ISSN-1413-2087

VOL 22 – OUTUBRO - DEZEMBRO - 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
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
Marcos Felipe Silva de Sá
Rui Alberto Ferriani

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 Metzer 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 Joviniano 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

1º Vice-Presidente
Sebastião de Freitas Medeiros

2º Vice-Presidente
Ricardo Mello Marinho

Secretário Executivo
Artur Dzik

Secretário Adjunto
Claudio Barros Leal

Tesoureira - Geral
Nilka Fernandes Donadio

Tesoureiro - Adjunto
Marcelino Hofmeister Poli

Diretora Científica
Claudete Reggiani

Presidente do Conselho de Delegados
Waldemar Naves do Amaral

Delegados da SBRH – Biênio 2007-2008

AC - JULIO EDUARDO GOMES PEREIRA

AL - FABIO CASTANHEIRA

AM - LOURIVALDO RODRIGUES DE SOUSA

AP - ALJERRY DIAS DO REGO

BA - KARINA DE SÁ ADAMI GONÇALVES

CE - MARCELO BORGES CAVALCANTE

DF - HITOMI MIURA NAKAGAVA

ES - JULES WHYTE SOARES SOUSA

GO - MARIO APROBATTO

MA - LUCIANE MARIA OLIVEIRA BRITO

MG - TULIO TADEU MARCOLINI

MS - ALEX BORTOTTO GARCIA

MT - MARCIA MARLY WINCK YAMAMOTO

PA - NELSON LUIZ DE OLIVEIRA SANTOS

PB - RICARDO LUCENA RAMOS

PE - VILMA GUIMARÃES DE MENDONÇA

PI - JOAQUIM CASTELO BRANCO BARROS

PR - JAIME KULAK

RJ - CARLOS ANDRÉ HENRIQUES

RN - GEORGE DANTAS DE AZEVEDO

RO - MARINES RODRIGUES SANTOS CESAR

RR - JOSÉ ANTONIO NASCIMENTO FILHO

RS - MARIA CELESTE OSORIO WENDER

SC - UBIRATAN CUNHA BARBOSA

SE - GEORGE HAMILTON CALDAS SILVEIRA

SP - VILMON DE FREITAS

TO - FÁBIO ROBERTO RUIZ DE MORAES

Reprodução & Climatério

índice

Editorial 141

Atualização

Infertilidade masculina causada por medicamentos — Fabio Firmbach Pasqualotto, Gustavo Fiedler, Luciana Luchese Tonetto, Eleonora Bedin Pasqualotto — 142

Male infertility induced by drugs

A infertilidade masculina induzida por medicamentos pode ser uma conseqüência indesejada de um tratamento clínico.

Exposição a Toxinas e Endometriose Pélvica. Existe relação? — Ana Luiza Savaris, Vivian Ferreira Amaral — 147

Exposition to Toxins and Endometriosis. Is there a relation?

Esta revisão tem como objetivo analisar se há correlação entre o aparecimento da endometriose e a exposição de toxinas despejadas no meio ambiente.

A aplicação clínica da maturação *in vitro* de oócitos humanos (IVM) — Adriana Bos-Mikich, Nilo Frantz, Marcos Höher, Marcelo Ferreira — 152

The clinical use of human oocyte in vitro maturation (IVM)

O objetivo desta revisão é fazer um levantamento do estado da arte da maturação in vitro *de oócitos humanos, particularmente em ciclos não estimulados.*

A escolha do progestágeno de acordo com o perfil clínico-laboratorial da paciente — Jacy Bastos Görgens, Hugo Almeida Chaves de Resende, Selmo Geber — 157

The choice of progestins according to clinical and laboratory characteristics of the patient

Na terapia hormonal, os sintomas, os sinais, a genética, os exames laboratoriais e complementares orientam qual o tipo de progestágeno será mais adequado à paciente.

Reprodução & Climatério

índice

A preservação da fertilidade em pacientes com câncer: uma preocupação pertinente

Mario Cavagna
Edson Borges Jr
Assumpto Iaconelli

161

Fertility preservation in cancer patients: a pertinent concern

Os autores fazem considerações sobre os efeitos do tratamento do câncer sobre a fertilidade e relatam as opções para sua preservação.

Trabalhos Originais

An experimental investigation on *Luffa operculata* (L.) Cogn. (buchinha-do-norte) as abortifacient plant

Sofia Louise Santin Barilli
Sílvia Tonial dos Santos
Tatiana Montanari

166

Uma investigação experimental sobre *Luffa operculata* (L.) Cogn. (buchinha-do-norte) como planta abortiva

Investigação experimental mostrou que Luffa operculata *(buchinha-do-norte) pode ser abortiva por um efeito anti-implantação, que não é causado por atividade estrogênica. Além disso, pode prejudicar o crescimento fetal.*

Breve Comunicação

Ausência de resposta à estimulação ovariana para técnicas de reprodução assistida

Artur Dzik
Leonardo O. Mendonça
Fúlvia E.P. Fechine
Danilo K. Morimoto
Rapahaella B. Silveira
Fabíola D.L. Ribeiro
Gilberto da Costa Freitas
Jonathas Borges Soares
Mario Cavagna

171

Non-response to ovarian stimulation for assisted reproductive techniques

Os autores mostram a incidência de pacientes não respondedoras à estimulação ovariana para TRA.

Instruções aos Autores

174

EDITORIAL

60 anos de desafios

A Sociedade Brasileira de Reprodução Humana completa seis décadas de existência e mostra a importância de uma entidade multidisciplinar diante das polêmicas em torno dos avanços da biotecnologia.

A Sociedade Brasileira de Reprodução Humana completa 60 anos de existência em 2007. Fundada no Rio de Janeiro, em 1947, pelo Profº. Dr. Arthur Campos da Paz Filho — e batizada originalmente como Sociedade Brasileira de Fertilidade —, a SBRH acompanhou de perto os avanços biotecnológicos que mudaram paradigmas das nações contemporâneas. Em muitos momentos, a história da entidade se confundiu com a da ciência. Principalmente porque a Reprodução Humana é, e sempre foi, uma das áreas que mais desafia os limites da imaginação do homem. Não por acaso tornou-se um campo do conhecimento marcado por polêmicas. Marcado também por conquistas. No Brasil, a SBRH teve um papel de destaque nesse processo, reunindo em torno de si profissionais das mais diversas especialidades para amparar a sociedade, seja no debate de idéias, seja na investigação científica.

Quando a SBRH surgiu, logo após o fim da Segunda Guerra Mundial, a medicina ainda engatinhava. Os tratamentos para casais inférteis utilizados naquela época jamais seriam tolerados pelos atuais padrões sanitários. Mas o ginecologista Arthur Campos da Paz Filho sabia que uma revolução ainda estava por vir. Articulador nato, ele mobilizou a comunidade médica brasileira a partir de seus muitos contatos internacionais e deu o primeiro passo para as grandes pesquisas na área de Reprodução Humana no país.

Na década de 1960, surgia o primeiro grande avanço da área: a pílula anticoncepcional. Ela foi o primeiro de uma série de avanços que mudaram para sempre a vida das pessoas, particularmente das mulheres. No Brasil, não foi diferente. Em menos de uma década, mais precisamente em 1974, a então Sociedade Brasileira de Fertilidade cresceu. Um evento, no Copacabana Palace, no Rio de Janeiro, com 60 especialistas do mundo todo, marcou a federalização de entidade, que passou a se chamar SBRH, ganhou um estatuto mais abrangente e permitiu a criação de delegacias em todas as capitais. A entidade tornou-se multidisciplinar, congregando médicos de diversas especialidades, advogados, psicólogos, enfermeiros, sociólogos, assistentes sociais e biólogos, entre outros.

O planejamento familiar foi uma das grandes bandeiras da SBRH durante a década de 1970. Infelizmente, a resistência de setores da sociedade, em especial da Igreja Católica, fez com que o país não conseguisse evitar a explosão demográfica que hoje compromete o equilíbrio ambiental e também o crescimento desenfreado dos bolsões de pobreza. Outro marco na história da Reprodução Humana aconteceu em 1978, quando o mundo assistiu assombrado ao nascimento do primeiro bebê de proveta, a inglesa Louise Brown. No Brasil, a fertilização in vitro aconteceria seis anos depois e a primeira criança concebida a partir da nova técnica, Ana Paula Caldeira, nasceria em 1984, mesmo ano do mais importante evento da história da SBRH: o congresso "Mulheres aos 35 anos – desafios e conquistas". Realizado em São Paulo, no Parque do Anhembi, o encontro reuniu mais 2.500 congressistas.

Na década de 1980, a SBRH assumiu a responsabilidade de difundir os conceitos de reprodução humana por meio de congresso, simpósios, palestras e workshops. Também trabalhou para cobrir um vácuo nas universidades, que não tinham uma cadeira de Reprodução Humana no currículo do curso de medicina, com exceção de Salvador (BA) e Juiz de Fora (MG). A SBRH era a única entidade que estimulava o ensino e a prática de reprodução humana.

A partir da década de 1990, os avanços científicos na área biomédica tornaram-se cada vez mais velozes. Começou com a micromanipulação para introdução de um espermatozóide em um óvulo, (ICSI) aumentando consideravelmente as taxas de fertilização nos casos de fator masculino grave, passou pela clonagem e a codificação do genoma humano, e agora os cientistas trabalham nas pesquisas com células-tronco. Boa parte dos avanços esbarrou e ainda esbarra em questões éticas. O princípio da vida, os critérios de utilização de clonagens, o destino dos embriões congelados, os tipos de uso da inseminação artificial são apenas algumas das questões que estão em aberto e merecem discussões amplas por todos os setores da sociedade. A SBRH continua fazendo sua parte, esclarecendo e ajudando a formar opiniões sobre temas muitas vezes controversos ao mesmo tempo em que estimula a pesquisa científica. Afinal, os próximos 60 anos serão de muito trabalho.

Dirceu Henrique Mendes Pereira
Presidente da SBRH

Reprod Clim 22 (4): 142-146, 2007

Infertilidade masculina causada por medicamentos

Male infertility induced by drugs

Fabio Firmbach Pasqualotto, Gustavo Fiedler, Luciana Luchese Tonetto, Eleonora Bedin Pasqualotto

Fabio Firmbach Pasqualotto

O Dr. Fabio Pasqualotto possui graduação em Medicina pela Universidade de Caxias do Sul (1993) , Fellowship em Andrologia e Infertilidade Masculina pela Cleveland Clinic Foundation (1999) , mestrado em Urologia pela Universidade de São Paulo (2001) e doutorado em Urologia pela Universidade de São Paulo (2002). Atualmente é Professor Titular da Universidade de Caxias do Sul. Tem inúmeras publicações sobre infertilidade masculina no Brasil e no exterior.

RESUMO

A infertilidade masculina induzida por medicamentos pode ser uma conseqüência indesejada de um tratamento clínico e, também, do uso de suplementos dietéticos ou de drogas ilícitas. Casos como esses podem ser minimizados quando o clínico tem conhecimento, ao receitar algum medicamento, das possíveis alterações na fertilidade de seus pacientes. Diante disso, uma história clínica completa, incluindo um interrogatório minucioso quanto ao uso de medicações e suplementos deve ser realizada nesses pacientes.

UNITERMOS: A infertilidade masculina induzida por medicamentos pode ser uma conseqüência indesejada de um tratamento clínico.

Introdução

Possíveis alterações na fertilidade masculina podem ser suspeitadas quando considerarmos o uso contínuo de alguns agentes descritos a seguir. Além disso, para aqueles casais que informam ter sido incapazes de obter concepção após um ano de atividade sexual sem contracepção, a análise seminal e a história médica, incluindo questionamentos específicos sobre medicações, drogas ou suplementos, são o primeiro passo a ser tomado nestes casos.

Mecanismos de diminuição da fertilidade

A fertilidade é afetada através de quatro mecanismos básicos: efeitos gonadotóxicos diretos, alteração no eixo hipotálamo-pituitário-gonadal (HPG), efeitos diretos na função ejaculatória e/ou erétil e na libido.[1] As toxinas gonadais afetam as células germinativas do testículo ou inibem o suprimento às células de Sertoli, prejudicando diretamente a espermatogênese.[1,2] Os mecanismos do eixo HPG podem ser alterados por terapias hormonais, esteróides anabolizantes e algumas medicações psiquiátricas que provoquem concentrações anormais de gonadotrofinas ou de testosterona.[1,2] Por outro lado, os medicamentos que causam ejaculação retrógrada agem bloqueando os reflexos espinhais ou inibindo diretamente o mecanismo de emissão seminal.[1,2]

Qualquer droga que interfira nos mecanismos neuronais ou vasculares necessários à ereção levarão à disfunção erétil.[1] Finalmente, há várias drogas que podem diminuir a libido por agirem no sistema nervoso central(SNC),[1] diminuindo portanto o desejo sexual e talvez afetando prejudicialmente a fertilidade.

Desafios na avaliação da infertilidade fármaco-induzida

Os pacientes freqüentemente desconhecem os efeitos deletérios de um suplemento nutricional para a fertilidade e devem ser avisados sobre os seus riscos. Alguns homens podem omitir informações quanto ao uso de suplementos

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade de Caxias do Sul, RS e CONCEPTION – Centro de Reprodução Humana, Caxias do Sul, RS, Brasil
Correspondência:
Fabio Firmbach Pasqualotto
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade de Caxias do Sul, Rua Pinheiro Machado, 2569, sl 23, Bairro São Pelegrino, Caxias do Sul, RS, Brasil
Fone 54 3214 4095, FAX: 54 3215 1695
e-mail: pasquaf@hotmail.com
Fabio@conception-rs.com.br

anabólicos ou mesmo esteróides e, por isso, também devem ser questionados especificamente quanto a esses agentes. Similarmente, pessoas usuárias de substâncias ilícitas também são relutantes em discutir sobre o seu uso. Logo, a anamnese deve incluir detalhes sobre a atividade sexual, duração da infertilidade, doenças infantis e exposição a toxinas gonadais, inclusive ao calor.[3]

Diante disso, é importante que o profissional de saúde engajado com o diagnostico e tratamento da infertilidade tenha conhecimento sobre os principais agentes medicamentosos causadores da infertilidade masculina para a sua melhor avaliação e tratamento.[3-7]

Abordagem da infertilidade masculina medicamentosa

O principal questionamento normalmente feito pelo paciente é sobre o período de tratamento a ser indicado em casos de infertilidade medicamentosa e se o paciente deve interromper ou mudar o medicamento. Isso pode ser feito através de ciclos de tratamento, principalmente em casos de fármacos que afetaram a função erétil e a libido. Todavia, aqueles medicamentos envolvidos na piora na espermatogênese podem exigir meses de tratamento para que haja melhora clínica.

Substâncias Ilícitas e de Abuso

O uso crônico de marijuana está associado a ginecomastia, diminuição dos níveis de testosterona séricos, diminuição da concentração espermática e piospermia (presença de leucócitos no sêmen).[8-10] Os sintomas apresentados pelos pacientes variam de acordo com a sensibilidade à marijuana e, geralmente, há melhora dois a três meses após tratamento.

Oligozoospermia (concentração baixa de espermatozóides no ejaculado) e alterações na morfologia e motilidade tem sido relatadas em usuários de cocaína.[11-12] Opiáceos também estão implicados na diminuição da libido e na disfunção erétil através da indução de hipogonadismo hipogonadotrófico.[1,13,14] Portanto, devemos ter atenção ao prescrevê-los para analgesia.

Um grande número de evidências sugerem que o tabagismo pode provocar efeitos deletérios na fertilidade masculina ao reduzir a concentração espermática, motilidade e morfologia.[1,15,16] Além disso, tem sido relacionado ao desenvolvimento de piospermia, diminuição da penetração espermática e alterações hormonais.[1,10] O uso abusivo de álcool tem efeitos deletérios no eixo HPG.[1,2] Alcoólatras apresentam diminuições significativas no volume seminal, na motilidade e número de espermatozóides morfologicamente normais.[17] Além disso, também apresentam sinais de piospermia.[10] Por outro lado, ainda não há evidências sobre os efeitos da ingestão moderada de álcool na infertilidade masculina.

Anti-hipertensivos

Embora muitos dos pacientes tratados para hipertensão sejam idosos, a ênfase dada sobre a importância do controle da pressão sanguínea tem incluído um número cada vez maior de pacientes jovens em tratamentos com anti-hipertensivos.[1,2] Muitas destas medicações estão implicadas na disfunção erétil, afetando de várias formas a fertilidade. Exemplo disso é a espironolactoctona, a qual age como um antiandrogênio e está associada a diminuição da qualidade seminal.[1,19] Bloqueadores dos canais de cálcio tem sido relatados como causa reversível de alterações dos defeitos funcionais espermáticos, afetando sua capacidade de fertilizar óvulos sem afetar a produção espermática ou os seus parâmetros na análise seminal.[20,21] Todavia, nem todos os pesquisadores têm relatado este mesmo efeito.[22] Diuréticos podem afetar a vascularização peniana pela diminuição do fluxo sanguíneo, enquanto beta bloqueadores afetam a libido e função erétil.[1] Embora os bloqueadores alfa adrenérgicos diminuam a hipertensão, eles são comumente prescritos para hiperplasia prostática benigna e seus efeitos na fertilidades serão mencionados abaixo.

Hormônios

Relatos de criptorquidismo e cistos de epidídimo em filhos de mães expostas ao dietilestilbetrol (DES) durante a gestação nos anos 50 despertaram interesse sobre o seu papel na infertilidade masculina.[23] Entretanto, estudos posteriores sobre os efeitos da exposição pré-natal ao DES não revelaram os mesmos efeitos adversos sobre a fertilidade.[24] Andrógenos exógenos também são conhecidos como indutores de hipogonadismo hipogonadotrófico. Isso pode ser induzido diretamente, por meio de suplementos à base de testosterona ou pelo uso de esteróides anabolizantes sintéticos, levando à azoospermia. Essa forma de hipogonadismo é geralmente reversível em 3 a 6 meses, mas, em alguns pacientes, a função hipofisária pode permanecer inativada. Portanto, fica claro que a reposição de testosterona em homens jovens ocasiona infertilidade.

A dehidroepiandrosterona (DHEA) é um esteróide natural precursor da androsterona, testosterona e estrogênio. É comumente utilizada devido à sua disponibilidade; todavia, não há estudos sobre a fertilidade em humanos e aqueles feitos em ratos não demonstraram nenhum efeito sobre a espermatogênese.[25] Além disso, antiandrogênios e estrogênios podem afetar gravemente a fertilidade por meio da alteração do eixo HPG, enquanto que os progestágenos o fazem por meio da diminuição da libido e da função erétil.[1]

Medicações para Hiperplasia Prostática Benigna

Os alfa-bloqueadores utilizados para tratamento da hiperplasia prostática benigna (HPB) podem causar diminuição do volume ejaculatório ou até a sua parada, sendo seus efeitos piores com a Tansulosina quando comparada com outros da mesma classe.[26] Todavia, atualmente, não há dados publicados na literatura sobre seus efeitos na fertilidade.

Finasterida e dutasterida são antiandrogênios que agem por meio da inibição da enzima 5-alfa redutase. Também têm sido usados em homens para tratamento da calvície. Essas drogas aumentam o risco de baixo volume ejaculatório e libido, bem como causam disfunção erétil e ejaculatória.[26]

Entretanto, o uso contínuo de doses baixas do medicamento para queda de cabelos não tem mostrado alterações nos padrões do ejaculado.[27]

Antibióticos

Muitos antibióticos têm sido relatados como possíveis causadores de alterações dos padrões seminais.[28] Todavia, ainda há poucos estudos em humanos sobre estas medicações. A nitrofuratoína tem sido relatada como uma droga causadora de parada de maturação precoce durante o período de espermatócito primário,[1,29] mas a administração em baixas dose e a curto prazo não levam a tal deterioração. Além disso, antibióticos como eritromicina, sulfasalazina, tetraciclina e gentamicina mostram alterações na fertilidade apenas em experimentos in vitro.[30-32] Portanto, quando questionados sobre possíveis alterações na fertilidade, deve-se dar preferência para derivados do acido 5-amino-salicílico.[33]

Agentes Psicoterápicos

Muitas substâncias psicoterápicas afetam a fertilidade masculina por suprimirem o eixo HPG e diminuírem a função erétil e a libido. Além disso, um dos principais efeitos dos antidepressivos é a elevação da prolactina sérica, a qual possui efeito supressivo sobre a espermatogênese.[1,2] Os agentes psicoterápicos incluem antipsicóticos, tricíclicos, inibidores da recaptação da serotonina (IRS), inibidores da recaptação de norepinefrina (IRN) e monoamino oxidase (IMAO), fenotiazídicos e lítio. Atualmente há grande número de pessoas consumindo essas substâncias, as quais possuem efeitos significativos sobre a fertilidade. Em um estudo com 610 mulheres e 412 homens, a incidência de disfunção erétil com IRS e IRN foi alto, variando de 58% a 73%.[34] Além disso, é importante lembrarmos que os benefícios psicológicos de muitas dessas drogas freqüentemente compensam as alterações na fertilidade. Portanto, se possível, a troca por um medicamento da mesma classe pode ser uma estratégia viável para a manutenção da fertilidade.

Agentes Quimioterápicos

A quimioterapia para o tratamento oncológico leva a efeitos devastadores sobre a fertilidade masculina através do dano à espermatogênese.[35] Entre eles estão alquilantes, antimetabólicos e alcalóides da vinca, os quais são altamente gonadotóxicos. Nos pacientes com câncer de testículo, a dose cumulativa de cisplatina determina lesão irreversível.[36] A grande maioria se tornará azoospérmico dentro de 4 anos.[37] Já os pacientes com doença de Hodgkin ou leucemia poderão ou não se tornarem azoospérmicos permanentemente. O tratamento pós-operatório com radioterapia abdominal recupera a concentração espermática e motilidade pré tratamento de muitos pacientes.[38] O transplante de medula óssea está associado à infertilidade por dano às células de Leydig.[39] Todavia, quando associado à radioterapia, alguns pacientes voltam a ser férteis.[40,41] Nos casos de cânceres em pacientes jovens, uma alternativa segura é a criopreservação seminal.

Outras drogas

A cimetidina tem sido relatada por seus efeitos antiandrogênicos, os quais induzem à ginecomastia e diminuem a concentração espermática.[1] A ranitidina e os moduladores da imunidade afetam a fertilidade, todavia o mecanismo exato permanece desconhecido. Os redutores do colesterol são conhecidos por seus efeitos sobre a membrana celular, mas as suas propriedades não alteram a fertilidade em estudos em ratos.[42,44-46] A epilepsia está associada à diminuição dos níveis de testosterona e aumento dos níveis de estrogênio, resultando em disfunção erétil e perda da libido. As medicações usadas para tal enfermidade (ex. valproato, carbamazepina) podem piorar as anormalidades hormonais e estão associadas a alterações morfológicas do espermatozóide.[47-49] Um estudo mostrou que a substituição de valproato por fenitoína melhora a oligoastenozoospermia, sendo uma alternativa viável.[50]

Conclusões

Aproximadamente 15% dos casais não obtêm a concepção após 1 ano de tentativas sem métodos anticoncepcionais. A infertilidade masculina isolada representa 20% das causas entre o casal, sendo um fator contribuinte em outros 30 a 40% dos casos. Além disso, um número cada vez maior de informações sobre infertilidade masculina está disponível ao clínico, tornando-o seguro na abordagem desses casos. Logo, a concretização do desejo da fertilidade em casos secundários a medicamentos pode ter resolução mediante uma anamnese bem feita e orientações ao paciente.

Abstract

Male infertility induced by drugs may be a terrible consequence of a clinical treatment as well as use of dietetic supplements and illicit drugs. Cases like that one may be diminished when the clinician has the knowledge, while prescribing certain drugs, of the possible abnormalities in the fertility potential of his patient. Due to this fact, a complete clinical history, including a thorough questionnaire about the use of medicine and supplements should be performed in these patients.

UNITERMS: infertility, man, semen, sperm, drugs.

Referências bibliográficas

1. Nudell DM, Monoski MM, Lipshultz LI. Common medications and drugs: how they affect male fertility. Urol Clin North Am. 2002;29:965-973.
2. Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S. Effects of medical therapy, alcohol, smoking, and endocrine disruptors on male infertility. Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.2004;59:375-382.
3. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, et al. Best practice policies for male infertility. Fertil Steril. 2002;77:873-882.

4. Male Infertility Best Practices Committee of the American Urological Association; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on optimal evaluation of the infertile male. Fertil Steril. 2006;86(suppl4):S202-S209. 5. Turek PJ. Practical approaches to the diagnosis and management of male infertility. Nat Clin Pract Urol. 2005;2:226-238.

6. Sigman M, Jarow JP. Endocrine evaluation of infertile men. Urology. 1997;50:659-664.

7. Seftel A. Male hypogonadism. Part II: etiology, pathophysiology, and diagnosis. Int J Impot Res. 2006;18:223-228.

8. Harmon J, Aliapoulios MA. Gynecomastia in marihuana users. N EnglJ Med. 1972;287:936.

9. Hembree WC, Nahas GG, Zeidenberg P, et al. Changes in human spermatozoa associated with high dose marihuana smoking. In: Nahas GG, Paton WDM, eds. Marijuana Biological Effects: Analyses, Metabolism, Cellular Responses, Reproduction and Brain. New York, NY: Pergamon Press; 1979:429-439.

10. Close CE, Roberts PL, Berger RE. Cigarettes, alcohol and marijuana are related to pyospermia in infertile men. J Urol. 1990;144:900-903.

11. Bracken MB, Eskenazi B, Sachse K, McSharry JE, Hellenbrand K, Leo-Summers L. Association of cocaine use with sperm concentration,motility, and morphology. Fertil Steril. 1990;53:315-322.

12. Hurd WW, Kelly MS, Ohl DA, Gauvin JM, Smith AJ, Cummins CA. The effect of cocaine on sperm motility characteristics and bovine cervical mucus penetration. Fertil Steril. 1992;57:178-182.

13. Daniell HW. Narcotic-induced hypogonadism during therapy for heroin addiction. J Addict Dis. 2002;21:47-53.

14. Roberts LJ, Finch PM, Pullan PT, Bhagat CI, Price LM. Sex hormone suppression by intrathecal opioids: a prospective study. Clin J Pain.2002;18:144-148.

15. Vine MF, Margolin BH, Morrison HI, Hulka BS. Cigarette smoking and sperm density: a meta-analysis. Fertil Steril. 1994;61:35-43.

16. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). Hum Reprod. 1991;6:811-816.

17. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. Fertil Steril. 2005;84:919-924.

18. Emanuele MA, Emanuele NV. Alcohol's effects on male reproduction. Alcohol Health Res World. 1998;22:195-201.

19. Tidd MJ, Horth CE, Ramsay LE, Shelton JR, Palmer RF. Endocrine effects of spironolactone in man. Clin Endocrinol (Oxf). 1978;9:389-399.

20. Benoff S, Cooper GW, Hurley I, et al. The effect of calcium ion channel blockers on sperm fertilization potential. Fertil Steril. 1994; 62:606-617.

21. Hershlag A, Cooper GW, Benoff S. Pregnancy following discontinuation of a calcium channel blocker in the male partner. Hum Reprod.1995;10:599-606.

22. Katsoff D, Check JH. A challenge to the concept that the use of calcium channel blockers causes reversible male infertility. Hum Reprod.1997;12:1480-1482.

23. Coscrove MD, Benton B, Henderson BE. Male genitourinary abnormalities and maternal diethylstilbestrol. J Urol. 1977;117:220-222.

24. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR, Hornsby PP, Herbst AL. Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. N Engl J Med.1995;332:1411-1416.

25. Gobbi D, Rhoden EL, Menti E, Lulhier F, Rhoden C. Effects of the chronic use of dehydroepiandrosterone (DHEA) on testicular weight and spermatogenesis: experimental study in rats. Int Urol Nephrol.2003;35:119-122.

26. Giuliano F. Impact of medical treatments for benign prostatic hyperplasia on sexual function. BJU Int. 2006;97(suppl 2):34-38.

27. Overstreet JW, Fuh VL, Gould J, et al. Chronic treatment with finasteride daily does not affect spermatogenesis or semen production in young men. J Urol. 1999;162:1295-1300.

28. Schlegel PN, Chang TS, Marshall FF. Antibiotics: potential hazards to male fertility. Fertil Steril.1991;55:235-242.

29. Nelson WO, Bunge RG. The effect of therapeutic dosages of nitrofurantoin (furadantin) upon spermatogenesis in man. J Urol.1957;77:275-281.

30. Hargreaves CA, Rogers S, Hills F, Rahman F, Howell RJ, Homa ST.Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro. Hum Reprod.1998;13:1878-1886.

31. Toovey S, Hudson E, Hendry WF, Levi AJ.Sulphasalazine and male infertility: reversibility and possible mechanism. Gut. 1981;22:445-451.

32. Birnie GG, McLeod TI, Watkinson G. Incidence of sulphasalazine-induced male infertility. Gut.1981;22:452-425.

33. Riley SA, Lecarpentier J, Mani V, Goodman MJ, Mandal BK, Turnberg LA. Sulphasalazine induced seminal abnormalities in ulcerative colitis: results of mesalazine substitution. Gut.1987;28:1008-1012.

34. Montejo AL, Llorca G, Izquierdo JA, Rico-Villademoros F. Incidence of sexual dysfunction associated with antidepressant agents: a prospective multicenter study of 1022 outpatients.Spanish Working Group for the Study of Psychotropic-Related Sexual Dysfunction. J Clin Psychiatry. 2001;62(suppl 3):10-21.

35. Magelssen H, Brydoy M, Fossa SD. The effects of cancer and cancer treatments on male reproductive function. Nat Clin Pract Urol. 2006;3:312-322.

36. Pont J, Albrecht W. Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. Fertil Steril.1997;68:1-5.

37. Ohl DA, Sonksen J. What are the chances of infertility and should sperm be banked? Semin Urol Oncol. 1996;14:36-44.

38. Meistrich ML, Wilson G, Mathur K, et al. Rapid recovery of spermatogenesis after mitoxantrone, vincristine, vinblastine, and prednisone chemotherapy for Hodgkin's disease. J Clin Oncol. 1997;15:3488-3495.

39. Kyriacou C, Kottaridis PD, Eliahoo J, et al. Germ cell damage and Leydig cell insufficiency in recipients of nonmyeloablative transplantation for haematological malignancies. Bone Marrow Transplant. 2003;31:45-50.

40. Check ML, Brown T, Check JH. Recovery of spermatogenesis and successful conception after bone marrow transplant for acute leukaemia: case report. Hum Reprod. 2000;15:83-85.

41. Anserini P, Chiodi S, Spinelli S, et al. Semen analysis following allogeneic bone marrow transplantation. Additional data for evidencebased counselling. Bone Marrow Transplant 2002;30:447-451.

42. Gill M, Sareen ML, Sanyal SN. Effect of H2-receptor antagonists, cimetidine and ranitidine on reproductive functions in male mice. Indian J Exp Biol. 1991;29:900-906.

43. Srinivas M, Agarwala S, Datta Gupta S, et al. Effect of cyclosporine on fertility in male rats. Pediatr Surg Int. 1998;13:388-391.

44. Sarica K, Suzer O, Gurler A, Baltaci S, Ozdiler E, Dincel C. Urological evaluation of Behcet patients and the effect of colchicine on fertility.Eur Urol. 1995;27:39-42.

45. Haimov-Kochman R, Ben-Chetrit E. The effect of colchicine treatment on sperm production and function: a review. Hum Reprod.1998;13:360-362.

46. Niederberger C. Atorvastatin and male infertility: is there a link? J Androl. 2005;26:12.

47. Gates JR. Epilepsy versus antiepileptic drugs and gonadal function in men. Neurology. 2004; 62:174-175.

48. Isojarvi JI, Lofgren E, Juntunen KS, et al. Effect of epilepsy and antiepileptic drugs on male reproductive health. Neurology. 2004;62:247-253.

49. Bauer J, Blumenthal S, Reuber M, Stoffel-Wagner B. Epilepsy syndrome, focus location, and treatment choice affect testicular function in men with epilepsy. Neurology. 2004;62:243-246.

50. Hayashi T, Yoshida S, Yoshinaga A, Ohno R,Ishii N, Yamada T. Improvement of oligoasthenozoospermia in epileptic patients on switching anti-epilepsy medication from sodium valproate to phenytoin. Scand J Urol Nephrol. 2005;39:431-432.

Exposição a Toxinas e Endometriose Pélvica. Existe relação?

Exposition to Toxins and Endometriosis. Is there a relation?

Ana Luiza Savaris, Vivian Ferreira Amaral

A Professora Vivian Ferreira do Amaral é Doutora em Tocoginecologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. É Professora Adjunta de Ginecologia e da Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná(CCBS-PUCPR) e Professora Adjunta de Ginecologia da Universidade Federal do Paraná(UFPR).

Vivian Ferreira Amaral

RESUMO

A endometriose é descrita como uma das doenças mais enigmáticas que afeta a saúde reprodutiva das mulheres, por não apresentar uma etiologia certa e fatores específicos que contribuem para o seu desenvolvimento. Estudos indicam que a endometriose pode ser considerada uma doença multifatorial com possibilidade de predisposição genética e com envolvimento de toxinas presentes no meio ambiente, especialmente as TCDD e PCBs na sua patogênese. Esta exposição contribui para um desequilibro dos hormônios sexuais ou alteração dos fatores de crescimento e da resposta imunológica. Assim, alguns estudos vêm tentando correlacionar o possível desenvolvimento da endometriose com toxinas ambientais. Esta revisão tem como objetivo analisar se há correlação entre o aparecimento da endometriose e a exposição de toxinas despejadas no meio ambiente, visto que esta questão ambiental vem sendo cada vez mais discutida devido seus efeitos e interferências com a população.

UNITERMOS: dioxinas, endometriose.

Introdução

A endometriose é descrita como uma das doenças mais enigmáticas que afeta a saúde reprodutiva das mulheres, por não apresentar uma etiologia certa e fatores específicos que contribuem para o seu desenvolvimento[1]. Afeta de 10 a 15% de mulheres em idade reprodutiva, de todas as etnias e grupos sociais, manifestando algia pélvica e infertilidade[2,3].

Alguns autores consideram a endometriose uma desordem neoplástica benigna. Como um tumor benigno, as células se diferenciam e crescem em lugares inapropriados, ou seja, caracteriza-se pela presença do endométrio fora do útero, na cavidade peritonial, intestinos, ovário, bexiga, cavidade pleural, porém continua a responder aos sinais hormonais[4].

Sua manifestação clínica é determinada por dismenorréia, dispareunia, dor pélvica crônica ou infertilidade [5,6], que pode gerar um impacto físico, mental e social. Entretanto, algumas mulheres não apresentar sintomas clínicos [3].

A endometriose não é apenas uma disfunção endócrina ou reprodutiva, mas está associada com disfunção do sistema imunológico apresentando maiores implicações não só no entendimento da sua patogênese, mas também para o seu potencial terapêutico[7].

Estudos indicam que a endometriose pode ser considerada uma doença multifatorial com possibilidade de predisposição genética e com envolvimento de toxinas presentes no meio ambiente, especialmente as TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin) e PCBs (polychlorinated biphenyls) na sua patogênese[6]. Esta exposição contribui para um desequilibro dos hormônios sexuais ou alteração dos fatores de crescimento e da resposta imunológica[8]. Assim, alguns estudos vêm tentando correlacionar o possível desenvolvimento da endometriose com toxinas ambientais.

Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR
Correspondência:
Profa. Dra. Vivian Ferreira do Amaral
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
CCBS – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Rua: Imaculada Conceição, 1155.
Prado Velho - Cep: 81611-970
Curitiba - Paraná - Brasil
Fone /Fax- (41)-3271-1657
Email- v.amaral@pucpr.br

Sabe-se atualmente que muitas substâncias químicas artificiais são despejadas no meio ambiente, alterando o sistema endócrino, reprodutivo, neurológico, imunológico além de efeitos carcinogênico em animais e seres humanos. São substâncias persistentes, bioacumulativas e organo-halógenas como agrotóxicos, substâncias químicas industriais, produtos sintéticos e alguns metais pesados. Estas substâncias interferem nos desenvolvimentos dos animais em aspectos como: disfunção da tireóide, diminuição de fertilidade, diminuição do êxito da incubação, deformidades no nascimento, anormalidades metabólicas e comportamentais, desmasculinização e feminização e perigo para o sistema imunológico[9,10].

O homem está exposto à contaminação, de modo direto, por emissões na atmosfera e, modo indireto, por contaminação do solo, alimentos, águas e outros como resíduos industriais como embalagens, produtos de limpeza, móveis, xampus e cosméticos, pesticidas de uso domésticos ou agrícolas[10,11].

Estas toxinas são de natureza lipofílicas e persistentes acumulando-se em órgãos de animais selvagens e em humanos no tecido adiposo e fígado, ingeridos através dos alimentos[10]. Os alimentos podem ser contaminados pela presença de toxinas de origem industrial como as dioxinas, PCBs e furanos, que acumulam-se nas cadeias de produção dos alimentos[10,12]. No tecido adiposo, estes produtos químicos mimetizam os hormônios corporais, não são excretados e passam a agir como os hormônios, alterando o funcionamento do organismo [9,13].

As dioxinas representam a família de poluentes do meio-ambiente, derivados de processos industriais e de combustão, persistente e bioacumulativos. É nomeada quimicamente por 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin**,** ou seja, TCDD[4,7], que expressam a toxicidade através do fator de equivalência tóxica (TEF) [10]. As TCDD alteram a ação do estrogênio em órgãos reprodutivos e alteram os efeitos imunológicos[1].

Já os PCBs, também é um grupo persistente dos orgânicos poluentes [10]. Atualmente estão proibidas, pois suas concentrações em tecidos humanos têm permanecido constantes nos últimos anos, mesmo quando a maioria dos países acabaram com a produção desta dioxina[9].

Desta forma, esta revisão tem como objetivo verificar se há correlação entre o desenvolvimento da endometriose e a exposição de toxinas despejadas no meio ambiente, visto que esta questão ambiental vem sendo cada vez mais discutida devido seus efeitos e interferências sempre mais perigosos para a população.

Material e Métodos

Para realização desta revisão, foi utilizada a base de dados Medline através da Biblioteca Virtual em Saúde (Bireme) através dos descritores: toxinas, dioxinas, endometriose, polychlorinated biphenyls, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, envoironmental exposures, TCDD.

A busca de artigos científicos incluiu bases eletrônicas. Estas foram selecionadas pelo período de publicação do ano de1990 a 2007 sendo utilizado a Bireme (Biblioteca virtual em Saúde), Scielo (*Scientific Electronic Library Online*), LILACS (*Latin American and Caribbean Health Sciences*) e MEDLINE (*National Library of Medicine*).

As referências bibliográficas dos estudos localizados também foram rastreadas para localizar outras intervenções de interesse.

Discussão

Dioxinas são substâncias aromáticas essencialmente derivadas de produto de processos industriais, devido à combustão incompleta de compostos orgânicos. Como fonte destes compostos temos os resíduos industriais ou material hospitalares, termoelétrica a carvão, fábricas de papel e celulose, fumaça de veículos, cigarro, fornos de produção de cimento, fundição de chumbo, erupções vulcânicas e queimadas florestais. Muitos estudos vêm correlacionando-as com prejuízos diretos a saúde de animais e humanos [11].

Dioxinas são resistentes as degradações, são de natureza lipofílica, bioacumulativas, e altamente encontrada em alimentos, principalmente na carne e no leite e seus derivados[14,15]. Autores afirmavam que a ingestão alimentar é crucial para a exposição a dioxinas, pois mais de 90% de exposição ocorre via os alimentos[10,15].

A carga corporal de dioxinas é mensurada por lipídeos sanguíneos, podendo apresentar alteração com a perda severa de peso, hiperlipidemias, e percentual de gordura corporal [10,16]. Em 1998, o WHO indicou a ingestão tolerada diárias, sendo o máximo de uma substância tóxica sem causar danos diversos a saúde, sendo considerado 1-4 pg equivalentes de toxicidade/ kg/dia de dioxinas.

A dosagem de dioxinas e furanos no sangue e leite de humanos indica quanto é a dose de exposição por indivíduo. Porém, seu custo é elevado e apresenta dificuldade de reprodutibilidade laboratorial, não sendo indicado como rotina de avaliação de exposição de populações. Se esta dosagem fosse realizada, poderia-se qualificar o risco destas toxinas a saúde humana e resultando em medidas como eliminação ou controle de fontes de exposição[17].

Embora haja grande variação da vida média dentre os diferentes congêneres, a vida média da TCDD em seres humanos tem sido estimada em 5 a 11 anos, sendo que esta aumenta com a idade devido ao aumento de tecido adiposo e diminuição do metabolismo basal [17].

As dioxinas alteram os tecidos específicos na resposta de hormônios pela modulação do receptor de expressão de esteróide. Durante a inibição da função de linfócitos T e diminuição da morte natural da atividade celular no plasma e no fluido peritonial, as dioxinas estimulam os macrófagos do fluido peritonial e estes afetam a angiogênese, o local de crescimento de citocinas e os fatores de crescimento. Como alternativa, mudanças celulares pode predispor um indivíduo a uma modulação imunológica causada pela exposição a dioxina, levando a infiltração e adesão de células endometriais no peritônio [8].

Em macacos, a crônica exposição de dioxinas esta diretamente associada com o aumento da incidência de desenvolver a endometriose, quando correlacionada a severidade da doença e as altas doses de dioxinas administradas [14].

Um experimento foi realizado em 1977 com 24 macacos (rhesus) do sexo feminino, de 6 a 10 anos de idade. Estes

animais foram expostos a altas doses de dioxinas diariamente durante 4 anos. Como resultado, a endometriose moderada ou severa não foram encontradas no grupo controle, mas sim em 3 de 7 animais expostos a 5 ppt de dioxinas (43%) e 5 de 7 animais expostos em 25 ppt de dioxinas (71%), indicando que a endometriose apresenta associação com a exposição de dioxinas em macacos[18].

Segundo Rier e Foster, 2002[14], a 2,3,7,8-tetracholorodibenzo-*p*-dionin (TCDD) e compostos do tipo dioxinas podem ser um importante fator para o desenvolvimento de endometriose. Através de uma revisão bibliográfica, os autores apresentaram que em estudos experimentais com animais houve associação entre a exposição com a endometriose, sendo que os dados sugeriram que estas dioxinas afetam a patofisiologia da endometriose por modulação do sistema imuno e endócrino. Estas promovem a endometriose via estimulação de inflamação crônica, sendo dados importantes para a saúde de humanos.

O objetivo de Arisawa, Takeda e Mikasa [10], 2005, era avaliar a dieta ingerida e a carga corporal de dioxinas relatadas e seus adversos efeitos à saúde, através de uma revisão literatura, como risco de desenvolver a *diabetes melittus*, endometriose, alteração da tireóide e desenvolvimento de problemas neurológicos em crianças. A endometriose já foi relacionada com a exposição de dioxinas inicialmente em animais e depois em alta exposição em humanos, entretanto esta revisão não apresenta uma resposta clara quanto a exposição de dioxinas e o aumento do risco da endometriose.

Quanto a compostos polibrominados (PCB), existem relatos da presença destas substâncias em tecidos humanos, em especial no leite materno de mulheres expostas[11]. Também vem sendo associada com alterações endócrinas e reprodutivas de mulheres.

Bifenilas policloradas (PCBs) são compostos organoclorados altamente resistentes à degradação. Elas se acumulam no tecido gorduroso, através do consumo de peixe ou outros predadores no topo da cadeia alimentar. A utilização desses produtos foi suspensa no final da década de 70 do século passado[11].

As PCBs podem ser classificadas como coplanar e não coplanar, sendo que a conformação planar apresenta átomos de cloro na posição *orto (2,2')* na molécula do PCB, enquanto que na conformação coplanar não existem átomos de cloro nesta posição. A conformação coplanar é considerada a mais tóxica possuindo ação semelhante a da tetraclorodibenzodioxina (TCDD), que é considerada como padrão de referência toxicológica [18].

A forma coplanar destes pode causar efeitos biológicos por ligação do receptor Ah (hidrocarboneto aromático), atuando na expressão do citocromo P-450 e envolvendo genes do crescimento e diferenciação celular. Estes podem atacar independentemente o receptor Ah e causar interrupção na atividade do estrogênio [20]. O TCDD também atua no receptor AhR, atuando no citocromo P-450 e genes que envolvem o crescimento, desenvolvimento inflamação celular[14].

Estes receptores Ah são estruturas moleculares que se encontram na célula ou na superfície da mesma. Caracterizam-se por ligarem-se a substâncias específicas com funções fisiológicas como em receptores de superfície celulares para neurotransmissores, antígenos, hormônios[17].

Foi realizado um estudo em 44 mulheres inférteis com endometriose, consideradas os casos e 35 com infertilidade tubal, consideradas as controles. Das 44 mulheres, 8 (18%) apresentaram amostras de sangue positivas para dioxinas e 1 (3%) no grupo controle. Os autores consideram esta diferença significativa, já que não se pode considerar uma alta solubilidade das dioxinas no sangue das pacientes com endometriose, pois as concentrações de triglicerídeos de ambos os grupos eram compatíveis. Os dois grupos não apresentaram diferenças significativas entre lipídios séricos e o índice de massa corporal. De acordo com o estadio da doença, 5 mulheres apresentaram níveis de dioxinas no sangue positivas em casos de endometriose severa e 3 nas de estagio I e II. Não foi visualizada também a correlação entre a concentração sanguínea de dioxinas e a severidade da endometriose. Entretanto os autores acreditam que por ser uma doença multifatorial, a presença das dioxinas alteram os aspectos do sistema imuno, balanço de hormônios sexuais e fatores de crescimentos[21].

Atualmente foi realizado um estudo caso controle, onde o grupo caso era formado de 42 pacientes com diagnóstico de endometriose confirmado por laparoscopia e o grupo controle por 27 mulheres sem endometriose, mas com infertilidade confirmada por doença tubal, fatores tuboperitonial, cervical e de útero. Nestas a endometriose não eram comprovadas pela laparoscopia. Através da análise de entrevistas para obtenção de informações sobre o diagnóstico e dados antropométricos, análise de sangue, métodos de quantificação de dioxinas e PCBs (CALUX e equivalência tóxica), análises químicas, avaliação do impacto das PCBs na conformação coplanar e não coplanar, este estudo não mostrou resultado significante na associação entre exposição a dioxinas e a ocorrência de endometriose em mulheres inférteis[8].

Em Michigans, um estudo avaliou a mensuração sérica de PBBs e PCBs em 1970 e em 1997. Algumas mulheres com endometriose foram avaliadas para ver se houve correlação entre níveis destas dioxinas e o desenvolvimento da endometriose. Comparando a exposição de PBB, não houve aumento na incidência da endometriose, entretanto, houve um aumento sugestivo em mulheres expostas a moderados níveis de PCBs comparados com as expostas a baixos níveis da mesma dioxinas[20].

Nos EUA, estudos apontam que a dose diária total média recebida pelos norte-americanos é de cerca de 100 pg TEQ/dia (pg=10-12g). Sendo que o estado de Maryland, mostrou a seguinte distribuição do risco estimado, em relação a dioxinas e furanos**:** 87,1% pelo consumo de carne e de laticínios; 5,1% pelo consumo de vegetais; 4,6% pela ingestão de poeiras; 2,8% por inalação; menos de 1% pelo consumo de peixes e outras fontes. Já no Brasil, os poucos trabalhos realizados apresentaram alguns níveis de concentração comparáveis aqueles de países desenvolvidos[22].

Conclusão

É de extrema importância a continuidade de pesquisas sobre essas dioxinas e sua possível associação com a endometriose em humanos, através da exposição acumulação

em alimentos, ambiente e no tecido humano, para prevenir maiores problemas correlacionados com esses compostos à saúde pública, já que os estudos ainda são muito controversos.

Devido a dificuldade de mensuração de dosagem, exposição e efeitos o acompanhamento geral da saúde da população exposta, deve haver observação de sinais clínicos como alterações da resposta imune, endócrina, pois estes sinais podem indicar a associação à exposição às dioxinas, e a detecção do aumento da incidência destas na população, podendo auxiliar na elaboração e condução de estudos epidemiológicos. Entretanto estes sinais clínicos são de difícil observação em mulheres com endometriose, pois esta doença já resulta nestas alterações.

Desta forma, mais estudos devem ser realizados com esta população específica, para uma melhor potencialização na qualidade de vida destas mulheres, visto que esta doença ainda é multifatorial e de etiologia incerta.

Abstract

Endometriosis is described as one of the most enigmatic disease affecting women of reproductive age, due to etiology is still unknown and specific factors that contribute for its development are not well understood. Researches indicate that the endometriosis can be considered a multifactor disease with possible genetic susceptibility and environmental toxins, special TCDD and PCB in your pathogenesis. This exposure may contribute to an imbalance of sex hormones or alter growth factors and the immune response. Therefore, some researches are trying to correlate the possible development of endometriosis with environment toxins. This review has as objective, to verify the correlation between endometriosis appearance and the exposition of toxins. Actually, the toxins environmental has being more discussed because of its effects and interference with the population.

UNITERMS: dioxins, endometriosis.

Referências bibliográficas

1. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Becker JL. Immunoresponsiveness in Endometriosis: Implications of Estrogenic Toxicants. Environ Health Perspect. 1995; 107 (suppl 7): 151-156.
2. Abrão MS, Pogdaec S, Martorelli Filho B et al. The use of Biochemical markers in the diagnosis of pelvic endometriosis. Hum Reprod. 1997; 12(11): 2523-27.
3. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C et al.. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. Human Reproduction, 20 (10): 2698–2704, 2005
4. Birnbaum LS. Developmental Effects of Dioxins. Environ Health Perspect. 1995; 103: (Suppl 07): 281-84.
5. Schor E, Freitas V, Soares Jr JM et al.. Endometriose: Modelo Experimental em Ratas. Rev Bras Ginec Obstet. 1999; 21(5): 281-84.
6. Lin J, Zhang X, Chen Y. LIN, J. Mutagen sensitivity as a susceptility marker for endometriosis. Hum Reprod. 2003; 18(10): 2052-57.
7. Birnbaum LS, Cummings AM. Dioxins and endometriosis: a plausible hypothesis**.** Environ Health Perspect. 2002; 110 (1): 15-21.
8. Pauwels A, Schepens PJC, Hooghe TD et al. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: acase-control study of infertile women. Eur Soc Hum Reprod Embriol. 2001; 16(10): 2050-55.
9. Santamarta J. Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. Agroecol Desenvolv Rural Sustent. 2001**;** 2(10: 46-56, Porto Alegre.
10. Arisawa K, Takeda K, Mikasa H et al. Background exposure to PCDDs/PCDFs/PCBs and its potential health effects: a review of epidemiologic studies. J Med Invest,. 2005; 52: 10-21.
11. Alves C, Flores LC, Cerqueira TS, Toralles MBP. Exposição ambiental a interferentes endócrinos com atividade estrogênica e sua associação com distúrbios puberais em crianças. Cad Saúde Pública, 2007; 23(5): 1005-14.
12. Ogden I, Rosa E, Wyss G, Brandt K. Segurança e Contaminação: Informação para Retalhistas visando o protocolo, a Qualidade e a Segurança nas Cadeias de Produção Biológica. Research Institute of Organic Agriculture FiBL, Frick, Switzerland, 2005.
13. Guimarães JRPF. Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional. São Paulo: Associação de Controle de Poluentes. Disponível em: http://acpo.org.br/disruptores_endocrinos.pdf**.**
14. Rier S, Foster WG. Environmental Dioxins and Endometriosis. Toxicol Sciences. 2002; 70, 161-70.
15. Assunção JV, Pesquero CR. Dioxinas e furanos: origens e riscos. Rev Saúde Pública. 1999; 33(5): 523-30.
16. World Health Organization [WHO]. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). Geneva, 1998.
17. Ministério da Saúde. Exposição Humana a Resíduos Organoclorados na Cidade dos Meninos, Município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro: Relatório de Trabalho da Comissão Técnica Assessora ao Ministério da Saúde, Instituída pela Portaria /GM n.o 896, de 9 de maio de 2002./ Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Ciência e Tecnologia em Saúde.– Brasília, 2002.
18. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Becker JL. Endometriosis in rhesus monkeys (macaca Mulatta) cronically exposed to 2,3,7,8-tetracholorodibenzo-*p*-dionin. Fundam Appl Toxicol. 1993; 21:433-441.
19. Penteado JCP, Vaz JM. O legado das Bifenilas Policloradas (PCBs). Divulg Químic Nova. 2001; 24 (3), 390:98.
20. Hoffman CS, Small CM, Blanck HM et al. Endometriosis Among Women Exposed to Polybrominated Biphenyls. Ann Epidemiol, 2007 – IN PRESS.
21. Mayani A, Barel S, Soback S, Almagor M. Dioxin concentrations in women with endometriosis. Hum Reproduct. 1997; 12(2): 373-75.
22. Assunção JV, Pesquero CR. Dioxinas e furanos: origens e riscos. Rev Saúde Pública. 1999; 33(5): 523-30.

A aplicação clínica da maturação *in vitro* de oócitos humanos (IVM)

The clinical use of human oocyte in vitro maturation (IVM)

Adriana Bos-Mikich, Nilo Frantz, Marcos Höher, Marcelo Ferreira

Adriana Bos-Mikich

A Dra. Adriana possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1981), mestrado em Genética pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (1987) e doutorado em Experimental Embryology - University of London (1994). Atualmente é professora adjunta da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e consultora cientifica do Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Dr. Nilo Frantz..

RESUMO

A coleta de oócitos imaturos, a partir de ovários não estimulados em combinação com a maturação *in vitro* de oócitos (IVM) e fertilização *in vitro* é uma técnica de reprodução assistida que tem recebido crescente interesse nos últimos anos. O objetivo desta revisão é fazer um levantamento do estado da arte da maturação *in vitro* de oócitos humanos, particularmente em ciclos não estimulados e enfatizar o potencial desta metodologia dentre as técnicas de reprodução assistida.

UNITERMOS: maturação *in vitro*, oócitos, ovários policísticos

Histórico

A capacidade que os oócitos imaturos possuem de maturar espontaneamente *in vitro* quando removidos dos folículos ovarianos foi primeiramente demonstrada em animais experimentais por Pincus & Enzman em 1935[1]. Em humanos, o primeiro relato de maturação *in vitro* veio da publicação de Robert Edwards em 1965[2], seguida da primeira fertilização de oócitos maturados *in vitro*, também pelo mesmo autor[3]. Somente na década de 80 do século passado ocorreu o primeiro nascimento a partir de IVM de oócitos imaturos, os quais foram obtidos de um ciclo com estimulação ovariana[4]. A partir da coleta de oócitos de ovários pós ooforectomia em um ciclo de doação do gameta feminino foi relatado o nascimento dos primeiros bebês, trigêmeos, de IVM sem qualquer estimulação hormonal exógena[5].

Nos anos seguintes até a atualidade, seguiram-se diversos relatos de nascimentos, a partir da coleta transvaginal e IVM de oócitos humanos imaturos coletados de ovários não-estimulados. A IVM tem sido recomendada principalmente a pacientes com ovários policísticos, mas também a casais com infertilidade de causa tubária, fator masculino ou desconhecido[6]. As vantagens da IVM comparadas com a fertilização *in vitro* (IVF) convencional incluem protocolos mais simples, redução dos custos e o não risco de ocorrência da hiperestimulação ovariana[7]. Entretanto, dentre estes relatos parece ainda não existir uma metodologia padrão seguida pelos diferentes centros de reprodução na realização do processo de IVM, desde a coleta dos oócitos até a transferência dos embriões gerados, fato refletido na grande variabilidade dos resultados alcançados entre eles.

Situação semelhante se observa na coleta de gametas imaturos para maturação e fertilização *in vitro* a partir de ovários de vacas encaminhadas ao abate. Esse procedimento tornou-se rotina nos laboratórios de reprodução e melhoramento animal, especialmente na área bovina. Apesar de seu longo histórico, a metodologia ainda não está completamente estabelecida também nesta espécie podendo-se observar uma busca constante por refinamentos que permitam melhores índices de formação de blastocistos para transferência. As freqüências de fertilização e desenvolvimento embrionário ao estágio de blastocisto variam consideravelmente entre laboratórios de melhoramento bovino, oscilando m torno de 70 % e 40%, respectivamente.

Correspondência:
Adriana Bos-Mikich
Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
E-mail: adriana.bosmikich@gmail.com

Em humanos, as taxas de sucesso em termos de gestação, a partir da IVM foram muito modestas no princípio, com relatos esporádicos de nascimentos, de forma a não torná-la uma metodologia atraente para uma aplicação rotineira. Nos últimos 5 anos entretanto, as taxas de gestação e implantação subiram à 25-59% e 10-35%, respectivamente, demonstrando uma melhora substancial nas metodologias usadas nos processos de IVM, especialmente quando empregada para casos de ovários policísticos[8].

Há cerca de dois anos atrás estimava-se que mais de 300 crianças no mundo nasceram a partir de IVM, atualmente acredita-se que este numero seja bem mais elevado[9]. Os primeiros resultados preliminares publicados a cerca do acompanhamento obstétrico e peri-natal de crianças nascidas por IVM indicam que ambos são satisfatórios. O peso médio ao nascimento dos bebês foi dentro da variabilidade normal, com um número pequeno de partos gemelares e poucas complicações normalmente associadas às Técnicas de Reprodução Assistida. As crianças de IVM mostraram um atraso no desenvolvimento maior do que esperado ao completarem 1 ano de idade. Entretanto, este efeito pareceu desaparecer aos 2 anos de idade, quando o desenvolvimento delas mostrou-se novamente dentro do normal esperado[9].

A metodologia

As vantagens da técnica de IVM em humanos são muitas. Em primeiro lugar, o monitoramento é simples, tanto para o médico como para a paciente. Não há a necessidade da administração de gonadotrofinas e o período de monitoramento em geral é mais curto que nas técnicas convencionas com estimulação ovariana. Não havendo o uso de gonadotrofinas, as pacientes não experimentam os efeitos colaterais do uso destes hormônios e o mais importante, não há qualquer risco de hiper estimulação ovariana. Por fim, o custo do tratamento fica bastante reduzido.

Por outro lado, a punção de oócitos imaturos é tecnicamente mais difícil, principalmente a obtenção de oócitos a partir de folículos com diâmetro <9mm. Ainda, a coleta é bastante mais demorada porque os folículos não são facilmente detectáveis pelo ultra-som e a identificação do complexo cumulus-oócito é bem mais difícil, visto que seu tamanho é semelhante ao tamanho de um oócito (~0.1mm), as células do cumulus não estão expandidas, nem são refringentes.

Nos primeiros trabalhos de IVM acreditava-se que a presença de um folículo dominante, quando da avaliação por ultra-som no oitavo dia do ciclo era um fator prejudicial ao sucesso do tratamento, pois ele inibiria o desenvolvimento dos demais folículos e induziria à atresia folicular[10]. Atualmente considera-se que a presença do folículo dominante durante a foliculogênese não interfere na competência de desenvolvimento dos demais oócitos[8].

Situação semelhante ocorreu quanto a administração da gonadotrofina coriônica humana, hCG, anterior à da coleta dos oócitos. Primeiramente considerava-se que a aplicação da gonadotrofina aumentava a captura e a capacidade de maturação e competência de desenvolvimento dos oócitos auxiliando possivelmente ainda em uma melhor sincronização entre o endométrio e o embrião em desenvolvimento[8]. Entretanto, estudos recentes sugerem que o uso da gonadotrofina é dispensável, visto que a sua administração não parece acarretar um efeito benéfico real em termos de números de oócitos captados, taxas de maturação e espessura do endométrio, embora possa haver uma vantagem no número de embriões gerados e na taxa de gestações clínicas quando o número de embriões transferidos é bastante elevado[9,11].

Quanto a dose do hCG administrada, estudo de Guleki et al.[12] demonstrou que tanto 10.000 IU quanto 20.000 IU foram igualmente efetivos na indução da maturação final dos oócitos.

A manutenção das células do cumulus durante a maturação *in vitro* dos oócitos é um requisito importante para auxiliar na coordenação entre os processos de maturação citoplasmática e nuclear fundamental para o subseqüente desenvolvimento embrionário e fetal. Visando obter um melhor controle da maturação nuclear durante a cultura de oócitos bovinos, Nogueira et al.[13] acrescentaram um inibidor meiótico ao meio de cultura por 24 a 48h anteriormente à maturação *in vitro* propriamente dita. Os autores verificaram que a presença do inibidor meiótico melhorou a sincronização dos processos de maturação citoplasmática e nuclear em oócitos envolvidos por suas células do cumulus resultando em uma produção maior de oócitos para fertilização, sem qualquer comprometimento do desenvolvimento embrionário.

A co-cultura de oócitos em uma monocamada de células do cumulus foi também testada, procurando favorecer o desenvolvimento gamético e folicular ótimos, vista a bem estabelecida importância da matriz extracelular e do ambiente tri-dimencional quando do estudo da função e comportamento celular[14]. Os resultados obtidos entretanto, foram comparáveis aqueles obtidos a partir da cultura tradicional em micro-gotas, não sendo observada uma diferença substancial em marcadores fisiológicos entre os oócitos maturados nos dois sistemas.

Existe um consenso entre a maioria dos laboratórios, de que a injeção intracitoplasmática de espermatozóides é a melhor alternativa para a fertilização de oócitos após maturação *in vitro*, mesmo em condições em que os parâmetros seminais são normais. Poucos autores relataram tentativas de fertilização *in vitro*, após IVM, com resultados em geral, pouco encorajadores. As razões para os baixos índices de fertilização após FIV de oócitos maturados *in vitro* tem sido atribuída a alterações na zona pelúcida devido ao período prolongado de cultivo antes da inseminação. Com o uso da ICSI, a taxa de fertilização de oócitos após IVM oscila em torno dos 70-80%[15,16]. Cabe mencionar, entretanto, que apesar dos resultados mais baixos de fertilização por FIV após IVM, o potencial de desenvolvimento dos embriões gerados parece ser superior àqueles obtidos por ICSI. As taxas de implantação de embriões obtidos após IVM/FIV são significativamente mais elevadas, do que após IVM/ICSI sugerindo uma competência ao desenvolvimento mais elevada dos embriões de FIV possivelmente pela seleção feita pelos espermatozóides dos oócitos aptos ao desenvolvimento embrionário pós-IVM[9] . Tal observação talvez esteja relacionado com o fato de que oocitos humanos maturados *in vitro* necessitam de pelo menos uma hora após expulsarem o primeiro corpúsculo polar

para completar a maturação nuclear e serem submetidos a ICSI[17], sendo o período ideal de inseminação, 2-4h pos-expulção do corpúsculo. Portanto, o momento da realização da ICSI parece ser o fator crucial para o sucesso do procedimento em oócitos coletados imaturos, fenômeno descrito anteriormente para ciclos com estimulação ovariana controlada.

A maturação de oócitos *in vitro* é profundamente afetada pelas condições de cultivo. Experimentos utilizando grandes números de oócitos bovinos demonstraram que a presença de soro no meio de maturação altera a expressão de mRNAs nos complexos cumulus-oócitos, o que pode ter conseqüências a longo prazo no desenvolvimento embrionário. As condições de cultivo, a fórmula básica do meio, as suplementações e o ambiente físico (CO_2, umidade) influenciam eventos múltiplos de grande importância para a maturação do oócito e o desenvolvimento embrionário subseqüente[18].

Atualmente, alguns dos trabalhos envolvendo maturação *in vitro* de oócitos humanos utilizam o meio disponível comercialmente Medi-Cult â sendo os resultados comparáveis aqueles obtidos com meios de formulação mais simples como TCM 199 ou Ham F-10 acrescidos de soro materno ou albumina humana e gonadotrofinas[15,16,19].

A fonte protéica também parece não exercer um efeito decisivo na competência de desenvolvimento embrionário pós-maturação *in vitro*. Oócitos maturados em meio G2 suplementados com fluído folicular humano ou albumina sérica humana tiveram resultados semelhantes em termos de maturação *in vitro*, fertilização e desenvolvimento embrionário[20].

A temperatura de manipulação e cultura é um fator crucial para a viabilidade do gameta sendo a estabilidade da temperatura em 37^0.C fundamental para a manutenção da integridade do fuso meiótico e conseqüentemente da normalidade cromossômica do gameta feminino. Elementos do citoesqueleto são estruturas muito sensíveis a variações de temeratura e pH do meio como demonstrou o estudo com imagens de microscopia confocal de Li et al.[21] O fuso metafásico e a constituição cromossômica de oócitos maturados *in vitro* apresentaram um índice de anomalias do fuso e de configuração dos cromossomos cerca de três vezes superior aos oócitos maturados *in vivo*. Certamente estas anomalias de fuso se refletirão em anomalias cromossômicas e na incapacidade dos embriões gerados de desenvolverem-se adequadamente.

Por fim, o preparo adequado do endométrio é de grande importância nos ciclos de IVM, visto que a fase folicular pode ficar truncada levando em alguns dos casos a uma assincronia entre o endométrio e o desenvolvimento embrionário. Uma alternativa para contornar este problema é a criopreservação dos embriões criados em um ciclo de IVM, de forma a transferi-los quando o endométrio estiver adequado em um ciclo natural, ou durante um ciclo de reposição hormonal para transferência de embriões congelados. Está demonstrado que embriões gerados por IVM, a partir de pacientes portadoras de ovários policísticos podem ser eficientemente criopreservados por congelamento lento ou vitrificação, resultando no nascimento de crianças normais e saudáveis[22].

Estudos com ciclos de doação de oócitos estabeleceram que a espessura mínima de 7mm do endométrio é adequada para implantação. Entretanto, estudo recente demonstrou que taxas de gestação de até 19% podem ser obtidas, a partir da maturação *in vitro* e transferência de embriões para pacientes que no dia da coleta dos oócitos apresentavam endométrios cuja espessura variava entre 3 e 5 mm[9]. Este estudo sugere que a reposição hormonal que começa após a coleta de oócitos é suficiente para a implantação dos embriões mesmo em situações em que o endométrio é muito delgado.Cabe mencionar, entretanto, que neste estudo a taxa de abortamento foi mais elevada nos ciclos de IVM, do que a aquela obtida após ciclos convencionais de FIV/ICSI pelo mesmo grupo de autores.Tal fato pode estar relacionado ao preparo inadequado do endométrio, mas também a erros do desenvolvimento embrionário gerados pelo processo de maturação *in vitro*.

IVM e ovários policísticos

Muitos trabalhos envolvendo IVM em humanos destacou sua aplicação nos casos de pacientes com ovários policísticos (PCO). Pacientes com PCO constituem a população ideal para este tipo de tratamento, visto a grande sensibilidade destas mulheres aos regimes de estimulação ovariana controlada.

Trounson et al.[23], em 1994, obtiveram a primeira gestação em uma paciente portadora de ovário policístico, a partir de coleta de oócitos imaturos obtidos por punção em ciclo não estimulado. Dentre os trabalhos publicados com pacientes com PCO sem estimulação ovariana, com uma casuística considerável (mais de 30 ciclos), os melhores resultados em termos de gestações clínicas e de nascimentos oscilam entre 22 e 36% e de 13 e 36 %, respectivamente, com taxas de implantação entre 7 e 24% [9].

A maioria dos estudos envolvendo pacientes com ovários policísticos ou com a síndrome dos ovários policísticos descrevem a transferência de no mínimo 3, de 4 e até de 6 embriões obtidos a partir de IVM e ICSI. Havendo uma ótima seleção dos embriões a serem transferidos, entretanto, as taxas de nascimento por ciclo iniciado e implantação podem girar em torno de 16-33% e 13-35%, respectivamente, como relatados após a transferência de 1 ou 2 embriões por ciclo, em pacientes sem estimulação ovariana controlada com portadoras de ovários policísticos ou síndrome dos ovários policísticos[9].

IVM e ciclos naturais

Com exceção de um grupo[9], bem menos investimento foi direcionado ao emprego de IVM a pacientes jovens, com ciclos menstruais regulares, especialmente casos de fator masculino. Por outro lado, tem-se observado um crescente interesse na metodologia de fertilização *in vitro* em ciclos naturais por parte das próprias pacientes, por ser este um método simples, rápido e que evita os efeitos colaterais da estimulação ovariana[24]. Nas mulheres, a cada ciclo apenas um folículo se desenvolve normalmente ao estágio pré-ovulatório e libera seu oócito para fertilização, apesar de que aproximadamente uns 20 folículos iniciam seu crescimento durante a fase folicular. Portanto, uma opção interessante é a combinação de ciclos

naturais de FIV com a coleta de oócitos imaturos e IVM, visto que o maior problema dos ciclos naturais é a incidência relativamente elevada de falhas na coleta dos oócitos, de maneira que as taxas de gestação por ciclos iniciados permanecem relativamente baixas. Entretanto, se considerarmos que a fertilização *in vitro* em ciclos naturais pode ser repetida em ciclos sucessivos, as taxas de gestação e nascimento acumulativas podem chegar a ser tão elevadas quanto 46% e 32%, respectivamente, após quatro ciclos de tratamento[25]. Muitas pacientes podem preferir passar por quatro ciclos sucessivos de FIV natural do que um ciclo de FIV estimulado, o qual só pode ser repetido em intervalos de alguns poucos meses.

O estudo com maior casuística relatado até o momento sobre IVM em ciclos naturais provou a adequação da metodologia para um grupo de pacientes com função ovariana normal e ciclos regulares. Os autores obtiveram índices de gestação de 18-20% por ciclo iniciado, com taxas de implantação entre 15 e 23% e bebê em casa entre 13 e 15 %, por ciclo iniciado, após a transferência de no máximo dois embriões por ciclo[9].

Conclusão

O quadro geral leva a crer que a IVM é uma metodologia emergente que vem ganhando cada vez mais credibilidade na área da Reprodução Assistida Humana. Apesar dos progressos clínicos, taxas de gestação, implantação e abortamento ainda não são consistentes e reproduzíveis entre os diferentes centros de reprodução assistida mundiais. É possível que estas diferenças estejam mais relacionadas com as características clinicas da população de pacientes, com o momento ideal para coleta e inseminação dos oócitos, com as condições da cultura e com o preparo do endométrio, mais do que com a técnica de IVM por si própria. A busca pela otimização da metodologia é uma constante e parece ser altamente dependente da aquisição de competência do oócito coletado imaturo e maturado *in vitro*. Importante ressaltar que nenhum aumento no índice de malformações ou outras anomalias congênitas foi detectado nos bebês nascidos de IVM. Entretanto, como foi o caso dos primeiros nascimentos a partir da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóides, estas crianças devem ser monitoradas por um determinado período de tempo de forma a excluir-se qualquer efeito deletério da metodologia de coleta e cultivo *in vitro* de oócitos imaturos, o qual venha a interferir com o desenvolvimento normal fetal e pós-nascimento.

Muita pesquisa ainda deve ser dirigida à elaboração de meios de cultivo que levem em conta os mecanismos fisiológicos de maturação do oócito dentro da estrutura folicular, de maneira a refinar as condições de cultivo e aumentar as taxas de implantação com a transferência de no máximo dois embriões por vez, a fim de evitar a ocorrência de gestações múltiplas.

Por fim cabe mencionar a possibilidade do uso da IVM para casos de preservação da fertilidade de pacientes portadoras de alguma forma de câncer. Esta metodologia poderia ser empregada em conjunto com a criopreservação de fragmentos ovarianos, durante o seu preparo, de maneira a aumentar o número de gametas disponíveis para futuro uso, tanto a partir do autotransplante como da fertilização *in vitro*[26]. Também a criopreservação do gameta imaturo, em estadio de vesícula germinativa é uma tecnologia ineficiente na atualidade, mas com os progressos técnicos relatados nos últimos anos, a estocagem do gameta feminino será uma opção factível para pacientes em busca da preservação da fertilidade.

Assim, acreditamos que a IVM é um procedimento promissor que merece atenção por parte dos clínicos trabalhando com tecnologias de reprodução assistida, apesar de suas limitações metodológicas atuais.

Abstract

The collection of immature oocytes from non stimulated ovaries in combination with oocyte *in vitro* maturation (IVM) and *in vitro* fertilization (IVF) is an assisted reproduction procedure that has been receiving increasing interest in the past few years.

The aim of the present review is to make an analysis of the state of the art of *in vitro* maturation of human oocytes, particularly in no-stimulated cycles and to emphasize the potential of this methodology among the assisted reproduction techniques.

UNITERMS: in vitro maturation, oocytes, polycystic ovaries.

Referências bibliográficas

1. Pincus G, Enzman EV. The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and *in vitro*. J Exp Med. 1935; 62:665-675.
2. Edwards RG. Maturation *in vitro* of human ovarian oocytes. Lancet 1965; 2:926-929.
3. Edwards RG, Bavister B, Steptoe P. Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. Nature 1969; 221:632-635.
4. Veeck L, Worthman J, Witmyer J, Sandow B, Acosta A, Garcia J, Jones G, Jones H Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. Fertil Steril 1983; 39:594–602.
5. Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Ion TK. Pregnancy after *in vitro* fertilization of human follicular oocytes collected from non-stimulated cycles their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. Fertil Steril 1991; 65:1151-1156.
6. Jurema M, Nogueira D. In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction. Fertil Steril 2006; 86: 1277-1291.
7. Al-Sunaidi M, Tulandi T, Holzer H, Sylvestre C, Chian RC, Tan SL. Repeated pregnancies and live births after in vitro maturation treatment Fertil Steril 2007; 87:1212-1219.
8. Chian RC, Buckett WM, Tan SL. In vitro maturation of human oocytes.Reprod Biomed Online 2004; 8:148-166.
9. Söderström-Anttila V, Salokorpi T, Pihlaja M, Serenius-Sirve S, Suikkari AM. Obstetric and perinatal outcome and

preliminary results of development of children born after in vitro maturation of oocytes. Hum Reprod 2006; 21:1508-1513.

10. Tan SL, Child TJ In vitro maturation of oocytes from unstimulated polycystic ovaries. Reprod Biomed Online. 2002; 4:18-23.
11. Buckket WM, Chian RC, Tan SL. Human chorionic gonadotropin for in vitro oocyte maturation: does it improve the endometrium or implantation? J Reprod Med 2004; 48:93-98.
12. Gulekli B, Buckett WM, Chian RC, Child TJ, Abdul-Jalil AK, Tan SL. Randomized, controlled trial of priming with 10,000 IU versus 20,000 IU of human chorionic gonadotropin in women with polycystic ovary syndrome who are undergoing in vitro maturation. Fertil Steril. 2004; 82:1458-1459.
13. Nogueira D, Cortvrindt R, Everaredt B, Smitz J. Effects bof long term in vitro exposure to phosphodiesterase type 3inhibitors on follicle and oocyte development. Reproduction 2005; 130:177-186.
14. Combelles C, Fissore RA, Albertini DF, Rakowski C. In vitro maturation of human oocytes and cumulus cells using a co-culture three-dimensional collagen gel system. Hum Reprod. 2005; 20:1349-1358.
15. Son WY, S.Y. Lee SY, Lim JH. Fertilization, cleavage and blastocyst development according to the maturation timing of oocytes in in vitro maturation cycles. Hum Reprod 2005; 20:3204–3207.
16. Son WY, Lee SY, Yoon SH, Lim JH. Pregnancies and deliveries after transfer of human blastocysts derived from in vitro matured oocytes in in vitro maturation cycles Fertil Steril. 2007; 87:1491-1493.
17. Hyun CS, Cha JH, Son WY, Yoon SH, Kim KA, Lim JH. Optimal ICSI timing after the first polar body extrusion in in vitro matured human oocytes. Hum Reprod. 2007; 22:1991-1995.
18. Sutton ML, Gilchrist MB, Thompson JG. Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus–oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. Hum Reprod Update 2003; 9:35–48.
19. Vlaisavljevic V, Cizek-Sajko M, Kovac V. Multinucleation and cleavage of embryos derived from in vitro-matured oocytes Fertil Steril 2006; 86:487-489.
20. Jee BC, Han SH, Moon JH, Suh CS, Kim SH. Influence of well defined protein source on in vitro maturation of human oocyte: human follicular fluid versus human serum albumin. Fertil Steril. 2007; Pubmed ahead of publication.
21. Li Y, Feng HL, Cao YJ, Zheng GJ, Yang Y, Mullen S, Critser JK, Chen ZJ. Confocal microscopic analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes matured in vitro. Fertil Steril 2006; 85:827-832.
22. Chian RC, Gülekli RC, Buckett WM, Tan SL.Pregnancy and delivery after cryopreservation of zygotes produced by in-vitro matured oocytes retrieved from a woman with polycystic ovarian syndrome. Hum Reprod 2001; 16:1700-1702.
23. Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. Fertil Steril 1994; 62:353-362.
24. Chian RC, Buckett WM, Jalil AKA, Son WY,Sylvestre C, Rao D, Tan SL. Natural-cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes is a potential approach in infertility treatment. Fertil Steril 2005; 82:1675-1678.
25. Nargund G., waterstone G., Bland J.M., Phillips Z., Parsons J., Campbell S. – Cumulative conception and live birth rates in natural (unstimulated) IVF cycles. Hum Reprod 2001;16:259-262.
26. Von Wolff M, Strowitzki T, Van der Ven H, Montag M. In vitro maturation is an efficient technique to generate oocytes and should be considered in combination with cryopreservation of ovarian tissue for preservation of fertility in women. J Clin Oncol 2006; 24:5336-5337.

A escolha do progestágeno de acordo com o perfil clínico-laboratorial da paciente

The choice of progestins according to clinical and laboratory characteristics of the patient

Jacy Bastos Görgens[1], Hugo Almeida Chaves de Resende[2], Selmo Geber[1]

Jacy Görgens

A Dra. Jacy Görgens graduou-se em Medicina pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde realizou Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia. É Mestre em Ginecologia e Obstetrícia pela UFMG. Tem aperfeiçoamento em Endocrinologia Feminina pela Freie Universitat Berlin, na Alemanha.

RESUMO

A escolha do progestágeno ao se optar pela anticoncepcão hormonal ou pela hormonioterapia em paciente com útero é tarefa que exige um bom conhecimento da farmacodinâmica dos variados esteróides sexuais. Os progestágenos podem ser naturais e sintéticos, sendo que o uso do termo progesterona implica em um progestágeno natural. A atividade dos progestágenos sintéticos está associada à sua estrutura química e à substância da qual eles se derivam. As estruturas do pregnano, estrano, gonano dão origem a uma grande variedade de progestágenos. A ação desses compostos sobre o organismo feminino é muito diversificada e depende da metabolização genômica e não genômica . Os sintomas, os sinais, a genética, os exames laboratoriais e complementares orientam qual o tipo de progestágeno será mais adequado à paciente. A freqüencia e rotina do exame ginecológico confere segurança e controle ao uso de hormônios esteróides.

UNITERMOS: progestágenos; progesterona; anticoncepção hormonal; hormonioterapia; esteróides sexuais.

Introdução

Escolher nem sempre é uma tarefa simples. É um aprendizado contínuo que é exercitado pelo médico ao longo de toda a sua vida profissional. Isso se torna mais importante quando ele se encontra diante da perspectiva da utilização da hormonioterapia em várias das suas indicações. O objetivo deste trabalho é ajudar na escolha do progestágeno a ser prescrito, quando se opta pelo uso de anticoncepcionais hormonais combinados ou pela reposição hormonal em mulheres climatéricas possuidoras de útero ou naquelas cujos ovários entraram em hipofunção precocemente.

Os progestágenos

Dois são os tipos de progestágenos: natural e sintético. O progestágeno natural é a progesterona (PN), que é produzida pelo corpo lúteo na segunda fase do ciclo menstrual, pela placenta e, em pequena quantidade, pela supra-renal. Sua principal ação é promover a secreção das glândulas endometriais previamente estimuladas pelo estrogênio para a nutrição e implantação embrionária. É também modeladora da atividade proliferativa promovida pelos estrogênios. São também descritos o efeito sedativo sobre o sistema nervoso central, efeito vascular e o efeito de inibição das contrações uterinas durante a gravidez. A progesterona, em seu estado natural, quando ingerida, sofre a destruição pelo suco gástrico. Na década de 80, desenvolveu-se o processo de micronização da PN, o que permitiu a sua utilização por via oral. Ocorreu também, o desenvolvimento de preparações com absorção vaginal, retal, transdérmica e nasal com boa aceitação. Devido a seu efeito sedativo preconiza-se o seu uso à noite. Os progestágenos sintéticos (PS) têm ação semelhante à da progesterona. Progestágenos, progestogênios, progestagênios, progestógenos, progestinas, progestativos, progestínicos e agentes progestacionais são termos sinônimos, comumente utilizados na literatura médica nacional, sendo o termo progestágeno, considerado o mais apropriado para denominar esse grupo de compostos sintéticos. Nas línguas inglesa, espanhola, francesa e alemã, são também variadas as maneiras de denominar-se esse grupo de compostos hormonais. Recentemente, tem-se observado o uso

[1] Professor Adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da UFMG
[2] Acadêmico do curso de Medicina - UFMG
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG
Correspondência:
Jacy Bastos Görgens
Av. Alfredo Balena, 190
Belo Horizonte – MG – CEP
Tel: 31 32489764
E-mail: jacygorgens@hotmail.com

preferencial do termo progestínico em referência aos progestágenos sintéticos.

Bioquímica

A progesterona foi sintetizada por Butenandt & Westphal, em1934[1]. Em 1938, Inhoffen & Hohlweg, *apud* Camargos[2], sintetizaram o primeiro derivado da testosterona ativo, por via oral, o 17 a-etiniltestosterona, com ação progestativa. Dezesseis anos depois, Djerassi et al.[3] produziram o 19-Nor-17µ-etiniltestosterona, sendo seu acetato sintetizado em 1956, que foi posteriormente o progestágeno aplicado na primeira pílula anticoncepcional européia. Em 1961 foi sintetizado o 18-Metil-19-nor-17µ-etiniltestosterona mais conhecido como Norgestrel. A partir deste, foi desenvolvido o levonorgestrel e daí uma grande variedade de progestágenos sintéticos, possibilitando a comercialização dos primeiros anticoncepcionais orais[2]. Em 1963, foi sintetizado o acetato de ciproterona, com uma ação antiandrogênica junto a uma potência progestacional de aproximadamente 1000 vezes à da progesterona[4]. Desde então novos progestágenos foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar a tolerância e controlar os efeitos adversos. Assim, foram sintetizados o desogestrel, o gestodeno, o norgestimato e o dienogeste. A drospirenona, derivado da espironolactona, tem propriedade antimineralocorticóide o que lhe confere ótima tolerância no que se refere à retenção líquida corporal. Os PS são derivados das estruturas tetracíclicas pregnano, estrano e gonano. O pregnano contém 21 átomos de carbono como a progesterona. Dela se originam o acetato de medroxiprogesterona, o acetato de ciproterona, o acetato de clormadinona, didrogesterona, medrogestona, nomegestrol, promegestona, trimegestona, nestorona, a espironolactona entre outros. Dos derivados do estrano, que contém 18 átomos de carbono na sua fórmula, citam-se a noretisterona, também denominada noretindrona, o acetato de noretisterona, o enantato de noretisterona. Da noretisterona derivaram os compostos como linestrenol, noretinodrel e dienogeste. Dos gonanos originaram-se compostos como o norgestrel que deu origem ao levonorgestrel. Deste, desenvolveram-se o desogestrel, etonogestrel, gestodene e norgestimato, que são freqüentemente utilizados em compostos anticonceptivos e de terapia hormonal[5].

Mecanismo de ação dos progestágenos sintéticos

O PS ideal deveria ser um composto com atividade secretora sobre o endométrio previamente proliferado pelo estrogênio, desprovido de efeito androgênico, estrogênico e mineraloglicocorticoídeo para que a paciente não sofresse defeminilização nem efeitos maléficos sobre os metabolismos lipídico e glicídico. Além disso, não deve apresentarefeito proliferativo sobre a mama nem se contrapor aos efeitos benéficos do estrogênio. Os esteróides sexuais atuais agem de duas formas: a ação genômica e a ação não genômica. A primeira é mediada pelos receptores de PN que são, por sua vez, influenciados pela ação dos estrogênios. A segunda, por ação na membrana celular interferindo nos canais de cálcio e em ações de neuromediadores (GABA, serotonina). Os PS inibem o eixo hipotálamo-hipofisário e são utilizados por isso em preparados anticonceptivos combinados ou não ao estrogênio. Têm também efeito antiestrogênico sobre o endométrio, cuja ação tem sido oportunamente utilizada no tratamento do hipoestrogenismo em mulheres possuidoras de útero e em casos de hiperplasia simples do endométrio. Essa ação é também responsável pela diminuição do trofismo vaginal observada em uso de preparados compostos com baixa dosagem estrogênica. Nos ossos, o efeito antiestrogênico não está bem elucidado, mas há possibilidade de diminuição da sua densidade mineral em preparados injetáveis e em altas doses. Além desses efeitos comuns aos PS, eles ainda podem apresentar efeitos estrogênicos, androgênicos, glucocorticoídeos e mineralocorticoídeos. Salienta-se ainda que essas ações podem se manifestar de maneiras isoladas ou associadas em maior ou menor grau de acordo com a potência do progestágeno e a susceptibilidade da paciente. Isso faz com que cada progestágeno seja diferente em sua ação e que cada paciente reaja diferentemente a compostos iguais. Em geral, os efeitos metabólicos de um composto hormonal tem relação com a sua estrutura química e com o composto que o originou. Daí, cada progestágeno terque ser estudado individualmente. Os progestágenos serão classificados por função: androgênica, não androgênica, antiandrogênica, glicocorticoídea, mineralocorticoídea e estrogênica. Pelo fato dos progestágenos agregarem essa multiplicidade de ação, eles podem ter efeitos metabólicos adversos sobre a mama, endométrio, mucosa vulvovaginal, cérebro, vasos sanguíneos, metabolismo glicídico, metabolismo lipídico, tecido ósseo e qualquer órgão dependente daquelas ações. Muitos desses efeitos ainda não estão completamente compreendidos e elucidados.

PS androgênicos

PS com propriedades androgênicas podem afetar o metabolismo lipídico, elevando a fração LDL-colesterol e diminuindo a fração HDL-colesterol, particularmente a subfração HDL_2, tornando aterogênico o perfil da paciente. Esse efeito não está ligado à primeira passagem hepática e está, portanto, presente mesmo em preparados injetáveis ou implantes[6]. Eles interferem também negativamente na tolerância à glicose, aumentando,mesmo em baixas doses, o nível da insulina plasmática[7]. Alguns derivados da 19- nortestosterona e dos pregnanos são providos de propriedades androgênicas em maior ou menor grau. Na escala decrescente da androgenicidade: o levonorgestrel >3-keto-desogestrel > noretisterona > acetato de medroxiprogesterona > gestodeno > desogestrel > norgestimato. Quanto maior a dose, maior o efeito androgênico. Danazol e gestrinona são progestágenos com alto poder androgenizante e estão, por isso, caindo em desuso.

PS não androgênicos

Desprovidos de ação androgênica, não apresentam efeitos maléficos sobre os metabolismos lipídico e glicídico. Nessa classificação encontram-se as retroprogesteronas tais como: a didrogesterona , a trimesgestona, a medrogestona e o acetato de nomegestrol. Este é um nor-pregnano. Há indícios de que eles não interferem no substrato de renina e nos níveis de antitrombina III, fato que aumenta a segurança, no que diz

respeito à pressão arterial e à coagulação sanguínea, em mulheres no período climatérico. São os compostos progestativos preferidos pelos ginecologistas franceses que conduzem hormonalmente o climatério de suas pacientes[6,7].

PS antiandrogênicos

O acetato de ciproterona (CPA) é o antiandrogênio mais potente até o presente momento. A sua ação se faz, principalmente, por meio de quatro mecanismos:

1. Bloqueio da síntese de androgênios por ocupação do receptores de androgênios;

2. Por impedir a ação da 5a-reductase e com isso a conversão da testosterona a Diidrotestosterona;

3. Por ser fortemente antigonadotrófica, diminuindo a ação endócrina dos ovários, inclusive a produção de androgênios pelo seu estroma e pelas células da teca;

4. Por elevar a globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG), por ser sempre usada em combinação a estrogênios, e possibilitar que parte da testosterona se ligue a essa proteína e se torne inativa.

A baixa de libido, pela diminuição dos níveis de androgênios circulantes, pode ser um dos sintomas adversos do CPA. O acetato de clormadinona apresenta propriedade antiandrogênica leve e apresenta efeitos adversos raros. A drospirenona é levemente antiandrogênica com ação concomitante antimineralocorticoídea bastante oportuna, pois evita a retenção hidrica corporal. Ela não se liga à SHBG e não altera, portanto, a libido.Apesar do dienogeste ser derivado da nortestosterona, ela apresenta leve ação anti-androgênica.e apresenta boa tolerância.

PS com ação glicocorticóide

A medroxiprogesterona, quando usado em altas doses, pode apresentar atividade glicocorticóide.

PS com ação antimineralocorticóide

A drospirenona tem ação antimineralocorticóide, além da antiandrogênica, que se faz por bloqueio dos receptores de aldosterona. Por não reter sódio nem, conseqüentemente, água no organismo, favorece o equilíbrio da pressão arterial. Tem tido boa aceitação quando se deseja a somação dessas duas ações e é usada na anticoncepção e na hormonioterapia[8].

PS com ação estrogênica

Ação proliferativa dos progestogênios sobre as mamas é um efeito recentemente descrito[4]. Estudos em animais têm revelado ação proliferativa sobre a glândula mamária, contribuindo em pequena proporção ao aumento de prevalência do câncer de mama em usuárias da hormonioterapia, na seguinte seqüência descrescente: noretisterona > linestrenol > levonorgestrel.

O perfil clínico-laboratorial da paciente

Individualizar a escolha do progestágeno de acordo com o perfil clínico-laboratorial da paciente é o passo inicial para a boa adequação da hormonioterapia seja ela anticonceptiva ou de suporte. A tabela 1 mostra as principais características dos progestágenos utilizados na prática clínica. Durante a anamnese e o exame físico da paciente que vai usar preparados hormonais observam-se sintomas e sinais que irão nortear a escolha dos esteróides mais apropriados. A queixa da paciente já pode sugerir alterações na esfera endócrina, como: a irregularidade menstrual, a oligoamenorréia, a escassez ou abundância do fluxo menstrual, a presença de pêlos em lugares não habituais, a agressividade, o excesso ou a falta de libido, a tonalidade grave da voz, a infertilidade. O exame físico é a oportunidade que o médico tem para identificar sinais que dão suporte ao seu diagnóstico. O hiperandrogenismo pode se manifestar com seborréia, acne, hirsutismo, alopécia. O virilismo descortina uma compleição masculina do corpo, a acentuação do tom grave na voz e a hipertrofia de clitóris. O hipoandrogenismo pode estar presente em pacientes com baixa de libido, hipotrofia muscular, pouca quantidade de tecido adiposo, pêlos escassos e finos, baixa agressividade e, às vezes, tendência à depressão. O hipoestrogenismo se manifesta com hipotrofia vulvovaginal, hipotrofia da pele, hipotricose, flacidez muscular e hipotrofia mamária.O hiperestrogenismo pode estar presente quando se detecta mamas muitos túrgidas, sensíveis, presença de muco cervical transparente e abundante além de mucosa vulvovaginal muito trófica, úmida e brilhosa. A hiperprolactinemia é suspeitada quando se encontra à expressão das mamas a presença de secreção láctea sem história prévia de parto nem lactação há pelo menos um a dois anos, em irregularidades menstruais, oligoamenorréia e infertilidade. Ainda no exame físico, a constatação de hipertensão arterial leve é vital na decisão e escolha do estrogênio e progestágeno a ser usado. Hipertensão arterial moderada a acentuada é contra-indicação à hormonioterapia.Em relação ao diagnóstico laboratorial, a glicemia de jejum, o fracionamento do colesterol, a dosagem de insulina e, em alguns casos, a avaliação tireoídea e da supra-renal se fazem necessários. O ultra-som endovaginal, também chamado de transvaginal, além de informar o tipo musculatura uterina (presença de leiomiomas, adenomiose, pólipos – doenças ligadas ao hiperestrogenismo), delimita a espessura do endométrio que reflete o nível circulante de estrogênio. Ainda através do endométrio tem-se informações sobre a presença ou não de sinais de secreção glandular endometrial sugerindo a presença ou não de ovulações. A mamografia, que é realizada como rastreamento do câncer de mama em mulheres com mais de 35 anos, dá uma idéia do nível estrogênico: mamas muitos densas expressam geralmente níveis altos de estrogênio circulante. As mamas com parênquimas muitos substituídos por gordura podem ser reflexo de um quadro de hipoestrogenismo crônico. Os compostos androgênicos devem ser evitados quando já se identificam manifestações hiperandrogênicas na paciente. Podem ser usados quando os efeitos androgênicos são, mesmo que temporariamente, desejados. Um comum exemplo dessa indicação é em casose baixa de libido. Citam-se o levonorgestrel, a noretisterona e o seu acetato, o danazol e agestrinona entre os mais fortemente androgênicos[9]. Entre as substâncias com

média ação androgênica estão a tibolona, e o linestrenol. Os de baixa ação androgênica são o acetatode medroxiprogesterona, o gestodeno, o desogestrel e o acetato de nomegestrol. Os PS antiandrogênicos devem ser escolhidos quando a mulher já apresenta sinais de hiperandrogenismo citados acima ou naquelas que em alguma época da vida já sofreram tratamentos com antiandrogênios. Os PS com efeitos antimineralocorticoídeos estão indicados em pacientes com leve aumento da pressão arterial e naquelas que têm perfil genético ou metabólico de possível predisposição à hipertensão arterial ou que já se refira a retenção hídrica principalmente no período pré-menstrual.Os PS desprovidos de ação sobre o metabolismo glicídico e lipídico têm indicação em mulheres acima dos 40 anos, nas que, mesmo mais novas, têm propensão a alterações de glicose e lípides e nas geneticamente predispostas a esses distúrbios[10]. Quando se prescrevem os PS , deve-se ter o cuidado de supervisionar as suas reações adversas possíveis. Consultas em intervalos não superiores a seis meses e um bom exame clínico conferem segurança ao tratamento. Os perfis lipídico e glicídico anuais, além dos exames preventivos habituais, dão tranqüilidade ao médico e à paciente no uso da hormonioterapia. Não existe ainda o PS ideal. A escolha de um determinado composto deve respeitar as diferenças individuais das usuárias.

Abstract

Choosing a progestogen to prescribe a contraceptive or hormone therapy for women is not a simple task. It requires knowledge about the farmacodynamic of a variety of these sexual steroids. Progestogens are divided into two types: naturals and synthetics. Progesterone is a natural one. The pharmacological actions of synthetic progestogens depend upon the molecules from which they are derived. From pregnane, estrane and gonane derivatives a great variety of progestogens that differs on action and side-effects. These compound's metabolization on female organism is really diversificated and depends on genomic and non genomic action, which are peculiar to each patient. Symptoms, signals, the genetic background and also complementary examinations help the profissional to choose the adequate progestogen. Periodical gynecologic examination confers security and good supervision on the use of these sexual steroids.

UNITERMS: progestins; progesterone; hormonal contraception; hormontherapy; sexual Steroids.

Referências bibliográficas

1. Butenandt A, Westphal U. Isolation of progesterone—forty years ago. Am J Obstet Gynecol. 1974 Sep;120(1):137-41.
2. Camargos AF. Progestágenos. Reprod Clim. 2001; 16(2): 41-49.
3. Djerassi C, Miramontes L, Rosenkranz G, Sondheimer F. Synthesis of 19-Nor-17a-ethynyltestosterone and 19-nor-17a-methyltestosterone. J Am Chem Soc. 1954;76:4092.
4. Druckmann R. Progestins and their effects on the breast. Maturitas 2003;46(Suppl.1):S59-S69.
5. Rozenbaum H. Drugs of today 1996;32(suppl. H):43-45.
6. White WB, Pitt B, Preston RA, Hanes V. Antihypertensive effects of drospirenone with 17b-estradiol, a novel hormone treatment in postmenopausal women with stage 1 hypertension. Circulation 2005;112(13):1979-1984.
7. Sitruk-Ware R. New progestogens for contraceptive use. Human Reproduction Update 2006; 12(2):169-178.
8. Sitruk-Ware R. Pharmacological profile of progestins. Maturitas 2004; 47:277-283.
9. Sitruk-Ware R. Progestogens in hormonal replacement therapy: new molecules, risks, and benefits. Menopause 2002; 9(1): 6-15.
10. Stanczyk FZ, Paulson RJ, Roy S. Percutaneous administration of progesterone: blood levels and endometrial protection. Menopause 2005; 12(2):232-237.

A preservação da fertilidade em pacientes com câncer: uma preocupação pertinente

Fertility preservation in cancer patients: a pertinent concern

Mario Cavagna[1,2,3], Edson Borges Jr[1,2], Assumpto Iaconelli[1,2].

Mario Cavagna

O Dr. Mario Cavagna é Professor Titular de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro e Diretor da Divisão de Reprodução Humana do Centro de Referência da Saúde da Mulher - Hospital Pérola Byington, em São Paulo. É Doutor em Medicina e Cirurgia pela Universidade de Cagliari, na Itália, e tem Doutorado em Ginecologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. É médico da Fertility – Centro de Fertilização Assistida, em São Paulo. É o atual editor da Revista Reprodução & Climatério.

RESUMO

Os autores fazem considerações sobre os efeitos do tratamento do câncer sobre a fertilidade e relatam as opções para sua preservação. Ressaltam a importância dos pacientes receberem as informações pertinentes para poderem decidir sobre intervenções que visam salvaguardar a fertilidade. No caso de crianças, os pais ou responsáveis devem ser informados e participar das decisões.

UNITERMOS: Preservação da fertilidade; Quimioterapia; Radioterapia.

Introdução

O diagnóstico precoce de neoplasias malignas, associado a tratamentos cirúrgico, quimioterápico e radioterápico cada vez mais eficientes, promovem a remissão do câncer em considerável número de pacientes, muitos deles em idade reprodutiva. Estima-se que em 2010, uma em cada 250 pessoas será sobrevivente de um câncer na infância. É inegável e promissora a melhora da sobrevida em pacientes jovens com neoplasias; o tratamento da leucemia, por exemplo, que proporcionava uma sobrevida de 5 anos de 33% no período 1971-76, mostrou taxa de 80% no período 1986-90[1,2].

Levando-se em conta não apenas a cura, mas também a qualidade de vida, depara-se com uma questão que não deve ser esquecida pelos oncologistas: a preservação da fertilidade em pacientes jovens submetidos a terapia antineoplásica. Lee et al.[3] recomendam que sejam feitas as seguintes ponderações no caso de pacientes em idade reprodutiva ou crianças com diagnóstico de câncer:

1. Os pacientes com câncer estão interessados em intervenções que visem a preservação da fertilidade?

2. Quais as opções atuais e futuras para a preservação da fertilidade nos homens?

3. Quais as opções atuais e futuras para a preservação da fertilidade nas mulheres?

4. Qual deve ser o papel do oncologista no aconselhamento dos pacientes quanto às opções de preservação da fertilidade?

Não há dúvidas de que os pacientes devem receber as informações pertinentes para poderem decidir sobre intervenções que visam salvaguardar a fertilidade. No caso de crianças, os pais ou responsáveis devem ser informados e participar das decisões. As opções devem ser apresentadas de modo claro e honesto e, obviamente, o oncologista é o primeiro profissional que deve ser capaz de abordar o problema e fornecer uma primeira idéia das alternativas disponíveis. A atuação conjunta com um serviço de medicina reprodutiva faz-se mandatória naqueles pacientes que manifestem o desejo de manutenção da capacidade reprodutiva. A abordagem inicial deve levar em conta que os pacientes submetidos a tratamento para o câncer podem ter sua função reprodutiva comprometida transitória ou permanentemente. A quimioterapia e a radioterapia exercem efeitos deletérios à função gonadal. Os ovários são glândulas sensíveis às drogas citotóxicas comumente empregadas na terapia oncológica, que terminam por induzir a uma insuficiência gonadal irreversível. O resultado da ação dos quimioterápicos sobre os ovários, é o dano às células granulosas e tecais, como também comprometimento do oócito, levando à falência ovariana prematura, que tem como conseqüência a infertilidade permanente[4]. A função ovariana, em alguns

[1] Fertility – Centro de Reprodução Assistida e Video Endoscopia Pélvica, São Paulo.
[2] Associação Instituto Sapientae, São Paulo.
[3] Programa de pós-graduação em Saúde Materno-Infantil, Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro, São Paulo.
Correspondência para:
Mario Cavagna
Av. Brigadeiro Luis Antonio, 4545
01401-002 – São Paulo – SP
E-mail: mariocavagna@yahoo.it

casos, pode ser comprometida transitoriamente, com retorno da atividade endócrina e liberação de oócito fertilizável, como atestam, em nosso meio, Isa et al.[5] Ressalte-se, entretanto, que a quimioterapia associa-se a uma acentuada toxicidade ovariana e perda folicular, especialmente com o emprego de agentes como a ciclofosfamida, clorambucil, melfalan, busulfan, mecloretamina, cisplatina, vinblastina, procarbazina e mostarda nitrogenada[4,6]. A perda da função ovariana relaciona-se ao número de folículos primordiais existentes nos ovários; dessa forma, mulheres mais velhas apresentam maior risco de desenvolver falência ovariana total[7]. Com relação ao tratamento radioterápico, é sabido que a radiação ionizante possui efeitos deletérios sobre as gônadas femininas, que aumentam proporcionalmente à idade. Mulheres com menos de 40 anos necessitam de uma dose de cerca de 20 Gy para que se produza falência ovariana total, enquanto 6 Gy são suficientes para produzir o mesmo efeito em mulheres mais velhas. Wallace et al.[8] estimam que a dose em que se perde metade da população folicular na mulher (LD_{50}) é 4 Gy. De acordo com estudos de Chiarelli et al.[9] (1999), o risco de falência ovariana prematura aumenta proporcionalmente à dose de irradiação pélvica: com doses menores que 20 Gy, o risco relativo é de 1,02; com a irradiação de 20 a 35 Gy, o risco eleva-se para 1,37, e com doses maiores que 35 Gy, o risco é de 3,27. Com relação à fertilidade masculina, sabe-se que o epitélio germinativo é muito sensível aos danos induzidos pela radiação; ocorrem alterações nas espermatogônias com doses tão baixas quanto 0,1 Gy e infertilidade permanente com doses fracionadas de 2 Gy[10]. Pelos motivos expostos, é fundamental que os aspectos relacionados à fertilidade sejam discutidos com todos os pacientes em idade reprodutiva que serão submetidos a terapia oncológica, e com seus pais ou responsáveis quando se tratarem de crianças. Recentemente, o Comitê de Ética da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva[11] deliberou o que segue:

1. Os médicos devem informar os pacientes com câncer sobre as opções para a preservação da fertilidade antes do tratamento;
2. Os únicos métodos com técnicas bem estabelecidas para a preservação da fertilidade são a criopreservação de espermatozóides para o homem e a criopreservação de embriões para as mulheres;
3. Técnicas como a criopreservação de oócitos e tecido ovariano ainda devem ser consideradas experimentais;
4. Preocupações com respeito ao bem-estar da prole não devem constituir motivo para negar ao paciente com câncer assistência quanto à reprodução;
5. O diagnóstico genético pré-implantacional para evitar o nascimento de crianças com alto risco de câncer hereditário é eticamente aceitável.

Técnicas de preservação da fertilidade

No caso masculino, a criopreservação de espermatozóides é uma técnica bem estabelecida, e adolescentes de 12 anos de idade já podem apresentar maturidade física e emocional para entender o problema e fornecer amostras de sêmen. Por outro lado, a criopreservação de tecido testicular e espermatogônias são técnicas ainda completamente experimentais, e a supressão testicular com análogos do GnRH não se mostrou eficiente na proteção da função gonadal[3]. Os aspectos éticos e emocionais que interferem na coleta de sêmen de adolescentes não devem ser negligenciados, e a participação dos pais é de fundamental importância nas decisões a serem tomadas[12]. Tratando-se de homens adultos, não há dúvidas de que a opção de coleta e criopreservação de sêmen deve ser discutida e oferecida a todos os pacientes que serão submetidos a tratamento oncológico. Devem ser solicitadas instruções precisas sobre o destino do material criopreservado em caso de morte ou outras circunstâncias que levem à impossibilidade do paciente de tomar decisões[11].

No caso do sexo feminino, as possibilidades são mais complexas. As principais alternativas consistem na criopreservação de embriões, oócitos e tecido ovariano e, em caso de radioterapia pélvica, a transposição cirúrgica ovariana. Devem ser considerados, ainda, a opção de supressão da função ovariana com análogos do GnRH, concomitantemente à quimioterapia, e o emprego de cirurgias conservadoras para certos tipos de cânceres que acometem a aparelho reprodutor feminino.

Emprego dos análogos do GnRH

A supressão da atividade ovariana, por induzir um estado de quiescência celular, foi tida como um fator potencialmente protetor dos efeitos tóxicos gonadais produzidos pelos quimioterápicos[13]. Blumenfeld et al.[14] foram responsáveis por uma série de investigações que, embora não randomizadas e com seguimento relativamente curto, sugeriram alguma proteção dos análogos do GnRH aos efeitos tóxicos da quimioterapia. Imai e Furui[15] referem que os análogos do GnRH retardam o dano celular das granulosas induzido pela doxorubicina. Os análogos agem por manutenção da célula em estado de repouso, diminuindo sua resposta aos agentes quimioterápicos. Outros estudos demonstraram a validade do emprego dos análogos do GnRH na proteção ovariana durante a quimioterapia[16].

Recentemente, Potolog-Nahari et al.[17] registraram que o uso combinado de análogos agonistas e antagonistas do GnRH poderia potencializar o efeito protetor sobre a função gonadal de pacientes jovens que submetidas a quimioterapia.

Transposição ovariana

Antes do tratamento radioterápico, é factível reposicionar cirurgicamente os ovários fora do campo de radiação, para evitar o comprometimento das gônadas. É um procedimento que pode ser realizado durante a laoparotomia para tratamento e (ou) estadiamento do tumor, ou por laparoscopia antes da radioterapia. Ressalte-se que tal conduta não protege os ovários da ação de quimioterápicos.

O procedimento cirúrgico consiste em liberar o ovário direito de seus ligamentos pélvicos e posicioná-lo o mais alto e lateralmente possível na goteira paracólica direita. O lado direito é o de eleição, pois evita-se a interferência do cólon sigmóide, que ocorre do lado esquerdo. Estudo conduzido por Morice et al.[18] em 107 pacientes, avaliou a função endócrina dos ovários após radioterapia com transposição ovariana. Observou-se que a função ovariana foi mantida em 53/59 pacientes (90%) tratadas com braquiterapia vaginal e 15/25 trata-

das com irradiação externa e braquiterapia vaginal. A taxa de preservação da função endócrina ovariana varia de 16 a 90%, de acordo com a quantidade de radiação, comprometimento vascular, idade da paciente, e utilização de braquiterapia ou irradiação externa[4]. A transposição pode ser realizada simultaneamente ao procedimento cirúrgico para tratamento e estadiamento da neoplasia ou, quando não há indicação cirúrgica, por laparoscopia. Prefere-se a técnica de transposição lateral dos ovários, que são dessa forma colocados fora do campo de radiação[1]. Deve-se levar em conta que a posição abdominal do ovário impede a gravidez espontânea, a menos que o ovário não seja recolocado cirurgicamente na pelve; uma eventual aspiração folicular para procedimentos de reprodução assistida será, também, dificultada. Saliente-se que quando estiver indicada quimioterapia juntamente com a radioterapia, a transposição dos ovários não tem indicação.

Criopreservação de embriões

A criopresevação de embriões, para posterior transferência, é o único método bem estabelecido para a preservação da fertilidade em caso de tratamento radio ou quimioterápico. Há algumas dificuldades na sua indicação, principalmente a necessidade da paciente ter um parceiro com relação sólida; além disso, há a necessidade de estimulação ovariana para captação de oócitos, o que pode levar a paciente a uma exposição a altos níveis estrogênicos, além de retardar o tratamento antineoplásico. Saliente-se, igualmente, que o destino dos embriões deve ser discutido com a paciente e seu parceiro, em caso de evolução desfavorável da neoplasia que está sendo tratada[19].

Criopreservação de oócitos

Embora o primeiro relato de gravidez com embrião formado a partir de oócito criopreservado tenha mais de 20 anos[20], a técnica começou a ser mais comumente empregada há cerca de dez anos, com a introdução da injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) para a fertilização de oócitos criopreservados[21]. Lee et al.[3] registram que há, até o momento, aproximadamente 120 nascimentos provenientes de oócitos criopreservados, o que ainda coloca a técnica como de caráter experimental. Levando-se em conta o total de oócitos congelados, os dados atualmente disponíveis mostram uma taxa de nascimento que varia de 0,4 a 4,5%, com a técnica de congelamento lento (tabela 1). Sonmezer e Oktay[4], revendo resultados de 21 estudos, encontraram uma taxa média de sobrevivência de oócitos congelados de 47%, uma taxa de fertilização de 52,5% e uma taxa média de gravidez pelo total de oócitos descongelados de 1,52%.

Os dados mais consistentes referem-se à criopreservação de oócitos com a técnica de congelamento lento; alguns resultados recentes com a técnica de vitrificação parecem promissores, mas há necessidade de confirmação desses dados com ulteriores investigações[22,23]. O congelamento de oócitos apresenta vantagens em relação à criopreservação de embriões, tais como a não necessidade de haver um parceiro na ocasião do tratamento. Por outro lado, no caso de falência ovariana prematura, a criopreservação de oócitos não restaura a função endócrina das gônadas. Leve-se também em conta o fato de que para o obtenção de oócitos faz-se necessária a estimulação farmacológica dos ovários, o que requer tempo, podendo retardar a quimioterapia, e promove elevação nos níveis de estradiol que poderia ser deletéria em alguns tipos de cânceres na mulher. Por outro lado, Madrigrano et al.[24] referem que os procedimentos para obtenção de oócitos para congelamento não retardam de modo significante o tratamento para câncer de mama.

Com relação à segurança, não parece haver maior incidência de anomalias em crianças nascidas após descongelamento de oócitos. Porcu et al.[25], em 1502 oócitos criopreservados e descongelados, obtiveram 17 gravidezes e 11 nascimentos, todos com cariótipo norma e nenhum tipo de malformação observado. O congelamento de oócitos imaturos, embora mais resistentes aos danos provenientes da criopreservação[26], é uma técnica que ainda não encontra suporte científico para ser oferecida às pacientes desejosas de preservar a fertilidade

Recentemente, Yang et al.[27], registraram o nascimento de criança saudável obtida por fertilização de oócito crioconservado de paciente submetida a quimioterapia por linfoma de Hodgkin. Os avanços nas técnicas de criopreservação e as novas possibilidades trazidas pela técnica de vitrificação podem tornar o congelamento de oócitos um método aceitável para a preservação da fertilidade, ressaltando-se que no presente momento o caráter experimental da técnica deve ser explicado aos pacientes com câncer.

Criopreservação de tecido ovariano

Tabela 1 - Resultados do descongelamento de oócitos através da técnica de congelamento lento

Referência	Oócitos descongelados	Sobrevivência (%)	Fertilização (%)	Nascimentos
Porcu et al., 1999	1502	56%	57%	11 (0,7%)
Winslow et al., 2001	324	68%	81%	10 (3%)
Boldt et al., 2003	90	74%	59%	4 (4,4%)
Chian et al., 2005	180	93,9%	74,6%	7 (3,8%)
Levi Setti et al., 2006	2900	69,9%	53,3%	13 (0,44%)

O desenvolvimento das técnicas de reprodução assistida vêm proporcionando, cada vez com mais eficácia, a possibilidade de criopreservação de tecido ovariano, tendo sido registrados gravidez e nascimento após o reimplante em mulheres submetidas a tratamento quimioterápico[28]. Essa técnica pode constituir-se na única opção viável em meninas prépúberes e mesmo em adolescentes e mulheres que não possam ser submetidas a estimulação ovariana para a coleta de oócitos. Embora ainda de caráter experimental, as perspectivas se mostram promissoras; o desenvolvimento de novos crioprotetores, como o etilenoglicol, o DMSO e o propanediol, proporcionou resultados satisfatórios com gravidezes repetidas em várias espécies animais[4]. Fragmentos do córtex ovariano podem ser obtidos facilmente por laparoscopia. Em uma mulher de 30 anos de idade, 1 mm^2 de tecido cortical ovariano possui cerca de 35 folículos primordiais[29]; dessa forma, 5 ou 6 fragmentos com uma área total de 110-120 mm^2, poderiam proporcio-

nar cerca de 4000 folículos primordiais. Após o tratamento e a cura do câncer, havendo desejo de gravidez, o tecido ovariano poderia ter, como destino, o xenotransplante e o autotransplante. Uma das proncipais preocupações com o autotransplante seria a possibilidade de reintrodução de célulasa cancerosas no organismo da mulher. Deve ser enfatizado, entretanto, que a maior parte das neoplasias que acometem a mulher em idade reprodutiva, não metastiza para os ovários, com exceção de alguns tipos de leucemias, linfoma de Burkitt e tumores avançados do cólon e da mama[4]. Oktay e Yih[2] registram que técnicas de biologia molecular e imunohistoquímica devem ser empregadas para rastrear a presença de células cancerosas nos ovários.

Essa preocupação levou à verificação da possibilidade do xenotransplante. A ocorrência de desenvolvimento folicular em tecido ovariano humano descongelado e transplantado em rato imunodeficiente já foi demonstrada[30]. Entretanto, além de natural aversão que a técnica pode suscitar, a possibilidade de transmissão de infecções cruzadas retrovirais ou alteração do genoma humana não podem ser totalmente afastadas[4]. As possibilidades existentes quanto ao autotransplante são duas: o transplante ortotópico e o heterotópico. No primeiro caso, o tecido ovariano é transplantado no seu local de origem, e no segundo caso, em outro sítio, como o tecido subcutâneo do antebraço e do abdome. Embora haja relatos de gravidez[28], a técnica ainda é totalmente experimental.

Conclusões

Ginecologistas, cirurgiões e oncologistas não devem esquecer da possibilidade de presevação da fertilidade em pacientes jovens que deverão ser submetidas a tratamento antineoplásico. Muitas das técnicas utilizadas para tal fim ainda são experimentais, mas os avanços nos tratamentos quimio e radioterápicos, e a sensível melhora obtida nos últimos anos no prognóstico das neoplasias malignas, justificam a abordagem desses métodos com as pacientes acometidos por câncer e seus familiares.

Abstract

The authors make considerations about the effects of cancer therapy on fertility and the options for fertility preservation. They stress the importance of advising patients in order to allow them to make decisions on their treatment. If they are children, parents or tutors must be informed and participate in the decisions.

UNITERMS: Fertility preservation; Chemotherapy; Radiotherapy.

Referências bibliográficas

1. Meirow D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. Hum Reprod Update. 2001; 7:535–543.
2. Oktay KH, Yih M. Preliminary experience with orthotopic and heterotopic transplantation of ovarian cortical strips. Semin Reprod Med. 2002; 20:63–74.
3. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH et al. American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. J Clin Oncol. 2006; 18:2917-31.
4. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. Human Reproduction Update. 2004; 10:251-266.
5. Isa AC, Dergham AP, Beck RT. Eficácia do tratamento quimioterápico para tumores de células germinativas de ovário com preservação da fertilidade. Relato de um caso e revisão da literatura. Reprod Clim. 2004; 19:32-4.
6. Grundy R, Gosden RG, Hewitt M et al. Fertility preservation for children treated for cancer (1): scientific advances and research dilemmas. Arch Dis Child. 2001; 84:355-359.
7. Brice P, Haioun C, Andre M and Gisselbrecht C. Pregnancies after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation in aggressive lymphomas. Blood. 2002; 100:736.
8. Wallace WHB, Shalet SM, Hendry JH et al. Ovarian failure following ovarian irradiation in childhood. The radiosensitivity of human oocyte. Br J Radiol. 1989; 62:995-8.
9. Chiarelli AM, Marrett LD, Darlington G. Early menopause and infertility in females after treatment for childhood cancer diagnosed in 1964-1988 in Ontario, Canada. Am J Epidemiol. 1999;150:245-54.
10. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. Endocrinol Metab Clin North Am. 1998; 27:927-43.
11. The Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in cancer patients. Fertil Steril. 2005; 83:1622-8.
12. Bahadur G, Ling KL, Hart R et al. Semen production in adolescent cancer patients. Hum Reprod. 2002; 17:2654-6.
13. Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R (1995) Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. Biol Reprod. 1995; 52:365–372.
14. Blumenfeld Z, Avivi I, Linn S, Epelbaum R, Ben-Shahar M and Haim N. Prevention of irreversible chemotherapy-induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotrophin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy. Hum Reprod. 1996; 11:1620–1626.
15. Imai A, Furui T. Chemotherapy-induced female infertility and protective action of gonadotropin-releasing hormone analogues. J Obstet Gynaecol. 2007;27(1):20-4
16. Recchia F, Saggio G, Cesta A, Candeloro G, Di Blasio A, Amiconi G, Lombardo M,Nuzzo A, Lalli A, Alesse E, Necozione S, Rea S. Phase II study of interleukin-2 and 13-cis-retinoic acid as maintenance therapy in metastatic colorectal cancer. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(5):699-708.

17. Potolog-Nahari C, Fishman A, Cohen I. Protection of ovarian function and fertility using a combination of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist and GnRH antagonist during cancer treatment in young females. Gynecol Endocrinol. 2007;23(5):290-4.

18. Morice P, Haie-Meder C, Rey A, Pautier P, Lhommé C, Gerbaulet A, Duvillard P, Castaigne D. Radiotherapy and radical surgery for treatment of patients with bulky stage IB and II cervical carcinoma. Int J Gynecol Cancer. 2000;10(3):239-246.

19. Lutchman SK, Davies M, Chatterjee R. Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. Hum Reprod Update. 2005;11(1):69-89.

20. Chen C (1986) Pregnancy after human oocyte cryopreservation. Lancet.1986; 1:884–886.

21. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. Fertil Steril.1997; 68:724–726.

22. Katayama KP, Stehlik J, Kuwayama M, Kato O, Stehlik E. High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. Fertil Steril. 2003; 80:223–224.

23. Yoon TK, Kim TJ, Park SE, Hong SW, Ko JJ, Chung HM, Cha KY. Live births after vitrification of oocytes in a stimulated in vitro fertilization-embryo transfer program. Fertil Steril. 2003; 79:1323–1326.

24. Madrigrano A, Westphal L, Wapnir I. Egg retrieval with cryopreservation does not delay breast cancer treatment. Am J Surg. 2007;194(4):477-81.

25. Porcu E, Fabbri R, Damiano G, Giunchi S, Fratto R, Ciotti PM, Venturoli S, Flamigni C. Clinical experience and applications of oocyte cryopreservation. Mol Cell Endocrinol. 2000;169(1-2):33-7.

26. Wu J, Zhang L, Wang X. In vitro maturation, fertilization and embryo development after ultrarapid freezing of immature human oocytes. Reproduction. 2001; 121:389–393.

27. Yang D, Brown SE, Nguyen K, Reddy V, Brubaker C, Winslow KL. Live birth after the transfer of human embryos developed from cryopreserved oocytes harvested before cancer treatment. Fertil Steril. 2007 ;87(6):1469.

28. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonckt A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet. 2004;22:1405-10.

29. Meirow D, Fasouliotis SJ, Nugent D, Schenker JG, Gosden RG, Rutherford AJ. A laparoscopic technique for obtaining ovarian cortical biopsy specimens for fertility conservation in patients with cancer. Fertil Steril. 1999;71:948-51.

30. Maltaris T, Koelbl H, Fischl F, Seufert R, Schmidt M, Kohl J, Beckmann MW, Binder H, Hoffmann I, Mueller A, Dittrich R. Xenotransplantation of human ovarian tissue pieces in gonadotropin-stimulated SCID mice: the effect of ovariectomy. Anticancer Res. 2006; 26(6B):4171-6.

An experimental investigation on *Luffa operculata* (L.) Cogn. (buchinha-do-norte) as abortifacient plant

Uma investigação experimental sobre *Luffa operculata* (L.) Cogn. (buchinha-do-norte) como planta abortiva

Sofia Louise Santin Barilli, Sílvia Tonial dos Santos, Tatiana Montanari

Sofia Louise Santin Barilli

Sofia Louise Santin Barilli é enfermeira, graduada pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em 2007. Durante a carreira acadêmica, dedicou-se à pesquisa científica, tendo publicado um artigo completo e 35 artigos resumidos em anais de congressos ou revistas científicas. Desenvolveu este trabalho como orientada de Iniciação Científica da Profa Dra Tatiana Montanari, coordenadora do Laboratório de Biologia da Reprodução, que tem como linha de pesquisa o " Efeito de plantas medicinais utilizadas como reguladoras da fertilidade sobre a reprodução e o desenvolvimento embrionário e fetal ".

RESUMO

OBJETIVOS: O decocto concentrado de *Luffa operculata* (buchinha-do-norte) é tomado como um abortivo. Este estudo tem como objetivo verificar seu efeito sobre a gestação e identificar atividades estrogênica e teratogênica.
MATERIAL E MÉTODOS: O decocto dos frutos (4mL/kg/dia) foi administrado oralmente a camundongas do primeiro ao terceiro dia de gestação – período pré-implantação, do quarto ao sexto dia de gestação – período da implantação, e do sétimo ao nono dia de gestação, quando inicia a placentação e a organogênese. As fêmeas foram sacrificadas no 18° dia de gestação. O número de corpos lúteos, sítios de implantação, reabsorções e fetos foram registrados. Os fetos foram pesados e examinados para malformações e anomalias esqueléticas. Para avaliar uma atividade estrogênica por *L. operculata*, fêmeas imaturas sexualmente receberam o decocto por três dias, e o útero foi coletado e pesado.
RESULTADOS: Houve uma redução significativa no índice de natalidade quando a administração foi do quarto ao sexto dia de gestação, sugerindo um efeito antiimplantação. Neste mesmo grupo, muitos fetos apresentaram um desenvolvimento ósseo retardado. O decocto não teve um efeito uterotrófico.
CONCLUSÕES: *L. operculata* pode ser abortiva por um efeito antiimplantação, que não foi causado por atividade estrogênica. Além disso, ela prejudicou o crescimento fetal.

UNITERMOS: *Luffa operculata*; Cucurbitaceae; plant medicinal; agente abortivo; gestação; camundongo.

Introduction

Luffa operculata (L.) Cogn., known popularly in Brazil as "buchinha-do-norte", is used for sinusitis and allergic rhinitis, causing frequently nausea, vomiting and haemorrhage as side effects. Despite the intoxication risk, the concentrated fruit decoct is taken to induce illegal abort [1,2]. Other species from Cucurbitaceae family are also used for this intent, and the mechanisms of action include contractions of the uterine muscle, decrease of progesterone level, suppression of the decidual reaction, placenta necrosis, and embryotoxic and teratogenic effects[3-13]. To verify if *L. operculata* is an abortifacient agent, this investigation was made.

Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Correspondência:
Profª Dra Tatiana Montanari
Laboratório de Biologia da Reprodução. Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, Brasil. 90050-170.
E-mail: t.montanari@bol.com.br

Material and methods

Preparation of the decoct

Dried *L. operculata* fruits were acquired at the Public Market at Porto Alegre, RS, Brazil. The decoct was made boiling one fruit (weighing 2.165 g) in 350 mL of distilled water during 10 min. It was kept frozen until ready for use. To establish the solid content, 98 mL of decoct were lyophilized: 1 mL of decoct was equivalent to 0.755 mg of dry matter.

Animals

Adult, 2- to 3-month-old, and young, 23- to 24-day-old, *Mus domesticus domesticus* CF1 mice were used. They were obtained from State Foundation of Production and Research in Health (Porto Alegre, RS, Brazil) and kept in the Department of Morphological Sciences of the Federal University of Rio Grande do Sul at 20-25ºC and a 12-h light/12-h dark cycle. The animals were fed with Nuvilab Cr 1Ò rat food (Nuvital, Colombo, PR, Brazil) and water ad libitum.

All procedures were performed in accordance with the ethical principles for animal research adopted by the Brazilian College of Animal Experimentation.

Dose and route of administration

The females of the treated groups received 4 mL/kg per day of decoct, thus 3 mg of dry matter per kg body weight. The control groups received the same dose of distilled water. The administration was oral, using a curved needle and a tuberculin syringe.

Abortive activity

The adult females received the decoct or the distilled water from the first to the third gestation day (gd) (pre-implantation period), from the fourth to the sixth gd (implantation period), or from the seventh to the ninth gd (post-implantation period, when organogenesis and placentation start). The first gd was the day on which the vaginal plug was observed. Each group contained 10 animals. The animals were weighed on the first gd, on the first day of administration, on the day after the last dose, and on the 18th gd, when they were killed by cervical dislocation. The ovaries were collected and weighed. Its corpora lutea (or albicans) were counted under a stereomicroscope. The uterus was opened for counting of live and dead fetuses, degenerated embryos and late reabsorptions. After it was incubed in 10% ammonium sulfide for 10 min for counting of implantation sites and early reabsorptions [14]. The placentae and the live fetuses were weighed. The fetuses were examined for external malformations and fixed either in Bouin´s fluid for posterior analysis of internal malformations [15] or in 95% ethanol for staining with alizarin red S [16] and identification of skeletal anomalies, observation of the skull plates and counting of metacarpals, metatarsals, sternebrae and xiphisternum, ribs, lumbar vertebrae, and sacral and caudal vertebrae.

Estrogenic activity

Sexually immature females received decoct or distilled water for three days (10 animals/group). If the vagina was opened, smears were taken and stained by Shorr's technique[17]. The females were weighed on the first day of administration and on the day after the last dose, when they were killed, and uteri were collected and weighed[18].

Statistical analysis

The body, organs and fetus´ weight and the number of corpora lutea, implantation sites and live fetuses were expressed as mean ± standard deviation and analyzed by Student's *t* test. The number of reabsorptions, degenerated embryos and dead fetuses, and the reproductive indices were expressed as median and interquartis range, and analyzed by Mann-Whitney U test. This test was also used to skeletal and teratological data[19-21]. A probability level of less than 5% was considered significant.

Results

Abortive activity

The effect of the *L. operculata* decoct on the body weight can be observed in Tables 1, 2 and 3. The females treated from the fourth to the sixth gd and from the seventh to the ninth gd did not gain weight during the period of administration, resulting a significant difference between the weight of the group treated from the fourth to the sixth dg and the respective control. The significant difference between the weight of the treated and control groups on the 18th gd in this experiment is due to three treated females without fetuses.

Table 1 - Effect of the L. operculata decoct administered from the first to the third gd on body weight.

Group	Body weight (g) 1st gd	4th gd	18th gd
Treated	30.29 ± 2.21	31.03 ± 2.19	50.03 ± 11.24
Control	30.16 ± 1.62	30.87 ± 1.85	55.85 ± 3.71

Table 2 - Effect of the L. operculata decoct administered from the fourth to the sixth gd on body weight.

Group	Body weight (g) 1st gd	4th gd	7th gd	18th gd
Treated	29.88 ± 1.23	31.09 ± 1.21	31.50 ± 1.24*	43.62 ± 9.75*
Control	30.87 ± 1.71	31.53 ± 1.93	33.35 ± 2.0	53.49 ± 4.25

* Significance relative to control: $p < 0.05$ by Student's *t* test

Table 3 - Effect of the L. operculata decoct administered from the seventh to the ninth gd on body weight.

Group	Body weight (g) 1st gd	4th gd	10th gd	18th gd
Treated	37.51 ± 3.44	39.56 ± 4.11	39.87 ± 5.05	57.08 ± 11.34
Control	37.75 ± 2.28	39.97 ± 2.08	41.51 ± 2.81	58.40 ± 8.25

The effect of *L. operculata* on the reproductive parameters and rates is shown in Tables 4 and 5. In spite of not being statistically significant there was a decrease in the number of implantation sites and live fetuses in the group treated from the fourth to the sixth gd. It was due to three females without implantation, and it caused a lower implantation rate and a significant decrease in the birth rate. It is noteworthy that a female of this group had 11 reabsorptions, and the four fetuses were in the same uterine horn. In the group with administration from the first to the third gd there was a female with implantation only in a uterine horn. It had four fetuses and two reabsorptions, but its ovaries presented 15 corpora lutea.

Ovary, placenta and fetus' weight are exhibited in Table 6. There was a significant difference between the ovary weight of the groups treated from the seventh to the ninth gd and control, but it probably does not have functional meaning.

About skeletal examination, in the group treated from the fourth to the sixth gd, of 35 analyzed fetuses, 11 presented a retarded bone development, with absence of ossification of the supraoccipital plate and delay in the ossification of the interparietal plate, metacarpals, metatarsals, sternebrae, and sacral and caudal vertebrae. But in the control group, of 55 analyzed fetuses, no one had this retarded growth.

Some malformations were observed in the group treated from the seventh to the ninth gd, the period when the organogenesis begins. An interesting find was a fetus very small, with 433 mg, exhibiting agnathia and exophthalmia. Two fetuses had cleft palate and one fetus had exencephaly, but these malformations were found also in the control groups.

Table 4 -Effect of the *L. operculata* decoct on reproductive parameters.

Group	Corpora lutea	Implantation sites	Reabsorptions	Degenerated/ dead fetuses	Live fetuses
Treated					
1st to 3rd gd	15.0 ± 2.49	12.7 ± 5.93	1 [0-2]	0 [0-0]	10.1 ± 6.66
4th to 6th gd	15.8 ± 2.04	10.0 ± 7.06	0.5 [0-3]	0 [0-0]	7.3 ± 6.13
7th to 9th gd	18.3 ± 1.49	13.9 ± 5.95	2 [0-3]	0 [0-0]	11.8 ± 5.35
Control					
1st to 3rd gd	16.7 ± 2.41	15.7 ± 2.0	1 [0-1]	0 [0-1]	14.2 ± 1.55
4th to 6th gd	15.2 ± 1.32	14.1 ± 2.13	2 [1-3]	0 [0-0]	11.9 ± 3.48
7th to 9th gd	17.4 ± 1.43	12.6 ± 5.44	1 [1-2]	0 [0-1]	11.0 ± 5.21

[a] Implantation rate = no. of implantation sites/no. of corpora lutea x 100;
[b] Reabsorption rate = no. of reabsorptions/no. of implantation sites x 100;
[c] Birth rate = no. of live fetuses/no. of corpora lutea x 100;
* Significance relative to control: p = 0.017 by Mann-Whitney U test.

Table 5 - Effect of the *L. operculata* decoct on reproductive rates

Group	Implantation rate[a] (%)	Reabsorption rate[b] (%)	Birth rate[c] (%)
Treated			
1st to 3rd gd	100 [81.8-100]	8.9 [0-23.5]	82.7 [26.7-93.3]
4th to 6th gd	79.5 [0-100]	3 [0-18.8]	51.0 [0-76.5]*
7th to 9th gd	85.7 [76.2-90]	14.2 [0-21.4]	73.0 [61.1-76.5]
Control			
1st to 3rd gd	97.2 [88.9-100]	6.7 [6.3-8.3]	86.7 [78.9-88.9]
4th to 6th gd	100 [93.3-100]	13.3 [5.6-30]	84.0 [60-94.4]
7th to 9th gd	85.4 [56.3-100]	7.7 [5.6-17.6]	75.8 [43.8-86.7]

[a] Implantation rate = no. of implantation sites/no. of corpora lutea x 100;
[b] Reabsorption rate = no. of reabsorptions/no. of implantation sites x 100;
[c] Birth rate = no. of live fetuses/no. of corpora lutea x 100;
* Significance relative to control: p = 0.017 by Mann-Whitney U test.

Table 6 - Effect of the *L. operculata* decoct on ovary, placenta and fetus' weight

Group	Ovary weight (mg)	Placenta weight (mg)	Fetus weight (mg)
Treated			
1st to 3rd gd	13.35 ± 2.46	98.58 ± 11.75	831.28 ± 65.50
4th to 6th gd	12.55 ± 1.69	103.46 ± 19.33	839.2 ± 156.16
7th to 9th gd	13.15 ± 1.78*	101.17 ± 10.97	859.66 ± 141.12
Control			
1st to 3rd gd	13.55 ± 2.54	100.08 ± 5.10	870.18 ± 115.75
4th to 6th gd	13.65 ± 2.0	105.32 ± 9.63	862.5 ± 103.81
7th to 9th gd	15.9 ± 2.53	103.57 ± 8.93	882.84 ± 104.39

* Significance relative to control: p = 0.011 by Student's *t* test.

Table 7 - Effect of the *L. operculata* decoct on corporal and uterine weight of immature females

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Uterine weight (mg)	Relative uterine weight (mg/100 g)
Treated	11.44 ± 3.02	13.83 ± 2.92*	11.30 ± 3.68	81.19 ± 19.34
Control	11.40 ± 3.21	14.41 ± 3.65*	12.30 ± 4.0	84.68 ± 20.45

*Significance relative to initial body weight: p < 0.05 by Student's *t* test.

Estrogenic activity

The decoct did not induce neither a premature opening of the vagina, nor a uterotrophic effect (Table 7).

Discussion

There are reports about adverse effects by *L. operculata*, such as nausea and vomiting. In this study, toxicity is also suggested because the gain weight was impaired in some animals, principally when treated from the fourth to the sixth gd. In this group of administration, some females had few or no fetus, reducing significantly the birth rate. As implantation occur in this period, *L. operculata* probably affected this process. This result was not due to an estrogenic action because the decoct was not uterotrophic.

Various species of Cucurbitaceae possess abortive properties. *Lagenaria breviflora* Robert fruit, used as an abortifacient in Nigeria, demonstrated antiimplantation and oxytocic activities[5,9]. The aqueous extract of *Luffa cylindrica* M. Roem promoved also contrations of the rat isolated uterus[3], and proteins from its seeds inhibited the biosynthetic activity of implanting embryos and endometrial cells[11]. The aqueous extract of *Momordica angustisepala* L. root produced contractions on guinea pig isolated uterus[6].

β-momorcharin, a glycoprotein found in the seeds of *Momordica charantia* L., injected intraperitoneally to mice on the fourth gd and on the sixth gd, resulted 60% of females without implants. When injected on day 8 of pregnancy, it had not significant effect. In vitro studies showed that the protein disturbed peri-implantation development by blocking the hatching of embryos from the zona pellucida, decreasing the attachment of the blastocyst, reducing the trophoblast outgrowth, disrupting the development of inner cell mass, and suppressing the decidual response. An interaction of the unfavourable uterine environment with poorly developing embryos might be the cause of the termination of early pregnancy by this substance[7,8]. These mechanisms might also be responsible by antiimplantation effect of *L. operculata*.

Other important findings were delayed ossification in fetuses which females received the decoct in the implantation period, and the small fetus with facial anomaly and exophthalmia from the group treated in the early organogenic period. Luffin-c, a protein isolated from *Luffa aegyptiaca* seeds, affected the development of mouse embryos in culture. About 40% of the embryos did not have an active yolk sac circulation and most of the abnormal embryos had a shorter body length[13]. Momorcharins were teratogenic to the cultured mouse embryos at the early organogenesis stage. Morphological abnormalities were seen in the head, trunk

and limbs. Growth of the embryos was also retarded. The retarded growth was related to an inhibitory action on protein synthesis in the embryonic tissue and the yolk sac[10].

In conclusion, *L. operculata* might be abortive by an antiimplantation effect, which is not caused by an estrogenic activity. Furthermore, it impaired fetal growth.

Acknowledgments

The authors thank Dr Grace Gosmann from the Faculty of Pharmacy at the Federal University of Rio Grande do Sul for use of evaporator and lyophilizer. Sofia Louise Santin Barilli received a fellowship research Grant from Federal University of Rio Grande do Sul.

Resumo

Objetivos: O decocto concentrado de *Luffa operculata* (buchinha-do-norte) é tomado como um abortivo. Este estudo tem como objetivo verificar seu efeito sobre a gestação e identificar atividades estrogênica e teratogênica.

Material e métodos: O decocto dos frutos (4mL/kg/dia) foi administrado oralmente a camundongas do primeiro ao terceiro dia de gestação – período pré-implantação, do quarto ao sexto dia de gestação – período da implantação, e do sétimo ao nono dia de gestação, quando inicia a placentação e a organogênese. As fêmeas foram sacrificadas no 18° dia de gestação. O número de corpos lúteos, sítios de implantação, reabsorções e fetos foram registrados. Os fetos foram pesados e examinados para malformações e anomalias esqueléticas. Para avaliar uma atividade estrogênica por *L. operculata*, fêmeas imaturas sexualmente receberam o decocto por três dias, e o útero foi coletado e pesado.

Resultados: Houve uma redução significativa no índice de natalidade quando a administração foi do quarto ao sexto dia de gestação, sugerindo um efeito antiimplantação. Neste mesmo grupo, muitos fetos apresentaram um desenvolvimento ósseo retardado. O decocto não teve um efeito uterotrófico.

Conclusões: *L. operculata* pode ser abortiva por um efeito antiimplantação, que não foi causado por atividade estrogênica. Além disso, ela prejudicou o crescimento fetal.

UNITERMOS:: *Luffa operculata*; Cucurbitaceae; plant medicinal; agente abortivo; gestação; camundongo.

References

1. Schenkel EP, Zannin M, Mentz LA, Bordignon SA de L, Irgang B. Plantas tóxicas. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP de, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2nd ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2000. p. 755-88.
2. Schvartzman L, Abeche AM. Abortivos. In: Sanseverino MT, Spritzer DT, Schüler-Faccini L. Manual de Teratogênese. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001. p. 261-73.
3. Feng PC, Haynes LJ, Magnus KE, Plimmer JR. Further pharmacological screening of some West Indian medicinal plants. J Pharm Pharmacol 1964;16:115-7.
4. Saksena SK, Chang MC, Lau IF. Termination of pregnancy in rabbit and mouse by trichosanthin. Contraception 1979;20:367-76.
5. Ojewole JAO, Elujoba AA. Preliminary investigation of the oxytocic action of an aqueous extract of *Lagenaria breviflora* fruit. Int J Crude Drug Res 1982;20:157-63.
6. Aguwa CN, Mittal GC. Abortifacient effects of the roots of *Momordica angustisepala*. J Ethnopharmacol 1983;7:169-73.
7. Chan WY, Tam PPL, Yeung HW. The termination of early pregnancy in the mouse by b-momorcharin. Contraception 1984;29:91-100.
8. Chan WY, Tam PPL, So KC, Yeung HW. The inhibitory effects of b-momorcharin on endometrial cells in the mouse. Contraception 1985;31:83-90.
9. Elujoba AA, Olagbende SO, Adesina SK. Anti-implantation activity of the fruit of *Lagenaria breviflora* Robert. J Ethnoparmacol 1985;13:281-8.
10. Chan WY, Tam PPL, Choi HL, Ng TB, Yeung HW. Effects of momorcharins on the mouse embryo at the early organogenesis stage. Contraception 1986;34:537-44.
11. Ng TB, Wong RNS, Yeung HW. Two proteins with ribosome-inactivating, cytotoxic and abortifacient activities from seeds of *Luffa cylindrica* Roem (Cucurbitaceae). Bioch Int 1992;27:197-207.
12. Ng TB, Chan WY, Yeung HW. Proteins with abortifacient, ribosome inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti-AIDS activities from Cucurbitaceae plants. Gen Pharmac 1992;23:575-90.
13. Ng TB, Chan WY, Yeung HW. The ribosome-inactivating, antiproliferative and teratogenic activities and immunoreactivities of a protein from seeds of *Luffa aegyptiaca* (Cucurbitaceae). Gen Pharmac 1993;24:655-8.
14. Salewski E. Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. Archiv Pathol Pharmakol 1964;247:367.
15. Barrow MV, Taylor WJ. A rapid method for detecting malformations in rat fetuses. J Morph 1969;127:291-306.
16. Dawson AB. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. Stain Techn 1926;1:123-4.
17. Shorr E. A new technique for staining vaginal smears: III, a differential stain. Science 1941;94:545-6.
18. Rubin BL, Dorfman AS, Black L, Dorfman RI. Bioassay of estrogens using the mouse uterine response. Endocrinology 1951;49:429-39.
19. Weil CS. Selection of the valid number of sampling units and a consideration of their combination in toxicological studies involving reproduction, teratogenesis or carcinogenesis. Fd Cosmet Toxicol 1970;8:177-82.
20. McCaughran DA, Arnold DW. Statistical models for numbers of implantation sites and embryonic deaths in mice. Toxicol Applied Pharmacol 1976;38:325-33.
21. Manson JM, Zenick H, Costlow RD. Teratology test methods for laboratory animals. In: Hayes AW. Principles and methods of Toxicology. New York: Raven Press, 1982. p. 141-84.

Ausência de resposta à estimulação ovariana para técnicas de reprodução assistida

Non-response to ovarian stimulation for assisted reproductive techniques

Artur Dzik[1], Leonardo O. Mendonça[1], Fúlvia E.P. Fechine[1], Danilo K. Morimoto[1], Rapahaella B. Silveira[1], Fabíola D.L. Ribeiro[1], Gilberto da Costa Freitas[1], Jonathas Borges Soares[1], Mario Cavagna[1,2]

Artur Dzik

O Dr. Artur Dzik é Mestre e Doutor em Ginecologia e Obstetrícia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Especializou-se em Medicina Reprodutiva no Serviço de Medicina da Reprodução do Hospital Antoine Béclère, em Clamart, França. Atualmente é Secretário Geral da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana – SBRH- e Diretor do Núcleo de Esterilidade Conjugal do Centro de Referência da Saúde da Mulher – Hospital Pérola Byington, em São Paulo.

RESUMO

Foram avaliados retrospectivamente 476 ciclos de TRA, em 476 mulheres eumenorreicas e com dosagem de FSH basal ≤ 15 UI/mL. Em 476 ciclos, houve 33 cancelamentos (6,9%) por ausência de resposta (nenhum folículo > 10 mm). Todas as pacientes foram submetidas de 7 a 10 dias de estimulação ovariana antes do cancelamento. Nossos resultados mostraram que 6,9% de pacientes submetidas a TRA não apresentam resposta à estimulação ovariana com gonadotropinas.

UNITERMOS: más respondedoras, estimulação ovariana, reprodução assistida

Introdução

Há ausência de consenso, na literature médica, sobre a definição de má resposta ovariana. A definição que pode ser considerada original, porque pioneira, é a de Garcia, de 1983, que considera má resposta um pico de E2 < 300 pg/ml após estimulação ovariana com 150 UI diárias de gonadotropinas da pós-menopausa (hMG)[1]. Outros autores consideram níveis de E2 < 500 pg/ml, e menos de 4 folículos dominantes no dia da administração da gonadotropina coriônica humana (hCG)[2]. A incidência é diferente de acordo com diversos centros de reprodução assistida, podendo variar de 9 a 24%[3]. Em nosso serviço, damos importância às chamadas "não respondedoras", que definimos como as mulheres que após pelo menos 7 dias de stimulação ovariana, não apresentam folículos > 12 mm. O presente estudo tem como objetivo verificar a incidência e caracterizar as pacientes não respondedoras aos protocolos de estimulação ovariana com gonadotropinas para técnicas de reprodução assistida (TRA).

Material e Método

Foram avaliados retrospectivamente 476 ciclos de TRA, em 476 mulheres eumenorreicas e com dosagem de FSH basal ≤ 15 UI/mL, no período de 2003 a 2006, em nosso serviço público de reprodução assistida. As pacientes foram submetidas a estimulação ovariana com o protocolo longo de supressão hipofisária com agonista do GnRH, através da administração de acetato de leuprolide, 3,75 mg por via intramuscular, entre o 18º e o 22º dias do ciclo anterior. Após instalado o bloqueio, a estimulação ovariana foi realizada com gonadotropinas da mulher menopausada (hMG) ou FSH recombinante, em administração diária variando de 150 a 300 UI. Após cinco dias de administração das gonadotropinas, iniciou-se o controle ultra-sonográfico por via transvaginal.

[1] Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington – São Paulo
[2] Programa de pós-graduação em Saúde Materno-Infantil da Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro, São Paulo.
Correspondência para:
Artur Dzik
Av. Brigadeiro Luis Antonio, 683
01317-000 – São Paulo - SP

Todas as pacientes foram estimuladas por no mínimo 7 dias antes do cancelamento, que foi indicado no caso de total ausência de resposta à estimulação farmacológica dos ovários, caracterizada pela não visibilização de folículos > 12mm ao exame ecográfico.

Resultados

Em 476 ciclos, houve 33 cancelamentos (6,9%) por ausência de resposta (nenhum folículo > 12 mm). A idade das pacientes não respondedoras variou de 28 a 42 anos (média±desvio padrão:35,1±3,51 anos). As indicações para o tratamento foram: fator tubáreo, 20 pacientes; endometriose, 9 pacientes; fator masculino, 4 pacientes. Das 33 pacientes, 27 apresentavam infertilidade primária (81,8%) e 6 infertilidade secundária (18,2%). As concentrações médias de FSH basal foram 7,54±3,34 UI/mL. Todas as pacientes foram submetidas de 7 a 10 dias de estimulação ovariana antes do cancelamento (média: 8,48±1,33 dias), com gonadotropinas urinárias ou recombinantes, em esquema de bloqueio longo com agonista do GnRH. As doses de gonadotropinas utilizadas variaram de 150 a 300 UI diárias, e a média por ciclo foi de 1854± 631 UI.

Discussão

Nossos resultados mostraram que 6,9% de pacientes submetidas a TRA não apresentaram resposta à estimulação ovariana com gonadotropinas. Nesse grupo de pacientes, fatores como a idade, regularidade menstrual e dosagem de FSH não foram suficientes para prever a ausência de resposta. Tal observação está de acordo com Fahri et al.[4] que, além de considerar que os níveis basais normais de FSH não são preditores de boa resposta, afirmam que as mulheres que não respondem à estimulação ovariana são de maior risco para desenvolver falência ovariana dentro de breve período. Desse modo, consideramos que outros métodos de avaliação da reserva ovariana devem ser utilizados para melhor caracterizar o grupo de não respondedoras. Em nosso serviço, damos particular importância ao grupo de pacientes que não apresentam qualquer resposta à estimulação farmacológica dos ovários. Tratando-se de um hospital público com grande lista de espera para o tratamento com reprodução assistida, preferimos levar à punção folicular todas as mulheres que tenham pelo menos um folículo pré-ovulatório, independentemente da quantidade de gonadotropinas empregada. Isso significa que, mesmo em mulheres com resposta muito pobre, que apresentam um ou dois folículos após receberem grandes quantidades de gonadotropinas exógenas, a punção folicular é realizada. Portanto, o cancelamento é indicado apenas nos casos em que não se observam quaisquer folículos que possam ser puncionados. Em nossa casuística, chamamos atenção para o fato de que mais de 80% das pacientes que tiveram seus ciclos cancelados apresentavam infertilidade primária, podendo sugerir que essas mulheres tenham alterações gonadais primárias que justifiquem a infertilidade e a ausência de resposta à estimulação ovariana, mesmo com níveis basais de FSH considerados dentro dos limites da normalidade. Na época do levantamento dos ciclos cancelados, permitíamos a inclusão, no programa de reprodução assistida, de pacientes com concentrações basais de FSH ≤ 15 UI/mL; atualmente, após criteriosa revisão dos resultados dos ciclos de TRA em nosso serviço, reduzimos os valores basais de FSH para ≤ 10 UI/mL; duas medidas acima desse valor de corte representam contra-indicação para o tratamento com os próprios oócitos, sendo indicada a ovodoação.

Em conclusão, nossa casuística apresenta uma incidência de 6,9% de pacientes que não respondem à estimulação farmacológica dos ovários, mesmo com níveis basais de FSH considerados dentro dos limites de normalidade. Atualmente, avaliamos também a contagem de folículos antrais antes da estimulação. Esse recurso, em conjunto com o FSH basal, poderá proporcionar maior acurácia na avaliação das pacientes com resposta inadequada à estimulação ovariana para TRA, como descrito por diversas investigações que visam ao diagnóstico da reserva ovariana[5-8]. Ressaltamos que a má resposta à estimulação ovariana continua sendo um dos principais desafios na busca de melhores resultados com as técnicas de reprodução assistida; a detecção e a avaliação do prognóstico reprodutivo das mulheres más respondedoras é de fundamental importância na escolha do tratamento e eventual indicação de ovodoação.

Abstract

We evaluated retrospectively 476 ART cycles in 476 eumenorrheic women with FSH concentrations ≤ 15 /mL. We observed 33 cycles cancelled for non response (no follicles > 10 mm). All patients were submitted to 7-10 days of ovarian stimulation prior to cancellation of the cycle. Our data showed that 6.9% of the patients undergoing ART procedures did not respond to ovarian stimulation with gonadotrophins.

UNITERMS: poor responders, ovarian stimulation, assisted reproduction.

Referências bibliográficas

1. Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G Jr. Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase II, 1981. Fertil Steril. 1983;39(2):174-9.
2. Karande V, Gleicher N. A rational approach to the management of low responders in in-vitro fertilization. Hum Reprod. 1999;14(7):1744-8.
3. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. Br J Obstet Gynaecol. 1997;104(5):521-7.
4. Farhi J, Homburg R, Ferber A, Orvieto R, Ben Rafael Z. Non-response to ovarian stimulation in

normogonadotrophic, normogonadal women: a clinical sign of impending onset of ovarian failure pre-empting the rise in basal follicle stimulating hormone levels. Hum Reprod. 1997;12(2):241-3.

5. Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, Gal M, Zylber-Haran E, Margalioth EJ. Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. Hum Reprod. 2005;20(11):3178-83.

6. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? BJOG. 2005;112(10):1384-90.

7. Vladimirov IK, Tacheva DM, Kalinov KB, Ivanova AV, Blagoeva VD. Prognostic value of some ovarian reserve tests in poor responders. Arch Gynecol Obstet. 2005;272(1):74-9.

8. McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. Hum Reprod. 2007;22(3):778-85.

Instruções aos autores

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 pra 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. 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. 2nd 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.

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
sbrh@terra.com.br
Tel.: 11 5055-6494 / 5055-2438

Informações para prescrição:
Nome do produto: Propess® 10 mg, sistema de liberação controlada vaginal. **Forma Farmacêutica:** Pessário removível que libera aproximadamente 0,3 mg de dinoprostona (prostaglandina E_2) 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_2 para a mãe; antes da infusão intravenosa de ocitocina. **Contra-indicações:** PROPESS® 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. Medicações antiinflamatórias não-esteroidais devem ser interrompidas antes da administração. Remover o pessário se as contrações uterinas forem excessivas. Recomenda-se remover o pessário PROPESS®, 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_2 não for removida antes da administração de ocitocina, náusea, vômito e diarréia. **Armazenamento:** Armazenar em freezer (-10 a –20ºC). **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_2 in a controlled-release vaginal pessary for cervica l 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_2 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_2 Insert Study Group. Improved intravaginal controlled-release prostaglandin E_2 insert for cervical ripening at term. *J Matern Fetal Med*, 1996; 5: 64-69. **4.**Hartman, A.D. A retrospective sstudy of the long-term effects of PGE_2 on children born of mothers treated with PGE administered in a hydrogel pessary of Witepsol pessary compared to control patients not receiving PGE_2 patients undergoing elective Caeserean section and tpatinets induced with Syntocinon (oxytocin). Clinical trail 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_2 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 outpatinet settings. *J Perinat Med*; 2005; 33: 491-499.

PP02/0906

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