Reprodução Climatério

Volume 26 • Número 2 Abril/Junho 2011

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana Sociedade Brasileira do Climatério Sociedade Brasileira de Ginecologia Endócrina









PROMOVE O ALÍVIO DOS SINTOMAS VASOMOTORES DO CLIMATÉRIO 2 Trifolium pratense L.

O TRATAMENTO MEDICAMENTOSO NÃO HORMONAL É INDICADO PARA MULHERES:

- COM RESPOSTA INSATISFATÓRIA NA TH
- **COM REAÇÕES ADVERSAS NA TH**
- **OUF NÃO DESEJAM A TH**
- COM CONTRAINDICAÇÃO A TH

Apresentação: embalagem contendo 30 comprimidos revestidos de 100 mg de Trifolium pratense L. (extrato seco a 40%) que fornece 40 mg de isoflavonas.





Posologia: 1 comprimido uma vez ao dia.

Promensil® (Trifolium pratense L.). Apresentação: comprimido revestido - embalagem contendo 30 comprimidos. Indicação: Promensil® é um fitomedicamento que atua no alívio dos sintomas vasomotores da menopausa. Contraindicações: uso em lactantes, grávidas e pacientes com hipersensibilidade a qualquer um dos componentes da fórmula. Interações medicamentosas: o uso concomitante com tamoxifeno pode causar diminuição da eficácia do tamoxifeno e com anticoagulantes, agentes trombolíticos e heparina de baixo peso molecular pode causar aumento de sangramento. Além disso, a associação com contraceptivos, contendo estrogênio, pode alterar a eficácia contraceptiva, por inibição competitiva da isoflavona. Reações adversas: alterações gastrointestinais como dor de estômago, enjoos e diarreia; leve sangramento gengival ou nasal ou reações de hipersensibilidade, como erupção, urticária e coceira na pele. Posologia: tomar um comprimido de 100 mg (40 mg isoflavonas totais) uma vez ao dia, via oral. A dose pode ser ajustada de acordo com a avaliação médica dos sintomas clínicos. M.S: 1.0390.0179 Farmoquímica S/A. CNPJ 33.349.473/0001-58. VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA. SAC 08000 25 01 10. Para ver o texto de bula na íntegra, acesse o site www.fqm.com.br.

Referências Bibliográficas: (1) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Manual de atenção a mulher no climatério e menopausa. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 192p. (2) Bula do produto.

CONTRAINDICAÇÕES: USO EM LACTANTES, GRÁVIDAS E PACIENTES COM HIPERSENSIBILIDADE A QUALQUER UM DOS COMPONENTES DA FÓRMULA. **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS:** O USO CONCOMITANTE COM ANTICOAGULANTES, AGENTES TROMBOLÍTICOS E HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR PODE CAUSAR AUMENTO DE SANGRAMENTO, E COM TAMOXIFENO E CONTRACEPTIVOS COM ESTROGÊNIO PODE REDUZIR A EFICÁCIA.





Compromisso com o tratamento da infertilidade



A **MSD**, uma nova empresa resultante da união de duas companhias farmacêuticas tradicionais, a Schering-Plough e a Merck Sharp & Dohme, é líder mundial em tratamentos para a Saúde da Mulher.

Os esforços em pesquisa de novos medicamentos na área da fertilidade reforçam nosso compromisso de ajudar as mulheres a realizar o sonho de ser mãe: celebramos o nascimento de mais de 1.000.000 de crianças com os nossos produtos.





NOVIDADE!

Seu novo ambiente de Atualização, Consulta e Debate Científico





- Artigos Científicos
- Artigos Comentados
- Aulas livres
- Casos Clínicos
- Entrevistas
- Eventos

Apoio

Elaborados por renomados especialistas em Reprodução Assistida.

Um portal interativo onde você pode emitir sua opinião, enviar materiais científicos e debater com os colegas.



Participe!

www.portaldafertilidade.com.br







São Paulo - Brasil - PABX - 55 11 70.060.021 - F/003/Dez/10



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 **Editores Associados** Eduardo Pandolfi Passos Mario Cavagna

João Sabino Pinho Neto Co-editor Paulo Spinola

Editores Anteriores

Leopoldo de Oliveira Tso

Araken Irerê Pinto Nelson Vitielo Newton Eduardo Busso Dirceu Mendes Pereira Nilson Donadio Marcos Felipe Silva de Sá Edmund Chada Baracat Nilson Roberto de Melo Rui Alberto Ferriani

Conselho Editorial

Aarão Mendes Pinto Neto, Campinas, SP Lucas Vianna Machado, Belo Horizonte, MG Alberto Soares Pereira Filho, Rio de Janeiro, RJ Marco Aurélio Albernaz, Goiânia, GO Alkindar Soares, Rio de Janeiro, RJ Marcos Felipe Silva de Sá, Ribeirão Preto, SP Almir Antonio Urbanetz, Curitiba, PR Maria Celeste Osório Wender, Porto Alegre, RS Álvaro Petracco, Porto Alegre, RS Maria Yolanda Makuch, Campinas, SP Anaglória Pontes, Botucatu, SP Mario Cavagna, São Paulo, SP

Angela Maggio da Fonseca, São Paulo, SP Marta Finotti, Goiânia, GO

Aroldo Fernando Camargos, Belo Horizonte, MG Maurício Simões Abrão, São Paulo, SP Artur Dzik, São Paulo, SP Newton Eduardo Busso, São Paulo, SP César Eduardo Fernandes, São Paulo, SP Nilson Roberto de Melo, São Paulo, SP Edmund Chada Baracat, São Paulo, SP Polimara Spritzer, Porto Alegre, RS

Elsimar Metzer Coutinho, Salvador, BA Ricardo Baruffi, Ribeirão Preto, SP Fernando Freitas, Porto Alegre, RS Ricardo Melo Marinho, Belo Horizonte, MG Gilberto Costa Freitas, São Paulo, SP Rogério Bonassi Machado, São Paulo, SP

Hans Wolfgang Halbe, São Paulo, SP Ronald Bossemeyer, Santa Maria, RS Hugo Maia Filho, Salvador, BA Rosaly Rulli Costa, Brasília, DF

João Carlos Mantese, São Paulo, SP Rui Alberto Ferriani, Ribeirão Preto, SP José Carlos de Lima, Recife, PE Sebastião Freitas de Medeiros, Cuiabá, MT

José Mendes Aldrighi, São Paulo, SP Selmo Geber, Belo Horizonte, MG

Conselho Editorial Internacional

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

Diagramação, revisão e projeto gráfico

Juliano Augusto Brum Scheffer, Belo Horizonte, MG

Zeppelini Editorial Ltda. Rua Bela Cintra, 178 - Cerqueira César - São Paulo/SP - CEP 01415-000 Tel.(11)2978-6686 www.zeppelini.com.br



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

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

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

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

Diretoria Biênio 2011-2012

Presidente

Artur Dzik

1º Vice-Presidente

Dirceu Henrique Mendes Pereira

2º Vice-Presidente

Cláudio Barros Leal Ribeiro

Secretário Executivo

João Pedro Junqueira Caetano

Secretário Adjunto

Vinicius Medina Lopes

Tesoureiro Geral

Gilberto da Costa Freitas

Tesoureiro Adjunto

Adriana Cristine Arent

Diretor Científico

Waldemar Naves do Amaral

Presidente do Conselho de Delegados

Luiz Augusto Antonio Batista

DELEGADOS SBRH - BIÊNIO 2011/2012

AC - Julio Eduardo Gomes Pereira

AL - Marco Antonio Torres Cavalcanti

AP - Carlos Glenny Valente Pó

AM - Marcel Heibel

BA - Genevieve Marina Coelho

CE - Sebastião Evangelista Torquato Filho

DF - Frederico José Silva Correa

ES - Jules White Soares Sousa

GO - Zelma Bernardes Costa

MA - Palmério de Brito Pacheco

MT - José Aldair Kotecki

MS - Suely de Souza Resende

MG - Rivia Mara Lamaita

PA - Arivaldo José Conceição Meireles

PB - Eduardo Borges da Fonseca

PR - Vivian Ferreira do Amaral

PE - Altina Castelo Branco Almeida Barros

PI - André Luiz Eigenheer da Costa

RJ - Isaac Moise Yadid

RN - Sonia Maria de Medeiros Barreto

RS - Isabel Cristina Amaral de Almeida

RO - José Hiran da Silva Gallo

RR - Tomas Segundo Espinosa Hurtado

SC - Kazue Harada Ribeiro

SP (interior) - Paula Andrea de Albuquerque S. Navarro

SÃO PAULO (capital) - Nilka Fernandes Donadio

SE - George Hamilton Caldas Silveira

TO - Alessandra Schiavinato Bianchini Daud

preliminares

Índice

	Editorial
38	Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH) Editorial do XXV Congresso Brasileiro de Reprodução Humana
	Revisão da literatura
39	Ação das isoflavonas no estresse oxidativo na pós-menopausa da mulher Effect of isoflavones on oxidative stress in postmenopausal woman Adriana Aparecida Ferraz Carbonel, Ricardo Santos Simões, Maria Cândida Pinheiro Baracat, Regiane HelenaBarros Rabelo, Miriam Aparecida dos Santos, José Maria Soares Junior
44	Mecanismo de ação da anticoncepção de emergência Emergency contraception action mechanism Jefferson Drezett, Luiz Carlos de Abreu, Flavia Cella Kurobe, Daniela Pedroso, Jaqueline da Silva Neves, Mayara Santos Montino, Renata Cavalcante Lima
	Estudo clínico retrospectivo
52	Obstrução tubária em mulheres com imunofluorescência indireta positiva para clamídia Tubal occlusion in women with indirect positive immunofluorescence for chlamydia Mônica Canêdo Silva Maia, Mário Silva Approbato, Rodopiano de Souza Florêncio, Tatiana Moreira da Silva, Fabiana Carmo Approbato
57	Meiotic spindle of in vivo matured oocytes from infertile women with endometriosis: preliminary data Fuso meiótico de oócitos maturados in vivo de mulheres inférteis com endometriose: dados

Luciana Azor Dib, Maria Cristina Picinato Medeiros Araújo, Roberta Cristina Giorgenon, Gustavo Salata Romão, Rui Alberto Ferriani, Paula Andrea Navarro

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 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH), aos cuidados do editor, exclusivamente por correio eletrônico (sbrh@terra.com.br). Eles devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo entre as linhas 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 següência:

Página de rosto: título do trabalho em português e inglês (o título não deverá ser colocado em negrito ou caixa alta); título conciso (de duas a quatro palavras, para constar no alto da página); nome completo dos autores; nome da(s) instituição(s) onde o trabalho foi desenvolvido; nome, endereco e e-mail do autor para correspondência.

Resumo: deverá conter, no máximo, 200 palavras e, no caso de artigos originais, apresentar Objetivo, Material e métodos, Resultados, Conclusões e Unitermos. Evitar abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso (duas ou três 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 fiel do inglês do texto do Resumo, acompanhado de Uniterms.

Texto do trabalho: se for um artigo original, deverá obrigatoriamente conter Introdução, Material e métodos, Resultados, Discussão e Referências bibliográficas; outros tipos de artigo podem apresentar estrutura variável. 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 devem ser colocados traços verticais, e os traços horizontais são limitados a um acima da tabela e um ao final. Figuras e Gráficos devem ser limitados ao estritamente necessário e também serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, Figuras e Gráficos devem ser enviados em páginas separadas.

Referências bibliográficas: 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 se houver mais de seis, quando os seis primeiros são seguidos pela expressão latina "et al". Observe alguns exemplos de citações:

Artigos em periódicos:

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(1):47-52.

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(1-2):40-6.

Volume com suplemento:

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

Livros

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

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.

Material eletrônico:

Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Atlas de mortalidade por câncer no Brasil 1979-1999 [Internet]. Brasília (DF): INCA; c2003. [citado 2008 Mai 16]. Disponível em: http://www.inca.gov.br/atlas/docs/represent_espac_UTERO.pdf

Cabar FR, Nomura RMY, Costa LCV, Alves EA, Zugaib M. Cesárea prévia como fator de risco para o descolamento prematuro da placenta. Rev Bras Ginecol Obstet. [periódico na Internet]. 2004 Out [citado 2005 Mar 19]; 26(9):[cerca de 15 p.]. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032004000900006 &lng=pt&nrm=iso&tlng=pt

Kremer LCM, Caron HN. Anthracycline cardiotoxicity in children [perspective]. N Engl J Med [serial on the Internet]. 2004 Jul [cited 2004 Sep 29];351(2):[about 2 p.]. Available from: http://gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cgi

Cartas e editoriais:

Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. Fertil Steril. 1991;55:1203-4. Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J. 1994;84:15.

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

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH)

Editorial do XXV Congresso Brasileiro de Reprodução Humana

de Hipócrates.

A ciência representa a verdade pura da investigação frente ao conhecimento, sendo que a arte representa a nobreza espetacular de qualquer atividade ou evento.

A Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH), com o dever de promover a defesa científica e profissional daquele que pratica medicina reprodutiva, estará realizando o XXV Congresso Brasileiro de Reprodução Humana, de 15 a 17 de novembro de 2012, no Centro de Convenções Frei Caneca, em São Paulo.

Na vertente da defesa profissional, a SBRH tem trabalhado junto às entidades médicas nacionais, especialmente ao Conselho Federal de Medicina (CFM), para normatizar as ações de prestação de serviços em reprodução humana. Dessa forma, avança no sentido de trazer proteção ao trabalho médico e aos profissionais de saúde envolvidos nos eventos assistidos da reprodução, com o intuito de ser a nossa tenda de trabalho.

Na vertente científica, além de ter uma revista qualificada na produção científica e de vários livros-textos direcionados ao associado, a SBRH já estabeleceu, por meio da comissão científica, a melhor programação para esse nosso grande encontro de novembro, o que demonstra que a ciência é o nosso norte.

Queremos a sua presença incondicional nesse congresso, que é o maior da America Latina no ano da reprodução humana, para fazermos com que a SBRH permaneça acontecendo de forma vibrante em nossa vida, como "arte e ciência" em conformidade com o entendimento Hipocrático.

Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral*

^{*} Professor adjunto III do Depto. de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás (UFG); Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana; Mestrado e Doutorado em Doenças Infecto-Parasitárias em Ginecologia e Obstetrícia; Presidente Nacional da Sociedade Brasileira de Ultrassonografia.

Ação das isoflavonas no estresse oxidativo na pós-menopausa da mulher

Effect of isoflavones on oxidative stress in postmenopausal woman

Adriana Aparecida Ferraz Carbonel¹, Ricardo Santos Simões², Maria Cândida Pinheiro Baracat³, Regiane Helena Barros Rabelo⁴, Miriam Aparecida dos Santos¹, José Maria Soares Junior⁵



Adriana Aparecida Ferraz Carbonel é aluna de Doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM). Projeto FAPESP. Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM). Graduada em Fisioterapia (FCNM). Vencedora do Prêmio Jovem Pesquisador - 2009 NAMS-New Investigator Awards - The North American Menopause Society. Tem experiência na área de Morfologia e Ginecologia, com ênfase nos seguintes temas: saúde da mulher, climatério, reprodutor feminino e hormônios sexuais.

Resumo

O presente trabalho apresenta uma revisão bibliográfica da ação das isoflavonas como agentes antioxidantes. Refere que a geração de radicais reativos ao oxigênio dentro da célula faz parte do metabolismo celular, o que culmina no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidantes para a retirada desses radicais. Inúmeros trabalhos referem que os asiáticos apresentam menor índice de tumores mamários, de endométrio e de próstata, o que pode estar correlacionado com o mecanismo da ação das isoflavonas, tanto como moduladores seletivos dos receptores hormonais (SERMs) quanto por sua ação antioxidante. No entanto, procuramos chamar a atenção para sua ação antioxidante.

Unitermos: Isoflavonas; Alimentos derivados da soja; Genisteína; Antioxidantes; Estresse oxidativo.

Abstract

This paper presents a brief review of the action of isoflavones as antioxidants. Being the generation of free radicals within the cell a part of the cell metabolism, evolution predictably developed efficient antioxidant defense mechanisms to remove these radicals. Numerous studies report that Asians have lower rates of breast tumors, endometrial and prostate, a fact which could be postulated to correlate with the moderate to high daily intake of isoflavones-containing foods by these human groups. The effects of isoflavones significantly lowering cancer rates can be accounted for not only by their antioxidant action but by their action as selective hormone receptor modulators (SERMs) as well. This review focuses on the antioxidant action of isoflavones.

Uniterms: Isoflavones; Soy foods; Genistein; Antioxidants; Oxidative Stress.

Trabalho realizado no Departamento de Morfología e Genética da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Mestre em Ciências da Saúde e Doutoranda do Departamento de Morfologia e Genética da UNIFESP-EPM – São Paulo (SP), Brasil

² Médico Assistente do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP) e Doutorando da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMU-USP) – São Paulo (SP), Brasil.

³ Médica Residente de Obstetrícia e Ginecologia da FMU-USP – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Pós-graduanda do Departamento de Ginecologia da UNIFESP-EPM – São Paulo (SP), Brasil.

⁵ Professor Associado e Livre docente do Departamento de Ginecologia da UNIFESP-EPM – São Paulo (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Adriana Aparecida Ferraz Carbonel – Rua Botucatu 740, Disciplina de Histologia e Biologia Estrutural – CEP 04023-009 – São Paulo (SP), Brasil – E-mail: adricarbonellfisio@hotmail.com

Introdução

A geração de radicais livres constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico resultante de funções biológicas do metabolismo normal. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações químicas. Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de energia (ATP), por meio da cadeia transportadora de elétrons; e participam dos vários mecanismos biológicos, tais como: ativação de genes e de mecanismos de defesa durante o processo de infecção¹.

Porém, a produção excessiva desses radicais pode conduzir a danos oxidativos¹, de tal maneira que culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidantes. Esses mecanismos têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais radicais (espécies reativas de oxigênio) e controlar a ocorrência de possíveis danos^{1,2}.

A existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes (espécies reativas ao oxigênio – ROS) e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade da remoção destes, induz a instalação de um processo denominado de estresse oxidativo. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o potencial dano oxidativo das células e tecidos³. A cronicidade do processo em questão tem relevantes implicações sobre o processo etiológico de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis, entre elas a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer⁴.

Ferrari⁵, em estudo de revisão, ratifica que a geração de radicais livres desencadeia eventos patológicos que, por sua vez, estão envolvidos nos processos cardiovasculares, carcinogênicos e neurodegenerativos.

Deve ser salientado que o sistema de defesa antioxidante tem o objetivo primordial de manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos e passíveis de regulação, impedindo que os danos oxidativos se amplifiquem culminando em danos sistêmicos irreparáveis. Os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, sobretudo, nas mitocôndrias, peroxissomos, membranas celulares e no citoplasma, já o sistema de defesa ocorre principalmente no citoplasma, ocorrendo equilíbrio entre eles em situações normais (Figura 1).

Estresse oxidativo e Isoflavonas

Acredita-se que na mulher, devido à diminuição nos níveis dos hormônios sexuais na menopausa, o dano causado pelo estresse oxidativo seja muito mais intenso do que no homem, contribuindo para o envelhecimento precoce e o surgimento de

diversas doenças. Com a finalidade de avaliar a influência do estresse oxidativo sobre o desenvolvimento de doenças, existem inúmeros estudos avaliando a ingestão de antioxidantes, tais como a vitamina C na dieta principalmente em animais. No entanto, poucos estudos determinaram a extensão da ingestão de antioxidantes e do dano oxidativo em seres humanos.

Estudos recentes referem que as isoflavonas aumentam a produção de óxido nítrico e do fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF), substâncias que induzem vasodilatação, assim como *upregulation* de enzimas relacionadas com efeitos antioxidantes, levando a diminuição da pressão arterial *in vivo*⁶. Há muitas evidências que apóiam fortemente os efeitos benéficos das isoflavonas sobre a saúde humana^{7,8}.

As isoflavonas apresentam uma série de atividades biológicas, incluindo inibição da proliferação celular^{9,10} e propriedades antioxidantes em humanos¹¹⁻¹⁴. Assim, a incidência de câncer de mama nos países asiáticos é menor em comparação com os Estados Unidos; da mesma maneira, a mortalidade devido a neoplasias hormônio dependentes é consideravelmente menor do que em países ocidentais.

Isoflavonas como SERMs

A evidência epidemiológica sugere que o aparecimento de doenças cardiovasculares em mulheres no período pré-menopausal está relativamente defasada (atrasada) em comparação aos homens de mesma idade, ou seja, existe uma proteção contra doenças cardiovasculares na mulher, nessa época, atribuída em grande parte às ações benéficas dos estrogênios endógenos. Apesar de estudos observacionais mostrando um efeito benéfico da terapia hormonal (TH) em doenças cardiovasculares, ensaios clínicos avaliando a prevenção primária e secundária com TH em larga escala relataram haver mais efeitos prejudiciais que protetores¹⁵.

Após a publicação do estudo WHI (2002), e na busca de alternativas para a TH, ocorreu aumento considerável na prescrição

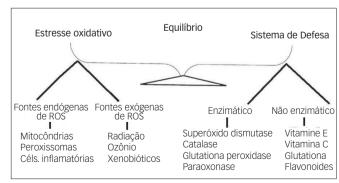


Figura 1 – Esquema mostrando num individuo saudável o equilíbrio entre a formação de espécies reativas ao oxigênio (ROS) e o sistema de defesa

de isoflavonas, pois o referido ensaio clínico randomizado constatou que a terapêutica hormonal da menopausa contendo estrogênio conjugado equino e acetato de medroxiprogesterona, ministrada de forma contínua, provocava maior risco de câncer de mama e tromboembolismo⁶.

As isoflavonas são compostos químicos fenólicos, pertencentes à classe dos fitoestrogênios, que estão amplamente distribuídos no reino vegetal. Ultimamente têm sido muito estudadas, principalmente devido aos potenciais benefícios em doenças crônicas. Essas substâncias, além de serem as mais abundantes dentre os fitoestrógenos, comportam-se como estrogênios na maioria dos sistemas biológicos. Possuem, também, diversas propriedades biológicas (atividade antioxidante, inibição da atividade enzimática entre outras) que podem influenciar inúmeros processos bioquímicos¹⁶.

São compostos não esteroides que ocorrem naturalmente em plantas, em especial na soja, apresentam maior atividade estrogênica em comparação aos outros fitoestrogênios, apesar de serem 500 a 1.000 vezes mais fracas do que os estrogênios endógenos¹⁷. Apresentam ações seletivas sobre os receptores de estrogênios, podendo agir como SERMs naturais (fito-SERMs), visto que modulam o receptor de estrogênio, ativando vias de sinalização intracelular de forma semelhante aos estrogênios, com atividade agonista e/ou antagonista, sendo seus principais compostos a genisteína, e a daidzeína 18-20. As isoflavonas ligam-se com maior afinidade aos receptores estrogênicos do tipo^β (RE-^β) em relação aos receptores do tipo^α (RE-^α). Assim, nos últimos anos, as isoflavonas tornaram-se uma boa opção à terapia hormonal por serem consideradas mais seguras, uma vez que são substâncias agonistas do estrogênio e possuem fraca atividade estrínica²¹. Por isso, são menos susceptíveis de ocasionar risco de acidente vascular cerebral ou câncer de mama²².

Isoflavonas como agentes antioxidante

Experimentos *in vitro* mostraram que as isoflavonas derivadas da soja (genisteína, daidzeína, cumestrol e equol) possuem capacidade antioxidante muitas vezes superior à da vitamina E²¹. Os compostos antioxidantes atuam na defesa primária frente às agressões oxidativas que exercem as espécies reativas ao oxigênio, muito reativas. As isoflavonas atuam sequestrando essas espécies, evitando, assim, que possam atacar componentes celulares (proteínas, lipídeos e material genético) e causar sua destruição. A habilidade da atividade de sequestrar radicais livres das isoflavonas reside em grupos específicos de sua estrutura molecular, que são críticos para a atividade antioxidante.

Assim a genisteína, um dos componentes mais ativos das isoflavonas, é considerada um poderoso antioxidante, estando essa capacidade relacionada ao número de agrupamentos hidroxilas presentes na sua estrutura química (Figura 2). A capacidade

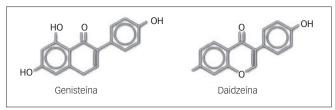


Figura 2 – Esquema mostrando as principais moléculas ativas encontradas na soja. Notar a presença de radicais hidroxila na genisteína e na daidzeína

antioxidante das isoflavonas está nesses agrupamentos, sendo três na genisteína, dois no cumestrol e equol e um na daidzeína. Isso porque, ao diminuir sua glicolisação ou ao substituir o grupo hidroxila pelo grupo metil, inibem a peroxidação lipídica *in vitro* devido ao sequestro de radicais livres ou mesmo à sua atuação como agentes quelantes de metais²³.

Quanto à ação efetiva da genisteína in vivo, ainda há algumas controvérsias. Cai e Wei²⁴ observaram que a adição de genisteína na dieta (50 e 250 mg.kg⁻¹) durante 30 dias consecutivos levou a aumento significativo da atividade das enzimas antioxidantes no intestino delgado e na pele de camundongos. Análise randomizada e controlada de testes clínicos, em seres humanos, examinando os efeitos de intervenções dietéticas sugerem que a suplementação com isoflavonas diminui a rigidez arterial²⁵. Já Wiegand et al.²⁶ observaram que em ratos alimentados durante três semanas com dietas enriquecidas com genisteína (2 g.kg-1) não havia alteração da atividade das enzimas hepáticas e das enzimas antioxidantes, bem como da catalase, do superóxido dismutase e da glutationa peroxidase ou mesmo da peroxidação lipídica hepática e nos níveis de glutationa. A análise prospectiva dos ensaios clínicos, infelizmente, não consideram que vários estudos foram baseados em pequenas coortes de indivíduos saudáveis, pacientes hipertensos e mulheres pós-menopáusicas que receberam diferentes suplementos de isoflavonas; também não consideraram que a falta de microflora adequada era necessária para o metabolismo intestinal da daidzeína e equol em "produtos" nonequol, o que pode ter influenciado os resultados das isoflavonas na prática clínica²⁷.

Por sua vez, Russo et al.²⁸ referem que a genisteína foi eficaz na inibição do dano oxidativo induzido pela luz no DNA em melanoma humano. No entanto, Hsu et al.²⁹ não observaram diferenças significativas na atividade das enzimas antioxidantes plasmáticas após três a seis meses em mulheres na pós menopausa que ingeriram isoflavonas (150 mg ao dia) durante seis meses consecutivos.

Ryan-Borchers et al.³⁰ avaliaram os efeitos das isoflavonas ingeridas (leite de soja e sob a forma de vitamina) sobre o estresse oxidativo em mulheres na pós-menopausa durante 16 semanas consecutivas. Notaram que ambas as fontes de isoflavonas exercem efeitos benéficos sobre as células beta do pâncreas e parecem ser protetoras contra os danos do DNA.

Aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) na doença cardiovascular (DCV) leva à disfunção endotelial e redução da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO). Estudos em modelos animais e cultura de células vasculares têm demonstrado que as isoflavonas aumentam a atividade e expressão da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que eleva os níveis de NO e ativam a via de sinalização NRF2-KEAP1, ocasionando upregulação dos genes de defesa antioxidantes¹⁸.

Na etiologia do câncer ocorre estresse oxidativo resultado de um desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e as espécies antioxidantes nas próprias células de defesa. As ROS desregulam a homeostase redox e promovem a formação do tumor, iniciando a indução de redes de sinalização que levam a tumorogênese. Vários fatores de transcrição e supressores de tumor estão envolvidos durante a resposta ao estresse, tais como NRF2, NFKB e BRCA1. As isoflavonas da soja foram

identificadas como tendo um potencial quimiopreventivo; capazes de intervir na carcinogenese, são uma estratégia promissora para a segmentação do estado redox das células³¹.

Muitos estudos têm sido realizados utilizando a proteína da soja isolada que contêm níveis significativos de isoflavonas²⁹, tornando-se difícil diferenciar os efeitos biológicos das proteínas dos das isoflavonas. No entanto, estudos com preparações de proteínas de soja contendo isoflavonas têm produzidos melhores resultados em relação a sua atividade antioxidante^{32, 33}.

Conclusão

Os artigos referem que as isoflavonas apresentam efeitos antioxidantes, tanto em modelos experimentais como em estudos clínicos, no entanto, acreditamos serem dependentes da forma de administração e dose utilizada.

Referências bibliográficas

- Shami NJIE, Moreira EAM. Licopeno como agente antioxidante. Rev Nutr. 2004;17(2):227-36.
- Tada N. Dietary therapy for prevention and treatment of atherosclerosis from the perspective of anti-inflammation. Nippon Rinsho. 2011;69(1):110-8.
- 3. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J Pharmacol. 2004;142(2):231-55.
- 4. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. Diabetes. 2004;53(Suppl 1):110-8.
- 5. Ferrari CKB. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. Biogerontology. 2004;5(5):275-9.
- 6. Bonacasa B, Siow RC, Mann GE. Impact of dietary soy isoflavones in pregnancy on fetal programming of endothelial function in offspring. Microcirculation. 2011;18(4):270-85.
- Wong MCY, Emery PW, Preedy VR, Wiseman H. Health benefits of isoflavones in functional foods? Proteomic and metabonomic advances. Inflammopharmacology 2008;16:235-9.
- 8. Busby MG, Jeffcoat AR, Bloedon LT, Koch MA, Black T, Dix KJ et al. Clinical characteristics and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: single-dose administration to healthy men. Am J Clin Nutr. 2002;75:126-36.
- 9. Hillman GG, Wang Y, Che M, Raffoul JJ, Yudelev M, Kucuk O et al. Progression of renal cell carcinoma is inhibited by genistein and radiation in an orthotopicmodel. BMC Cancer. 2007;7:4-10.
- 10. Suzuki K, Koike H, Matsui H, Ono Y, Hasumi M, Nakazato H et al. Genistein, a soy isoflavone, induces glutathione peroxidase in the

- human prostate cancer cell lines LNCAP and PC-3. Int J Cancer. 2002;99:846-52.
- 11. Lien TF, Hsu YL, Lo DY, Chiou RYY. Supplementary health benefits of soy aglycons of isoflavone by improvement of serum biochemical attributes, enhancement of liver antioxidative capacities and protection of vaginal epithelium of ovariectomized rats. Nutr Metab. 2009;6:15-22.
- Kwak CS, Lee MS, Park SC. Higher antioxidant properties of Chungkookjang, a fermented soybean paste, may be due to increased aglycone and malonylglycoside isoflavone during fermentation. Nutr Res. 2007;27:719-27.
- Liu J, Chang SKC, Wiesenborn D. Antioxidant properties of soybean isoflavone extract and tofu in vitro and in vivo. J Agric Food Chem. 2005;53:2333-40.
- Yen G, Lai H. Inhibition of reactive nitrogen species effects in vitro and in vivo by isoflavones and soy-based food extracts. J Agric Food Chem. 2003;51:7892-900.
- 15. WHI. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. JAMA. 2002;288:321-33.
- Setchell KD. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. Am J Clin Nutr. 1998;68:1333S-46S.
- An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC. Estrogen receptorbeta-selective transcriptional activity of coregulators and phytoestrogens. J Biol Chem.2001;276:17808-14.
- Mann GE, Bonacasa B, Ishii T, Siow RC. Targeting the redox sensitive Nrf2-Keap1 defense pathway in cardiovascular disease: protection afforded bydietary isoflavones. Curr Opin Pharmacol. 2009;9(2):139-45.

- Carbonel AAF, Haidar MA, Simões RS, Rabelo RHB, Simões MJ, Soares Junior JM et al. Proliferation Histomorphometric and Immunohistochemical Markers on the Ovariectomized Rat Vagina after Estrogen and/or Isoflavones Treatments. Microscopy and Microanalysis 2010;16:1156-7.
- Carbonel AA, Baracat MC, Simões RS, Simões MJ, Baracat EC, Soares JM Jr. The soybean concentrated extract proliferates the vagina of adult rats. Menopause. 2011;18(1):93-101.
- 21. Molla MD, Hidalgo-Mora JJ, Soteras MG. Phytotherapy as alternative to hormone replacement therapy. Front Biosci (Schol Ed). 2011;3:191-204.
- Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. Free Radic Res. 1997;26:63-70.
- 23. Naim M, Gestetner B, Bondi A, Birk Y. Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. J Agric Food Chem. 1976;24(6):1174-7.
- 24. Cai Q, Wei H. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. Nutr Cancer. 1996;25:1-7.
- Mann GE, Bonacasa B, Ishii T, Siow RC. Targeting the redox sensitive Nrf2-Keap1 defense pathway in cardiovascular disease: protection afforded by dietary isoflavones. Curr Opin Pharmacol. 2009;9:139-45.
- 26. Wiegand H, Wagner AE, Boesch-Saadatmandi C, Kruse HP, Kulling S, Rimbach G. Effect of dietary genistein on Phase II and antioxidant enzymes in rat liver. Cancer Genom Proteom. 2009;6:85-92.

- 27. Setchell KD, Zhao X, Shoaf SE, Ragland K. The pharmacokinetics of S-(-)equol administered as SE5-OH tablets to healthy postmenopausal women. J Nutr. 2009;139:2037-43.
- Russo A, Cardile V, Lombardo L, Vanella L, Acquaviva R. Genistin inhibits UV light-induced plasmid DNA damage and cell growth in human melanoma cells. J Nutr Biochem. 2006;17:103-8.
- 29. Hsu CS, Shen WW, Hsueh YM, Yeh SL, Soy isoflavone supplementation in postmenopausal women. Effects on plasma lipids, antioxidant enzyme activities and bone density. J ReprodMed. 2001;46:221-6.
- 30. Ryan-Borchers TA, Park JS, Chew BP, McGuire MK, Fournier LR, Beerman KA. Soy isoflavonesmodulate immune function in healthy postmenopausal women. Am J Clin Nutr. 2006;83:1118-25.
- Acharya A, Das I, Chandhok D, Saha T. Redox regulation in cancer: a double-edged sword with therapeutic potential. Oxid Med Cell Longev. 2010;3(1):23-34.
- 32. Genovese MI, Barbosa ACL, Pinto MS, Lajolo FM. Commercial soy protein ingredients as isoflavone sources for functional foods. Plant Foods Human Nutr. 2007;62:53-8.
- Simons LA, von Konigsmark M, Simons J, Celermajer DS. Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal women. Am J Cardiol. 2000;85:1297-301.

Recebido em: 01/08/2011 Aprovado para publicação em: 22/08/2011

Mecanismo de ação da anticoncepção de emergência

Emergency contraception action mechanism

Jefferson Drezett¹, Luiz Carlos de Abreu², Flavia Cella Kurobe³, Daniela Pedroso⁴, Jaqueline da Silva Neves⁵, Mayara Santos Montino⁵, Renata Cavalcante Lima⁶



Jefferson Drezett é Ginecologista e Obstetra pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Coordenador do Núcleo de Violência Sexual e Abortamento Previsto em Lei do Hospital Pérola Byington, São Paulo. Membro do Comitê Assessor do Consórcio Latinoamericano de Anticoncepção de Emergência Membro do Consórcio Latinoamericano Contra o Aborto Inseguro. Membership do National Center for Victims of Crime, EUA.

Resumo

Introdução: A anticoncepção de emergência (AE) é método contraceptivo reservado para situações especiais em que outros métodos não são utilizados, falham ou não podem ser empregados. Sua inclusão nas políticas públicas de saúde é estratégica para reduzir a incidência da gravidez indesejada e diminuir a ocorrência do abortamento induzido, clandestino e inseguro. Contudo, persistem barreiras contra o método pautadas no desconhecimento de seu mecanismo de ação e na suposição de efeito abortivo. Objetivo: Revisão dos mecanismos de ação demonstráveis da AE, incluindo efeitos para o endométrio e relação com a implantação do blastocisto. Método: Consulta nas bases de dados do Medline, Lilacs, Scielo e JCR-ISL, incluindo artigos indexados publicados entre 1970 e 2011. Resultados: Evidências diretas e indiretas indicam que a AE impede exclusivamente a fecundação por suprimir ou postergar a ovulação, e/ou por interferir na migração sustentada e capacitação dos espermatozoides. Não há evidência de efeito para a morfologia ou receptividade do endométrio, ou efeito sobre a nidação do blastocisto. Conclusão: O mecanismo de ação da AE não interfere nos eventos posteriores à fecundação, não impede ou prejudica a nidação e não se associa com a eliminação precoce do embrião.

Unitermos: Anticoncepção pós-coito; Gravidez não desejada; Aborto Induzido.

Abstract

Introduction: The emergency contraception is a contraceptive method reserved for special situations, where other methods are not used, fail or cannot be applied. Its inclusion into the public health policies has a strategic nature aiming at reducing the incidence of the undesired pregnancy and minimizing the incidence of the induced, illegal and unsafe abortion. However, barriers persist against the method, based on the ignorance about its action mechanism and on the assumption of its abortive effect. Objective: Review of the emergency contraception demonstrable action mechanisms including their impact on the endometrium and their relationship with the blastocyst implantation. Method: Consultation to the Medline, Lilacs, Scielo e JCR-ISL database, including indexed articles published between 1970 and 2011. Results: Direct and indirect evidence indicate that the emergency contraception blocks only the fecundation by suppressing or postponing ovulation, and/or interfere in the sperm capacity and sustained migration. There is no evidence of effect on the morphology or on the endometrium, or of impact on the blastocyst nidation. Conclusion: The emergency contraception action mechanism does not interfere on the post-fecundation events, does not impede or harm nidation and does not associate with the embryo early elimination.

Uniterms: Contraception postcoital; Pregnancy unwanted; Abortion induced.

Endereço para correspondência: Jefferson Drezett - Rua Pedroso Alvarenga, 1255, conjunto 64 - Itaim Bibi - CEP 045331-012 - São Paulo (SP), Brasil - E-mail: jefferson@drezett.com.br

Trabalho realizado no Centro de Referência da Saúde da Mulher – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Coordenador do Núcleo de Violência Sexual e Abortamento Previsto em Lei do Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington – São Paulo (SP), Brasil.

² Laboratório de Escrita Científica, Faculdade de Medicina do ABC – Santo André (SP), Brasil.

³ Médica assistente do Núcleo de Violência Sexual e Abortamento Previsto em Lei do Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Psicóloga do Núcleo de Violência Sexual e Abortamento Previsto em Lei do Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington – São Paulo (SP), Brasil.

⁵ Graduanda de Medicina da Universidade Severino Sombra – Vassouras (RJ), Brasil.

⁶ Graduanda de Medicina da Universidade Federal do Ceará – Fortaleza (CE), Brasil.

Introdução

A anticoncepção de emergência (AE) é definida como método anticonceptivo que, diferente de outras formas de evitar a gravidez, é indicado nos primeiros dias *após* a relação sexual desprotegida¹. O regime de administração da AE atualmente recomendado utiliza dose única de 1,5 mg de levonorgestrel, via oral, até cinco dias da relação sexual. As indicações aceitáveis da AE são restritas e reservadas para situações excepcionais, como na relação sexual inesperada sem uso de anticonceptivo, na falha ou uso inadequado do método de planejamento familiar de rotina, ou em caso de violência sexual².

O objetivo da AE é prevenir parte das gestações não planejadas e indesejadas nas circunstâncias em que outros métodos anticonceptivos não são utilizados, falham, ou não podem ser empregados². Estima-se que 35% das gestações que ocorrem a cada ano não são esperadas, levando a 46 milhões de abortamentos induzidos. Dessas interrupções, quase a metade é praticada em condições inseguras, provocando a morte de 67 mil mulheres em idade reprodutiva a cada ano³.

No Brasil, a estimativa mais recente aponta para quase um milhão de abortamentos induzidos anualmente. Embora se verifique decréscimo desses números na última década, a taxa de abortamento provocado entre mulheres brasileiras é muito maior do que a observada nos países desenvolvidos⁴. Além disso, o abortamento se associa com desigualdades sociais e regionais, indicando maior impacto sobre mulheres e populações mais vulneráveis. A maioria dos estados do norte e do nordeste do país apresenta taxa notadamente mais elevada de abortamento induzido e clandestino, colocando-o, muitas vezes, como primeira causa de morte materna. A morbidade do abortamento inseguro se reflete em quase 240 mil internações anuais no Sistema Único de Saúde para tratamento de suas complicações imediatas, bem como na elevada prevalência de sequelas para a saúde sexual e reprodutiva⁵.

O abortamento é reconhecido como grave problema de saúde pública. A expansão e o aprimoramento do planejamento reprodutivo são fundamentais para reduzir sua ocorrência^{6,7}. Nesse sentido, a AE é parte estratégica das políticas públicas de saúde que buscam evitar a gravidez indesejada e reduzir a necessidade da mulher recorrer ao abortamento. Contudo, estima-se que 95% das interrupções da gravidez em condição de risco são realizadas nos países em desenvolvimento, a maioria deles com leis restritivas ao aborto, o que torna sua prática clandestina e quase sempre insegura. Paradoxalmente, esses países costumam ser os mesmos que adotam medidas impeditivas ou restritivas ao uso da AE^{1,2}.

De fato, a AE se tornou o método anticonceptivo com maior número de demandas judiciais com propósito de impedir sua comercialização ou distribuição nos serviços de saúde da América Latina e do Caribe⁸. No Brasil, é possível constatar recorrentes e frustradas iniciativas dos legislativos pleiteando sua proibição. Na maioria dos casos, o antagonismo à AE se pauta no conhecimento insuficiente ou equivocado sobre seu mecanismo de ação, sustentando diferentes crenças sobre suposto *efeito abortivo* que, se de fato existisse, contrariaria os dispositivos legais vigentes sobre abortamento no país^{2,8}.

A discussão sobre o mecanismo de ação da AE deve se fundamentar exclusivamente na evidência científica disponível, rejeitando-se crenças religiosas ou argumentos morais em torno da sexualidade. Esse esclarecimento é ponto de particular interesse, tanto para as usuárias do método como para os profissionais de saúde que o prescrevem². O objetivo deste artigo foi apresentar revisão da literatura sobre os mecanismos de ação reconhecidos e demonstráveis da AE, seus efeitos para a morfologia e para a receptividade do endométrio e sua relação com a implantação do blastocisto.

Método

Revisão da literatura na forma de síntese de artigos. Foram consultadas bases de dados do *Journal Citation Reports* (JCR-ISI), *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (Medline), *Scientific Eletronic Library Online* (Scielo) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs). A pesquisa abrangeu o período de 1970 a 2011 e utilizou descritores DeCS/MeSH com as sintaxes "[Contraception, Postcoital] AND [*Action Mechanism*]". O resultado da busca considerou revisões sistemáticas, revisões explanatórias e artigos originais que abordam a AE hormonal com levonorgestrel exclusivo ou associado ao etinilestradiol.

Resultados

Foram identificados 72 artigos indexados aos descritores DeCS/MeSH nas quatro bases de dados consultadas. Após a análise dos manuscritos, foram selecionadas 36 publicações que tratavam de ensaios clínicos ou revisões sobre o mecanismo de ação da AE. As sínteses foram agrupadas em três tabelas, organizadas pelo tipo de investigação do mecanismo de ação: efeitos da AE sobre a ovulação (Tabela 1), efeitos da AE sobre a função e a migração dos espermatozóides (Tabela 2), e efeitos da AE para a receptividade do endométrio (Tabela 3).

Discussão

Quando utilizado na primeira fase do ciclo menstrual o levonorgestrel (LNG), associado ou não ao etinil-estradiol (EE), tem

Tabela 1 – Síntese dos artigos sobre efeitos da AE para a ovulação

Autor	Ano	Síntese
Wilcox AJ et al.9	1995	Análise de eficácia da AE e da fisiologia da implantação do blastocisto indica ausência de efeito após a fecundação (revisão)
Trussell J et al. ¹⁰	1999	Testes estatísticos de estimativa de eficácia sugerem que AE inibe ou posterga a ovulação (estudo comparativo)
Draca P ¹¹	2000	Mecanismos prévios à fecundação, sem evidência de efeito da AE se a implantação foi iniciada (revisão)
Glasier A ¹²	2000	A AE inibe ou posterga a ovulação e não há evidência de efeito para a implantação (revisão)
Croxatto H et al. ¹³	2001	Mecanismos restritos para impedir ou retardar a ovulação, ou a migração de espermatozoides. Sem efeito para endométrio (revisão)
Durand M et al. ¹⁴	2001	Capacidade demonstrável da AE de inibir a ovulação se utilizada antes do pico de LH (ensaio clínico)
Hapangama D et al. ¹⁵	2001	AE é ineficaz para evitar a ovulação quando utilizada no pico do LH ou em folículos de tamanho ≥18 mm (ensaio clínico)
Croxatto H et al. ¹⁶	2002	O LNG suprime o pico do LH quando administrado antes da ovulação (ensaio clínico)
Trussell J et al. ¹⁷	2003	Modelos de probabilidade estatística de concepção indicam que a AE não tem efeito após a implantação do blastocisto (revisão)
Croxatto H et al. ¹⁸	2004	O LNG não impede o pico do LH se utilizado próximo ao momento de rotura folicular ou em folículos è18 mm (ensaio clínico)
Gemzell-Danielsson et al. ¹⁹	2004	AE inibe ou posterga a ovulação, sem evidência de efeito para a implantação do blastocisto (revisão)
Marions L et al. ²⁰	2004	1,5 mg de LNG antes da ovulação produz supressão da estrona e níveis mais baixos de pregnandiol (estudo contro- lado)
Ortiz ME et al. ²¹	2004	LNG suprime a ovulação em fêmea do macaco Cebus apella, efeito dependente da maturação folicular (ensaio clínico)
Novikova N et al. ²²	2007	Estudo de efetividade sustenta efeito da AE pré-fecundação (ensaio clínico)
Okewole IA et al. ²³	2007	LNG produz atraso na rotura folicular se utilizado três dias antes do pico do LH (estudo controlado)
Bastianelli C et al. ²⁴	2008	Mecanismo de ação da AE suprime ou retarda a ovulação, sem prejuízo para a implantação ou para a gravidez (revisão)
Tirelli A et al. ²⁵	2008	A eficácia do LNG depende do momento do ciclo menstrual em que a AE é administrada (ensaio clínico)
Durand M et al. ²⁶	2009	Análise dos mecanismos de ação demonstráveis e ausência de efeitos posteriores à fertilização (revisão)

capacidade demonstrável de suprimir o pico do hormônio luteinizante (LH), fundamental para que ocorra a ovulação 12,14,18,19. Vários estudos experimentais têm explorado essa interferência da AE nos processos da ovulação. Os resultados indicam que o efeito anovulatório depende do momento do ciclo em que a AE é administrada 13.

Quando os folículos medem entre 12 e 14 mm e entre 15 e 17 mm, dose de 1,5 mg de LNG produz a supressão da ovulação em 94 e 91% dos ciclos respectivamente. Nas mesmas dimensões foliculares, o regime de Yuzpe, que associa o EE à dose de 1,0 mg de LNG, inibe a rotura folicular em 80 e 50% dos ciclos 16,18,25 . Em parte dos casos, também se observa diminuição e modificação da funcionalidade do corpo lúteo 14,16,18 .

Outras investigações têm apontado que a supressão da ovulação não é o único meio da AE evitar a fecundação. Em 20% dos casos, é possível verificar atraso da ação do hormônio folículo estimulante (FSH) e da elevação do LH, postergando a ovulação entre 96 e 120 horas, particularmente quando o LNG é administrado pelo menos três dias antes da ovulação 20,23,40. Nesses casos, a rotura folicular ocorre quatro ou cinco dias após a relação

46

sexual desprotegida, período de menor disponibilidade e viabilidade dos espermatozoides no trato genital feminino¹¹.

No entanto, a AE se mostra pouco eficaz se administrada no dia do pico do LH ou quando os folículos completam a maturação, com diâmetro entre 18 e 20 mm. Nessas condições, o LNG suprime a rotura folicular em apenas 47% dos casos, enquanto o método de Yuzpe se mostra incapaz de produzir efeito sobre a ovulação. Atribui-se a essa condição grande parte das falhas da AE^{15,16}.

Preservada a fertilidade e na ausência de método anticonceptivo, os espermatozoides se alocam nas criptas do colo do útero e mantém sua viabilidade e capacidade de fecundação por até cinco dias da relação sexual⁴⁵. Após uma fase rápida e curta de chegada dos espermatozoides nas trompas, segue-se um período prolongado de migração sustentada, caracterizado pela sucessiva penetração de populações de espermatozoides das criptas do colo de útero para o muco cervical⁴⁶.

Parte desses espermatozoides adere ao epitélio interno da trompa por várias horas adquirindo maior motilidade, perdendo sua vitalidade a seguir. Estudos indicam que a capacidade de

Tabela 2 – Síntese dos artigos sobre efeitos da AE para a função e a migração dos espermatozoides

Autor	Ano	Síntese do artigo
Kesserü E et al. ²⁷	1974	Administração de 0,4 mg de LNG 3-10 horas pós coito reduz a recuperação de espermatozoides na cavidade uterina (ensaio clínico.
Kesserü E et al. ²⁸	1974	A AE torna o muco cervical hostil dificultando a migração dos espermatozoides (ensaio clínico)
Croxatto H et al. ²⁹	1987	LNG induz modificações físicas e químicas do muco cervical que inibem a penetração de espermatozoides (ensaio clínico).
Yeung WS et al. ³⁰	2002	LNG afeta a função dos espermatozoides apenas em doses elevadas, superiores ao utilizado pela AE (ensaio clínico)
Manuce MJ et al. ³¹	2006	LNG aumenta secreção endometrial de glicodelina-A diminuindo a capacidade de adesão à zona pelúcida (ensaio clínico)
Nascimento JA et al. ³²	2007	O LNG não altera a glicodelina-A ou reação acrossômica dos espermatozoides (estudo controlado)

Tabela 3 – Síntese dos artigos sobre efeitos da AE para a morfologia e receptividade do endométrio

Autor	Ano	Síntese do artigo
Ling WY et al. ³³	1979	Biópsias de endométrio submetido ao DL-norgestrel e etinil-estradiol apresentaram dissociação glandular e estromal (ensaio clínico)
Yuzpe AA et al. ³⁴	1974	Alterações identificadas no endométrio submetido ao LNG associado ao etinil-estradiol (ensaio clínico)
Ugocsai G et al. ³⁵	1984	Diminuição da quantidade de pinópodos endometriais com doses 4-6 vezes superiores ao utilizado pela AE (ensaio clínico)
Landgren BM et al. ³⁶	1989	Ausência de efeitos do LNG sobre a morfologia endometrial (ensaio clínico)
Taskin O et al. ³⁷	1994	Expressão normal de integrinas em biópsias de endométrio submetido ao LNG (ensaio clínico)
Raymond EG et al. ³⁸	2000	Expressão normal de diferentes marcadores de receptividade endometrial com uso de LNG (ensaio clínico)
Kahlenborn C et al. ³⁹	2002	Questiona possível efeito da AE sobre a implantação, independente da fase do ciclo menstrual em que é utilizada (revisão)
Marions L et al. ⁴⁰	2002	AE com LNG não altera marcadores de receptividade endometrial indicando ausência de efeito para implantação (ensaio controlado)
Durand M et al.41	2004	Ausência de efeitos da AE para a morfometria e imunohistoquímica do endométrio (ensaio clínico)
Medard LM et al.42	2010	Mecanismo de ação da AE não modifica o endométrio e não altera a implantação (revisão)
Palomino WA et al. ⁴³	2010	Biomarcadores da receptividade endometrial ao blastocisto não sofrem modificação após 1,5 mg (estudo controlado)
Suárez VJ et al. ⁴⁴	2010	A utilização de 1,5 mg de LNG não modifica o endométrio e não interfere na implantação, refutando efeito abortivo (revisão)

fecundação é predominantemente atribuída a esses gametas disponibilizados durante a fase sustentada de migração, que mantém na trompa uma população de espermatozoides constante e renovada, até que ocorra a ovulação 26,46 . Apesar disso, a eficácia da migração sustentada não é elevada na espécie humana, estimada em torno de $50\%^{18}$.

Essas observações sugerem que parte da ação anticonceptiva do LNG ocorre durante a migração sustentada dos espermatozoides, interferindo na interação com o gameta feminino²⁶. De fato, a administração de 0,4 mg de LNG 3 a 10 horas após o coito produz diminuição significativa na recuperação de espermatozoides na cavidade uterina²⁷. Esse efeito, no entanto, não resulta

da alteração direta do LNG na motilidade dos espermatozoides, mas de modificações significativas nas propriedades físicas e químicas do muco cervical, aumentando sua viscosidade e reduzindo a capacidade de penetração espermática^{29,30}.

Dessa forma, a administração da AE na segunda fase do ciclo menstrual, mesmo que ocorrida a ovulação, apresenta capacidade demonstrável de inibir a migração sustentada dos espermatozoides. O desenvolvimento de um ambiente cervical hostil dificulta o deslocamento em direção da trompa, reduzindo a probabilidade de fecundação nos casos em que não foi possível suprimir ou postergar a ovulação²⁸. Além disso, o LNG induz o aumento da secreção endometrial de glicodelina-A, substância

que diminui a capacidade de adesão dos espermatozoides à zona pelúcida, comprometendo sua capacidade de fecundação^{31,32}.

Desde a incorporação da AE nos serviços de saúde se estabeleceu recorrente controvérsia quanto a outros mecanismos de ação do LNG que, supostamente, acarretariam prejuízo para a implantação. Essa argumentação se pauta em dados indiretos obtidos de pesquisas publicadas há quase três décadas que encontraram modificações no endométrio submetido à associação do LNG e EE 33,34,39.

Com base nessas publicações, setores conservadores têm pleiteado a existência de um mecanismo de ação adicional para a AE hormonal, chamado de *terceiro mecanismo*, que impediria a implantação do blastocisto ou provocaria a eliminação precoce do embrião, nos casos em que a AE fosse ineficaz para impedir a fecundação^{2,26,47}.

No entanto, a revisão criteriosa dessas pesquisas aponta para importantes limitações metodológicas, como a ausência de controle adequado, análise cega dos resultados ou obtenção inadequada de amostras endometriais, o que compromete a confiabilidade dos resultados^{26,47}. Estudos recentes adotando desenhos experimentais adequados não verificam efeitos do LNG sobre a morfologia ou sobre parâmetros bioquímicos do endométrio que justifiquem supor a existência de efeitos inibitórios ou deletérios para a nidação^{22,36,37,38,41}.

Cabe destaque para o estudo controle de Durand et al.¹⁴ que, analisando biópsias endometriais de mulheres que receberam LNG nas fases pré-ovulatória e ovulatória, não encontraram diferença quanto ao número de artérias espiraladas, número de glândulas por mm² ou edema do estroma endometrial. Indicadores de receptividade endometrial como a integrina avβ3, mucina I, calcitonina, fator inibidor da leucemia, fator de crescimento epidermal vinculado a heparina, fator de crescimento epidermal vascular e gene hoxa II, não mostraram diferença significante nos dois grupos. Entre esses marcadores, a subunidade β3 da integrina é considerada uma das moléculas mais importantes produzidas pelo endométrio para o processo de nidação¹⁴. Outros estudos controlados encontraram resultados normais para a análise dos marcadores a1, a4, β1, β3, cox1, cox2 e aglutinina³6,40,41,43.

Marions et al.⁴⁰ ampliaram a avaliação da receptividade do endométrio de mulheres submetidas ao LNG, identificando normalidade tanto na distribuição como no número de pinópodos. A diminuição ou ausência dos pinópodos, marcador morfológico importante da receptividade endometrial para o blastocisto, parece ser alcançada somente com doses elevadas do LNG, quatro a seis vezes superiores ao utilizado pela AE hormonal³⁵.

Portanto, há suficiente evidência de que a AE não produz alteração na morfologia ou receptividade do endométrio, independente da fase do ciclo menstrual em que é administrada,

refutando a existência de efeito posterior à fecundação que sustente a existência de um terceiro mecanismo de ação^{24,42,44,47}.

Algumas investigações sobre o mecanismo de ação da AE em modelos animais são particularmente importantes, considerando-se as limitações éticas envolvendo seres humanos. De forma equivalente ao que ocorre na mulher, a inibição da ovulação com o uso do LNG é documentada em diferentes espécies animais²¹.

Na fêmea do macaco *Cebus apella*, que apresenta ciclo hormonal e reprodutivo semelhante ao da mulher, a inibição ou postergação da ovulação com 0,75 mg de LNG se mostra igualmente dependente do diâmetro folicular. Quando utilizado após a fecundação na espécie *Cebus apella*, ele não altera a taxa de gravidez se comparado com o grupo controle, indicando a ausência de efeito negativo para a implantação²¹. A grande limitação desses estudos ainda é a impossibilidade de extrapolar seus resultados e conclusões, principalmente em espécies com fisiologia reprodutiva diferente ou distante da humana²⁶.

Os mecanismos de ação reconhecidos e a ausência de efeito para o endométrio podem ser somados às evidências estatísticas indiretas ou de plausibilidade biológica, que descartam efeitos abortivos do LNG^{10,17}. A AE hormonal apresenta índice de efetividade médio entre 75% e 85% para cada coito em que é empregada, com sólida evidência de que quanto mais rapidamente é administrada, menor será a taxa de gravidez observada^{48,49}.

Por outro lado, a falha do método é diretamente proporcional ao intervalo de tempo entre a relação sexual e a tomada da AE. Quando utilizada após cinco dias da relação sexual desprotegida, não há indicador de efeito da AE, resultando em taxas de gravidez equivalentes a de mulheres que não utilizam anticoncepção. Esses dados são compatíveis com os mecanismos de ação demonstráveis da AE, sugerindo que impede a fecundação nos primeiros cinco dias após a relação sexual²⁶.

Considerando-se que a nidação se inicia no 7° dia após a fecundação e se completa entre 11° e 12° dia, um suposto efeito do LNG sobre o endométrio é incompatível com as taxas de falha encontradas para esse período, sugerindo que não há efeitos sobre a implantação nos casos em que não foi possível evitar a fecundação°. Outra evidência indireta se refere à maior taxa de falha da AE em coitos repetidos, quando comparada ao coito único. Essa constatação contribui para descartar a hipótese de efeito sobre a nidação, na medida em que a eficácia anticonceptiva da AE decresce ao longo da fase pós-ovulatória⁴⁸.

Conclusão

O Comitê de Ética da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO) e o Colégio Americano de Ginecologia e Obstetrícia (ACOG) definem como gravidez o processo reprodutivo a partir da implantação, mediante sinais e sintomas ou provas diagnósticas válidas ⁵⁰. No entanto, a polarização da discussão sobre o mecanismo de ação da AE ainda se orienta, equivocadamente, pelo evento específico da fecundação. Mesmo assim, as evidências indicam que os efeitos da AE são prévios à fertilização. Além disso, os dados disponíveis não permitem sustentar ou fazer supor que a AE interrompa ou prejudique a implantação^{26,47}.

A AE representa uma alternativa importante para a prevenção da gravidez indesejada e de suas consequências. Quando utilizado no momento do ciclo menstrual em que ainda pode interferir na ovulação ou na migração espermática, o LNG tem potencial demonstrável de evitar a gravidez. No entanto, se utilizado tardiamente para impedir esses eventos em ciclos ovulatórios, o método falha e pode ocorrer a gravidez. Dessa forma, explica-se a menor eficácia da AE quando comparada aos métodos anticonceptivos modernos e de uso rotineiro, justificando sua indicação somente em situações especiais.

A AE é aprovada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), pela *International Planned Parenthood Federation* (IPPF), pela *Family Health International* (FHI), pela FIGO e pelas agências reguladoras de diferentes países, incluindo-se a *Food and Drug Administration* (FDA)^{2,8}. No Brasil, encontra-se aprovada pelos órgãos de vigilância sanitária e incluída nas normas técnicas do

Ministério da Saúde sobre planejamento familiar, desde 1996, e de atenção à violência sexual, desde 1999. Também faz parte das recomendações da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) e da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH)².

O Conselho Federal de Medicina (CFM) aprovou a Resolução nº 1.811 estabelecendo normas éticas para a utilização da AE hormonal, ratificando a responsabilidade de médicos por sua prescrição para reduzir o impacto da gravidez não planejada. O CFM ressalta que a AE não provoca danos para a saúde e que não interrompe a gravidez, podendo ser utilizada em todas as etapas da vida reprodutiva da mulher⁵¹.

A FIGO afirma que o principal compromisso do médico deve ser proporcionar a melhor condição possível de saúde sexual e reprodutiva para as mulheres. O principio bioético da autonomia assegura a importância da participação da mulher nas decisões sobre sua saúde, cabendo ao médico respeitar essa posição. Estabelece que os médicos devem observar diretrizes científicas e profissionais, não sendo aceitável descaracterizar uma condição clínica ou negar tratamento legítimo pautado em crenças pessoais⁵⁰. O cumprimento desse princípio ético não permite que médicos classifiquem a AE como *abortiva* ou recusem sua prescrição, frente aos danos possíveis para a saúde da mulher.

Referências bibliográficas

- World Health Organization. Unsafe abortion: global and regional estimates of incidence and mortality due to unsafe abortion with a listering of available country data. Geneva: World Health Organization; 1998.
- Brasil. Ministério da Saúde. Área Técnica de Saúde da Mulher. Anticoncepção de emergência: perguntas e respostas para profissionais de saúde. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
- Alan Guttmacher Institute. Sharing responsaibility: women, society & abortion worldwide. New York and Washington DC: The Alan Guttmacher Institute; 1999.
- Adesse L, Monteiro MFG. Magnitude do aborto no Brasil: aspectos epidemiológicos e sócio-culturais. Rio de Janeiro: Ipas Brasil; 2006.
- Brasil. Ministério da Saúde. Área Técnica de Saúde da Mulher. Atenção humanizada ao abortamento. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde: 2010.
- United Nations. Report of the International Conference on Population and Development, Cairo. New York: United Nations; 1994
- 7. United Nations. Report of the Fourth World Conference on Women, Beijing. New York: United Nations; 1995.
- 8. Instituto Interamericano de Derechos Humanos. La anticoncepción oral de emergencia: el debate legal en América Latina. San José,

- Costa Rica: Instituto Interamericano de Derechos Humanos IIDH; 2008.
- Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy and sex of the baby. N Engl J Med. 1995;333(23):1517-21.
- Trussell J, Raymond EG. Statistical evidence about the mechanism of action of the Yuzpe regimen of emergency contraception. Obstet Gynecol. 1999;93(5):872-6.
- 11. Draca P. Emergency contraception. Med Pregl. 2000;56(3):729-38.
- 12. Glasier A. Emergency contraception. Br Med Bull. 2000;53(9-10):510-2.
- 13. Croxatto HB, Devoto L, Durand M, Ezcurra E, Larrea F, Nagle C et al. Mechanism of action of hormonal preparations used for emergency contraception: a review of the literature. Contraception. 2001;63(3):111-21.
- Durand M, Cravioto MC, Raymond EG, Duran-Sanchez O, De la Luz Cruz-Hinojosa M, Castell-Rodriguez A et al. On the mechanisms of action of short-term levonorgestrel administration in emergency contraception. Contraception. 2001;64(4):227-34.
- 15. Hapangama D, Glasier AF, Baird DT. The effects of peri-ovulatory administration of levonorgestrel on the menstrual cycle. Contraception. 2001;63(3):123-9.

- Croxatto HB, Fuentealba B, Brache V, Salvatierra AM, Alvarez F, Massai R et al. Effects of the Yuzpe regimen, given during the follicular phase, upon ovarian function. Contraception. 2002;65(2):121-8.
- 17. Trussell J, Ellertson C, Dorflinger L. Effectiveness of the Yuzpe regimen of emergency contraception by cycle day of intercourse: implications for mechanism of action. Contraception. 2003;67(3):167-71.
- 18. Croxatto HB, Brache V, Pavez M. Cochon L, Forcelledo ML, Alvarez F et al. Pituitary-ovarian function following the standard levonorgestrel emergency contraceptive dose or a single 0.75 mg dose given on the days preceding ovulation. Contraception. 2004;70(6):442-50.
- 19. Gemzell-Danielsson K, Marions L. Mechanisms of action of mifepristone and levonorgestrel when used for emergency contraception. Hum Reprod Update. 2004;10(4):341-8.
- Marions L, Cekan SZ, Bygdeman M, Gemzell Danielsson K. Effect of emergency contraception with levonorgestrel or mifepristone on ovarian function. Contraception. 2004;69(5):373-7.
- Ortiz ME, Ortiz RE, Fuentes M, Parraguez VH, Croxatto HB. Postcoital administration of levonorgestrel does not interfere with postfertilization events in the new-world monkey *Cebus apella*. Hum Reprod. 2004;19(6):1352-6.
- 22. Novikova N, Weisberg E, Stanczyk FZ, Croxatto HB, Fraser IS. Effectiveness of levonorgestrel emergency contraception given before or after ovulation a pilot study. Contraception. 2007;75(2):112-8.
- 23. Okewole IA, Arowojolu AO, Odusoga OL, Oloyede OA, Adeleye OA, Salu J et al. Effect of single administration of levonorgestrel on the menstrual cycle. Contraception. 2007;75(5): 372-7.
- 24. Bastianelli C, Farris M, Di Miscia A. Emergency contraception. Minerva Ginecol. 2006;58(3):193-204.
- 25. Tirelli A, Cagnacci A, Volpe A. Levonorgestrel administration in emergency contraception: bleeding pattern and pituitary-ovarian function. Contraception. 2008;77(5):328-32.
- 26. Durand M, Larrea F, Schiavon R. Mecanismos de acción de la anticoncepción hormonal de emergencia: efectos del levonorgestrel anteriores y posteriores a la fecundación. Salud Publica Mex. 2009;51(3):1-7.
- 27. Kesserü E, Garmendia F, Westphal N, Parada J. The hormonal and peripheral effects of d-Norgestrel in postcoital contraception. Contraception. 1974;10(4):411-24.
- 28. Kesserü E, Leon F. Effect of different solid metals and metallic pairs on human sperm motility. Int J Fertil. 1974;19(2):81-4.
- 29. Croxatto HB, Diaz S, Salvatierra AM, Morales P, Ebensperger C, Brandeis A. Treatment with Norplant® subdermal implants inhibits sperm penetration through cervical mucus in vitro. Contraception. 1987;36(2):193-201.
- Yeung WS, Chiu PC, Wang CH, Yao YQ, Ho PC. The effects of levonorgestrel on various sperm functions. Contraception. 2002;66(6):453-7.

50

- Munuce MJ; Nascimento JAA; Rosano G; Faundes A; Bahamondes
 L. Doses of levonorgestrel comparable to that delivered by the
 levonorgestrel releasing intrauterine system can modify the in
 vitro expression of zona binding sites of human spermatozoa.
 Contraception. 2006;73(1):97-101.
- 32. Nascimento JA, Seppälä M, Perdigão A, Espejo-Arce X, Munuce MJ, Hautala L et al. *In vivo* assessment of the human sperm acrosome reaction and the expression of glycodelin-A in human endometrium after levonorgestrel-emergency contraceptive pill administration. Hum Reprod. 2007;22(8):2190-5.
- 33. Ling WY, Robichaud A, Zayid I, Wrixon W, MacLeod SC. Mode of action of dl-norgestrel and ethinylestradiol combination in postcoital contraception. Fertil Steril. 1979;32(3):297-302.
- 34. Yuzpe AA, Thurlow HJ, Ramzy I, Leyshon JI. Post coital contraception a pilot study. J Reprod Med. 1974;13(2):53-5.
- Ugocsai G, Resch B, Traub A, Sas M. Biological, microscopic and scanning electron microscopic investigation of the effects of postinor/d-norgestrel/ in rabbits. Contraception. 1984;30(2):153-9.
- 36. Landgren BM, Johannisson E, Aedo AR, Kumar A, Yong-en S. The effect of levonorgestrel administered in large doses at different stages of the cycle on ovarian function and endometrial morphology. Contraception. 1989;39(3):275-89.
- 37. Taskin O, Brown RW, Young DC, Poindexter AN, Wiehle RD. High doses of oral contraceptives do not alter endometrial al and available in the late implantation window. Fertil Steril. 1994;61(5):850-5.
- 38. Raymond EG, Lovely LP, Chen-Mok M, Seppälä M, Kurman RJ, Lessey BA. Effect of Yuzpe regimen of emergency contraception on markers of endometrial receptivity. Hum Reprod. 2000;15(11):2351-5.
- 39. Kahlenborn C, Stanford JB, Larimore WL. Postfertilization effect of hormonal emergency contraception. Ann Pharmacother. 2002;36(3):465-70.
- Marions L, Hultenby K, Lindell I, Sun X, Stabi B, Gemzell Danielsson K. Emergency contraception with mifepristone and levonorgestrel: mechanism of action. Obstet Gynecol. 2002;100(1):65-71.
- Durand M, Cravioto MC, Castell-Rodríguez A, Larrea F. Expresión endometrial de genes y proteínas reguladas por progesterona posterior a la administración aguda de levonorgestrel. Rev Invest Clin. 2004;56(2):550.
- 42. Medard LM, Ostrowska L. Hormonal (levonorgestrel) emergency contraception effectiveness and mechanism of action. Ginekol Pol. 2010;81(7):532-6.
- 43. Palomino WA, Kohen P, Devoto L. A single midcycle dose of levonorgestrel similar to emergency contraceptive does not alter the expression of the L-selectin ligand or molecular markers of endometrial receptivity. Fertil Steril. 2010;94(5):1589-94.
- 44. Suárez VJ, Zavala R, Ureta JM, Hijar G, Lucero J, Pachas P. Efecto del levonorgestrel como anticonceptivo oral de emergencia en la ovulación, el endometrio y los espermatozoides. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2010;27(2):222-30.

- 45. Fonseca ESVB, Cabar FR, Nomura RMY. Anatomia e fisiologia: ovulação, implantação e embriogênese. In: Zugaib M, editor. Obstetrícia.. Barueri: Editora Manole; 2008. p 60-74.
- 46. Croxatto HB. Gamete Transport. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, editors. Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology. New York: Lippincot-Raven; 1996.
- 47. Drezett J. Contracepção de emergência: normativas, usos mitos e estigmas. In: Arilha M, LapaTS, PisaneschiTC, editores. Contracepção de emergência no Brasil e América Latina: dinâmicas políticas e direitos reprodutivos. São Paulo: Oficina editorial; 2010. p 63-89.
- 48. Task Force on Postovulatory Methods of Fertility Regulation. Randomised controlled trial of levonorgestrel versus the Yuzpe regimen of combined oral contraceptives for emergency contraception. Lancet. 1998;352(9126):428-33.

- 49. Piaggio G. Timing of emergency contraception with levonorgestrel or the Yuzpe regimen. Lancet. 1999;353(9154):721.
- 50. Conselho Federal de Medicina. Resolução CFM nº 1.811/2006. Estabelece normas éticas para a utilização, pelos médicos, da Anticoncepção de Emergência, devido a mesma não ferir os dispositivos legais vigentes no país. Brasília: Diário Oficial da União; 2007.
- 51. Federation International of Gynecology and Obstetrics. Ethical Issues in Obstetrics and Gynecology by the FIGO Committee for the Study of Ethical Aspects of Human Reproduction and Women's Health. United Kingdon: FIGO; 2009.

Recebido em: 28/07/2011

Aprovado para publicação em: 15/08/2011

Obstrução tubária em mulheres com imunofluorescência indireta positiva para clamídia

Tubal occlusion in women with indirect positive immunofluorescence for chlamydia

Mônica Canêdo Silva Maia¹, Mário Silva Approbato², Rodopiano de Souza Florêncio³, Tatiana Moreira da Silva⁴, Fabiana Carmo Approbato⁵



Mônica Canêdo Silva Maia é graduada em Ciências Biológicas – Modalidade Médica (Biomedicina) pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO) (2001). É especialista em Genética pela PUC-GO (2006) e possui mestrado em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Goiás (UFG) (2011). Atualmente, é doutoranda pelo Programa em Ciências da Saúde da UFG e biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas – UFG.

Resumo

Objetivos: Avaliar o desempenho da imunofluorescência indireta para *Chlamydia trachomatis* em rastrear obstrução tubária. **Métodos**: Este é um estudo retrospectivo com 204 pacientes atendidas em um centro universitário e particular de infertilidade na cidade de Goiânia no período de 2006 a 2009. Para avaliar o risco de obstrução tubária as pacientes foram divididas em dois grupos: pacientes "expostas" à clamídia (imunofluorescência indireta ≥1:16) e "não expostas" (imunofluorescência indireta <1:16). Verificou-se, então, as pacientes que tiveram a "doença" (obstrução tubária) e "controles" (sem obstrução tubária) na histerossalpingografia. Para os cálculos foram utilizados os testes Qui-quadrado (χ²) e Exato de Fisher. O nível de p escolhido foi 0,05. Resultados: Das 72 pacientes com titulação significativa, 34 (47,2%) apresentaram a ocorrência de obstrução tubária. Em relação às 132 pacientes com titulação não significativa, somente 18 (13,7%) apresentaram obstrução tubária (p<0,001). Foi observado também um aumento progressivo entre os níveis de anticorpos e a probabilidade de obstrução tubária (p<0,001). **Conclusões**: Os resultados deste estudo revelaram que a sorologia para *Chlamydia trachomatis* é válida para rastreamento de lesão tubária, portanto, pode facilitar decisões naquelas mulheres que devem prosseguir com novas investigações.

Unitermos: Chlamydia trachomatis; Técnica indireta de fluorescência para anticorpo; Salpingite; Histerossalpingografia; Infertilidade.

Abstract

Purpose: To evaluate the ability of indirect immunofluorescence for *Chlamydia trachomatis* to screening tubal occlusion. **Methods**: This is a retrospective study with 204 electronic records of patients attended at a university and private infertility center in the city of Goiania, in the period of 2006 to 2009. To evaluate the risk of tubal occlusion the patients were divided into two groups: patients "exposed" to chlamydia (IFI \geq 1:16) e "unexposed" (IFI<1:16). It was verified patients who had the "disease" (tubal occlusion) and "control" (without tubal occlusion) in the hysterosalpingography. For the calculations the Chi-square (χ^2) and Fisher Exact Test were used. The p chosen level was 0,05. Results: Of the 72 patients with significant titers, 34 (47,2%) showed the occurrence of tubal occlusion. Concerning the 132 patients with no significant titers, only 18 (13,7%) had tubal occlusion (p<0,001). We also observed a progressive increase in the levels of antibodies and the likelihood of tubal occlusion (p<0,001). **Conclusions**: The results indicate that serology for *Chlamydia trachomatis* is valid for screening of tubal damage and may facilitate decisions on which women should proceed with further investigations.

Uniterms: Chlamydia trachomatis; Fluorescent antibody technique indirect; Salpingitis; Hysterosalpingography; Infertility.

Endereço para correspondência: Mônica Canêdo Silva Maia – 1ª Avenida, s/nº Setor Leste Universitário – CEP 74605-020 – Goiânia (GO), Brasil – E-mail: monicalabrep@bol.com.br

Trabalho realizado no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG) - Goiânia (GO), Brasil.

¹ Pós-graduanda (Doutorado) do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFG; Biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

² Professor Titular Doutor da Faculdade de Medicina e do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

³ Professor Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

⁴ Pós-graduanda (Mestrado) do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFG; Biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

⁵ Pós-graduanda (Mestrado) do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFG – Goiânia (GO), Brasil.

Introdução

A Chlamydia trachomatis é responsável pelo maior número de casos de infecções bacterianas sexualmente transmissíveis. Seu diagnóstico é motivo de preocupação em vários países do mundo devido à frequente ausência de sintomas e principalmente pelas sequelas que pode acarretar. A infecção por clamídia tem larga prevalência, particularmente entre jovens e adolescentes sexualmente ativos. Ela infecta homens e mulheres, mas tem consequências mais graves para as mulheres^{1,2}.

A infecção urogenital por *C. trachomatis* é um grande problema de saúde pública, sendo considerada a maior causa de morbidade entre indivíduos sexualmente ativos, com uma estimativa de 89 milhões de novos casos ocorrendo anualmente em todo o mundo, sendo que indivíduos não tratados servem como reservatório para a transmissão da infecção aos parceiros sexuais³.

O início precoce da atividade sexual, a multiplicidade de parceiros sexuais, ter tido mais que um parceiro sexual nos últimos 90 dias, ser solteira, não uso de preservativo nas relações sexuais, uso de contraceptivos hormonais orais por mulheres jovens, nuliparidade, uso de ducha vaginal, presença de ectopia cervical, hábito de fumar e falta de conhecimento sobre as doenças sexualmente transmissíveis são fatores comportamentais importantes que se associam à infecção por clamídia⁴.

Estudos soroepidemiológicos evidenciam que infecções por clamídia podem esclarecer um grande número de casos de infertilidade tubária e gestações ectópicas⁵. O dano tubário é uma causa comum da infertilidade e a laparoscopia ou histerossalpingografia (HSG) são métodos aceitos para o diagnóstico desta condição. Eles são, no entanto, onerosos e invasivos e, portanto, inadequados para triagem em larga escala. A infecção por clamídia resulta na formação de anticorpos detectáveis no soro. Ao contrário da laparoscopia ou HSG, a sorologia é um método não-invasivo, simples e rápido de executar⁶. Discute-se, entretanto, se a sorologia para clamídia poderia ser utilizada como teste de *screening* para dano tubário em mulheres inférteis.

O objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade do exame de imunofluorescência indireta (IFI) para *C. trachomatis* em rastrear lesão tubária.

Material e métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo de janeiro de 2006 a dezembro de 2009 junto ao Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e na Mater Clínica. Foram analisados 204 prontuários eletrônicos de pacientes com infertilidade (critério da OMS) que tenham realizado os exames de IFI e HSG, sendo a faixa etária compreendida entre 17 a 47 anos. Esse estudo foi submetido e aprovado pelo

Comitê de Ética em Pesquisa HC/UFG. Foram considerados positivos os títulos iguais ou superiores a 1:16. Os critérios de exclusão foram os seguintes: ligadura tubária, endometriose moderada ou grave, salpingectomia por tumor ou para contracepção e cirurgias pélvicas complicadas com pelviperitonites.

Para avaliar a capacidade do exame de IFI em rastrear obstrução tubária, foi realizado o teste de "Validade de um teste diagnóstico" ou simplesmente "Testes diagnósticos"^{7,8}.

Para avaliar o risco de obstrução tubária em pacientes expostas à clamídia, estas foram divididas em dois grupos: pacientes "expostas" à clamídia (IFI significativa $\geq 1:16$) e "não expostas" (IFI não significativa <1:16). Verificaram-se então as pacientes que tiveram a "doença" (obstrução tubária) e controles (sem obstrução tubária) na histerossalpingografia. Para os cálculos foi utilizado o teste Qui-quadrado (χ^2), corrigido para pequenas amostras (Teste Exato de Fisher) quando necessário. O nível de significância escolhido foi 0,05. O software estatístico utilizado foi o BioEstat® 5.0° .

Optou-se por se usar a HSG neste estudo, por ser um método largamente utilizado, seguro, tolerável e de rápida execução, além de ser uma boa opção na avaliação inicial da permeabilidade tubária em pacientes portadoras de infertilidade¹⁰.

Resultados

A média de idade das pacientes que apresentaram titulação significativa ($\geq 1:16$) foi de 31,6 ± 5 ,6 anos (intervalo de 18-47 anos) e aquelas que não apresentaram titulação significativa foi de 32,0 ± 5 ,3 anos (intervalo de 17-42 anos).

Ao analisarmos a presença de anticorpos detectados através da IFI por faixa etária, verificamos que a prevalência variou de 32,1% na faixa etária de 17 a 25 anos a 30,0% na faixa etária maior do que 41 anos. Conforme apresentado na Tabela 1, não houve diferença estatística entre as faixas etárias e títulos significativos para *C. trachomatis* (p>0,05).

A prevalência de pacientes que apresentaram anticorpos para *C. trachomatis* foi de 35,3% (72/204). A prevalência de pacientes com obstrução tubária foi de 25,5% (52/204).

Tabela 1 – Distribuição das pacientes por faixa etária e positividade da IFI* para *Chlamydia trachomatis*. Laboratório de Reprodução Humana FM/HC-UFG, 2011

Idade	IFI≥1:16	IFI<1:16	Total
(faixa etária)	n (%)	n (%)	n (%)
15-25	9 (32,1)	19 (67,9)	28 (100,0)
26-35	40 (32,8)	82 (67,2)	122 (100,0)
36-40	20 (45,5)	24 (54,5)	44 (100,0)
≥41	3 (30,0)	7 (70,0)	10 (100,0)

*IFI: Imunofluorescência indireta ≥1/16 p=0,717; associação estatisticamente significante p≤0,05

Como se observa na Figura 1, das 72 pacientes com titulação significativa, 34 (47,2%) apresentaram a ocorrência de obstrução tubária. Em relação as 132 pacientes com titulação não significativa, somente 18 (13,7%) apresentaram obstrução tubária (p<0,001).

A sensibilidade da IFI para *C. trachomatis* foi 65,4% (IC95% 51,8-76,8), especificidade de 75,0% (IC95% 67,6-81,2), valor preditivo positivo foi de 47,2% (IC95% 36,1-58,6), valor preditivo negativo de 86,4% (IC95% 79,5-91,2) e acurácia de 72,5%.

Houve um aumento progressivo e significativo entre os títulos obtidos através da IFI e a presença de obstrução tubária (p<0,001), ou seja, quanto maior a titulação obtida maior será a probabilidade da mulher apresentar obstrução tubária. A titulação com maior prevalência de obstrução tubária foi ≥1/256, com uma prevalência de 78,6%. De acordo com a Tabela 2, na titulação 1:16 a 1:32 as mulheres possuem chance de 2,80 vezes de apresentarem obstrução tubária (OR 2,80; IC95% 1,14-6,85; p<0,05). Já na titulação ≥ 1/256 a chance é de 24,58 vezes (OR 24,58: IC95% 6,22-97,20; p<0,001).

Discussão

A infecção pela *C. trachomatis* acarreta danos importantes à saúde sexual, reprodutiva e mental da mulher, onerando significativamente o sistema de saúde com suas diversas

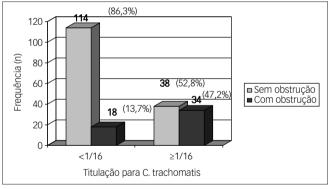


Figura 1 – Distribuição das pacientes segundo a positividade da imunofluorescência indireta para *C. trachomatis* e a presença de obstrução tubária. Laboratório de Reprodução Humana FM/HC-UFG, 2011

Tabela 2 – Distribuição das pacientes segundo a obstrução tubária e positividade na IFI* para *Chlamydia trachomatis*. Laboratório de Reprodução Humana FM/HC-UFG, 2011

		•		
IFI	Obstrução n (%)	Não obstrução n (%)	OR (IC 95%)	р
0 a <1:16	18 (13,6)	114 (86,4)	1,0	
≥1:16 a 1:32	9 (27,3)	24 (72,7)	2,80 (1,14-6,85)	0,040a
1:64 a 1:128	14 (56,0)	11 (44,0)	8,53 (3,33-21,84)	<0,001 ^b
≥1:256	11 (78,6)	3 (21,4)	24,58 (6,22-97,20)	<0,001°

*IFI: Imunofluorescência indireta ≥1:16; associação estatisticamente significante p≤0,05; OR= odds ratio; IC=intervalo de confiança;a: Teste Qui-quadrado b,c: Teste Exato de Fischer

complicações. Neste estudo, foi avaliada a capacidade do exame de IFI para *C. trachomatis* em rastrear obstrução tubária e constatamos uma alta prevalência de anticorpos IgG (35,3%) para clamídia na população estudada, utilizando-se a IFI. Existem poucos trabalhos nacionais com o número de casos utilizados neste estudo (204 casos) o que o torna importante referência nacional. Deve-se lembrar que as prevalências encontradas neste estudo são de uma população atendida em um centro universitário e particular de reprodução humana, triadas com infertilidade, portanto, não podem ser comparadas com a prevalência de uma população geral.

Estudos prévios têm mostrado resultados variáveis sobre as prevalências desses microorganismos no Brasil. Utilizando o método da imunofluorescência direta (IFD), Simões et al.¹¹, em Campinas (São Paulo), obtiveram taxa de 2,1% ao pesquisar contato da *C. trachomatis* entre 328 gestantes¹¹. Faundes et al.¹², na mesma cidade, detectaram através da IFD uma frequência de 6,6% em 407 mulheres do ambulatório de planejamento familiar. Outros autores obtiveram aproximadamente 20% de positividade, utilizando a técnica de PCR, para a infecção por clamídia em adolescentes e mulheres jovens da região Centro-oeste¹³.

Barberis et al. ¹⁴ relatam que um dos fatores de risco nas infecções seria a idade. O grupo etário mais afetado estaria compreendido entre 21 e 30 anos, devido a uma maior atividade sexual ou maior número de parceiros. Da mesma forma, Miranda et al. ¹⁵ reportam que a baixa idade é um dos fatores de risco mais importantes. Neste estudo, no qual foi avaliado a cicatriz sorológica deixada pela clamídia, observou-se que à medida que a faixa etária vai aumentando, por efeito cumulativo, a prevalência de soropositividade (presença de anticorpos) para *C. trachomatis* foi aumentando progressivamente, atingindo um platô entre os 36 e 40 anos (45,5%).

A principal causa de infertilidade feminina é a oclusão tubária bilateral causada pela doença inflamatória pélvica¹⁶. Quando são avaliadas as causas relacionadas com a infertilidade, verifica-se que variam de região para região. Nos países desenvolvidos, o fator tubário tem uma frequência de 36%, enquanto nos países em desenvolvimento, de 44%¹⁷. No Brasil, 2.331 casais atendidos nos Serviços de Esterilidade Conjugal dos hospitais universitários da Unicamp e da PUC-Campinas, em Campinas-SP, no período de 1980 a 1992, foram estudados, revelando que a etiologia mais frequente foi o fator tubário, respondendo por 53% dos casos. Essa elevada incidência do fator tubário deveu-se às mulheres que procuraram tratamento para reversão da laqueadura tubária (24% do total de casos)¹⁸.

Deve-se lembrar que a prevalência de 25,5% de obstrução tubária no nosso estudo não incluiu pacientes com história de ligadura tubária, em decorrência do desenho do projeto de pesquisa, uma vez que o objetivo foi avaliar especificamente lesão

tubária detectada à HSG associada à IFI para a clamídia. Daí a prevalência aparentemente menor deste estudo.

Altos títulos de anticorpos IgG para clamídia estão associados com lesões tubárias, aderências pélvicas e aumento do risco de gravidez tubária^{19,20}. De acordo com Glina²¹, aproximadamente 70% das mulheres com lesão tubária apresentam anticorpos circulantes para *C. trachomatis*.

Peivandi et al.²² investigaram o papel da sorologia para Chlamydia como teste de triagem para infertilidade tubária e compararam os resultados com a HSG e achados laparoscópicos e encontraram uma relação linear entre a presença de anticorpos e probabilidade de lesão tubária. E esse foi um dos principais achados do presente estudo com um aumento progressivo entre os níveis de anticorpos e a probabilidade de obstrução tubária (p<0,001), ou seja, quanto maior a titulação, maior será a probabilidade de ocorrência de obstrução tubária. Entretanto, o fator idade pode ter sido uma variável capaz de confundir visto que à medida que a paciente avança na idade, o tempo de exposição à clamídia é progressivamente maior e, por efeito cumulativo, há um aumento da prevalência de obstrução tubária. Esse argumento não explica, entretanto, os maiores valores de IFI em faixas etárias superiores.

Em Bristol, El Hakim et al.²³, utilizando a técnica de microimunofluorescência, observaram a relação que há entre títulos de anticorpos séricos para *Chlamydia* e severidade da lesão tubária em mulheres inférteis que foram submetidas à laparoscopia. Os resultados do presente estudo, não apenas afirmaram uma relação quantitativa entre os níveis de anticorpos como também a gravidade geral de danos das trompas em mulheres inférteis.

Nossos resultados sugerem que, com um título ≥1:16 utilizando o teste da IFI, o risco de uma mulher ter obstrução tubária é alto, ou seja, o suficiente para considerar encaminhamento precoce de novas investigações. Títulos <1:16 podem justificar encaminhamento precoce somente se houvesse outros fatores de risco tais como: dor aguda abdominal ou à relação sexual, cirurgia ou história de infecção pélvica ou o casal não concebido dentro de um tempo razoável.

Conclusão

Concluímos que a sorologia para *C. trachomatis* através da detecção de anticorpos pela técnica da IFI têm relação importante com dano tubário, demonstrado pela tendência linear entre o aumento dos níveis de anticorpos e incidência de dano tubário. Em locais onde não está disponível rastreamento por PCR, a IFI é válida para rastreamento de lesão tubária. Além disso, a sorologia causa mínimo desconforto para a paciente, é largamente disponível e deveria fazer parte da rotina nas clínicas de infertilidade.

Referências bibliográficas

- Gerbase AC, Rowley JT, Mertens TE. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. The Lancet. 1998;351(3):2-4.
- World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. Geneva: WHO; 2001.
- 3. Gillison ML, Koch WM, Capone RB. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. J Natl Cancer Inst. 2000;92(9):709-20.
- 4. Weir E. Upsurge of genital *Chlamydia trachomatis* infection. Canadian Medical Association Journal. 2004;171(8):855.
- World Health Organization task force on the prevention and management of infertility. Tubal infertility: serologic relationship to past chlamydial and gonococcal infection. Sex Transm Dis. 1995; 22:71-7.
- 6. Akande V. Tubal pelvic damage: prediction and prognosis. Hum Fertil. 2002;5(Suppl 1): S15-20.
- 7. Pereira MG. Epidemiologia: teoria e prática. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
- 8. Fletcher RH & Fletcher SW. Epidemiologia Clínica: Elementos essenciais. 4ª ed. Porto Alegre: ARTMED; 2006.

- 9. Ayres M, Ayres JR, Ayres DLM, Santos AS. BioEstat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Manaus: Sociedade Civil Mamirauá; 1998.
- Pérez JA, Maurer MN, Abreu M, Pitrez LH, Pellanda RC, Maurer SAC et al. Prevalência de alterações uterinas e tubárias na histerossalpingografia em mulheres inférteis – Estudo de 48 casos. Radiol Bras. 2001;34(2):79-81.
- Simões JA, Giraldo PC, Faúndes A. Prevalence of cervicovaginal infections during gestation and accuracy of clinical diagnosis. Infect Dis Obstet Gynecol. 1998;6(3):129-33.
- Faúndes A, Telles E, Tofoletti ML, Faúndes D, Castro S, Hardy E. The risk of inadvertent intrauterine device insertion in women carriers of endocervical *Chlamydia trachomatis*. Contraception. 1998;58:105-9.
- Araújo RS, Guimarães EM, Alves MF, Sakurai E, Domingos LT, Fioravante FC et al. Prevalence and risk factors for *Chlamydia* trachomatis infection in adolescent females and young women in central Brazil. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006;25(6):397-400.
- Barberis IL, Pájaro MC, Godino SD, Albesa IJA. Detección de Chlamydia trachomatis por enzimo inmunoensayo con anticuerpos monoclonales en mujeres sexualmente activas. Acta Bioquím Clin Latinoam. 1997;31(2):183-7.

- Miranda AE, Gadelha MJ, Passos RL. Impacto da infecção pela Chlamydia trachomatis na saúde reprodutiva. DST J Bras Doenças Sex Transm. 2003;15(1):53-8.
- 16. Cates WJ, Wasserheit JN. Genital chlamydial infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am J Obstet Gynecol. 1991;164:177-81.
- 17. Approbato M. Infertilidade. In: Porto C & Porto A eds. Vademecum de Clínica Médica. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. p. 569-70.
- Fernandes MAS, Bahamondes L. Incidência de fatores etiológicos de esterilidade conjugal nos hospitais universitários de Campinas. RBGO. 1996;18:29-36.
- 19. Sheffield PA, Moore DE, Voigt LF, Sholes D, Wang SP, Grayston JT et al. The association between *Chlamydia trachomatis* serology and pelvic damage in women with tubal ectopic gestations. Fertil Steril. 1993;60:970-5.

- 20. Land JA, Evers JLH, Goosens VJ. How to use *Chlamydia* antibody testing in subfertility patients. Human Reprod. 1998;13:1094-8.
- Glina S. Infecção e infertilidade masculina. In: Badalotti M, Teloken C, Petraco A. Fertilidade e infertilidade humana. Rio de Janeiro: Medsi; 1997. p. 475-483.
- 22. Peivandi S, Moslemizadeh N, Gharajeh S, Ajami A. The role of *Chlamydia trachomatis* IgG antibody testing in predictingt tubal factor infertility in northern Iran. Fert Steril. 2009;3(3):143-8.
- 23. El Hakim EA, Gordon UD, Akande VA. The relationship between serum *Chlamydia* antibody levels and severity of disease in infertile women with tubal damage. Arch Gynecol Obstet. 2010;281(4):727-33.

Recebido em: 24/07/2011 Aprovado para publicação em: 15/08/2011

Meiotic spindle of in vivo matured oocytes from infertile women with endometriosis: preliminary data

Fuso meiótico de oócitos maturados in vivo de mulheres inférteis com endometriose: dados preliminares

Luciana Azor Dib¹, Maria Cristina Picinato Medeiros Araújo¹, Roberta Cristina Giorgenon¹, Gustavo Salata Romão¹, Rui Alberto Ferriani², Paula Andrea Navarro²



Paula Navarro was graduated at Ribeirão Preto Medical School, in 1995 and had received her PhD in 2003. She is an active member of the Faculty Staff of the Ribeirão Preto Medical School, São Paulo University, Ribeirão Preto-SP, Brazil, and currently the Director of Hospital-based IVF Center, a Member of the Division of Gynecology Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Ribeirão Preto Medical School and the Coordinator of the Internship in Gynecology and Obstetrics (during the sixth year of the Medical School).

Abstract

Objective: To evaluate the presence/localization of meiotic spindles of *in vivo* matured oocytes from infertile women with and without endometriosis undergoing stimulated cycles for intracytoplasmic sperm injection. Methods: Meiotic spindles of oocytes with the first polar body extruded were imaged using polarization microscopy immediately before the intracytoplasmic sperm injection. Results: We analyzed 326 oocytes (79 from endometriosis stages minimal/mild, 51 from endometriosis stages moderate/severe – III/IV, and 196 from the Control Group). No significant differences were seen in the percentage of oocytes in metaphase II with visible and nonvisible spindles and in the spindle localization among the groups. Conclusions: We can conclude from this study that noninvasive analysis of spindles from *in vivo* matured oocytes of infertile patients with endometriosis did not demonstrate significant differences in terms of the nuclear maturation stage, the percentage of oocytes in metaphase II with visible spindles, and the spindle localization when compared to control group.

Uniterms: Endometriosis; Infertility; Cellular spindle; Human oocyte; Polarization microscopy; ICSI.

Resumo

Objetivo: Avaliar a presença e localização do fuso celular meiótico de oócitos maturados *in vivo* de mulheres inférteis, com e sem endometriose, submetidas à estimulação ovariana para injeção intracitoplasmática de espermatozoide. Métodos: Os fusos meióticos de oócitos com o primeiro corpúsculo polar visível foram analisados por microscopia de polarização imediatamente antes da injeção intracitoplasmática de espermatozoide. Resultados: Foram analisados 326 oócitos (79 de mulheres com endometriose estágios I/II, 51 de portadoras de endometriose III/IV e 196 do Grupo Controle). Não houve diferença significativa entre os grupos tanto na porcentagem de oócitos em metáfase II com fuso celular visível e nãovisível, como na localização do fuso celular. Conclusões: A análise não-invasiva dos fusos celulares de oócitos maduros de mulheres inférteis com endometriose pélvica não demonstrou diferença significativa em termos de percentagem de oócitos em metáfase II, com fuso visível e não-visível e nas diferentes localizações, quando comparados ao Grupo Controle.

Unitermos: Endometriose; Infertilidade; Fuso celular; Oócito humano; Microscopia de polarização; ICSI.

Study carried out at the Assisted Reproduction Laboratory at the Ribeirão Preto Clinics Hospital, Human Reproduction Sector of the Department of Obstetrics and Gynecology, Ribeirão Preto Medical School, São Paulo University (USP) – Ribeirao Preto (SP), Brazil.

¹ MD, PhD, Department of Obstetrics and Gynecology, Ribeirão Preto Medical School, São Paulo University (USP) – Ribeirão Preto (SP), Brazil.

² MD, PhD, National Institute of Hormones and Women's Health, Department of Obstetrics and Gynecology, Ribeirão Preto Medical School, São Paulo University (USP) – Ribeirão Preto (SP), Brazil.

Corresponding author: Paula Andrea Navarro – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – Avenida Bandeirantes, 3.900 – CEP 14049-900 – Ribeirão Preto (SP), Brazil – E-mail: paasnavarro@uol.com.br

Financial support: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Edital MCT/CNPq 15/2007 - Processo 478396/2007-4; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - 2008/58197-6.

Introduction

In the spectrum of endometriosis-related symptoms, one of the most intriguing is the association of the disease with infertility, mainly in cases where there are no mechanical alterations of the reproductive system. Although it has been a controversial issue for decades, several data have supported the concept of decreased fertility in endometriosis patients^{1,2}. The finding that similar implantation rates in oocyte donation cycles have been recorded between women with endometriosis and controls suggests an important role of the oocyte quality in assisted reproduction outcomes in infertile women with endometriosis^{1,3,4}.

Some studies have suggested that oxidative stress has a potential role in explaining the etiopathogenesis of infertility associated with endometriosis⁵⁻⁷, which could theoretically promote an impairment of the oocyte quality among such patients. Some alterations in the quality of oocytes may lead to either an impairment to embryonic development⁸ or a total block in that process⁹, when women with endometriosis were compared to infertile controls.

In order that the oocyte be prepared for fertilization, it needs to be mature (at the metaphase II stage) and with a morphologically and functional meiotic spindle. In a recently published study from our group analyzing in vitro matured oocytes obtained from stimulated cycles of infertile patients with either endometriosis or male/tubal infertility causes, we observed that patients with endometriosis tended to have a higher percentage of oocytes in telophase I among those with the first polar body (PB) visualized¹⁰. It suggests a potential delay or impairment of meiosis I associated with endometriosis, which would contribute to decreased oocyte quality. However, the number of cases presented was small and data could not necessarily be extrapolated to in vivo matured oocytes. These findings arouse interest in using noninvasive and innocuous methods to analyze this important cellular structure in in vivo matured oocytes from stimulated cycles of infertile women with endometriosis, which has not been performed yet. Such approach would make possible the utilization of the analyzed oocytes in subsequent assisted reproduction techniques (ART).

Polarization microscopy enables observation and characterization of spindles in live oocytes without the need of fixation¹¹. It is an innocuous method, which allows the use of the analyzed oocytes for intracytoplasmic sperm injection (ICSI) without compromising subsequent embryonic development. This methodology permits the identification of the nuclear maturation stage of oocytes and may have clinical utility for predicting embryo quality and fertilization after ICSI¹¹⁻¹³. Otherwise, identification of the meiotic spindle position relative to the first PB may prevent embryologists from damaging this important cellular structure during ICSI¹⁴.

58

Thus, we evaluated the presence/location of meiotic spindles of *in vivo* matured oocytes (in metaphase II) from women with endometriosis (stages minimal/mild – I/II and moderate/severe – III/IV) and male or tubal causes of infertility (controls), who were undergoing stimulated cycles for ICSI.

Material and methods

Patients

This prospective study was performed from March, 2008 to March, 2009 at the In Vitro Fertilization (IVF) Center of Ribeirão Preto Clinical Hospital, Department of Gynecology and Obstetrics, Ribeirão Preto Medical School – University of São Paulo, Brazil. This study was submitted to and approved by the Research Committee. All of the participating couples underwent ovulation induction for purposes of ICSI, fulfilled the inclusion criteria, demonstrated a desire to participate in the project, and completed an informed consent form.

Patients with age ≤38 years, basal follicle stimulating hormone (FSH) <10 mIU/mL and body mass index (BMI) <30 kg/m² were included. Women with endometriosis were included when diagnosed by videolaparoscopy according to the protocol from the American Society of Reproductive Medicine¹⁵, which classifies the disease in four stages: minimum (stage I), mild (stage II), moderate (stage III), and severe (stage IV). Women included in the Control Group did not have pelvic diseases associated with infertility, as demonstrated by videolaparoscopy.

Patients with chronic pathologies, users of tobacco or alcoholic beverages, and patients using medications that could interfere with ovarian foliculogenesis or oxidative stress, such as nonsteroid anti-inflammatories and corticosteroids, in the six months prior to the beginning of ovulation induction were excluded.

Seventy-four patients met the inclusion criteria for the study. Of these, 43 presented with male and/or tubal factors and were designated as the Control Group, and 31 presented with infertility related to endometriosis (16 with minimal and mild endometriosis and 15 with moderate and severe endometriosis).

Controlled ovarian stimulation protocol

The patients underwent pituitary suppression using a gonadotropin-releasing hormone (GnRHa) analog ten days prior to the basal transvaginal ultrasound (long protocol), with administration of leuproliof acetate (Lupron®, Abott, Brazil). The patients received 100 to 300 IU per day of recombinant FSH (FSHr) (Gonal-F®, Serono, Brazil; Puregon®, Organon, Brazil) in the first six days of induction. When at least two follicles reached a mean diameter of 18 mm, the recombinant hCG was administered

(Ovidrel®, Serono, Brazil). The oocyte collection was performed 34 to 36 hours after administration of recombinant hCG.

Oocyte preparation

All of the material aspirated during the oocyte collection was analyzed to identify and isolate the cumulus-oocyte complexes (COC). After identification, the COC were isolated from the follicular fluid (FF) and placed upon separated plates. The COC were carefully washed in Human Tubal Fluid-HEPES (HTF, Irvine Scientific) to remove blood and debris. Subsequently, they were placed upon NUNC plates (Multidish 4 wells Nuclon, Delta SI), filled with HTF culture medium, covered with mineral oil, and subjected to 5% CO2 gas incubation under ideal temperature (37° C) and humidity (95%) conditions for a period of two to three hours. After this period to remove the cumulus cells, the COC were placed in micro-drops of 25 µL of hyaluronidase (H4272 type IV-S, Sigma), diluted in 80 UI/mL of HTF/HEPES (Irvine Scientific), for a maximum of 30 seconds, and then washed from two to three times with HTF modified medium (HTF/ HEPES, Irvine Scientific), supplemented with 10% Synthetic Serum Substitute (SSS). The mechanical removal of cellular debris was done with a stripper pipette (130 µm denuding pipette, Cook, Melbourne, Australia).

After oocyte denuding, the degree of oocyte maturation was identified using a light microscope. The immature oocytes (germinal vesicle stage or metaphase I) were discarded. The mature oocytes (morphologically characterized by the presence of the first PB extruded) were incubated in 25 μL of HTF + 10% SSS for one hour (after oocyte denuding) and then analyzed by the OCTAX ICSI Guard TM System (Medical Technology Vertriebs-GmbH, Altdorf, Germany) immediately before ICSI.

Polarization microscopy

The spindles of oocytes with the first PB extruded were evaluated using an inverted microscope equipped with a video camera and with the hardware of the polarization microscope, which consists of electric crystals and an optic-electric controller (OCTAX ICSI GuardTM System, Medical Technology Vertriebs-GmbH, Altdorf, Germany). The electric crystal groups are controlled by the computer through the OCTAX EyeWareTM Software (Medical Technology Vertriebs-GmbH, Altdorf, Germany). The oocytes were analyzed at 37° C, in 5 µl drops of HTF/Hepes + 10% SSS in coated glass bottom Petri dishes (MatTek Corp., Ashland, MA), and they were placed on a surface heated to 37°C.

To control the methodological biases related to nonvisualization of the spindle due to oocyte denuding and metaphase

aging, denuding was done two to three hours after the cellular collection. Subsequently, the oocytes were placed on the previously balanced culture plates in the incubator for one more hour followed by imaging and ICSI. A maximum of seven oocytes were analyzed on each plate due to the total time, including the time necessary to analyze the cellular spindle by polarization microscope and ICSI was less than or equal to seven minutes.

The cellular spindles in metaphase II were characterized by the presence of radially distributed birefringent fibers in the shape of a barrel and oriented parallel to the cortical membrane. Since chromosomes are minimally birefringent, they were not properly analyzed by this methodology. The cellular spindle localization was based on the angle formed between this structure and the first PB; the oocytes were divided into six groups, as follows: with spindles making 0 to 30° as related to the first PB; with spindles making 30 to 60° as related to the first PB; with spindles making 60 to 90° as related to the first PB; with spindles making 120 to 120° as related to the first PB; and with spindles making 150 to 180° as related to the first PB.

Statistical analysis

The Endometriosis and Control Groups were first analyzed comparatively using Fisher's exact test with regard to the following parameters: the percentage of oocytes in metaphase II with visible and nonvisible spindles and the percentage of oocytes with spindles localized in the different positions. Quantitative variables were analyzed statistically by the analysis of variance (ANOVA) followed by the Duncan post-test. The level of significance was 5% (p<0.05) in all analyses.

Results

Three hundred and twenty-six oocytes with the first PB extruded (considered mature oocytes by embryologists in clinical practice) were analyzed by polarization microscopy, 130 from the Endometriosis Group (79 from the Endometriosis I/ II Group and 51 from the Endometriosis III/IV Group) and 196 from the Control Group, immediately before ICSI. We did not observe a significant difference between the percentage of oocytes in metaphase II with visible and nonvisible spindles among the analyzed groups (94.9, 91.5, and 86.9, of oocytes with visible spindles, respectively, in the Endometriosis I/II, III/IV, and Control Groups). All of the oocytes presented a cellular spindle localized between 0° and 90° in relation to the first PB. We did not see any significant differences in the percentage of oocytes with cellular spindles localized between

0° and 30°, 30° and 60°, and 60° and 90° among the analyzed groups. It is noteworthy that the percentage of oocytes with cellular spindles localized between 60° and 90° in relation to the first PB was small among the three analyzed groups (2.7, 4.7, and 4.2, respectively in the Endometriosis I/II, III/IV, and Control Groups) (Table 1).

No significant differences were found among groups (Endometriosis I/II, III/IV, and Control Groups) in relation to the median age, the number of retrieved oocytes, and the number of mature oocytes (with first PB extruded) (Table 2).

Discussion

The mechanisms involved in the etiopathogenesis of infertility related to endometriosis have not been fully elucidated. Lower fertilization and implantation rates in women with endometriosis undergoing ovarian stimulation for ART^{1,3,4} might result from decreased oocyte quality¹⁰. However, we could not find any studies that have objectively evaluated markers of oocyte quality in infertile women with endometriosis using noninvasive methods, which permit clinical use of oocytes in ART.

In the clinical practice, embryologists perform oocyte denudation before ICSI and the visualization of the first PB is

Table 1 – Non-invasive analysis of oocytes with the first polar body extruded obtained from stimulated cycles of infertile patients with and without endometriosis (tubal and/or male infertility factors)

	Endom	Tubal and/or	
riables	I – II	III – IV	Male In infer- tility factors
Spindle visualization (MII oocytes)			
Nonvisible (%)	5.0 (4/79)	8.5 (4/47)	13 (25/191)
Visible (%)	94.9 (75/79)	91.5 (43/47)	86.9 (166/191)
Spindle localization			
0°-30° (%)	78.6 (59/75)	86 (37/43)	85.5 (142/166)
30°-60° (%)	18.6 (14/75)	9.3 (4/43)	10.2 (17/166)
60°-90° (%)	2.7 (2/75)	4.7 (2/43)	4.2 (7/166)

No statistically significant difference was observed among the groups (p<0.05).

Table 2 – Comparison of the parameters of controlled ovarian stimulation of infertile women with and without endometriosis (tubal and /or male infertility factors)

and for male interacting factors,				
Endom	Tubal and/or			
I – II	III – IV	male In infer- tility factors		
16	15	43		
20	18	49		
33.6±2.9	33.1±3.6	33.4±3.4		
18	16	47		
6.0±3.8	5.1±3.4	6.4±3.7		
4.9±2.7	3.6±2.6	5.0±3.2		
	I – II 16 20 33.6±2.9 1 18 6.0±3.8	16 15 20 18 33.6±2.9 33.1±3.6 1 18 16 6.0±3.8 5.1±3.4		

Data presented as media * standard deviation. Mature oocytes: oocytes with the first polar body visible. No statistically significant difference was observed among the groups (p<0.05).

used as the criterion to classify the oocyte as mature and able it to be injected. However, oocytes with the first PB extruded may not complete meiosis I being in telophase I instead of metaphase II^{13} .

Some studies have shown significant DNA damage and increased microtubule and chromosomal anomalies in mouse oocytes incubated with peritoneal fluid (PF) from patients with endometriosis ¹⁶. These results suggest that meiotic anomalies may be related to impaired oocyte quality in endometriosis patients. It is well-established that meiotic abnormalities can contribute to developmental failure through several pathways, ranging from the inability of the oocyte to complete the maturation process, which makes it incapable of being normally fertilized, to the appearance of several errors in the meiotic maturation process that do not make fertilization impossible, but that can compromise embryonic development pre- and/or post-implantation, as well as the future viability of the embryo¹⁷⁻¹⁹.

The objective of the present study was to compare the visualization and localization of metaphase II meiotic spindles among infertile women with endometriosis (stages I/II and III/ IV) and controls. In this study, the meiotic spindle was visualized in almost 90% of the examined oocytes, as supported by the data in the literature, where visualization of the cellular spindle can range from 62.8 to 91% 20,21. The high percentage of oocytes with visible cellular spindles observed in the three analyzed groups in this study can be attributed to rigorous methodological control, including incubating oocytes for one hour after denuding and adequate control of ambient conditions (maintenance of ideal temperature and pH and short time of light exposure and oocytes outside incubation during analyses)²². There was not a significant difference between the percentage of oocytes in metaphase II with visible and nonvisible spindles amongst patients with endometriosis I/II, endometriosis III/IV, and controls. In relation to the localization of the cellular spindle, we also did not observe significant difference between the groups. All of the oocytes with visible spindles presented this structure localized between 0° and 90° in relation to the first PB, with almost 85% localized between 0° and 30°. Studies in the literature have evaluated the angle formed between the PB and the cellular spindle and they concluded that when the angle does not exceed 90°, there are no effects on the fertilization rates of the oocytes^{21,23}.

Conclusions

We can conclude from this study that no significant differences were observed by polarization analysis of *in vivo* matured oocytes, in terms of visualization and localization of meiotic

spindles from patients with and without endometriosis. First of all, it is important to state that spindle visualization by polarization microscopy does not mean that this cell structure is normal, which should be evaluated in further studies with adequate methodology. Secondly, analysis of the present data suggests that the localization of the oocyte spindles in anomalous positions is not responsible for the impaired oocyte quality of patients with infertility related to endometriosis.

Acknowledgments

The authors thank the following institutions for financial support: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Brazil; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brazil – Edital MCT/CNPq 15/2007 - Processo 478396/2007-4; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Brazil - 2008/58197-6.

Referências bibliográficas

- Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. Hum Reprod Update. 2000;6(1):67-74.
- Garrido N, Navarro J, Garcia-Velasco J, Remoh J, Pellice A, Simon C. The endometrium versus embryonic quality in endometriosisrelated infertility. Hum Reprod Update. 2002;8(1):95-103.
- 3. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. Fertil Steril. 2002;77(6):1148-55.
- 4. Al-Fadhli R, Kelly SM, Tulandi T, Tanr SL. Effects of different stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization. J Obstet Gynaecol Can. 2006;28(10):888-91.
- Jackson LW, Schisterman EF, Dey-Rao R, Browne R, Armstrong D. Oxidative stress and endometriosis. Hum Reprod. 2005;20(7):2014-20.
- 6. Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, Alvarez JG. Role of oxidative stress in endometriosis. Reprod Biomed Online. 2006;13(1):126-34.
- Mansour G, Abdelrazik H, Sharma RK, Radwan E, Falcone T, Agarwal A. L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. Fertil Steril. 2009;91(5 Suppl):2079-86.
- Brizek CL, Schlaff S, Pellegrini VA, Frank JB, Worrilow KC. Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis--an association with endometriosis. J Assist Reprod Genet. 1995;12(2):106-12.
- Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohi J, Simon C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. Hum Reprod. 1995;10(Suppl 2):91-7.
- Barcelos ID, Vieira RC, Ferreira EM, Martins WP, Ferriani RA, Navarro PA. Comparative analysis of the spindle and chromosome configurations of in vitro-matured oocytes from patients with endometriosis and from control subjects: a pilot study. Fertil Steril. 2009;92(5):1749-52.
- Petersen CG, Oliveira JB, Mauri AL, Massaro FC, Baruffi RL, Pontes A, et al. Relationship between visualization of meiotic spindle in human oocytes and ICSI outcomes: a meta-analysis. Reprod Biomed Online. 2009:18(2):235-43.
- 12. Wang WH, Keefe DL. Prediction of chromosome misalignment among in vitro matured human oocytes by spindle imaging with the PolScope. Fertil Steril. 2002;78(5):1077-81.

- 13. 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(7):1991-5.
- 14. Moon JH, Hyun CS, Lee SW, Son WY, Yoon SH, Lim JH. Visualization of the metaphase II meiotic spindle in living human oocytes using the Polscope enables the prediction of embryonic developmental competence after ICSI. Hum Reprod. 2003;18(4):817-20.
- 15. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. Fertil Steril. 1997;67(5):817-21.
- Mansour G, Radwan E, Sharma R, Agarwal A, Falcone T, Goldberg J. DNA damage to embryos incubated in the peritoneal fluid of patients with endometriosis: role in infertility. Fertil Steril. 2007;88:S311.
- 17. Pavlok A, Lucas-Hahn A, Niemann H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. Mol Reprod Dev. 1992;31(1):63-7.
- Lonergan P, Monaghan P, Rizos D, Boland MP, Gordon I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. Mol Reprod Dev. 1994;37(1):48-53.
- 19. Armstrong DT. Effects of maternal age on oocyte developmental competence. Theriogenology. 2001;55(6):1303-22.
- Madaschi C, de Souza Bonetti TC, de Almeida Ferreira Braga DP, Pasqualotto FF, Iaconelli A Jr., Borges E Jr. Spindle imaging: a marker for embryo development and implantation. Fertil Steril. 2008;90(1):194-8.
- 21. Rienzi L, Ubaldi F, Martinez F, Iacobelli M, Minasi MG, Ferrero S, et al. Relationship between meiotic spindle location with regard to the polar body position and oocyte developmental potential after ICSI. Hum Reprod. 2003;18(6):1289-93.
- 22. Roberts R, Franks S, Hardy K. Culture environment modulates maturation and metabolism of human oocytes. Hum Reprod. 2002;17(11):2950-6.
- 23. Fang C, Tang M, Li T, Peng WL, Zhou CQ, Zhuang GL, et al. Visualization of meiotic spindle and subsequent embryonic development in in vitro and in vivo matured human oocytes. J Assist Reprod Genet. 2007;24(11):547-51.

Recebido em: 16/08/2011 Aprovado para publicação em: 22/08/2011

União homoafetiva e reprodução assistida: o que pode ser feito?

Homo-affective union and assisted reproduction: what can be done?

nova Resolução do Conselho Federal de Medicina (CFM 1.957/2010), ao estabelecer que as técnicas de reprodução assistida podem ser utilizadas para resolver os problemas da reprodução humana, desde que exista possibilidade de sucesso e não haja riscos graves de saúde para a paciente ou descendente, abriu claramente a possibilidade de casais do mesmo sexo requererem esses recursos para constituir sua família. As clínicas de reprodução assistida recebem, não raras vezes, essas solicitações.

No caso de união entre duas mulheres, é comum uma delas desejar doar o oócito para ser fertilizado com o sêmen de um doador, e o embrião resultante ser transferido para o útero da outra parceira. Há quem argumente, erroneamente, que se trata de doação de oócito de doadora conhecida, o que seria vetado pela Resolução do CFM. Nada mais equivocado: trata-se de um casal com seus direitos reconhecidos, que formam um núcleo familiar. Dentro desse núcleo, o casal dispõe do útero e dos oócitos, faltando apenas o sêmen para o processo reprodutivo. Aí sim temos a obrigação de utilizar sêmen de doador desconhecido, como recomenda o CFM. Portanto, a solicitação de reprodução assistida de um casal de mulheres, na qual uma delas fornece o oócito e a outra fornece o útero, é legítima e não está em desacordo com as novas normas do CFM.

No caso de parceiros do sexo masculino, a situação é um pouco mais complexa: enquanto para parceiras mulheres faltam apenas os espermatozoides, no caso dos homens é apenas isso que eles têm, faltando-lhes os oócitos e o útero. Nessa circunstância, os oócitos devem ser provenientes de doadora desconhecida, o útero cedido por uma parente em primeiro grau de um dos parceiros, e o sêmen fornecido por um deles.

Essas são as situações possíveis de reprodução assistida em casais homoafetivos do ponto de vista técnico e ético. Obviamente, limitamo-nos aqui a expor aspectos técnicos que não entrem em conflito com as novas normas do CFM, sem nos atermos a aspectos sociais, psicológicos e até jurídicos que envolvem esse núcleo familiar que só atualmente vem buscando e obtendo reconhecimento como tal.

Costuma-se dizer que a ciência está sempre à frente das transformações sociais; talvez tenhamos aqui uma exceção à regra, pois a união entre indivíduos do mesmo sexo, que por sinal sempre existiu, vem agora obtendo o reconhecimento de seus direitos; entre eles, o legítimo anseio de ampliação do núcleo familiar. É aí que a ciência, por meio das técnicas de reprodução assistida, busca formas de interferir para garantir esse direito.

Com essas considerações, despeço-me da função de editor da Reprodução & Climatério, desejando um trabalho profícuo e muito sucesso aos novos editores. Agradeço a todos pela colaboração que recebi nesses anos à frente da nossa revista e espero continuar, de outras maneiras, contribuindo para tornar cada vez mais forte a Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH).

Um abraço afetuoso a todos os associados da SBRH,

Dr. Mario Cavagna*

^{*} Diretor da Divisão de Reprodução Humana do Hospital Pérola Byington – São Paulo (SP), Brasil.