Paulo: Manole; 2000.
  21. Pouliot MC, Desprès JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol*. 1994;73:460-8.
  22. Poehlman ET, Toth MJ, Gardner AW. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study. *Ann Intern Med*. 1995;123:673-5.
  23. Bray GA. Classificação e avaliação das obesidades: clínicas médicas da América do Norte. Rio de Janeiro: Interlivros; 1989. v. 1, p.189-216.
  24. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurement on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr*. 1974;32:77-97.
  25. Pollock ML, Wilmore JH. Exercícios na saúde e na doença: avaliação e prescrição para a prevenção e reabilitação. 2.<sup>a</sup> ed. São Paulo: [s.n.]; 1993.
  26. Majem LIS, Barba LR. Recordatório de 24 horas. In: Majem LIS, Bartina JA, Verdú JM. *Nutrición y salud pública: métodos, base científicas y aplicaciones*. Barcelona: Masson; 1995. p. 113-9.
  27. Sales RL, Costa NMB; Monteiro JBR; Peluzio MCG; Coelho SB; Oliveira CG; Mattes R., et al. Efeitos dos óleos de amendoim, açafrão e oliva na composição corporal, metabolismo energético, perfil lipídico e ingestão alimentar de indivíduos eutróficos normolipidêmicos. *Rev nutrição*. 2005;18(4):499-511.
  28. National Academy of Sciences. National Research Council. Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1989.
  29. Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS. Ciências nutricionais. São Paulo: Sarvier; 1998.
  30. Siegel S, Castellan NJ Jr. Non-parametric statistics for the behavioral sciences.. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1998.
  31. Hollander M, Wolfe DA. Nonparametric statistical methods. New York: John Wiley & Sons; 1973.
  32. SigmaStat: SigmaStat for Windows [computer program]: version 2.0. Jandel Corporation, USA; 1995.
  33. Silva MR, Naves MV. Manual de nutrição e dietética. 2.<sup>a</sup> ed. rev. e atual. Goiânia: [s.n.]; 1998.
  34. Monteiro CA. Evolução do perfil nutricional da população brasileira. *Saúde em Foco*. 1999;8:4-8.
  35. Lins AP, Sichieri R. Menopausa e índice de massa corporal. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2001;45(3):265-70.
  36. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva: WHO; 1998.
  37. Nunes MA, Appolinário JC, Abuchgmain ALG, Coutinho W. Transtornos alimentares e obesidade. Porto Alegre: Artmed; 1998.
  38. Björkelund C, Lissner L, Anderson S, Lapidus L, Bengtsson C. Reproductive history in relation to relative weight and fat distribution. *Int J Obes*. 1996;20:213-9.
  39. Fernandes CE. Menopausa: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Segmento; 2003.
  40. Duncan BB, Chambless LE, Schmidt MI, Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, et al. Association of the waist-to-hip ratio is different with wine than with beer or hard liquor consumption. *Am J Epidemiol*. 1995;142:1034-8.
  41. Fernandes CE, Pereira Filho AS [editores]. Climatério: manual de orientação. São Paulo: Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO); 1995.
  42. Björntorp P. Body fat distribution, insulin resistance, and metabolic diseases. *Nutrition*. 1997;13:795-803.
  43. Stevens J. Impact of age on associations between weight and mortality. *Nutr Rev*. 2000;58:129-37.
  44. Lean MEJ. Pathophysiology of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2000;59:331-6.
  45. Melo NR. Propedêutica da mulher climatérica e pós-menopausal. In: Pinotti JA, Halbe HW, Hegg R, editores. *Menopausa*. São Paulo: Roca; 1995. p.177-87.

# Mutações do gene codificador da enzima metilenotetraidrofolato redutase e sua associação com a trissomia do cromossomo 21

Mutations of methylenetetrahydrofolate reductase codifying gene: association with trisomy 21

Gregório Lorenzo Acácio<sup>1</sup>, Ricardo Barini<sup>2</sup>, Carmen Silvia Bertuzzo<sup>3</sup>, Egle Cristina Couto<sup>2</sup>, Joyce Maria Annichini-Bizacchi<sup>4</sup>, Walter Pinto Jr.<sup>3</sup>



Gregório Lorenzo Acácio é Mestre e Doutor em tocoginecologia pela UNICAMP. É Professor Assistente Doutor da Universidade de Taubaté e especialista em Medicina Fetal pela Febrasgo/AMB. É membro da equipe de medicina fetal do Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo.

**Prêmio Campos da Paz 2004**  
**XXI Congresso Brasileiro de Reprodução Humana**  
**de 10-14 de Novembro de 2004 São Paulo - SP**

Gregório Lorenzo Acácio

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A trissomia do cromossomo 21 é o distúrbio cromossômico mais freqüente em recém-nascidos, responsável por grande parcela dos retardamentos mentais moderados. Apesar de tão freqüente, os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na não-disjunção meiótica são ainda desconhecidos. Dentre as possíveis causas que podem interferir nessa não-disjunção, tem-se especulado a participação da ingestão de ácido fólico e mutações de genes codificadores das enzimas envolvidas no seu metabolismo. Entre essas enzimas está a 5,10-metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR), fundamental na metilação do DNA.

**OBJETIVO:** verificar se existe diferença estatisticamente significativa na porcentagem de mutação da MTHFR nas posições 677 e 1298 entre mulheres com filhos cromossomicamente normais e nas com filhos portadores da trissomia do cromossomo 21.

**MATERIAL E MÉTODOS:** realizou-se um estudo do tipo caso-controle em 70 mulheres com filhos portadores da trissomia do cromossomo 21 e 88 controles com filhos cromossomicamente normais e sem abortamentos. Estudamos a porcentagem de mutação de ponto C677T e A1298C do gene codificador da MTHFR nesses dois grupos. O risco oferecido por cada variável avaliada foi obtido através de uma estimativa de *odds ratio*, acompanhada por seu respectivo Intervalo de confiança (IC 95%). Modelos de regressão logística serviram para medir o efeito das variáveis de controle nestes *odds ratio*.

**RESULTADOS:** A presença de heterozigose conjunta (677 e 1298) foi estatisticamente maior entre os casos (OR de 5,7).

**CONCLUSÕES:** a presença de heterozigose conjunta no gene codificador da MTHFR levou a um maior risco de ocorrência da trissomia do cromossomo 21.

**UNITERMOS:** Análise citogenética. Mapeamento cromossômico. Aberrações cromossômicas. Cromossomos humanos par 21.

## Introdução

A trissomia do cromossomo 21 é o distúrbio cromossômico mais freqüente em recém-nascidos, na maioria

das vezes (95% dos casos) decorrente de um cromossomo extra, proveniente da não-disjunção meiótica materna durante a meiose I<sup>1</sup>. Apesar de tão freqüente, os mecanismos celulares e moleculares envolvidos nessa não-disjunção meiótica são ainda desconhecidos. Dentre as possíveis causas que podem interferir na não-disjunção meiótica, tem-se especulado a participação da ingestão de ácido fólico e mutações de genes codificadores das enzimas envolvidas no seu metabolismo. O ácido fólico, a exemplo de todas as outras vitaminas, é necessário em pequenas quantidades. O conhecimento atual sugere que algumas pessoas podem ter necessidades aumentadas de ácido fólico em conseqüência de variantes genéticas freqüentes que interagem com certos nutrientes<sup>2</sup>. Diversos estudos apontam a relação entre a deficiência de congêneres do ácido fólico com câncer de cólon, leucemia, doenças

<sup>1</sup> Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade de Taubaté - Brasil

<sup>2</sup> Departamento de tocoginecologia, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Genética Médica, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - Brasil.

Correspondência:

Gregório Lorenzo Acácio

Av: Itália 1551 Condomínio Village Rua 17 casa 166

CEP 12030 212 - Taubaté - SP

Telefax: 12 3622 8181

e-mail glacacio@uol.com.br

mieloproliferativas, certas enfermidades crônicas da pele, além de outras doenças debilitantes crônicas<sup>2,3</sup>. Entre as enzimas envolvidas no metabolismo do ácido fólico está a 5,10-metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR), fundamental na metilação do DNA. A MTHFR, dependente da Flavina Adenina Dinucleotídeo (FAD), é uma enzima-chave, pois catalisa a redução de 5,10-metilenotetraidrofolato para 5-metiltetraidrofolato, que é a forma primária e predominante do ácido fólico na circulação e atua como doador de radicais metil para a remetilação de homocisteína (Hci) para metionina (Met), catalisada na maioria dos tecidos pela metionina sintase, que requer como cofator vitamina B12<sup>2,4,5</sup>. O gene humano codificador da MTHFR está localizado no braço curto do cromossomo 1, posição 1p36.3, e é composto por 11 exons<sup>6</sup>. Kang et al.<sup>7,8</sup> estudando, *in vitro*, extratos de linfócitos de um grupo de pacientes com doença coronariana descobriram uma variante da MTHFR com atividade específica reduzida em aproximadamente 50% em relação à enzima normal. A característica marcante foi que em extratos de linfócitos ou fibroblastos contendo essa enzima variante pré-incubada a 46°C, por cinco minutos, a atividade residual da enzima apresentou-se consideravelmente menor; o que claramente difere o mutante da enzima normal encontrada na maioria da população<sup>7,8</sup>. Esta variante foi designada “variante termolábil da MTHFR”. A causa genética para a ocorrência dessa variante termolábil é decorrente da substituição de uma citosina por uma timina no nucleotídeo 677 (C677T), que resulta na troca de um resíduo de alanina por um resíduo de valina na proteína processada<sup>4</sup>. Diversos pesquisadores têm sugerido que instabilidades cromossômicas e aneuploidias observadas em tumores humanos relacionam-se com a hipometilação do DNA genômico<sup>9,10</sup> uma vez que o desbalanceamento provocado por rearranjos nos cromossomos afeta a dosagem de genes supressores de tumores, com a possível perda da heterozigose<sup>11</sup>. A mutação C677T da MTHFR representa um fator de risco para o nascimento de crianças com defeito de fechamento do tubo neural<sup>12; 13; 14; 15</sup>. Outros estudos correlacionam essa mutação com a ocorrência de: fendas lábio-palatinas, cardiopatias fetais<sup>16</sup>, abortos recorrentes<sup>17; 18</sup> e defeitos de extremidades<sup>19</sup>. A prevalência dessa mutação foi inicialmente descrita em franceses com uma frequência alélica de 38% e em homozigotidade (genótipo TT) de 12%. Mais recentemente, a frequência de alelos T foi determinada em caucasianos (36%), asiáticos (40%), e em negros africanos (5%)<sup>20</sup>. Botto e Yang<sup>21</sup> em um extenso trabalho de revisão da literatura estimaram a distribuição de homozigotos 677T em diversas populações do mundo, sendo mais baixa entre negros que vivem fora da África, principalmente no Brasil e EUA (1% a 2%), 8% dos alemães, mais altas entre italianos (18%) e em 11% a 13% de pessoas do Reino Unido. Arruda et al.<sup>22</sup> encontraram diferenças significativas entre diferentes grupos étnicos na população brasileira; a prevalência de homozigotos para o alelo mutado “T” entre descendentes de caucasóides foi de 10%, em negros de 1,45% e entre indígenas de 1,2%. Outra mutação no gene da MTHFR também tem sido foco de grande atenção e ocorre devido à substituição de uma adenina por uma citosina na posição 1298 (A1298C), resultando na troca de um ácido glutâmico por uma

alanina<sup>23</sup>. Pesquisadores atribuíram a essa mutação indícios de que represente um fator de risco adicional na gênese dos defeitos de fechamento do tubo neural, pois diminui a atividade da MTHFR sem, entretanto ocasionar aumento plasmático de homocisteína (Hci) e tampouco uma diminuição da concentração plasmática de ácido fólico. Embora essa mutação isolada (A1298C) no gene da MTHFR não tenha sido associada com um risco elevado para DFTN, na combinação de heterozigotos para ambos os polimorfismos (C677T e A1298C) o efeito resultante equivale ao encontrado em pacientes homozigotos mutantes para a mutação 677, com aumento no nível de homocisteína, bem como o risco para DFTN<sup>23</sup>. Recentemente, James et al.<sup>24</sup> partindo do pressuposto de que hipometilação do DNA pode levar a alterações de segregação cromossômica, compararam a frequência de mutação C677T na enzima MTHFR entre mães de crianças com síndrome de Down em relação ao grupo-controle. Esses autores observaram uma maior porcentagem de mutação 677 da MTHFR com aumento do risco relativo de trissomia do cromossomo 21 de 2,6 vezes nas pacientes com mutação do gene da MTHFR. O objetivo deste trabalho foi estudar a frequências das mutações nas posições 677 e 1298 da MTHFR e verificar se a ocorrência das duas mutações se associa a aumento do risco de trissomia do cromossomo 21.

## Material e Métodos

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle. O tamanho da amostra foi estimado tendo como base estudo caso-controle de James et al<sup>24</sup>, onde a frequência de mutações do gene MTHFR no grupo de mulheres que tiveram filhos com trissomia do cromossomo 21 foi de 74% e no grupo-controle, 52%. Nesse estudo o *odds ratio* encontrado foi então estimado em 2,6. Usando-se o coeficiente de confiança de 95% ( $\alpha=5\%$ ), um intervalo de confiança para o *odds ratio* com amplitude  $d=4,6$  a amostra deste estudo deveria ser composta por pelo menos 70 casos e 70 controles.

Foram incluídas no estudo mulheres que tiveram filhos com trissomia do cromossomo 21 e como controles mulheres que não tiveram filhos afetados pela trissomia do cromossomo 21 e nem abortamentos. As variáveis de controle foram: idade da mulher com filho afetado no dia do nascimento da criança com trissomia do cromossomo 21; Idade da mulher do grupo-controle no dia da coleta de sangue para pesquisa das mutações da MTHFR; Raça/cor, informada pela paciente e definida através da pesquisa da raça/cor dos parentes até a segunda geração ascendente, através de heredograma e da visualização da paciente (Categorias: branca e não branca). A variável dependente foi o resultado do cariótipo da criança (Categorias: normal ou trissomia 21). A variável independente foi mutação: ocorrência de dois ou mais genótipos alternativos nas posições 677 e/ou 1298 do gene codificador da enzima MTHFR na amostra estudada, identificada por técnicas específicas de avaliação de DNA. As amostras de 10ml de sangue periférico foram submetidas à extração de DNA. O método de análise foi a Reação em Cadeia da Polimerase, seguida de digestão enzimática específica.

Procedeu-se à extração de DNA conforme o método descrito por WOODHEAD et al<sup>25</sup>. A amplificação do fragmento do gene da MTHFR baseou-se na técnica da PCR<sup>26</sup>.

#### Para a mutação 677 C @T

Os primers específicos sense (5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGA-3') e antisense (5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'), promoveram a amplificação de um fragmento de 198bp. A reação foi realizada em uma mistura de 54mM Tris-HCl, 5,4mM MgCl<sub>2</sub>, 13,3mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,8mM de cada nucleosídeo trifosfato, 400 ng de cada primer, DNA genômico e 2U de Taq Polimerase, envolvendo 30 ciclos de incubação a 94°C (1 minuto), 55°C (1 minuto) e 72°C (2 minutos). Utilizando-se 15ul do produto da PCR, em uma reação de digestão com 0,5U de Hinf I, segue-se a eletroforese, em gel de poliacrilamida a 7%, corado com brometo de etídio, onde o gene com mutação clivou-se em dois fragmentos (175bp e 23bp) e o alelo normal permaneceu com 198bp. A Figura 1 mostra o resultado da eletroforese em que se observam genes sem mutação com apenas 198bp (seta azul), genes com mutação em um alelo com 198bp e 175bp (seta verde) e genes com a mutação nos dois alelos com apenas 175bp (seta vermelha).

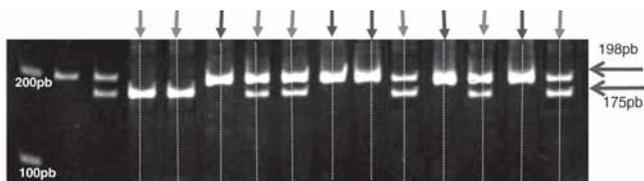


Figura 1 - Resultado da eletroforese após digestão enzimática para a mutação 677 da MTHFR.

#### Para a mutação 1298 A @C

Utilizou-se o método descrito por VAN DER PUT et al<sup>23</sup>. Essa mutação abole um sítio de restrição da MboII.

Os primers utilizados foram: sense (5'-CTTTGGGGAGCTGAAGGACTACTA 3') e anti-sense (5'-CACTTTGTGACCAATCCGGTTTG 3'). A reação foi realizada utilizando-se 200uM dNTP, 10mM Tris-HCl, 50mMKCl, 3,0mMMgCl<sub>2</sub> e uma Unidade de Taq Polimerase, com denaturação inicial a 92°C (2 minutos), seguida de 35 ciclos de 92°C (60 segundos), 51°C (60 segundos) e 72°C (30 segundos), sendo a extensão final feita a 72°C (7 minutos). O fragmento amplificado é de 163pb e quando possui a mutação 1298 é digerido pela endonuclease MboII, sendo clivado em quatro fragmentos, com tamanhos de 84, 31, 30 e 18 pb. O alelo normal é clivado em cinco fragmentos de 56, 31, 30, 28, e 18 pb. A análise dos fragmentos é feita após coloração com brometo de etídio pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida 20%. A Figura 2 mostra o resultado da eletroforese onde se observam genes sem mutação (seta azul), genes com mutação em um alelo (seta verde) e genes com a mutação nos dois alelos (seta vermelha).

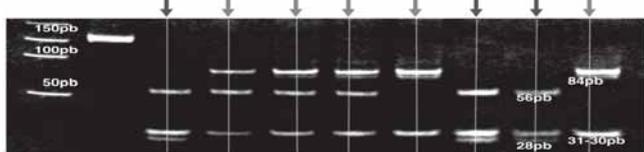


Figura 2 - Resultado da eletroforese após digestão enzimática para a mutação 1298 da MTHFR.

Foi realizada inicialmente uma análise descritiva univariada, buscando descrever a idade, bem como características da amostra, segundo os grupos de casos e controles. Foi verificado se ambos os grupos encontravam-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg<sup>27</sup> para a distribuição genotípica do gene codificador da MTHFR nas posições 677 e 1298. O risco oferecido por cada variável avaliada foi dado através de uma estimativa de *odds ratio* (OR), acompanhada por seu respectivo Intervalo de confiança (IC 95%). Modelos de regressão logística serviram para medir o efeito das variáveis de controle nestes OR, bem como descreveram *odds ratios* gerados pela interação de variáveis. A análise estatística teve o auxílio do *software* SAS versão 8.0. © 1999, by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, teve risco mínimo para os indivíduos que dele participaram, uma vez que para a análise foi necessária somente uma punção venosa de sangue periférico. Todas as mulheres participantes foram previamente informadas do estudo, aceitando participar livremente e assinando termo de consentimento após informação.

## Resultados

Foram avaliadas 158 mulheres divididas em 70 casos e 88 controles. A média de idade da mulher ao nascimento do filho portador da trissomia do cromossomo 21 foi de 25,3 anos e a média de idade no dia da coleta entre os controles foi de 31,3 anos (Tabela 1). O grupo-controle era composto por 51 mulheres brancas e 37 não brancas. O grupo de casos por 56 mulheres brancas e 14 não brancas ( $p=0,0032$ ).

Tabela 1 - Distribuição da média e mediana da idade das mulheres segundo ter ou não filho com trissomia do cromossomo 21

	Média da idade	Mediana da idade
Casos	25,3	24
Controles	31,3	32

Teste t:  $p < 0,0001$

Não houve diferença estatisticamente significativa na porcentagem de indivíduos com mutação da MTHFR na posição 677 entre casos e controles, tanto no OR bruto como no corrigido pela cor (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 - Distribuição da mutação do gene codificador da MTHFR na posição 677 entre os casos e os controles

MTHFR 677	Casos (n=70)		Controles (n=88)		OR BRUTO	IC 95%
	n	%	n	%		
Sem Mutação (CC)	35	50	54	61,4	1,85	referência
Heterozigoto CT	30	42,9	25	28,4	0,86	(0,94 a 3,65)
Homozigoto TT	5	7,1	9	10,2	1,59	(0,26 a 2,77)
<b>Total de Mutações</b>	<b>35</b>	<b>50,0</b>	<b>34</b>	<b>38,6</b>		<b>(0,84 a 3,00)</b>

C = citosina; T = timina

Não houve diferença estatisticamente significativa na porcentagem de mutantes da MTHFR na posição 1298 entre casos e controles (Tabela 4). Após o ajuste por cor, o OR mostrou-se significativo para a presença de mutação

**Tabela 3** - Distribuição da mutação do gene codificador da MTHFR na posição 677 entre os casos e os controles com o OR ajustado pela cor

MTHFR 677	Casos (n=70)		Controles (n=88)		OR ajustado pela cor	(IC 95%)
	n	%	n	%		
Sem Mutação (CC)	35	50	54	61,4		referência
Heterozigoto CT	30	42,9	25	28,4	1,94	(0,99 a 3,82)
Homozigoto TT	5	7,1	9	10,2	0,65	(0,15 a 2,86)
<b>Total de Mutações CT+TT</b>	<b>35</b>	<b>50,0</b>	<b>334</b>	<b>38,6</b>	<b>0,91</b>	<b>(0,41 a 2,02)</b>

C = citosina; T = tiamina

**Tabela 4** - Distribuição da mutação do gene codificador da MTHFR na posição 1298 entre os casos e os controles

MTHFR 1298	Casos (n=70)		Controles (n=88)		OR BRUTO	(IC 95%)
	n	%	n	%		
Sem Mutação (AA)	30	42,9	50	56,8		referência
Heterozigoto AC	37	52,9	32	36,4	1,93	(1,00 a 3,71)
Homozigoto CC	3	4,3	6	6,8	0,83	(0,19 a 3,58)
<b>Total de Mutações AC+CC</b>	<b>40</b>	<b>57,1</b>	<b>38</b>	<b>43,2</b>	<b>1,75</b>	<b>(0,93 a 3,31)</b>

A = Adenina; C = Citosina

**Tabela 5** - Distribuição da mutação do gene codificador da MTHFR na posição 1298 entre os casos e os controles com o OR ajustado pela cor

MTHFR 1298	Casos (n=70)		Controles (n=88)		OR ajustado pela cor	(IC 95%)
	n	%	n	%		
Sem Mutação (AA)	30	42,9	50	56,8		referência
Heterozigoto AC	37	52,9	32	36,4	2,35	(1,16 a 4,76)
Homozigoto CC	3	4,3	6	6,8	1,06	(0,23 a 4,87)
<b>Total de Mutações AC+CC</b>	<b>40</b>	<b>57,1</b>	<b>38</b>	<b>43,2</b>	<b>2,15</b>	<b>(1,10 a 4,26)</b>

A = Adenina; C = Citosina

heterozigota (OR de 2,35) (Tabela 5).

A forma heterozigota da mutação em ambas as posições (677 e 1298) esteve presente em 27,1% dos casos e em 5,7% dos controles com um *odds ratio* (OR) bruto de 5,70 (Tabela 6).

**Tabela 6** - Distribuição dos diferentes genótipos dos genes codificadores da MTHFR nas posições 677 e 1298 entre os casos e os controles

Genótipo da MTHFR	Caso		Controle		OR BRUTO	(IC 95%)
	n	%	n	%		
<b>677 1298</b>	14	20,0	21	23,9	Referência	-
0 e 0	18	25,7	27	30,7	1,00	(0,41 a 2,46)
0 e 1	3	4,3	6	6,8	0,75	(0,16 a 3,51)
0 e 2	11	15,7	20	22,7	0,82	(0,30 a 2,24)
1 e 0	19	27,1	5	5,7	5,70	(1,73 a 18,83)
1 e 1	5	7,1	9	10,2	0,83	(0,23 a 3,01)
2 e 0	70	100,0	88	100,0	-	-

teste exato de Fischer (valor-p) 0,0131;

0 = Homozigoto normal; 1 = Heterozigoto mutante; 2 = Homozigoto mutante.

Quando se ajustou o OR do grupo com heterozigose composta pela cor, idade e idade categorizada (< 35 anos) o mesmo passou respectivamente a ser 6,07; 8,91 e 9,00 (Tabela 7).

**Tabela 7** - Distribuição dos genótipos dos genes codificadores da MTHFR nas posições 677 e 1298 na sua forma heterozigota composta entre os casos e os controles segundo diferentes ajustes

Genótipo da MTHFR	Caso		Controle		OR BRUTO	(IC 95%)
	n	%	n	%		
<b>677 1298</b>	14	20,0	21	23,9	Referência	-
0 e 0	18	25,7	27	30,7	1,00	(0,41 a 2,46)
0 e 1	3	4,3	6	6,8	0,75	(0,16 a 3,51)
0 e 2	11	15,7	20	22,7	0,82	(0,30 a 2,24)
1 e 0	19	27,1	5	5,7	5,70	(1,73 a 18,83)
1 e 1	5	7,1	9	10,2	0,83	(0,23 a 3,01)
2 e 0	70	100,0	88	100,0	-	-

teste exato de Fischer (valor-p) 0,0131;

0 = Homozigoto normal; 1 = Heterozigoto mutante; 2 = Homozigoto mutante.

## Discussão

O trabalho original de James<sup>24</sup> estudou a mutação 677 da MTHFR em 57 mulheres com filhos portadores da trissomia do cromossomo 21 e 50 mulheres sem abortamentos e sem gestações anormais, não ficando claro se mulheres sem filhos participaram do grupo-controle. Este trabalho ampliou a amostra para 70 casos com trissomia do cromossomo 21, todos com trissomias livres, confirmadas por cariótipo e comparadas com 88 controles que não tiveram abortamentos e que tinham pelo menos um filho sem cromossomopatias e nenhum filho com malformações ou alterações cromossômicas fenotipicamente detectáveis e além da mutação 677 também estudou a mutação 1298. Este estudo demonstrou que a presença concomitante das mutações C677T e A1298C está correlacionada com maior risco de ter filho acometido por trissomia do cromossomo 21. Ambos os grupos estão em equilíbrio de Hardy e Weinberg para os diferentes genótipos do gene codificador da MTHFR nas posições 677 e 1298 e não apresentam diferenças estatisticamente significantes entre casos e controles. Esse dado sugere uma amostra sem viés de seleção, oriundas e representativas da população estudada. Apesar da diferença entre as médias das idades dos dois grupos (maior entre os controles), ambos foram compostos por pacientes jovens, ao redor de 25 anos nos casos e 32 nos controles. Essa observação inicial permite estudar um grupo específico de mulheres, ditas jovens, onde o risco para trissomia do cromossomo 21 é menor e onde, portanto, outros fatores causais, que não a idade, possam ser estudados. A frequência da associação dessas duas mutações foi pouco estudada na literatura e apenas em grupos com defeitos de fechamento de tubo neural. A frequência de heterozigose composta encontrada foi de 15% em um estudo canadense<sup>5</sup>, e de 17% em uma população norte-americana<sup>28</sup> e 20% em holandeses<sup>23</sup>. Todas inferiores aos 27,1% encontrados no nosso grupo de casos do presente estudo. O único trabalho encontrado na literatura que estudou a associação da mutação da MTHFR nas posições 677 e 1298 e trissomia do cromossomo 21 é uma nota prévia com dados preliminares deste trabalho e que, portanto não permite comparações estatísticas<sup>29</sup>. O papel das características gênicas do casal na etiologia da trissomia do cromossomo 21 não é claro. Estudos com genes produtores

de proteínas envolvidas no metabolismo do ácido fólico têm sido realizados, pela importância na regulação dos níveis de homocisteína e metionina sérica e envolvimento na metilação do DNA, etapa fundamental para a correta disjunção cromossômica. Neste grupo de mulheres que avaliamos ocorreu um aumento de risco de trissomia do cromossomo 21 na presença de ambas as mutações, sugerindo um sinergismo entre as mutações. Botto e Mastroiacovo<sup>14</sup>, partindo de uma reavaliação de um estudo caso-controle sobre DFTN, mostraram que as mutações na posição 677 da MTHFR e da cistationina beta sintase, não apresentavam isoladamente riscos aumentados de gerarem DFTN. No entanto, a presença da mutação em ambos os genes sim. Os autores sugeriram que a interação gene-gene deva ser estudada na etiologia de doenças humanas. Já Hobbs et al.<sup>30</sup>, estudando a ocorrência de trissomia do cromossomo 21 com a mutação C677T da MTHFR e a mutação A66G do gene codificador da metionina sintase redutase (MTRR), não observaram esse sinergismo entre as mutações. A descoberta de que o uso suplementar de ácido fólico periconcepcional reduz de forma importante a ocorrência e recorrência de DFTN representou um grande avanço na prevenção de malformações congênitas. O presente trabalho não avaliou as condições alimentares das mulheres que dele participaram, ou dosou ácido fólico sérico para tentar estabelecer se os níveis de ácido fólico nas mães com filhos trissômicos apresentavam níveis mais baixos de ácido fólico que as com filhos cromossomicamente normais. Essa crítica pode ser atenuada pela dificuldade em se obter informações precisas quanto ao tipo de alimentação que realizaram no período periconcepcional, já que as gestações em muitos casos ocorreram há vários anos. O mesmo pode ser dito em relação aos níveis de ácido fólico que não se dosou. São vários os fatores que influenciam essas informações, entre eles: momento da suplementação com ácido fólico, documentação dessa suplementação, dosagem da suplementação, nível da ingesta de ácido fólico proveniente da dieta, como foi a dosagem do ácido fólico (se foi livre ou nos glóbulos vermelhos), uso de outras vitaminas e muitas outras variáveis que poderiam interferir nos resultados<sup>31</sup>. Há algum tempo suspeita-se da associação do padrão nutricional com o desenvolvimento de malformações congênitas, principalmente os defeitos de fechamento de tubo neural, cuja associação com a deficiência de ácido fólico ficou demonstrada pelo trabalho de Smithells et al.<sup>32</sup>, onde o uso de ácido fólico periconcepcional diminuiu a ocorrência de DFTN. Em 2003 um interessante estudo foi publicado no Lancet<sup>33</sup>, nesse trabalho os autores partiram do pressuposto de que se a trissomia do cromossomo 21 e os defeitos de fechamento de tubo neural tem como um fator etiológico comum a mutação da MTHFR, deveria ser comum em um mesmo grupo familiar a ocorrência das duas doenças. Eles estudaram 1.492 gestações de famílias com casos de DFTN e verificaram 11 casos de trissomia do cromossomo 21, quando o esperado pelas características epidemiológicas seria de 1,87 caso. Avaliaram ainda um outro grupo composto por 1.847 gestações de famílias com casos de trissomia do cromossomo 21 e encontraram sete casos de DFTN quando o esperado seria de 1,37 caso. Esse importante trabalho reforça a hipótese

de que realmente alterações no metabolismo do ácido fólico possam estar envolvidas na etiologia de ambas as doenças.

Esses trabalhos abriram uma nova área de pesquisa na qual se enquadra o presente estudo. As evidências encontradas neste trabalho sugerem que a associação das duas mutações estudadas aumenta o risco de trissomia do cromossomo 21 e, por esse motivo, justificam estudos mais amplos, prospectivos e populacionais.

Podemos estar identificando os primeiros contribuintes genéticos conhecidos para a segregação meiótica incorreta de cromossomos na espécie humana, sujeito à diminuição de risco por suplementação da dieta com ácido fólico, principalmente nos indivíduos portadores das mutações que, porventura, se confirmem como de risco.

## Abstract

**INTRODUCTION:** The trisomy of the chromosome 21 is the most frequent chromosome abnormality in newborns, responsible for a great part of the moderate mental deficiency. Trisomy 21. Despite its frequency, cellular and molecular mechanisms involved on meiotic non-disjunction are still unknown. It has been speculated that the ingestion of folic acid and mutations on codifier genes of the enzymes involved in its metabolism may act as causes of non-disjunction. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is one of these enzymes, which is fundamental on the DNA methylation.

**OBJECTIVE:** verify statistical significant differences on the MTHFR mutation rate in the position 677 and 1298 between mothers of children with 21 trisomy and controls.

**Material and methods:** a case-control study was performed with 70 women who had a pregnancy affected by full trisomy 21 and with 88 control mothers who had experienced no miscarriage or abnormal pregnancies. We have studied the C677T and A1298C point mutation rates of the MTHFR codifier gene on both groups. The risk offered by each evaluated variable was given by odds ratio (OR) estimates and its respective interval of confidence (IC 95%). Logistics regression patterns were used to measure the effect of the control variables on these OR.

**RESULTS:** The presence of combined heterozygous (677 and 1298) was statistically higher among the cases (OR of 5,7).

**Conclusions:** the presence of combined heterozygous on the MTHFR codifier gene led to a higher risk of trisomy 21 occurrence.

**UNITERMS:** cytogenetic analysis; chromosome mapping; chromosomal aberrations; chromosome 21

## Referências bibliográficas

1. Thompson MW, Mcinnes RR, Willard HF. Citogenética clínica: princípios gerais e anormalidades autossômicas. In: THOMPSON & THOMPSON Genética Médica. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993; p.138-68.

2. Chaney SG. Princípios de nutrição II: Micronutrientes. In: DEVLIN, T.M. Manual de bioquímica com correlações clínicas. Tradução da 4ª edição Americana, São Paulo 1998; p.933-59.
3. Czeize AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *New Engl J Med* 1992; 327:1832-5.
4. Frosst P, Blom H J, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Mathews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation causes thermoinstability. *Nat Genet* 1995; 10:111-3.
5. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998; 64:169-72.
6. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994; 7:95-200.
7. Kang SS, Wong PWK, Cook H, Zhou J, Sora J, Lessick M, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism* 1988; 37:611-3.
8. Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalisyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a Thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988; 43:414-21.
9. Rosenblatt DS, Erbe RW. Methylenetetrahydrofolate reductase in cultured human cells. II. Genetic and biochemical studies of methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Pediatr Res* 1977; 11:1141-3.
10. Pogribny IP, Miller B J, James S J. Alterations in hepatic p53 gene methylation patterns during tumor progression with folate/methyl deficiency in the rat. *Cancer Lett* 1997; 115:31-8.
11. Qu J.Z, Grundy P, Narayan A, Ehrlich M. Frequent hypomethylation in Wilms tumors of pericentromeric DNA in chromosomes 1 and 16. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 109:34-9.
12. Bjørke-Monsen AL, Ueland PM, Scheneede J, Vollset SE, Refsum H. Elevated plasma total homocysteine and C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with spina bifida. *Q J Med* 1997; 90:593-6.
13. Eskes TK. Folates and the fetus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997; 71:105-1.
14. Botto LD, Mastroiacovo LD. Exploring gene-gene interactions in the etiology of neural tube defects. *Clin Genet* 1998; 53:456-9.
15. Wenstrom K D, Johanning GL, Johnston KE, Acton S, Tamura T. Amniotic fluid homocysteine levels, 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and neural tubes closure sites. *Am J Med Genet* 2000; 90:6-11.
16. Wenstrom K D, Johanning GL, Johnston KE, DuBard M. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184:806-17.
17. Wouters MGAJ, Boers GHJ, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CMG, Borm GF, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993; 60:820-5.
18. Carvalho ECC. Estudo comparativo da frequência de fatores trombogênicos entre mulheres com aborto espontâneo recorrente e mulheres férteis. Campinas, 2001. [Tese - Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP].
19. Shashi V, Rickheim A, Pettenati MJ. Maternal homozygosity for the common MTHFR mutation as a potential risk factor for offspring with limb defects. *Am J Med Genet* 2001; 100:25-9.
20. Franco R F, Araujo AG, Guerreiro J F, Elion J, Zago MA. Analysis of the 677 C → T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thromb Haemost* 1998; 79:119-21.
21. Botto LD, Yang Q. 5, 10 Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: A HuGE Review. *Am J Epidemiol* 2000; 151:862-77.
22. Arruda VR, Siqueira LH, Gonçalves MS, Von Zuben PM, Soares MCP, Menezes R. et al. Prevalence of the mutation C677T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene among distinct ethnic groups in Brazil. *Am J Med Genet* 1998; 78:332-5.
23. Van Der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 1998; 62:1044-51.
24. James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, Melnyk S, Hine RJ, Gibson JB, et al. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999; 70:495-501.
25. Woodhead JL, Fallon R, Figuered H, Longdale J, Malcom A. Alternative methodology of gene diagnosis. In: Davies KE. *Human genetic diseases-a practical approach*. Oxford: IRL Press Limited; 1986; p.51-64.
26. Saiki RK, Gilfend DH, Stoffel S, Erlich H. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 1989; 239:4887-91.
27. Beiguelman B. Aplicações da lei de Hardy e Weinberg. In Beiguelman B - *Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações*. Ribeirão Preto – São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética 1994; p 203-51.
28. Trembath D, Sherbondy AL, Vandyke DC. Analysis of

- select folate pathway genes, PAX3 and human T in a Midwestern neural tube defect population. *Teratology* 1999; 59:331-41.
29. Grillo LB, Acacio GL, Barini R, Pinto W Jr, Bertuzzo CS. Mutations in the methylene-tetrahydrofolate reductase gene and Down syndrome *Cad Saude Publica* 2002; 18:795-7.
30. Hobbs CA, Sherman SL, YIP, Hopkins SE, Torfs CP, Hine RJ, Pogribna M, et al. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 623-30.
31. Lewis DP, Van Dyke DC, Stumbo PJ, Berg MJ. Drug and environmental factors associated with adverse pregnancy outcomes Part II: Improvement with folic acid. *Ann Pharmacoth* 1998; 32:947-61.
32. Smithells RW, Sheppard S, Schorah CJ, Seller MJ, Nevin NC, Harris R, et al. - Apparent prevention of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *Arch Dis Child* 1981; 56:911-8.
33. Barkai G, Arbuzova S, Berkenstadt M, Heifetz S, Cuckle H. Frequency of Down's syndrome and neural-tube defects in the same family. *Lancet* 2003; 361:1331-5.

# Eficácia do hCG em baixa dose para completar a estimulação ovariana iniciada com FSH recombinante

Efficacy of low dose hCG alone following recombinant FSH for controlled ovarian stimulation

Fernanda Montenegro Valente<sup>1</sup>, Karen de Pauw<sup>1</sup>, Mario Cavagna<sup>1,2</sup>, Artur Dzik<sup>1</sup>, Gilberto C. Freitas<sup>1</sup>, Jonathas B. Soares<sup>1</sup>, Priscila C. Andrade<sup>1</sup>, Luiz Henrique Gebrim<sup>1</sup>



Fernanda Montenegro Valente

A Dra. Fernanda Montenegro Valente é formada em Medicina pela Universidade Federal do Amazonas – UFAM, em 2005. Fez Residência médica em Ginecologia e Obstetrícia na Faculdade de Medicina de Jundiaí, de 2005 a 2007. Possui Título de Especialista em Ginecologia e Obstetrícia (TEGO) pela Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Atualmente é médica estagiária da Divisão de Reprodução Humana do Hospital Pérola Byington, em São Paulo, e pós-graduanda em Reprodução Humana na Associação Instituto Sapientiae, São Paulo.

## RESUMO

O objetivo da presente comunicação é o de relatar os resultados de ciclos de FIV/ICSI com o emprego de FSH recombinante (r-FSH) durante todo o ciclo de estimulação e o uso de baixa dose de hCG isoladamente para completar a estimulação iniciada com r-FSH.

**UNITERMOS:** baixa dose de hCG, FSH recombinante, estimulação ovariana.

## Introdução

Nos protocolos de estimulação ovariana para ciclos de FIV ou ICSI, não há dúvidas de que o FSH é a principal gonadotropina utilizada, sendo comumente empregada isoladamente com resultados satisfatórios<sup>1</sup>. Há muita controvérsia sobre a real necessidade da suplementação com LH ou com hormônio que tenha atividade de LH nos esquemas de indução do desenvolvimento folicular múltiplo<sup>2,3</sup>. Sabe-se, entretanto, que a partir da fase folicular média, quando o folículo atinge diâmetro máximo de 10-11 mm, as células granulosas, sob influência do FSH, adquirem receptores para o LH<sup>4</sup>. Dessa forma, a atividade do LH poderia manter o crescimento e desen-

volvimento folicular, mesmo na ausência do FSH. Esta investigação tem como objetivo comparar os resultados de ciclos de FIV/ICSI com o uso de FSH recombinante durante toda a estimulação ovariana e o emprego de baixas doses de hCG isoladamente para completar a estimulação ovariana iniciada com o r-FSH.

## Material e Método

Foram estudados, retrospectivamente, 100 ciclos de FIV/ICSI realizados na unidade de reprodução assistida do Centro de Referência da Saúde da Mulher (Hospital Pérola Byington) em mulheres com menos de 40 anos de idade, entre os anos de 2004 e 2006. As pacientes foram divididas em dois grupos: no grupo A (n=57), após bloqueio hipofisário com acetato de leuprolide, a estimulação ovariana foi realizada com r-FSH, na dose diária de 150 a 225 UI, durante todo o ciclo de estimulação. No grupo B (n=43), a estimulação foi iniciada com r-FSH, e quando pelo menos 3 folículos atingiam diâmetro de 13-14 mm, substituía-se o r-FSH por 200 UI de hCG

<sup>1</sup> Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington, São Paulo.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno Infantil, Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro, São Paulo

Correspondência:

Mario Cavagna

Av. Brigadeiro Luis Antonio, 683

01307-000 – São Paulo

e-mail: mariocavagna@yahoo.it

diárias, até o final da estimulação. Em ambos os grupos, com a visualização ecográfica de 3 folículos > 17 mm, administrava-se 10.000 UI de hCG para a maturação folicular final, e a aspiração folicular era realizada após 35-36 horas. Em todas as pacientes, houve transferência de pelo menos um embrião classe 1 ou 2, e não mais de 3 embriões foram transferidos em cada paciente. Os resultados avaliados foram: número de dias de estimulação, dose total de FSH administrada e taxa de gravidez por transferência embrionária. A análise estatística foi realizada através dos testes t de Student e qui quadrado.

## Resultados

Ambos os grupos eram comparáveis com relação a características clínicas e epidemiológicas. A idade média das pacientes foi 33,4 anos. O número de dias de estimulação ( $9.70 \pm 1.2$  in group A versus  $9.40 \pm 0.7$  in group B) e a taxa de gravidez por transferência (38.5% in group A versus 37.2% in group B) não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos ( $P > 0,05$ ). A dose média de r-FSH administrada foi significativamente maior no grupo A ( $1920 \pm 373$  versus  $1282 \pm 254$ ;  $P < 0,05$ ). Os resultados encontrados estão sintetizados na tabela 1.

**Tabela 1** - Resultados dos ciclos de FIV/ICSI

	Dias de estímulo (Média±Desvio padrão)	Taxa de gravidez por ET	Dose de r-FSH administrada (Média±Desvio padrão)
r-FSH	9.70±1.2	38,5%	1920±373
r-FSH + hCG	9.40±0.7	37,2%	1282±254 (p < 0,05)

## Discussão

O papel do LH no ciclo ovariano é bem estabelecido na fase pré-ovulatória, onde sua ação é fundamental para a retomada da meiose pelo oócito e processo de rotura folicular. Durante a fase folicular inicial, sua ação principal é a de fornecer substrato androgênico para a aromatização e síntese de estradiol, sendo que são necessárias concentrações relativamente baixas para que tal função possa ser exercida. O processo de seleção e dominância folicular também depende, em parte, do LH, que atua no folículo selecionado para a dominância, mantendo seu desenvolvimento apesar da queda dos níveis de LH que se verifica a partir da fase folicular média. Tal fato é possível porque na fase folicular inicial o FSH determina a síntese de receptores de LH nas granulosa. Dessa maneira, em ciclos de estimulação ovariana para TRA, o LH ou hormônio que tenha atividade LH, como o hCG, poderia ser utilizado para completar a estimulação ovariana a partir do momento em que os folículos tenham receptores de LH nas células granulosa, o que ocorre quando os folículos apresentam um diâmetro máximo de 10-11 mm<sup>4</sup>. Nosso protocolo efetuou a substituição de FSH pelo hCG quando os folículos atingiam 13 mm, para evitar a possibilidade de atresia folicular;

entretanto, é possível que tal substituição seja feita mais precocemente, com diâmetro folicular em torno de 11 mm<sup>5</sup>. Nossos resultados não mostraram diferenças significantes no número de dias de estímulo e nas taxas de gravidez. As taxas de gravidez foram, em ambos os grupos, muito altas, possivelmente em virtude das pacientes incluídas na investigação terem menos de 40 anos e terem tido pelo menos um embrião de boa qualidade transferido. O emprego de r-FSH e baixa dose de hCG isoladamente no final da fase folicular mostrou-se tão eficiente quanto o r-FSH durante todo o ciclo de estimulação, porém com um consumo de unidades de gonadotropina recombinante significativamente menor.

## Abstract

The aim of this study was to compare the outcomes of IVF/ICSI procedures with the use of recombinant FSH (r-FSH) throughout the ovulation induction cycle and the use of low dose hCG alone to complete ovarian stimulation after a priming with r-FSH.

**UNITERMS:** low dose hCG, recombinant FSH, ovarian stimulation.

## Referências bibliográficas

1. Vegetti W, Alagna F. FSH and folliculogenesis: from physiology to ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2006; 12(6):684-94.
2. Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, Martins AM, Cornicelli J, Cavagna M, Oliveira JB, Franco JG Jr. Recombinant LH supplementation to recombinant FSH during induced ovarian stimulation in the GnRH-antagonist protocol: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(1):14-25.
3. Oliveira JB, Mauri AL, Petersen CG, Martins AM, Cornicelli J, Cavagna M, Pontes A, Baruffi RL, Franco JG Jr. Recombinant luteinizing hormone supplementation to recombinant follicle-stimulation hormone during induced ovarian stimulation in the GnRH-agonist protocol: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2007;24(2-3):67-75.
4. Filicori M, Cognigni GE, Gamberini E, Parmegiani L, Troilo E, Roset B. Efficacy of low-dose human chorionic gonadotropin alone to complete controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2005;84(2):394-401.
5. Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, Tabarelli C, Ferlini F, Perri T, Parmegiani L. Comparison of controlled ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin or recombinant follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril*. 2003; 80(2):390-7.

A Revista Reprodução & Climatério publica artigos originais, artigos de atualização, opiniões, breves comunicações, relatos de caso e cartas ao editor (no máximo 500 palavras), na área de medicina reprodutiva, climatério, ginecologia endócrina e sexualidade. São aceitos artigos em português, espanhol ou inglês.

Os originais devem ser encaminhados para a SBRH, aos cuidados do editor, exclusivamente por correio eletrônico, para: sbrh@terra.com.br

Os originais devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo e margens de 3 cm, em páginas numeradas. A fonte a ser utilizada é a Times New Roman, tamanho 12.

Os originais devem ser preparados na seguinte seqüência:

**Página de Rosto:** título do trabalho em português e inglês (o título não deverá ser colocado em negrito ou caixa alta), título conciso (de 2 a 4 palavras, para constar no alto da página), nome completo dos autores (exemplo: Patrick Steptoe), nome da(s) instituição(s) onde o trabalho foi desenvolvido, nome, endereço e e-mail do autor para correspondência.

**Resumo:** Deverá conter no máximo 200 palavras e ser estruturado, contendo Objetivos, Material e Métodos, Resultados, Conclusões e Unitermos. Evitar, no resumo, abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso, de 2 ou 3 linhas com as principais conclusões do trabalho, para ser colocado no índice da revista. Para artigos de atualização, comunicações breves, opiniões e relatos de casos, não é necessário que o Resumo seja estruturado.

**Abstract:** Versão para o inglês do texto do Resumo, acompanhado de *Uniterms*.

**Texto do trabalho:** Deverá conter Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas. As abreviações devem ser restritas e sempre definidas na primeira aparição no texto. Eventuais tabelas deverão ser numeradas em algarismos arábicos, com título explicativo do conteúdo. Não se colocam traços verticais e limita-se os horizontais a um acima da tabela e um ao final. As figuras, fotos ou desenhos devem ser limitados ao estritamente necessário, e serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, fotos, figuras e desenhos devem ser enviados em páginas separadas. Nas referências bibliográficas, as citações devem obedecer às normas de Vancouver. Maiores esclarecimentos poderão ser obtidos no site: [www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use estes números para as citações no texto. Todos os autores devem ser citados, exceto quando houver mais de 6 autores, quando se pode citar os 6 primeiros seguidos pela expressão latina et al. Observe alguns exemplos de citações:

## Artigos em periódicos:

1. Nahas EAP, Pontes A, Nahas Neto J, Traiman P, Luca L, Abbade J. Efeitos da atividade física e da tibolona sobre a densidade mineral óssea em mulheres na pós menopausa. *Reprod Clim.* 2001;16:47-52.

2. Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935:40-6.

## Volume com suplemento:

3. Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

## Livros:

4. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press; 1995. p.465-78.

5. Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people.* New York: Churchill Livingstone; 1996.

## Cartas e Editoriais:

6. Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. *Fertil Steril* 1991; 55:1203-4.

7. Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

Os manuscritos serão avaliados pelo Conselho Editorial de Reprodução & Climatério, podendo ser recusados, aceitos sem correções, ou aceitos com sugestões de correções, sendo neste último caso reencaminhados aos autores. Após aceitação definitiva, deverá ser feita carta assinada por todos os autores, fazendo menção que o manuscrito não foi publicado anteriormente e dizendo concordar com a publicação e transferência de *copyright* para Reprodução & Climatério. Os editores reservam-se o direito de fazer alterações gramaticais e estruturais que julgarem necessárias.



Bayer HealthCare  
Bayer Schering Pharma

## BAIXA DOSE na Pós-Menopausa



### Mais que se Sentir Bem

A TH pós-menopáusicas com ANGELIQ® oferece pressão arterial favorável.

- ♥ A prevalência de hipertensão aumenta com a idade.<sup>1</sup> A vigilância dos níveis de pressão arterial é muito importante em todas as mulheres menopausadas.
- ♥ ANGELIQ® é TH menopáusicas única com efeito de redução da pressão arterial em mulheres hipertensas.<sup>2</sup>
- ♥ ANGELIQ® não afeta significativamente os níveis pressóricos arteriais em mulheres normotensas.<sup>3</sup>

U III AGO 2007/260/BR



ANGELIQ®  
Estradiol / Drospirenona

**Apresentação:** Cartucho contendo 1 blister-calendário com 28 comprimidos revestidos. **Composição:** Cada comprimido contém 1mg de estradiol e 2mg de drospirenona (DRSP), além dos excipientes. **Indicações:** RH para sintomas de deficiência de estrogênio em mulheres pós-menopausadas há mais de um ano; prevenção de osteoporese pós-menopausal em mulheres com risco de fraturas por osteoporese aumentada. **Contra-indicações:** TH não deve ser iniciada na presença de qualquer das seguintes condições: sangramento vaginal anormal não-diagnosticado; diagnóstico ou suspeita de câncer de mama; diagnóstico ou suspeita de condições pré-malignas ou malignas dependentes de esteróides sexuais; presença ou história de tumores hepáticos; doença hepática grave; presença ou história de doença renal grave enquanto os valores da função renal não retornarem ao normal; tromboembolismo arterial agudo; presença de trombose venosa profunda; distúrbios tromboembólicos ou antecedentes destas condições; hipertrigliceridemia grave; gravidez ou lactação; hipersensibilidade às substâncias ativas ou a qualquer um dos componentes do medicamento. Se qualquer uma das condições citadas anteriormente ocorrer pela primeira vez durante o uso da TH, a sua utilização deve ser descontinuada imediatamente. **Precauções e advertências:** ANGELIQ® NÃO PODE SER USADO COMO CONTRACEPTIVO. Antes de iniciar ou retomar o uso da TH, é necessário obter história clínica detalhada e realizar exame clínico completo, considerando os itens descritos em "Contra-indicações" e "Advertências" que constam na bula do produto; estes acompanhamentos devem ser repetidos periodicamente durante o uso da TH. Em caso de ocorrência ou agravamento de qualquer uma das condições ou fatores de risco mencionados a seguir, os benefícios da utilização da TH devem ser avaliados frente aos possíveis riscos para cada paciente individualmente e discutidos com a mesma, antes de optar pelo início ou continuação de sua utilização. **TROMBOEMBOLISMO VENOSO:** Estudos epidemiológicos e estudos controlados randomizados sugerem um aumento do risco relativo de desenvolvimento de tromboembolismo venoso (TEV), a relação risco-benefício deve ser cuidadosamente avaliada quando se prescrever TH para mulheres que apresentem fator de risco para TEV. O risco de TEV pode estar temporariamente aumentado em casos de imobilização prolongada, grande cirurgia eletiva ou pós-traumática ou traumatismo extenso. Dependendo da natureza da ocorrência e da duração da imobilização, deve-se considerar a interrupção temporária da TH. Deve-se descontinuar imediatamente o tratamento se ocorrerem sintomas ou suspeita de um evento tromboótico. **TROMBOEMBOLISMO ARTERIAL:** Dois grandes estudos clínicos realizados com estrogênios equinos conjugados (EEC) combinados com acetato de medroxiprogesterona (AMP), em esquema de administração contínua, indicaram um possível aumento do risco de cardiopatia coronariana no primeiro ano de uso e nenhum benefício após este período. Um estudo clínico abrangente, realizado com EEC administrados isoladamente, indicou um potencial para redução da taxa de cardiopatia coronariana em mulheres com idade entre 50 e 59 anos e nenhum benefício geral na população total estudada. Como resultado secundário, verificou-se um aumento de 30 a 40% no risco de acidente vascular cerebral em dois grandes estudos clínicos realizados com EEC administrados isoladamente ou em combinação com AMP. Não se sabe se estes dados também se aplicam a outros medicamentos para TH ou para vias de administração não-oral. **CÂNCER DE MAMA:** estudos relataram aumento do risco de se ter diagnosticado câncer de mama em mulheres que usaram TH por vários anos. Estes resultados podem ser devido ao diagnóstico precoce, aos efeitos da promoção do crescimento de tumores preexistentes ou à combinação de ambos. A estimativa para o risco relativo global de diagnóstico de câncer de mama fornecida em mais de 50 estudos epidemiológicos variou entre 1 e 2, na maioria dos estudos. O risco relativo aumenta com a duração do tratamento e pode ser mais baixo ou possivelmente neutro com medicamentos contendo somente estrogênios. Dois grandes estudos clínicos randomizados, realizados com estrogênios equinos conjugados (EEC) administrados isoladamente ou em combinação com AMP em uso contínuo, apresentaram riscos estimados de 0,77 (IC 95%: 0,59 – 1,03) ou de 1,24 (IC 95%: 1,01 – 1,54) após aproximadamente 6 anos de TH. Não se sabe se o risco aumentado também se aplica a outros medicamentos para TH. Aumentos similares em diagnóstico de câncer de mama são observados, por exemplo, nos casos de atraso da menopausa natural, ingestão de bebida alcoólica ou adiposidade. O aumento do risco desaparece dentro de poucos anos após a descontinuação do uso da TH. A maioria dos estudos tem relacionado que tumores diagnosticados em usuárias de TH atuais ou recentes tendem a ser melhor diferenciados do que os verificados em não-usuárias. Dados referentes à localização fora da área da mama não são conclusivos. A TH aumenta a densidade de imagens mamográficas, o que pode afetar adversamente a detecção radiológica do câncer de mama em alguns casos. **CÂNCER ENDOMETRIAL:** a exposição prolongada a estrogênios administrados isoladamente aumenta o risco de desenvolvimento de hiperplasia ou carcinoma endometrial. Estudos sugerem que a adição apropriada de progestágeno na terapia elimina esse aumento no risco. A adição de DRSP após o desenvolvimento de hiperplasia endometrial promovida por estrogênios. **TUMOR HEPÁTICO:** após o uso de hormônios como os contidos em medicamentos destinados a TH, foram observados em casos raros tumores hepáticos benignos e, mais raramente, tumores malignos que, em casos isolados, podem ocasionar hemorragias intra-abdominais com risco de vida para o paciente. Se ocorrer dor no abdome superior, aumento do tamanho do fígado ou sinais de hemorragia intra-abdominal, deve-se incluir tumor hepático nas considerações diagnóstico-diferenciais. **DOENÇA DA VESÍCULA BILIAR:** é conhecido o aumento da litogenicidade da bile provocado por estrogênios. Algumas mulheres são predispostas a desenvolver doenças da vesícula biliar durante a terapia estrogênica. **DEMÊNCIA:** existe evidência limitada, observada em estudos clínicos realizados com produtos contendo estrogênios equinos conjugados (EEC), de que a terapia hormonal pode aumentar o risco de demência se iniciada em mulheres com idade igual ou superior a 65 anos. O risco pode diminuir se o tratamento for iniciado no princípio da menopausa, como observado em outros estudos. Não se sabe se estes dados também se estendem a outros medicamentos para TH. **OUTRAS CONDIÇÕES:** deve-se descontinuar imediatamente o tratamento caso ocorram, pela primeira vez, enxaqueca ou cefaléias com intensidade e frequência fora do habitual, ou se houver outros sintomas que sejam possíveis sinais prodromáticos de oclusão cerebrovascular. Não foi estabelecida uma associação geral entre o uso da TH e o desenvolvimento de hipertensão clínica. Foram relatados pequenos aumentos na pressão arterial em usuárias de TH; os aumentos clinicamente relevantes são raros. Entretanto, deve-se considerar a descontinuação do tratamento em casos individuais de desenvolvimento e manutenção de hipertensão clinicamente significativa durante a TH. ANGELIQ® apresenta um potencial para diminuir a pressão arterial em mulheres com pressão arterial elevada, dependendo da dose de DRSP. Pode ser necessário um ajuste de dose do anti-hipertensivo usado concomitantemente. Não são esperadas alterações relevantes na pressão arterial em mulheres normotensas. A capacidade de excreção de potássio pode estar limitada em pacientes com insuficiência renal. Em um estudo clínico, a ingestão de DRSP não apresentou efeito sobre a concentração sérica de potássio em pacientes com insuficiência renal leve ou moderada. Pode existir risco teórico de hipercalemia em algumas usuárias cujo nível de potássio sérico, antes do início do uso de TH, encontra-se no limite superior da normalidade e que adicionalmente estejam utilizando medicamentos poupadores de potássio. Distúrbios moderados da função hepática, incluindo hiperbilirrubinemia, tais como as síndromes de Dubin-Johnson ou deRotor, necessitam de rigorosa supervisão, sendo que a função hepática deve ser monitorada periodicamente. Em caso de alteração nos indicadores da função hepática, deve-se descontinuar a TH. No caso de recorrência de icterícia coléctica ou prurido coléctico, os quais tenham surgido inicialmente durante uma gravidez ou durante o uso anterior de esteróides sexuais, deve-se descontinuar imediatamente o tratamento. Mulheres com níveis moderadamente elevados de triglicédeos necessitam de acompanhamento especial. A TH, nestes casos, pode estar associada a um aumento adicional no nível de triglicédeos levando ao risco de pancreatite aguda. Embora a TH possa ter efeito na resistência insulínica periférica e na tolerância à glicose, geralmente não há necessidade de alterar o regime terapêutico para pacientes diabéticos que estiverem usando TH. Entretanto, estas pacientes devem ser cuidadosamente monitoradas durante a terapia. Algumas pacientes podem desenvolver manifestações indesejáveis geradas pela estimulação estrogênica durante a TH, como sangramento uterino anormal. Se durante a terapia ocorrer sangramento uterino anormal de forma frequente ou persistente, recomenda-se avaliação endometrial. Miomas uterinos podem aumentar de tamanho sob a influência de estrogênios. Caso seja observado este aumento, o tratamento deve ser descontinuado. Se ocorrer reativação de endometriose durante a TH, recomenda-se a descontinuação do tratamento. Havendo suspeita de prolactinoma, deve-se excluir esta possibilidade antes de iniciar o tratamento. Ocasionalmente pode ocorrer cloasma, especialmente em mulheres com história de cloasma gravídico. Mulheres com tendência a cloasma devem evitar exposição ao sol ou à radiação ultravioleta enquanto estiverem em tratamento com TH. A ocorrência ou agravamento dos quadros abaixo foram relatados com o uso da TH. Embora não exista evidência conclusiva da associação com a TH, as mulheres que apresentarem alguma condição (epilepsia; doença benigna da mama; asma; enxaqueca; porfiria; otosclerose; lupo eritematoso sistêmico; coríca menor) e que estiverem em TH devem ser cuidadosamente monitoradas. **GRAVIDEZ E LACTAÇÃO:** ANGELIQ® é contra-indicado durante a gravidez e lactação. Caso a paciente engravidar durante o uso de ANGELIQ®, deve-se descontinuar imediatamente o seu uso. Não existem dados clínicos sobre exposição ao ANGELIQ® durante a gestação. Estudos com animais demonstraram reações adversas durante a gestação e lactação o risco potencial para humanos é desconhecido. Os resultados de estudos epidemiológicos não indicaram efeito teratogênico decorrente da ingestão inadvertida de associações estrogênio/progestágeno durante a gestação. Pequenas quantidades de drospirenona são excretadas com o leite materno. **Reações Adversas:** Durante os primeiros meses de tratamento, podem ocorrer sangramento e gotejamento. Estes geralmente são temporários e normalmente desaparecem com a continuação do tratamento. A frequência de sangramento diminui com a duração do tratamento. Dor mamária é muito comum, relatada em aproximadamente 1 em cada 5 mulheres. **REAÇÕES POUCO FREQUENTES** (≥ 1/1.000, < 1/100): dor nas costas ou pés; calafrios, mal-estar, valores anormais em exames laboratoriais, enxaqueca, hipertensão, dor torácica, palpitação, veias varicosas, trombose venosa, tromboflebite superficial, vasodilatação, distúrbio gastrointestinal, aumento de apetite, valores anormais da função hepática, edema localizado ou generalizado, ganho de peso, hipertensão, cãibras musculares, artralgia, insônia, tontura, diminuição da libido, diminuição na capacidade de concentração, parrestesia, sudorese, ansiedade, boca seca, vertigem, dispnéia, alopecia, alterações na pele ou cabelo, hirsutismo, câncer mamário, ingurgitamento mamário, distúrbio no paladar, vulvovaginite, distúrbio cervical ou endometrial, sangramento, dismenorréia, cisto ovariano, infecção no trato urinário ou incontinência urinária. **REAÇÕES ADVERSAS FREQUENTES** (≥ 1/100, < 1/10): dor ou distensão abdominal, astenia, dor nas extremidades, náusea, cefaléia, alterações do humor, fadiga, nervosismo, neoplasma benigno de mama, hipertrofia mamária, leiomioma aumentado, neoplasia cervical, leucorréia. Em casos excepcionais, eritema nodoso, eritema multiforme, cloasma e dermatite hemorrágica têm sido descritos em mulheres usando TH. **Intrações medicamentosas-EFEITOS DE OUTROS MEDICAMENTOS SOBRE ANGELIQ®:** Um aumento da depuração de hormônios sexuais devido à indução de enzimas hepáticas pode reduzir a eficácia clínica do fármaco e eventualmente promover sangramento irregular. Tais propriedades de indução de enzimas hepáticas foram estabelecidas para hidantoínas, barbitúricos, primidona, carbamazepina e rifampicina, assim como, sua presença, a existência dessas propriedades também para oxcarbazepina, topiramato, felbamato e griseofulvina. Em casos raros, níveis reduzidos de estradiol foram observados com o uso concomitante de certos antibióticos (por exemplo, penicilinas e tetraciclina). Os principais metabólitos da DRSP são gerados sem a participação do sistema citocromo P450. Portanto, é pouco provável que os inibidores do sistema enzimático influenciem o metabolismo da DRSP. No entanto, inibidores do CYP3A4, tais como cimetidina, etconazol e outros, podem inibir o metabolismo do estradiol. Ingestão aguda de bebidas alcoólicas durante a TH pode ocasionar elevação nos níveis de estradiol circulante. **INTERAÇÃO DE ANGELIQ® COM OUTROS MEDICAMENTOS:** observou-se em estudos de inibição in vitro e em estudo de interação in vivo, em voluntárias que utilizavam omeprazol como substrato marcador, que a DRSP apresenta pequena propensão para interagir com o metabolismo de outros fármacos. **INTERAÇÃO FARMACODINÂMICA COM MEDICAÇÃO ANTI-HIPERTENSIVA E COM ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDIS:** mulheres que fazem uso de ANGELIQ® e medicação anti-hipertensiva podem apresentar diminuição adicional na pressão arterial. É improvável o aumento no potássio sérico com o uso conjunto de ANGELIQ® e anti-inflamatórios não-esteróides ou medicamentos anti-hipertensivos. O uso concomitante desses três tipos de medicação pode causar um pequeno aumento no potássio sérico, mais pronunciado em mulheres diabéticas. **Posologia - INÍCIO DO TRATAMENTO:** No caso da paciente não ter utilizado estrogênio no mês anterior ou se estiver mudando de um medicamento contendo associação de uso contínuo, pode iniciar o tratamento com ANGELIQ® em qualquer dia. Pacientes que estão mudando de uma TH combinada seqüencial devem iniciar o tratamento no final do período programado de sangramento. **DOSE E ADMINISTRAÇÃO:** ingerir um comprimido ao dia, sem mastigar, diariamente, por 28 dias consecutivos, mantendo-se aproximadamente o mesmo horário. O tratamento é contínuo. Se ocorrer esquecimento da ingestão de um comprimido, a paciente deve tomá-lo assim que possível. Se houver transcurso mais de 24 horas, não se deve ingerir o comprimido esquecido. Se houver esquecimento de vários comprimidos, poderá ocorrer sangramento. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA - Rg, MS - 1.002.0119 - Este texto é o resumo da bula registrada no Ministério da Saúde. Para informações sobre precauções, motivos para interrupção, interações medicamentosas, hipersensibilidade e superdosagem, dentre outros, consulte a bula do produto, outros de nossos impressos mais detalhados ou telefone para o SAC (0800-7021241). Referências Bibliográficas: 1. Staessen JA, et al. The epidemiology of the association between hypertension and menopause. *Journal of Human Hypertension* (1998) 12, 587-592. 2. White, William B., et al. Effects of a new hormone therapy, drospirenone and 17-β-estradiol, in postmenopausal women with hypertension. *Hypertension*, 2006; 48:246-253. 3. Archer D.F. et al. Long-term safety of drospirenone-estradiol for hormone therapy: a randomized, double-blind, multicenter trial. *Menopause* 2005, 12 (6): 716-727.**

Ao persistirem os sintomas o médico deverá ser consultado  
[www.bayerscheringpharma.com.br](http://www.bayerscheringpharma.com.br)

SAC 0800 7021241  
[sac@bayerhealthcare.com](http://sac@bayerhealthcare.com)

Respeito por você

# A maturação cervical em suas mãos

 **Propess**<sup>®</sup>  
Dinoprostona 10 mg  
Pessário de liberação  
controlada em dose única

- A primeira dinoprostona com dose única e controlada;
- Liberação constante da dose por até 24 horas;<sup>5</sup>
- Controle preciso da dose / fácil remoção;<sup>1,2,3</sup>
- Aplicação única, segura e cômoda.<sup>1,6</sup>

#### Informações para prescrição:

**Nome do produto:** Propess<sup>®</sup> 10 mg, sistema de liberação controlada vaginal. **Forma Farmacêutica:** Pessário removível que libera aproximadamente 0,3 mg de dinoprostona (prostaglandina E<sub>2</sub>) por hora, durante 24 horas. **Indicação:** Iniciação e/ou continuação do processo de preparo do colo uterino em mulheres no final da gravidez (a partir de 38 semanas de gestação) quando há apresentação cefálica de feto único, com índice de Bishop < 6. **Posologia:** Inserir um pessário na porção alta do fórnice vaginal posterior. Se o colo uterino não estiver suficientemente preparado em 24 horas, deve-se remover o sistema de liberação vaginal. O pessário pode ser removido quando o processo de preparo do colo uterino estiver concluído ou ao início do trabalho de parto; ruptura espontânea ou artificial de membranas; evidência de sofrimento fetal; evidência de efeitos adversos sistêmicos da PGE<sub>2</sub> para a mãe; antes da infusão intravenosa de ocitocina. **Contra-indicações:** PROPESS<sup>®</sup> não deve ser utilizado quando: o trabalho de parto tiver começado, medicamentos ocitócicos forem administrados, houver sofrimento fetal, histórico de trabalhos de parto difíceis, mais de três partos a termo, casos graves de desproporção cefalo-pélvica ou apresentação fetal ruim e placenta prévia. **Precauções:** A atividade uterina e a condição fetal devem ser monitoradas. Se houver complicações para a mãe ou o feto, o pessário deve ser removido. Usar com cautela em mulheres que apresentem ruptura de membranas, histórico de hipertonia uterina, glaucoma ou asma. Medicamentos antiinflamatórios não-esteroidais devem ser interrompidos antes da administração. Remover o pessário se as contrações uterinas forem excessivas. Recomenda-se remover o pessário PROPESS<sup>®</sup>, se for administrada anestesia epidural antes do trabalho de parto e da ruptura da membrana. **Efeitos colaterais:** alterações em CTG, sofrimento fetal, aumento da atividade uterina com contrações hipertônicas, aumento do risco de hiperestimulação se a fonte de PGE<sub>2</sub> não for removida antes da administração de ocitocina, náusea, vômito e diarreia. **Armazenamento:** Armazenar em freezer (-10 a -20°C). **Apresentação:** Caixas com 1 pessário vaginal de liberação controlada lacrado em sachê aluminizado.

#### Referências

1. Witter, F. R.; Rocco, L. E.; Johnson, T. B. R. A randomised trial of prostaglandin E<sub>2</sub> in a controlled-release vaginal pessary for cervical ripening at term. *Am J Obstet Gynecol*, 1992; 166: 830-834. 2. Rayburn, W. F.; Wapner, R. J.; Brass, V. A.; Spitzberg, E.; Molina, R. D. et al. An intravaginal controlled-release prostaglandin E<sub>2</sub> pessary for cervical ripening and initiation of labor at term. *Obstet Gynecol*, 1992; 79: 374-379. 3. Witter, F. R.; Mercer B M for the Prostaglandin E<sub>2</sub> Insert Study Group. Improved intravaginal controlled-release prostaglandin E<sub>2</sub> insert for cervical ripening at term. *J Matern Fetal Med*, 1996; 5: 64-69. 4. Hartman, A. D. A retrospective study of the long-term effects of PGE<sub>2</sub> on children born of mothers treated with PGE administered in a hydrogel pessary of Witepsol pessary compared to control patients not receiving PGE, patients undergoing elective Caesarean section and patients induced with Syntocinon (oxytocin). Clinical trial study 101-100 by Mackenzie I. Report from Controlled Therapeutics, June 29, 1990. Data on file. 5. Lyrenas, S.; Clason, I.; Ulmsten, V. *In vivo* Controlled Release of PGE<sub>2</sub> from vaginal insert during induction of labour. *BJOG*, 2001; vol.108; pp 169-178. 6. Rath, W. A clinical evaluation of controlled-release dinoprostone for cervical ripening – a review of current evidence in hospital and outpatient settings. *J Perinat Med*; 2005; 33: 491-499.

Venda sob restrição médica. Uso restrito a hospitais. Reg. MS. 1.2876.0013.001-4

Laboratórios Ferring Ltda.  
Praça São Marcos, 624 - 1º Andar - CEP 05455-050  
Fone: (11) 3024.7500 - São Paulo - SP  
e-mail: adm@ferring.com.br

linha  Direta  
0800 772 4656  
www.ferring.com.br

**FERRING**  
PHARMACEUTICALS