

SBRH

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

ISSN 1413-2087

Reprodução & Climatério

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

VOLUME 28 • Nº 2 • Maio/Agosto 2013

Editorial

Fundamentalismo religioso e violência sexual

Artigos Originais

Mulheres inférteis com endometriose pélvica mínima e leve submetidas à estimulação ovariana apresentam menor expressão do gene *CYP19A1* em células do cumulus

Prevalência e práticas preventivas em infertilidade entre mulheres atendidas em um serviço público de saúde

Prevalência de doença periodontal em mulheres menopausadas atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

Artigos de Revisão

A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática

Perspectivas de uso da hibridização genômica comparativa como rastreamento pré-implantacional em biópsias de embrião humano no estágio de blastocisto

Androgênios em más respondedoras

Comunicação breve

Protocolos de estimulação ovariana controlada para criopreservação de oócitos em pacientes com câncer de mama



Volume 28 • Número 2 • Maio/Agosto 2013

SUMÁRIO

Editorial

Fundamentalismo religioso e violência sexual

Jefferson Drezett 47

Artigos Originais

Mulheres inférteis com endometriose pélvica mínima e leve submetidas à estimulação ovariana apresentam menor expressão do gene CYP19A1 em células do cumulus

Ionara Diniz E.S. Barcelos, Flavia Capello Donabela, Michele G. Da Broi, Cristiana Padovan Ribas, Juliana Meola e Paula Andrea Navarro 51

Prevalência e práticas preventivas em infertilidade entre mulheres atendidas em um serviço público de saúde

Matheus de Aquino Moreira Guimarães, Anne Elise Alexandre e José Augusto Assumpção Crespo Ribeiro 57

Prevalência de doença periodontal em mulheres menopausadas atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará

Tatiana Garcia de Moraes, Diandra Costa Arantes, Liliane Silva do Nascimento e Adriano Maia Correa 61

Artigos de Revisão

A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática

Camila Filardi Silveira, Lara Meireles de Azeredo Coutinho, Waldemar Naves do Amaral e Eduardo Camelo de Castro 68

Perspectivas de uso da hibridização genômica comparativa como rastreamento pré-implantacional em biópsias de embrião humano no estágio de blastocisto

Pabline Barbosa Lima Almeida, Oscar Barbosa Duarte Filho e Jonathas Borges Soares 74

Androgênios em más respondedoras

Rejane Cristina Malavazzi Casare, Gilberto da Costa Freitas e Lídio Jair Centa 80

Comunicação breve

Protocolos de estimulação ovariana controlada para criopreservação de oócitos em pacientes com câncer de mama

Mario Cavagna, Artur Dzik, Nilka Donadio, Patricia Tourinho da Silva, Fernanda Lima Saldanha e Luiz Henrique Gebrim 86



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Editorial

Fundamentalismo religioso e violência sexual

Religious fundamentalism and sexual violence

Em 1º de agosto de 2013 a Presidência da República sancionou, sem vetos, a Lei nº 12.845, aprovada pelo Congresso Nacional, no qual tramitava desde 1999, que estabelece a obrigação dos hospitais do Sistema Único de Saúde (SUS) de prestar atendimento emergencial, integral e interdisciplinar para pessoas que sofrem violência sexual. Publicada no Diário Oficial da União, seu artigo 1º expressa com simplicidade o que se pretende: garantir assistência em saúde gratuita, qualificada e humanizada que previna e reduza os danos físicos e psíquicos decorrentes da violência sexual. O artigo 3º da Lei define quais ações integram esse atendimento: tratamento de lesões físicas, genitais e extragenitais; amparo médico, psicológico e social; apoio para registrar a ocorrência junto às autoridades; e profilaxia da gravidez indesejada e das doenças sexualmente transmissíveis (DST). Além disso, estabelece o direito de cada vítima receber suficiente informação sobre seus direitos legais e orientação sobre todos os serviços sanitários para ela disponíveis.

Por seu conteúdo essencialmente humanitário, que busca atenuar as consequências da brutalidade do ato, seria razoável supor que a Lei não receberia resistência, oposição ou requerimento de veto. Mas não foi o que ocorreu. Nas semanas que precederam a decisão do Executivo, manchetes diariamente destacaram diferentes estratégias de grupos e líderes religiosos para que a Presidência da República vetasse determinados pontos da Lei. Embora a questão da interrupção da gestação decorrente do estupro sequer seja mencionada no texto, fundamentalistas religiosos reclamaram que a lei estimularia e facilitaria o aborto no país. Criticaram duramente a anticoncepção de emergência (AE), por considerá-la medicamento abortivo. Ofendidos, reagiram ao emprego do termo *profilaxia* para se referir à gestação, sob a justificativa de que a palavra reduz a gravidez à condição de doença. Exigiu-se que os serviços de saúde não orientassem as mulheres sobre seus direitos, sob o argumento de que essa função caberia apenas à polícia.

Embora outras manifestações contrárias à Lei nº 12.845 tenham sido veiculadas, há questões acima que merecem muita atenção. A oposição à AE é recorrente no discurso religioso e se baseia em impossíveis e fantasiosos “mecanismos

de ação”, insistentemente associados ao aborto precoce. Diferentemente disso, a AE tem capacidade demonstrável de suprimir o pico do LH e impedir ou postergar a rotura folicular. A administração muito próxima da ovulação não se mostra capaz de modificá-la, o que explica parte das falhas do método. Ao mesmo tempo, a AE interfere na capacitação e na fase sustentada de migração dos espermatozoides e aumenta a viscosidade do muco cervical. Impede-se o deslocamento do gameta masculino até as trompas, o que reduz significativamente as chances de fertilização nos casos em que não foi possível atuar na ovulação.¹ Além disso, estudos de morfologia e de receptividade do endométrio para a nidificação do blastocisto demonstram, sem exceção, que não há prejuízo desses biomarcadores após o uso da AE hormonal e mantêm-se intactos os processos biológicos posteriores à fecundação.²

As evidências científicas atribuem à AE a legítima condição de método anticonceptivo legal e ético como os demais contraceptivos modernos e eficazes. Mas o fundamentalismo religioso sistematicamente despreza a ciência e ignora o conhecimento. Sem apresentar qualquer evidência em contrário, mantêm a retórica do “efeito abortivo”. Mas essa não é apenas uma questão de expressão e liberdade de pensamento dentro dos limites democráticos. Grupos religiosos têm publicamente por meta impor sua crença a todas as mulheres, seja com a manipulação da opinião pública suscetível ao seu apelo, seja pelos obstáculos ao acesso ao anticonceptivo em nome de “proteger a vida”. As cidades paulistas de Ilhabela e Jundiá são exemplos recentes dessa estratégia ao aprovarem nas câmaras municipais leis draconianas que proibiram a venda e distribuição local da AE. Por sua inconstitucionalidade, essas leis foram evidentemente derrubadas pelo Poder Judiciário.

Mas há um inegável paradoxo na condenação religiosa da AE e na articulação por sua proibição, principalmente quando se consideram alguns indicadores de saúde reprodutiva. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que ocorram, anualmente, 75 milhões de gestações não planejadas em todo o mundo. Desse total, 46 milhões terminam em aborto induzido. Quase a metade desses abortos é praticada em condições precárias e inseguras, que levam à morte 45 mil mulheres

jovens a cada ano. Outros cinco milhões de mulheres que sobrevivem ao aborto de risco enfrentam graves sequelas reprodutivas.³ O fundamentalismo religioso trata com desdém o fato de que ao reduzir as taxas de gravidez indesejada, a AE necessariamente reduz a busca das mulheres pelo aborto. Portanto, a anticoncepção não promove o aborto, mas o previne. Em consequência, ao diminuir o número de abortos inseguros, evita-se tanto a morte de mulheres como a perda fetal e se protege a vida.

A estreiteza da visão religiosa que não admite o efeito preventivo da AE sobre o aborto é a mesma que considera insulto termos médicos que tratam eticamente a anticoncepção. De fato, a contestada palavra *profilaxia* deriva do grego *prophylaxis* e seu uso na saúde comumente se aplica aos meios tendentes a evitar a *propagação de doenças*. Mas esse conceito não é restrito. A palavra também se aplica à *proteção da saúde* e, enquanto sinônimo de *precaução*, pode denominar outras medidas em outras áreas do conhecimento. Para a ciência, *profilaxia* também é qualificador de *prevenção*, registrada como identificador único Q000517 na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) no Descritor em Ciências da Saúde (DeCS), e inclui *medidas preventivas em casos individuais*. Portanto, é correta a terminologia empregada na Lei e não há sustentação para a distorcida associação entre *profilaxia* e *doença*. Mesmo assim, o Executivo apressou-se a atender a leiga opinião religiosa e se comprometeu a substituir a *profilaxia da gravidez* pelo lamentável eufemismo *medicação com eficiência precoce para prevenir a gravidez*.

Existe, no entanto, a questão concreta de tentar impedir o acesso à AE para mulheres que sofrem crimes sexuais. E não há argumento que a justifique. O emérito professor Anibal Faúndes afirma, com experiência e sensibilidade, que a gestação decorrente de estupro é uma segunda violência contra a mulher, muitas vezes intolerável para ser mantida até o termo. A maioria das mulheres nessas circunstâncias parece concordar. Estudo feito em nosso meio indica que 88,4% das mulheres apresentam intenso sentimento de repúdio pela gestação forçada. Outras 76,7% declaram sua frustração e impotência frente a uma violação de seu direito de escolha pela maternidade. Após dois ou mais anos da feitura do aborto legal, quase 70% dessas mulheres ainda referem problemas de sexualidade, resultado do abuso sexual. Por outro lado, mais de 80% das mulheres que decidiram pelo aborto eram católicas, evangélicas ou espíritas. As mesmas religiões inflexíveis quanto ao tema do aborto e que advogam a proibição de sua prática. Nenhuma delas declarou arrependimento pela escolha.⁴

A perversidade de pretender obrigar que mulheres vulneráveis corram o risco de engravidar do estupro causa tanta perplexidade quanto pretender a tirania de obrigá-las a manter essa gestação até o término. Nesse caso, o argumento religioso de que a lei sancionada estimularia o aborto não faz sentido e não tem relevância. A legislação penal brasileira é restritiva quanto ao aborto e o tipifica como crime. A Lei nº 12.845 não altera esse fato, nem acrescenta excludentes de ilicitude. Contudo, desde 1940 o inciso II do artigo 128 do Código Penal estabelece que não há punição para a mulher ou para o médico(a) que faz o aborto quando a gravidez resulta de crime sexual. Mulheres têm o direito de escolha de manter a gestação ou interrompê-la, assim como os profissionais de

saúde podem decidir se fazem ou não o procedimento, mediante sua consciência. Cabe ao Estado o dever de ampará-los, qual seja sua decisão.⁵

A normativa do Ministério da Saúde, publicada em 1999, oferece protocolo que orienta os profissionais de saúde a conduzir o atendimento de mulheres em situação de gravidez decorrente de violência sexual, obedecendo os princípios éticos e o ordenamento jurídico.⁶ A Lei nº 12.845 não cria uma norma técnica, mas garante que todas as mulheres tenham acesso à existente. Nesse aspecto, a crítica à Lei excede a retórica religiosa. O Projeto de Decreto Legislativo (PDL) 42/2007, de autoria do deputado federal Henrique Afonso, que se declara membro da Igreja Presbiteriana, propõe suspender a norma técnica do Ministério da Saúde e proibir a interrupção da gestação decorrente de estupro. No mesmo sentido, caminha o Projeto de Lei (PL) 478/2007, do deputado federal Luiz Bassuma, conhecido como Estatuto do Nascituro, que tornaria inviolável a vida desde a fecundação e faria crime o aborto em caso de estupro ou qualquer intervenção que comprometesse a viabilidade do óvulo fecundado.

Como esse objetivo não é factível frente à atual legislação, fundamentalistas religiosos exigiram do Executivo que a informação sobre a possibilidade de interromper a gestação fosse arbitrariamente negada às mulheres. A Conferência Nacional dos Bispos do Brasil (CNBB) alega que esse tipo de informação induziria e estimularia a escolha pelo aborto. Pretende, portanto, que seja ocultado das mulheres que elas têm o direito ao aborto ético, legal e seguro. Não cabe comentar tamanha intenção de desrespeito aos direitos humanos das mulheres e o flagrante afrontamento da Constituição. Grande parte da população conhece o direito ao aborto em casos de estupro, o que tornaria a medida inócua. Por outro lado, desconhecer direitos é mais frequente entre mulheres pobres e com menor escolaridade. São essas mulheres mais vulneráveis que dependem dos serviços de saúde para receber a informação sobre o direito ao aborto legal.

Não há violação da ética ou do direito ao orientar uma mulher grávida de estupro sobre quais opções tem frente essa situação. A norma técnica do Ministério da Saúde prevê essa medida. O Comitê de Ética em Reprodução Humana e Saúde da Mulher da Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (Figo) afirma que o principal compromisso do(a) médico(a) deve ser proporcionar as melhores condições de saúde reprodutiva para as mulheres. Mesmo aqueles que se encontrem impedidos de fazê-lo por razões de consciência não deixam de ter essa responsabilidade. Deve prevalecer o dever de informar à mulher todas as opções para sua condição, inclusive aquelas de que ele eventualmente se negue a praticar. O princípio bioético da autonomia assegura a participação da mulher nas decisões sobre sua saúde.⁷

Contraditoriamente, a CNBB defende a tese de que apenas as delegacias de polícia forneçam esse tipo de informação. Difícil entender por qual motivo o delegado de polícia poderia oferecer informação para uma mulher sobre uma questão de sua saúde e o profissional de saúde, não. Preconizar que apenas a polícia informe sobre o direito ao aborto legal em casos de estupro esconde uma lógica misógina: a de que as mulheres alegariam falso estupro e que precisam ser submetidas ao interrogatório policial, como criminosas, para “encontrar

a verdade". Além de violar o direito de presunção de veracidade, essa proposição não tem fundamento. A mulher que sofre crime sexual não tem dever legal de comunicar o fato à polícia, fazer o boletim de ocorrência ou se submeter ao exame de corpo de delito.⁵ Mesmo assim, a Lei n° 12.845 estabelece que os serviços de saúde devam apoiar e orientar a mulher a tomar essas medidas enquanto exercício de direitos, da mesma forma que já o faz a norma técnica do Ministério da Saúde.⁶

Por fim, cabe compreender o contexto em que se aplica a Lei n° 12.845 e se insere a retórica religiosa. Não são poucas as razões que fundamentaram a proposição do Legislativo. A violência contra mulher é uma brutal violação de direitos humanos. Entre 2002 e 2006 foram registrados mais de oito mil óbitos de mulheres brasileiras com entre 15 e 29 anos, resultado direto de agressões físicas praticadas por homens. Quase 12% das regiões analisadas no país mostram taxa elevada de letalidade de mulheres, muito acima da média nacional, e alertam para a magnitude e as complexidades regionais do problema.⁸

Crimes sexuais podem ser entendidos como a amarga expressão dessa violência de gênero e atingem principalmente as mulheres. Os números envolvidos na violência sexual são igualmente expressivos, embora reconhecidamente subnotificados. Mesmo assim, entre 2004 e 2006 foram feitos 105 mil atendimentos de emergência nos EUA de mulheres jovens com lesões físicas decorrentes de crimes sexuais.⁹ A estimativa mais preocupante, embora confiável, é que 12% a 25% das meninas sofra algum tipo de abuso sexual até os 18 anos.¹⁰ Investigação da OMS indica que a frequência de abuso sexual praticado pelo parceiro íntimo pode alcançar desde 6% das mulheres que vivem em Sérvia e Montenegro até 59% das mulheres na Etiópia. No Brasil, 15% das mulheres declaram ter sofrido violência sexual e 34%, violência física, ambas praticadas nessas circunstâncias.¹¹ Esses dados divergem consideravelmente dos registros oficiais dos órgãos da segurança pública, os quais refletem a pequena parcela de mulheres que consegue vencer os obstáculos para formalizar a comunicação para as autoridades, entre eles o medo de represália do agressor e o constrangimento e a humilhação.

Não mais se questiona a elevada prevalência da violência sexual contra mulher, considerado fenômeno mundial de rápido crescimento. Mas é preciso reconhecer seus efeitos, com sequelas sociais, emocionais e físicas que as tornam mais vulneráveis a problemas de saúde e que limitam seu desenvolvimento humano. A saúde reprodutiva é frequentemente afetada por lesões físicas, DST, gravidez forçada e transtornos psicológicos. Esses agravos, isoladamente ou em conjunto, têm se mostrado potencialmente devastadores para as mulheres, principalmente quando há despreparo do sistema de saúde para oferecer respostas qualificadas.⁶

A violência contra a mulher reúne condições incontestáveis de um problema de saúde pública. Isso exige políticas para as mulheres que promovam a igualdade de gênero e o respeito à vida e à integridade física, fundamentais para atingir os Objetivos de Desenvolvimento do Milênio. Ainda que se tenha avançado positivamente na organização e implantação do atendimento de mulheres em situação de violência sexual, existe grande concentração dos serviços nas regiões Sul e Sudeste, enquanto que mulheres de regiões menos favorecidas ainda enfrentam barreiras para receber atendimento.

Desde a publicação da norma técnica do Ministério da Saúde, há quase 15 anos, o sistema de saúde ainda não conseguiu resolver questões fundamentais que garantam o acesso igualitário de todas as mulheres em situação de violência sexual aos procedimentos a que têm direito. Nesse sentido, a Lei n° 12.845 é um instrumento necessário para que gestores municipais e estaduais não se eximam de suas responsabilidades.

A Lei n° 12.845 foi sancionada sem vetos e a retórica religiosa, aparentemente vencida. Prevaleceu o respeito ao princípio da laicidade do Estado, que separa as questões religiosas das questões de direitos. Entretanto, as chamadas frentes parlamentares formadas basicamente por parlamentares religiosos são responsáveis por 31 proposições de leis sobre o aborto que representam graves retrocessos à legislação e que ferem direitos adquiridos pelas mulheres.

Mas há outras iniciativas que refletem a arrogância e a intolerância religiosa. O Projeto de Lei (PL) 7.382/2010, do deputado evangélico Eduardo Cunha, visa a criminalizar a "discriminação contra homossexuais", como antagonismo ao projeto de lei que criminaliza a homofobia, garantindo que homossexuais expressem sua aversão aos que deles diferem. O Projeto de Decreto Legislativo (PDL) 234/2011, do deputado João Campos, pastor da Assembleia de Deus, pretende instituir a "cura gay" no país e sustar a lúcida resolução do Conselho Federal de Psicologia que proíbe tratar a homossexualidade como doença. Retirado por força de manifestações populares, o PDL 234/2011 foi novamente apresentado e está em tramitação no Legislativo. O mesmo deputado defende o Projeto de Lei (PL) 377/2011, que criminaliza as trabalhadoras do sexo e as castiga com um ano e seis meses de prisão. O pastor evangélico Marcos Feliciano, deputado federal e líder do Ministério Tempo de Avivamento, protocolou o Projeto de Lei (PL) 9394/96, que altera a Lei de Diretrizes e Bases da Educação para tornar obrigatório o ensino religioso nas escolas.

Entre esses exemplos, cabe destaque para a Proposta de Emenda à Constituição (PEC) 99/2011, de autoria do deputado federal João Campos. Ela revela o que realmente pretende o fundamentalismo religioso: conceder capacidade postulatória às associações religiosas para propor ação de inconstitucionalidade de leis e de atos normativos que contrariem suas crenças. Em síntese, colocaria em enorme risco o Estado laico, democrático e de direito. E isso extrapola a simples retórica.

REFERÊNCIAS

1. Drezett J, de Abreu LC, Kurobe FC, Pedrosa D, Neves JS, Motino MS, Lima RC. Mecanismo de ação da anticoncepção de emergência. *Reprod Clim.* 2011;26:44-51.
2. 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;51:1-7.
3. Organización Mundial de la Salud. Aborto sin riesgos: guía técnica y de políticas para sistemas de salud. 2ª ed. Geneva: OMS; 2012.
4. Drezett J, Pedrosa D, Gebrim LH, Matias ML, Macedo-Júnior H, de Abreu LC. Motivos para interromper legalmente a gravidez decorrente de estupro e efeitos do abortamento nos relacionamentos cotidianos das mulheres. *Reprod Clim.* 2011;26:85-91.

5. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas Área Técnica de Saúde da Mulher. Aspectos jurídicos do atendimento às vítimas de violência sexual: perguntas e respostas para profissionais de saúde. 2ª ed. Brasília: Editora MS; 2010.
6. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas Área Técnica de Saúde da Mulher. Prevenção e tratamento dos agravos resultantes da violência sexual contra mulheres e adolescentes: norma técnica. 3ª ed. Brasília: Editora MS; 2011.
7. 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 Kingdom: Figo; 2009.
8. Monteiro MG, Zaluar A. Violência contra a mulher e a violação de direitos humanos. *Reprod Clim.* 2013;27(3):91-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2012.11.001>
9. Gavin L, MacKay AP, Brown K, Harrier S, Ventura SJ, Kann L, et al. Sexual and reproductive health of persons aged 10-24 years – United States, 2002-2007. *MMWR Surveill Summ.* 2009;58:1-58.
10. Sapp MV, Vandeven AM. Update on childhood sexual abuse. *Curr Opin Pediatr.* 2005;17:258-64.
11. World Health Organization. Estudio multipaíses de la OMS sobre salud de la mujer y violencia doméstica. Geneva: WHO; 2005.

Jefferson Drezett

Revista Reprodução & Climatério; Comissão de Abortamento Legal da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana e do Núcleo de Violência Sexual e Aborto Legal do Hospital Pérola Byington
E-mail: jdrezett@gmail.com

1413-2087/\$ – see front matter

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana.
Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2013.10.001>

Available online 31 de outubro de 2013



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo original

Mulheres inférteis com endometriose pélvica mínima e leve submetidas à estimulação ovariana apresentam menor expressão do gene CYP19A1 em células do cumulus[☆]

Ionara Diniz E.S. Barcelos*, Flavia Capello Donabela, Michele G. Da Broi, Cristiana Padovan Ribas, Juliana Meola e Paula Andrea Navarro

Sector de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 13 de maio de 2013

Aceito em 4 de agosto de 2013

On-line em 11 de setembro de 2013

Palavras-chave:

Aromatase

Gene CYP19A1

Endometriose

Qualidade oocitária

Células do cumulus

R E S U M O

Objetivo: Menores taxas de gestação em portadoras de endometriose submetidas a técnicas de reprodução assistida podem estar relacionadas à piora da qualidade oocitária. A análise da expressão gênica em células do cumulus (CC) pode fornecer biomarcadores passíveis de prever a qualidade gamética. O objetivo deste estudo foi comparar os níveis da expressão do gene CYP19A1 em CC de mulheres inférteis com endometriose mínima/leve (I/II) e controles inférteis.

Método: Foram selecionadas pacientes com infertilidade por endometriose pélvica inicial e por fator masculino e/ou tubário (grupo controle), submetidas à estimulação ovariana controlada para injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Imediatamente após a captação oocitária, CC foram isoladas e armazenadas. Foi realizada a quantificação da expressão do gene CYP19A1 nas CC por meio de PCR-Real Time.

Resultados: Foram isoladas CC de 23 mulheres inférteis com endometriose I/II e de 41 controles. Observou-se expressão significativamente menor do gene CYP19A1 em CC de mulheres inférteis com endometriose I/II ($0,56 \pm 0,17$) quando comparadas às controles ($0,15 \pm 0,04$) ($p = 0,043$).

Conclusões: A menor expressão do gene CYP19A1 em CC de mulheres inférteis com endometriose pélvica em estágios iniciais pode mediar a piora da qualidade oocitária, abrindo novas perspectivas no entendimento da etiopatogênese da infertilidade relacionada à doença.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho realizado no Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: ionarabarcelos@hotmail.com (I.D.E.S. Barcelos).

1413-2087/\$ – see front matter © 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2013.08.001>

Infertile women with minimal and mild endometriosis submitted to controlled ovarian stimulation present lower expression of the gene CYP19A1 in cumulus cells

A B S T R A C T

Keywords:

Aromatase
CYP19A1 gene
Endometriosis
Oocyte quality
Cumulus cells

Objective: Lower pregnancy rate in women with endometriosis submitted to assisted reproductive techniques might be related to poor oocyte quality. The analysis of the expression of the genes in cumulus cells (CC) might provide biomarkers that can predict gamete quality. The main objective of the present study was to compare the levels of the expression of the gene CYP19A1 in CC of infertile women with minimal and mild (I/II) endometriosis and infertile controls.

Method: There were selected patients with infertility caused by initial pelvic endometriosis and by male/tubal factor (control group), submitted to controlled ovarian stimulation to ICSI. Immediately after the oocyte retrieval, CC were isolated and stored. Quantification of the expression of the gene CYP19A1 in CC was performed using PCR-real time.

Results: CC were isolated from 23 infertile women with endometriosis I/II and 41 from control. Significant lower expression of the gene CYP19A1 in CC was observed in infertile women with endometriosis I/II (0.56 ± 0.17) when compared to control (0.15 ± 0.04) ($p = 0.043$).

Conclusions: The lower expression of the gene CYP19A1 in CC of infertile women with pelvic endometriosis in initial stages might mediate the poor oocyte quality, opening new perspectives on the understanding of the etiopathogenesis of infertility related to the disease.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

A endometriose afeta aproximadamente 10 a 15% das mulheres em idade reprodutiva¹ e é associada à subfertilidade. Sua prevalência atinge 40% em mulheres com subfertilidade e aproximadamente 30 a 50% das portadoras de endometriose são inférteis.² Entretanto, os mecanismos envolvidos na etiopatogênese da infertilidade em pacientes com endometriose ainda não foram completamente elucidados, sobretudo nos estágios iniciais (doença mínima e leve), em que não se observam alterações na anatomia pélvica.^{3,4}

Alguns estudos têm evidenciado redução da fecundidade natural em mulheres inférteis com endometriose pélvica em estágios iniciais quando comparadas a mulheres férteis, com melhora significativa da fecundidade natural após a exérese e ablação cirúrgica das lesões,⁵⁻⁷ evidenciando o papel da endometriose, mesmo em estágios iniciais, na fertilidade destas pacientes.

Novas abordagens para o tratamento da infertilidade relacionada à endometriose se tornaram disponíveis, com ênfase na utilização cada vez mais frequente das técnicas de reprodução assistida (TRA). Alguns estudos têm sugerido a ocorrência de menores taxas de implantação e gestação em portadoras de endometriose pélvica em estágios iniciais submetidas à estimulação ovariana para a realização de procedimentos de reprodução assistida de alta complexidade,^{8,9} o que poderia ser secundário, pelo menos parcialmente, à piora da qualidade oocitária.^{10,11}

Todavia, a doação de oócitos humanos maduros para pesquisas utilizando metodologias invasivas que impossibilitam a utilização subsequente dos mesmos nos procedimentos de reprodução assistida é incomum, de modo que há escassez de estudos avaliando a qualidade oocitária humana.

Desta forma, persiste a dúvida sobre a ocorrência ou não de comprometimento da qualidade oocitária relacionada à endometriose. Neste contexto, a identificação de biomarcadores não invasivos, passíveis de predição da competência oocitária, é bastante desejável. Estudos demonstram que células da granulosa e células do cumulus podem ser marcadores de viabilidade de oócitos e embriões.^{12,13}

A aromatase (codificada pelo gene CYP19A1), enzima envolvida na conversão da androstenediona e testosterona em estrona e estradiol, respectivamente, está presente nas células da granulosa e exerce papel fundamental na maturação folicular e no estabelecimento da qualidade oocitária.¹³⁻¹⁶ Alguns autores evidenciaram, em modelo de cultivo celular, uma redução da atividade da aromatase em células da granulosa de mulheres inférteis com endometriose.¹⁷ Outros observaram redução de transcritos do gene CYP19A1 em células da granulosa luteinizadas murais cultivadas in vitro.^{18,19}

Todavia, até o presente, nenhum estudo avaliou a expressão do gene CYP19A1 em células do cumulus (CC) de mulheres inférteis com endometriose pélvica em estágios iniciais, cuja desregulação poderia estar relacionada à piora da qualidade oocitária, consequentemente, na etiopatogênese da infertilidade associada à doença, estimulando a realização do presente estudo.

O objetivo deste estudo foi comparar os níveis de transcritos do gene CYP19A1 em CC de mulheres inférteis com endometriose I/II e controles inférteis submetidos à estimulação ovariana para a realização de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

Método

Realizou-se um estudo transversal prospectivo, submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das

Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP).

Pacientes

Foram incluídos no presente estudo, consecutivamente, todos os casais submetidos à estimulação ovariana para a realização de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) junto ao Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) no período de fevereiro de 2009 a outubro de 2010. Deste grupo, foram selecionados os que preencheram os critérios de elegibilidade abaixo descritos e manifestaram o desejo de participar do projeto, mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

O Grupo Endometriose I/II foi constituído por 23 pacientes inférteis cujo procedimento de reprodução assistida foi indicado pela presença exclusivamente de endometriose inicial, diagnosticada por meio de videolaparoscopia e confirmação histológica das lesões, segundo os critérios definidos pela American Society for Reproductive Medicine.²⁰ O Grupo Controle foi constituído por 41 pacientes inférteis cujo procedimento foi indicado devido à presença exclusiva de fator masculino e/ou fator tubário.

Foram excluídas pacientes com idade ≥ 38 anos, índice de massa corpórea $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, FSH basal $\geq 10 \text{ mUI/mL}$, tabagistas, etilistas, portadoras de doenças como diabetes mellitus ou quaisquer outras endocrinopatias, doença cardiovascular, dislipidemia, lupus eritematoso sistêmico e outras doenças reumatológicas, qualquer infecção ativa, hidrossalpinge e uso de medicamentos que pudessem interferir na foliculogênese ovariana nos três meses que antecederam o início da estimulação ovariana, como anti-inflamatórios não esteroidais e corticosteroides.

Estimulação ovariana e suporte de fase lútea

A estimulação ovariana seguiu o protocolo do setor, que consiste em bloqueio hipofisário com análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRHa) iniciado 10 dias antes do dia de realização da ultrassonografia transvaginal (USTV) basal (protocolo longo), no período vespertino, por meio da administração de acetato de leuprolide (Lupron®, Abbott, Brasil) na dose de 0,5 mg/dia (10 UI), por via subcutânea, mantida durante todo o período de estimulação ovariana controlada até o dia da administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG) (Ovidrel®, Serono, Brasil).

A hiperestimulação ovariana controlada foi iniciada, preferencialmente, entre o segundo e o quarto dia do ciclo menstrual. As pacientes receberam 200 a 300 UI por dia de FSH recombinante (FSHr) (Gonal-F®, Serono, Brasil; Puregon®, Organon, Brasil) nos primeiros 6 dias da indução. A partir do sétimo dia da indução da ovulação, a dose foi ajustada de acordo com o crescimento folicular e a espessura endometrial, monitorados com USTV diariamente ou em dias alternados. Quando pelo menos dois folículos atingiram 18 mm de diâmetro médio, foram administrados 250 μg de hCG recombinante (Ovidrel®, Serono, Brasil) às 22 horas. A captação dos oócitos

foi realizada 34 a 36 horas após a administração do hCG recombinante.

A suplementação da fase lútea foi realizada com progesterona natural micronizada (Utrogestan®, Enila, Brasil) por via oral na dose de 200 mg, três vezes ao dia, a partir do dia da captação oocitária, e mantida até a décima segunda semana da gestação nas pacientes que engravidaram.

Captação oocitária

A aspiração dos folículos foi realizada por via endovaginal guiada por transdutor ultrassonográfico transvaginal acoplado à agulha de punção. No presente estudo foi coletado o fluido folicular e foram obtidas CC apenas do primeiro folículo aspirado, individualmente, em tudo sem meio de cultura, do primeiro ovário punccionado. Os demais folículos foram aspirados continuamente formando um pool de fluido, seguindo o protocolo assistencial do serviço.

Após uma lavagem cuidadosa, os complexos cummulus oophorus (COCs) identificados foram colocados em placas NUNC (Multidish 4 well Nuclon, Delta SI) preenchidas com meio de cultura com fluido de tuba humano-HEPES (HTF, Irvine Scientific) suplementado com 10% de soro sintético substituto (SSS, Irvine Scientific), coberto com óleo mineral (Sigma-Aldrich), e incubado na estufa na presença de CO_2 à 5% a 37 °C e 95% de umidade por um período de 2 a 3 horas. Após esse período, os oócitos foram desnudados através da exposição dos COCs a hialuronidase (H4272 type IV-S, Sigma; 80 IU/mL) por 30 segundos e as células do cumulus foram mecanicamente removidas em HTF-SSS através de uma pipeta (130 μm - Denuding Pipette, Cook).

Amostras obtidas

Células do cumulus

Imediatamente após a identificação do complexo cummulus oophorus do primeiro folículo aspirado do primeiro ovário punccionado (com diâmetro maior ou igual a 15 mm), as células do cumulus foram separadas do oócito através de microdissecção com a utilização de duas agulhas de insulina, colocadas no criotubo e imediatamente em seguida, congeladas em nitrogênio líquido até a utilização para a extração do RNA.

Extração de RNA total e síntese de cDNA

O RNA total foi extraído das células do cummulus oophorus com o reagente TRIzol (Invitrogen Life Technologies, Paisley, Reino Unido) de acordo com as instruções do fabricante. Após o tratamento das amostras com DNase I (Sigma), a integridade do RNA foi confirmada pela presença das bandas ribossomais 28S e 18S quando analisadas por eletroforese em gel de agarose 1%. As concentrações de RNA total foram determinadas no espectrofotômetro NanoDrop (2000c, Thermo Scientific, EUA) à densidade óptica de 260 nm. O RNA permaneceu armazenado à -80 °C até os procedimentos posteriores.

Um micrograma de RNA total de cada amostra foi transcrito reversamente usando primers randômicos do kit High Capacity cDNA Archive (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido) segundo as instruções do fabricante. A reação foi realizada no

termociclador PIKO Thermal Cyclers, (Finnzymes) na ciclagem de 10 minutos a 25 °C, 37 °C por 2 horas, 85 °C por 5 minutos, 4 °C por 5 minutos.

Quantificação por PCR em tempo real

A quantificação relativa da expressão dos genes analisados foi realizada no aparelho ABI PRISM™ 7500 FAST (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido). As reações foram executadas utilizando o sistema TaqMan® Gene Expression Assays (TaqMan® MGB probes, FAM™ dye-labeled) da Applied Biosystems. Os assay IDs das sondas usadas foram: GAPDH Hs 99999905.m1, ACTB Hs 99999903.m1 (genes de referência) e CYP19A1 Hs 00240671.m1. A PCR em tempo real foi realizada para cada amostra em triplicata seguindo as seguintes condições: 10 µL do TaqMan® Universal PCR Master Mix (2x) (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido), 1 µL do TaqMan® Gene Expression Assay Mix (20X) (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido), e 9 µL de cDNA diluído (1:25) em volume final de 20 µL reação. As condições da reação foram 50 °C por 2 minutos, então 95 °C por 10 minutos, seguidos de 40 ciclos a 95 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto.

A quantificação relativa (RQ) para os genes analisados foi calculada para cada amostra de acordo com o método de $2^{-\Delta\Delta CT}$ (ou 2-Ct).²¹ Um pool de cDNA contendo iguais quantidades das amostras do grupo controle foi usado como amostra calibradora. Os genes GAPDH e ACTB (genes de referência) foram usados para normalizar as reações.

Análise estatística

Os dados foram analisados considerando cada paciente como unidade experimental do estudo. Os grupos endometriose I/II e controle foram analisados de forma comparativa. As análises estatísticas foram realizadas no software SAS 2003 (2002-2003, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). A variável expressão gênica foi transformada pelo $\log_{10}$. A transformação logarítmica foi necessária, pois não foi atendida uma das suposições (linearidade) feitas em análises empregando-se os modelos lineares. Estas análises especificam que a média condicional $E(y|2x = x_0)$ da variável resposta y dado o valor x_0 do vetor preditor x é linear em x_0 . A aplicação dos modelos lineares pode ser estendida supondo-se que uma transformação apropriada da variável resposta dada por $t(y)$, em que $E\{t(y)|2x\}$, seja linear em x na função $t(y) = b_0 + b^T x + e$ para b_0 e b^T desconhecidos. O termo e (erro aleatório) é independente de x e tem média zero.²² Utilizou-se o teste Tukey pelo PROC GLM para comparar as médias de expressão do gene CYP19A1 entre os grupos controle e endometriose.

Resultados

Foram isoladas CC de 23 mulheres inférteis com endometriose I/II e de 41 controles. Observou-se expressão significativamente menor do gene CYP19A1 em CC de mulheres inférteis com endometriose I/II ($0,56 \pm 0,17$) quando comparadas às controles ($0,15 \pm 0,04$) ($p = 0,043$) (tabela 1).

Tabela 1 – Expressão gênica de CYP19A1 de células do cumulus de pacientes controle inférteis e pacientes com endometriose I/II submetidas a estimulação ovariana para ICSI

	n	CYP19A1	
		Média	Desvio padrão
Controle	41	0,5569332	0,1659951
Endometriose I/II	23	0,1502222	0,0404223

Discussão

Os mecanismos envolvidos na etiopatogênese da infertilidade em pacientes com endometriose ainda não foram completamente identificados.^{3,4} Resultados conflitantes de alguns estudos têm sugerido piora dos resultados de procedimentos de reprodução assistida em mulheres inférteis com endometriose pélvica,^{8,9,23} que poderia ser decorrente do comprometimento da qualidade oocitária.^{10,11}

Sabe-se da comunicação bidirecional entre oócitos e células do cumulus oophorus, que ocorre durante todo o processo de desenvolvimento folicular,²⁴⁻²⁹ e que isso é essencial para a aquisição de competência para desenvolvimento adequado dos oócitos de mamíferos.³⁰⁻³² Além disso, sabemos do importante papel das células da granulosa no processo de diferenciação folicular que leva a condições ótimas para o desenvolvimento oocitário, ovulação, fertilização e subsequente implantação.³³

Alguns dados sugerem que as CC podem ser utilizadas como biomarcadores da qualidade oocitária.³⁴⁻³⁹ Desta forma, a análise da expressão de genes envolvidos na aquisição da competência oocitária nas CC de oócitos humanos maduros pode ser utilizada com a finalidade de avaliação não invasiva da qualidade oocitária e preditor de resultados de procedimentos de reprodução assistida.^{13,34-36,40-42}

Pela primeira vez na literatura, evidenciamos redução significativa da expressão do gene CYP19A1 em CC de pacientes inférteis com endometriose I/II quando comparadas às inférteis controles. Dados acerca da expressão do gene CYP19A1 em células da granulosa humanas são escassos e controversos.^{18,19} Abreu et al. (2011)¹⁸ não demonstraram diferença entre a expressão do RNAm da aromatase em células da granulosa de mulheres inférteis com e sem endometriose submetidas a estimulação ovariana para TRA. Todavia, os referidos autores não analisaram separadamente os estágios iniciais da doença e as células analisadas foram obtidas a partir da centrifugação do fluido folicular obtido durante a captação oocitária. Embora a maioria das células analisadas sejam células granulosas murais, o fluido folicular pode conter algumas células do cumulus, células sanguíneas e eventualmente algumas células estromais ou da teca, de modo que os dados obtidos por Abreu et al. (2011)¹⁸ não podem ser comparados diretamente aos obtidos no presente estudo.

Por outro lado, outro estudo evidenciou produção reduzida de estradiol e menor expressão de RNAm da aromatase P450 em células da granulosa de mulheres inférteis com endometriose,¹⁹ sem individualização dos estágios da doença, cultivadas in vitro. Entretanto, como não dispomos de dados comparando expressão de RNAm da aromatase P450 entre

células da granulosa murais e CC em humanos, não é possível comparar os dados obtidos dos dois estudos previamente citados com os do presente estudo.

Sabe-se que a qualidade oocitária resulta de um complexo e sincronizado processo que tem duração de vários meses, desde a fase de folículo primordial até a fase de folículo pré-ovulatório.⁴³ Está bem estabelecido que as células da granulosa têm um papel fundamental no processo de diferenciação folicular criando condições ideais para o desenvolvimento oocitário, a ovulação e a fertilização.³³ Dessa forma, a qualidade embrionária parece depender fundamentalmente da maturação folicular final, produzindo um ócito com capacidade de levar a uma gravidez viável.

Nossa compreensão sobre mudanças específicas na expressão gênica das células foliculares durante o crescimento folicular de animais e humanos está longe de se concluir. Entretanto, há evidência de que a aromatase P450 (codificada pelo gene CYP19A1) é estimulada pelo FSH e expressa em concentrações elevadas em folículos dominantes.⁴⁴ Portanto, níveis de expressão mais elevados dessa enzima parecem estar relacionados à indução hormonal (FSH e LH), produção de hormônios esteroides (estrogênio e progesterona) e a mecanismos de dominância folicular.¹³

Nesse contexto, Hamel et al. (2008),¹³ por meio da análise de células foliculares, tanto granulosa murais quanto cumulus, obtidas de folículos aspirados individualmente de pacientes submetidas a FIV, demonstrou maior expressão do gene CYP19A1 em células foliculares provenientes de folículos cujo ócito fertilizado resultou em gravidez. Esses autores sugeriram que a maior expressão desse gene em células foliculares poderia ser usada como biomarcador de qualidade e competência embrionária.

Desta forma, sugerimos que a redução da expressão do gene CYP19A1 em CC de pacientes inférteis com endometriose pélvica em estágios iniciais pode favorecer o comprometimento da qualidade oocitária, participando da patogênese da infertilidade relacionada à doença.

Financiamento

FAPESP (Processo 2008/58197-6) e CNPq (Processo 474858/2009-0).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Donnez J, Van Langendonck A, Casanas-Roux F, Van Gossum JP, Pirard C, Jadoul P, et al. Current thinking on the pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest.* 2002;54 Suppl 1:52-8.
2. Holoch KJ, Lessey BA. Endometriosis and infertility. *Clin Obstet Gynecol.* 2010;53:429-38.
3. De Ziegler D, Borghese B, Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management. *Lancet.* 2010;376:730-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60490-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60490-4), 28.
4. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012;98:511-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.06.029>.
5. Parazzini F. Ablation of lesions or no treatment in minimal-mild endometriosis in infertile women: a randomized trial. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. *Hum Reprod.* 1999;14:1332-4. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/14.5.1332>.
6. Bérubé S, Marcoux S, Langevin M, Maheux R. Fecundity of infertile women with minimal or mild endometriosis and women with unexplained infertility. The Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *Fertil Steril.* 1998;69:1034-41.
7. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S, Canadian Collaborative Group on Endometriosis. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Engl J Med.* 1997;337:217-22. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199707243370401>.
8. Barnhart K, Dungs Moor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2002;77:1148-55.
9. 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;28:888-91.
10. Simón C, Gutiérrez A, Vidal A, de los Santos MJ, Tarín JJ, Remohí J, et al. Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertilization and oocyte donation. *Hum Reprod.* 1994;9:725-9.
11. Díaz I, Navarro J, Blasco L, Simón C, Pellicer A, Remohí J. Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. *Fertil Steril.* 2000;74:31-4.
12. Cetica PD, Pintos LN, Dalvit GC, Beconi MT. Antioxidant enzyme activity and oxidative stress in bovine oocyte in vitro maturation. *IUBMB Life.* 2001;51:57-64. <http://dx.doi.org/10.1080/15216540119253>.
13. Hamel M, Dufort I, Robert C, Gravel C, Leveille MC, Leader A, et al. Identification of differentially expressed markers in human follicular cells associated with competent oocytes. *Hum Reprod.* 2008;23:1118-27. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/den048>.
14. Erickson GF, Garzo VG, Magoffin DA. Insulin-like growth factor-I regulates aromatase activity in human granulosa and granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989 Oct;69:716-24. <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-69-4-716>.
15. Foldesi I, Breckwoldt M, Neulen J. Oestradiol production by luteinized human granulosa cells: evidence of the stimulatory action of recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum Reprod.* 1998;13:1455-60. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/13.6.1455>.
16. Speroff L, Fritz MA. Regulation of the Menstrual Cycle. In: Speroff L, Fritz MA, editors. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 187-231.
17. Harlow CR, Cahill DJ, Maile LA, Talbot WM, Mears J, Wardle PG, et al. Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:426-9. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.81.1.426>.
18. Abreu LG, Silveira VS, Scrideli CA, Ramos ES, Reis RM, Ferriani RA, et al. Endometriosis does not alter aromatase gene expression (CYP19A1) in mural lutein-granulosa cells of women undergoing assisted reproduction techniques - a pilot study. *Journal of Endometriosis.* 2011;3:177-82.
19. Lu X, Wu Y, Gao XH, Wang YW, Wang L, Sun XX. Effect of letrozole on estradiol production and P450 aromatase messenger RNA expression of cultured luteinized granulosa

- cells from women with and without endometriosis. *Fertil Steril*. 2012;98:131-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.03.055>.
20. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*. 1997;67(5):817-21. [No authors listed].
 21. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25:402-8.
<http://dx.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
 22. Cook RD, Weisberg S. *An Introduction to Regression Graphics*. Hoboken NJ: John Wiley; 1994.
 23. Lin XN, Wei ML, Tong XM, Xu WH, Zhou F, Huang QX, et al. Outcome of in vitro fertilization in endometriosis-associated infertility: a 5-year database cohort study. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125:2688-93.
 24. Buccione R, Schroeder AC, Eppig JJ. Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol Reprod*. 1990;43:543-7.
<http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod43.4.543>.
 25. Eppig JJ, Wigglesworth K, Pendola FL. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:2890-4.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.052658699>, 5.
 26. Senbon S, Hirao Y, Miyano T. Interactions between the oocyte and surrounding somatic cells in follicular development: lessons from in vitro culture. *J Reprod Dev*. 2003;49:259-69.
<http://dx.doi.org/10.1262/jrd.49.259>
 27. Gilchrist RB, Ritter LJ, Armstrong DT. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci*. 2004;82-83:431-46.
 28. Makabe S, Naguro T, Stallone T. Oocyte-follicle cell interactions during ovarian follicle development, as seen by high resolution scanning and transmission electron microscopy in humans. *Microsc Res Tech*. 2006;69:436-49.
<http://dx.doi.org/10.1002/jemt.20303>.
 29. Sirard MA, Richard F, Blondin P, Robert C. Contribution of the oocyte to embryo quality. *Theriogenology*. 2006;65:126-36, 7.
 30. de Loos FA, Bevers MM, Dieleman SJ, Kruip TA. Morphology of preovulatory bovine follicles as related to oocyte maturation. *Theriogenology*. 1991;35:527-35.
 31. Webb RJ, Bains H, Cruttwell C, Carroll J. Gap-junctional communication in mouse cumulus-oocyte complexes: implications for the mechanism of meiotic maturation. *Reproduction*. 2002;123:41-52.
<http://dx.doi.org/10.1530/rep.0.1230041>.
 32. Fair T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci*. 2003;78:203-16, 15.
 33. Adashi EY. Endocrinology of the ovary. *Hum Reprod*. 1994;9:815-27.
 34. Assou S, Anahory T, Pantescio V, Le Carrouer T, Pellestor F, Klein B, et al. The human cumulus-oocyte complex gene-expression profile. *Hum Reprod*. 2006;21:1705-19.
<http://dx.doi.org/10.1093/humrep/del065>.
 35. Assou S, Haouzi D, Mahmoud K, Aouacheria A, Guillemin Y, Pantescio V, et al. A non-invasive test for assessing embryo potential by gene expression profiles of human cumulus cells: a proof of concept study. *Mol Hum Reprod*. 2008;14:711-9.
<http://dx.doi.org/10.1093/molehr/gan067>.
 36. Assou S, Haouzi D, De Vos J, Hamamah S. Human cumulus cells as biomarkers for embryo and pregnancy outcomes. *Mol Hum Reprod*. 2010;16:531-8.
<http://dx.doi.org/10.1093/molehr/gaq032>.
 37. Gasca S, Pellestor F, Assou S, Loup V, Anahory T, Dechaud H, et al. Identifying new human oocyte marker genes: a microarray approach. *Reprod Biomed Online*. 2007;14:175-83.
 38. Ouandaogo ZG, Haouzi D, Assou S, Dechaud H, Kadoch IJ, De Vos J, et al. Human cumulus cells molecular signature in relation to oocyte nuclear maturity stage. *PLoS One*. 2011;6:e27179. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0027179>.
 39. Ouandaogo ZG, Frydman N, Hesters L, Assou S, Haouzi D, Dechaud H, et al. Differences in transcriptomic profiles of human cumulus cells isolated from oocytes at GV, MI and MII stages after in vivo and in vitro oocyte maturation. *Hum Reprod*. 2012;27:2438-47.
<http://dx.doi.org/10.1093/humrep/des172>.
 40. Hamamah S, Matha V, Berthenet C, Anahory T, Loup V, Dechaud H, et al. Comparative protein expression profiling in human cumulus cells in relation to oocyte fertilization and ovarian stimulation protocol. *Reprod Biomed Online*. 2006;13:807-14.
 41. Tesfaye D, Ghanem N, Carter F, Fair T, Sirard MA, Hoelker M, et al. Gene expression profile of cumulus cells derived from cumulus-oocyte complexes matured either in vivo or in vitro. *Reprod Fertil Dev*. 2009;21:451-61.
<http://dx.doi.org/10.1071/RD08190>
 42. Haouzi D, Hamamah S. Pertinence of Apoptosis Markers for the Improvement of In Vitro Fertilization (IVF). *Curr Med Chem*. 2009;16:1905-16.
<http://dx.doi.org/10.2174/092986709788186075>.
 43. Ola SI, Sun QY. Factors Influencing the Biochemical Markers for Predicting Mammalian Oocyte Quality. *J Reprod Dev*. 2012;58:385-92. <http://dx.doi.org/10.1262/jrd.11-084H>
 44. Sisco B, Hagemann LJ, Shelling AN, Pfeffer PL. Isolation of genes differentially expressed in dominant and subordinate bovine follicles. *Endocrinology*. 2003;144:3904-13.
<http://dx.doi.org/10.1210/en.2003-0485>.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo original

Prevalência e práticas preventivas em infertilidade entre mulheres atendidas em um serviço público de saúde[☆]

Matheus de Aquino Moreira Guimarães*, Anne Elise Alexandre
e José Augusto Assumpção Crespo Ribeiro

Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 25 de junho de 2013

Aceito em 14 de agosto de 2013

Palavras-chave:

Infertilidade

Reprodução humana

Prevenção

R E S U M O

Objetivo: O estudo foi feito a fim de avaliar o conhecimento e a prática de medidas preventivas em infertilidade.

Método: Durante um mês foi aplicado um questionário às pacientes que frequentam o Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal de Pelotas, de modo consentido e sem se identificar, com perguntas relacionadas à prevenção de infertilidade.

Resultados: Os resultados mostram que entre 134 mulheres entrevistadas, 68% nunca se preocuparam com não conseguir ter filhos, 62% responderam saber da existência de medidas que podem prevenir a infertilidade, 49% são sedentárias, 72% fazem uso de preservativos, 36% fumam, 84% evitam ingestão de bebida alcoólica em excesso, 94% não fazem uso de drogas ilícitas, 61% controlam o peso, 77% pensam em ter filhos antes dos 35 anos e 87% consultam regularmente um ginecologista.

Conclusão: O índice de apenas 32% das mulheres entrevistadas que se preocupam com não conseguir ter filhos revela a falta de conhecimentos sobre o problema. Embora 62% delas referiram ter conhecimento de medidas que podem prevenir a infertilidade, acredita-se que esse percentual seja menor na população em geral.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Prevalence and preventive practices in infertility among women attending a public health service

A B S T R A C T

Objective: This study was conducted to assess the knowledge and practice of preventive measures in infertility.

Methods: For one month a questionnaire was administered to patients who attend the Gynecology, Federal University of Pelotas, so consented and without identifying themselves, with questions related to prevention of infertility.

Results: The results show that among 134 women interviewed, 68% never bothered to not be able to have children, 62% said they knew about the measures that can prevent infertility,

Keywords:

Infertility

Human reproduction

Prevention

[☆] Trabalho realizado na Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: matheusdeaquino@hotmail.com (M.d.A.M. Guimarães).

49% is sedentary, 72% makes use of condoms, 36% smoke, 84% avoid ingestion of alcohol in excess, 94% did not use illegal drugs, 61% controls weight, 77% think having children before 35 years and 87% of the group regularly consults a gynecologist.

Conclusion: Since only 32% of women are concerned with can't have children, reveals a lack of knowledge about the problem. Although 62% of them reported that he is aware of measures which can prevent infertility, it is believed that this percentage is smaller in the general population.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define infertilidade como sendo a ausência de gravidez após um ano de relações sexuais regulares sem uso de contracepção. Cerca de 10% a 15% dos casais de todo o mundo apresentam infertilidade.¹ Estima-se que a prevalência de infertilidade irá aumentar nos próximos anos, visto que fatores como o consumo de álcool e tabaco, o sedentarismo, a obesidade, a poluição e as doenças sexualmente transmissíveis (DST), que interferem negativamente na fertilidade feminina e masculina, estão cada vez mais presentes. Acrescenta-se o fato de as mulheres adiarem a maternidade para assumir posições marcantes no mercado de trabalho e na carreira profissional.² Nos EUA, o número total de mulheres inférteis, que era de 6,3 milhões em 2000, passará a 7,7 milhões em 2025.³

Na infertilidade conjugal os custos de investigação e, principalmente, de tratamento se mantêm muito altos, permanecendo algumas formas de terapêutica restritas à população de maior poder socioeconômico. Entretanto, vários fatores de risco são mais prevalentes em população de baixa renda,² evidenciando a necessidade de prevenção. Algumas medidas de orientação e prevenção de infertilidade podem ser eficazes e são, ainda, a forma mais barata, segura e prática de minimizar o problema.

O presente estudo tem por objetivo verificar o conhecimento e a prática de medidas que estão relacionadas à prevenção da infertilidade humana em um grupo de mulheres que frequenta um ambulatório de ginecologia geral.

Método

A presente pesquisa foi feita com mulheres que frequentam o Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). O estudo teve delineamento transversal. O único critério de exclusão adotado foi a feitura prévia de laqueadura. A coleta de dados ocorreu durante o mês de setembro de 2011, totalizando 149 mulheres, com idades que variaram de 13 a 35 anos. Foi proposto às pacientes responder um questionário, de modo consentido e sem se identificar, com perguntas relacionadas à prevenção de infertilidade. Entre essas, 15 mulheres (10%) responderam menos de 80% do questionário e foram consideradas perdidas. Portanto, no fim foram avaliadas informações de 134 mulheres.

O questionário aplicado foi desenvolvido pesquisando o conhecimento e a prática das medidas que podem prevenir infertilidade, incluindo uso de preservativos, prática de

exercícios físicos, controle de peso, evitar fumo, álcool e drogas, consultar regularmente o ginecologista e a intenção de ter filhos antes dos 35 anos. O estudo é parte do Projeto de Pesquisa "Ambulatório de Fertilidade" da Pró-Reitoria de Extensão e Cultura da UFPEL, submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa e aprovado.

Resultados

A média de idade das mulheres que participaram da pesquisa foi de 23,6 anos, com variações de 13 a 35 anos. Nesse grupo, 68% das mulheres nunca se preocuparam em não conseguir ter filhos, 62% responderam saber da existência de medidas que podem prevenir a infertilidade e 37% não tinham esse conhecimento.

Com relação à prática de exercícios físicos, 49% das mulheres não o fazem regularmente. Quanto ao uso de preservativos, 72% delas responderam que fazem uso desse método de barreira. Foi constatado, também, que 36% fumam, 84% evitam ingerir bebidas alcoólicas em excesso e que 94% não fazem uso de drogas ilícitas. A respeito de controle de peso, foi verificado que 61% das mulheres têm esse hábito e 38% não. Entre esse grupo de mulheres, 77% pensam em ter filhos antes dos 35 anos, 21% não pensam nessa possibilidade e 2% não responderam. Por fim, observou-se que 87% do grupo consultam regularmente um ginecologista, enquanto que 13% não o fazem (tabela 1).

Discussão

O Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) assiste mulheres da cidade de Pelotas e região com baixa condição socioeconômica. Quando perguntadas a respeito da preocupação com o fato de não conseguirem ter filhos, apenas 32% das mulheres responderam que se preocupam. Isso revela que existe falta de conhecimento sobre o problema e que em muitos casos não será de simples solução.

Embora 62% dessas mulheres relatem ter conhecimento da existência de medidas que podem prevenir a infertilidade, acredita-se que esse percentual seja menor na população em geral e, para que houvesse repercussão desse conhecimento, uma parcela significativa da população deveria tê-lo. Sendo assim, seria interessante que houvesse mais ações governamentais que promovessem a saúde reprodutiva.

O consumo de álcool, tabaco e outras drogas, além de causar problemas sociais, pode interferir na capacidade reprodutiva, tanto masculina quanto feminina, por

Tabela 1 – Prevalência de conhecimento e práticas de medidas que interferem sobre a fertilidade entre 134 mulheres atendidas no ambulatório de ginecologia da Universidade Federal de Pelotas, 2011

Variáveis	Sim		Não		Sem Resposta	
	n	%	n	%	n	%
Preocupação com não conseguir ter filhos	43	32,1	91	67,9	-	-
Conhecimento de medidas de prevenção da infertilidade	83	61,9	50	37,3	1	0,7
Prática de exercícios físicos	63	47,0	66	49,2	5	3,7
Uso de preservativo	97	72,3	33	24,6	4	2,9
Tabagismo	48	35,8	85	63,4	1	0,7
Ingestão de bebida alcoólica em excesso	20	14,9	113	84,3	1	0,7
Uso de drogas ilícitas	7	5,2	126	94,0	1	0,7
Controle de peso	82	61,1	51	38,0	1	0,7
Desejo de ter filhos antes dos 35 anos	103	76,8	28	20,8	3	2,3
Consultas regulares com ginecologista	117	87,3	17	12,6	-	-

causar alterações na contagem e na motilidade espermática, mudanças nos níveis hormonais, diminuir a libido, aumentar o risco de abortamento ou estar relacionado com comportamento sexual de risco, levando à DST.^{1,2,4,5} Por exemplo, a fertilidade é reduzida em 25% nas mulheres que fumam até 20 cigarros ao dia e em 43% naquelas que fumam mais de 20 cigarros, indicando que o declínio da fertilidade tem relação direta com a dose de nicotina.⁶

Estima-se que no Brasil, de acordo com uma pesquisa feita pelo Centro Brasileiro de Informações e Drogas Psicoativas (Cebrid), 12,3% da população brasileira entre 12 e 65 anos podem ser considerados alcoólatras.⁷ Em nosso estudo foi encontrado um valor de 15%.

Com relação ao uso de drogas ilícitas, é difícil estimar a prevalência por causa da própria ilegalidade. Não obstante, o Escritório da Organização das Nações Unidas Contra Drogas e Crimes (Undoc) afirmou, em um relatório publicado em 2008, que o total de usuários não excede 5% da população com idade entre 15 e 64 anos e que a parcela daqueles que podem ser considerados dependentes fica abaixo de 0,6%.⁷ Portanto, a prevalência de uso de drogas de 5% no grupo de mulheres analisado se mostrou no limite do esperado pelo relatório publicado pela ONU. Em 2011, um estudo feito em Pelotas evidenciou que 18,4% das mulheres com 20 anos ou mais são tabagistas, resultado bem inferior aos 36% encontrados nesta pesquisa.⁸

O sedentarismo e a obesidade podem acarretar alterações no metabolismo de esteroides e prejudicar a função ovulatória. A prática de exercícios e a redução do peso em obesos são medidas que, além de promover regularização daquelas alterações, cursam com reduções da glicemia, dos andrógenos séricos e da resistência à insulina, alteração relacionada com a Síndrome de Ovários Policísticos, melhorando a qualidade de vida e diminuindo o risco de morbidades.^{9,10}

Do grupo de mulheres entrevistadas, 38% não têm preocupação com o controle de peso. Um estudo feito em 2000 com a finalidade de medir a prevalência de obesidade na população adulta em Pelotas evidenciou que 13,2% e 16,7% das pessoas entre 20 e 29 anos e 30 e 39 anos, respectivamente, eram obesas.¹¹ Quanto à prática de exercícios, metade das mulheres deste estudo não o faz. Em Pelotas, a prevalência de atividade física insuficiente encontrada por Hallal et al. foi de 41,1%.¹²

Sabe-se, também, que as DSTs têm grande peso na infertilidade. Por serem doenças de difícil detecção e, muitas vezes, apresentarem-se de forma assintomática, podem acarretar sérias complicações para a infertilidade.¹³ Dessa forma, o uso de preservativo, se possível em todas as relações, além de exercer ação no planejamento familiar, atua na prevenção das DSTs, que podem afetar a fertilidade feminina e masculina.

Neste estudo, 72% das mulheres relataram fazer uso de preservativos. Estudo feito em 2003, em São Leopoldo (RS), mostrou que apenas 29,1% das mulheres entrevistadas que mantinham relações sexuais faziam uso de preservativos.¹⁴ Em Pelotas, no ano de 2002, uma pesquisa com mulheres de 15 a 49 anos concluiu que 72% não haviam usado preservativo em sua última relação sexual.¹⁵ Outro estudo epidemiológico envolvendo escolares no município de 14 a 19 anos mostrou que 64% dos jovens do sexo masculino e 42% das jovens do sexo feminino usaram preservativos na última relação sexual.¹⁶

Outra variável relevante e de extrema importância que contribui para a fertilidade é a idade materna. Estudos mostram que com o passar dos anos o declínio hormonal e físico proporciona dificuldades na reprodução, principalmente para o sexo feminino.^{1,2,6} Aguardar para ter filhos após os 35 anos é algo que pode ser arriscado, visto que a partir dessa idade a reserva ovariana começa a diminuir e a qualidade oocitária fica comprometida.

No presente estudo constatou-se que 77% das mulheres desejam ter filhos antes de atingir os 35 anos. Entretanto, 21% do grupo afirmaram não ter vontade de ter filhos antes dessa idade. Hoje em dia, adiar a maternidade é algo comum, para alcançar primeiro a estabilidade econômica e profissional ou até mesmo a maturidade emocional. Outra situação é a vontade de ter filhos em um segundo casamento.

A frequência de consultas com ginecologista também tem impacto sobre a fertilidade. Ter o hábito de consultar no mínimo a cada três anos, como orienta o Ministério da Saúde,¹⁷ ou anualmente, como é recomendado por outros serviços, incluindo o Ambulatório de Ginecologia da UFPel, pode reduzir as chances de uma doença silenciosa e, consequentemente, evitar danos à fertilidade.

Nesta amostra foi verificado que 87% das mulheres consultam regularmente um ginecologista. Se comparado com o valor publicado pelo Ministério da Saúde, de 2008, em que

83,3% da população feminina relataram ter feito exame ginecológico nos últimos três anos,¹⁸ ainda assim é insuficiente para prevenção e diagnóstico de muitas doenças.

Conclusão

O fato de apenas 32% das mulheres entrevistadas neste estudo se preocuparem com não conseguir ter filhos revela a falta de conhecimentos sobre o problema. Embora 62% tenham conhecimento de medidas que podem prevenir a infertilidade, acredita-se que esse percentual seja ainda menor na população em geral. Isso justifica a necessidade de campanhas que esclareçam essa situação e incentivem as medidas de prevenção da infertilidade humana.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, Comissão Nacional Especializada em Reprodução Humana. *Infertilidade conjugal: manual de orientação*, editor. Aspectos epidemiológicos de infertilidade conjugal. São Paulo: Febrasgo; 1997. p. 1-3.
2. Remoaldo PCA, Machado HCF. A infertilidade no Concelho de Guimarães: contributos para o bem-estar familiar [citado 27 dez 2011]. Disponível em: <http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/5195/1/ARTIGO%5B1%5D.Inf.VCongres.FINAL.pdf>
3. Silva V, Gonçalves S, Carvalho JLS. Análise económica dos custos da gestação múltipla consequente aos tratamentos de infertilidade com estimulação ovárica [citado 27 dez 2011]. Disponível em: <http://es2005.fe.uc.pt/files/resumos/orais/tc.co26.pdf>
4. Paiva V, Calazans G, Venturi G, Dias R. Idade e uso de preservativo na iniciação sexual de adolescentes brasileiros. *Rev Saúde Pública*. 2008;42 Suppl 1:45-53, <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102008000800007>.
5. Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S. Efeitos da terapia medicamentosa, álcool, cigarros e substância deletérias para o sistema endócrino na infertilidade masculina. *Rev Hosp Clin*. 2004;59(6):375-82. <http://dx.doi.org/10.1590/S0041-87812004000600011>.
6. Lopes JRC, Ferriani RA, Badalotti M, Beck RT, Cequinell MG. Guideline para abordagem da infertilidade conjugal [citado 27 dez 2011]. Disponível em: http://www.sbrh.org.br/guidelines/guideline.pdf/guideline.de_infertilidade_conjugal.pdf
7. Schwartzman H. Álcool e cigarro matam mais que outras drogas. *Folha de S Paulo Seção Saúde*. 25 de fevereiro de 2010.
8. Dias-Damé JL, Cesar JA, Silva SM. Tendência temporal de tabagismo em população urbana: um estudo de base populacional no Sul do Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2011;27(11):2166-74. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2011001100010>.
9. Michel CL, Bonnet X. Influence of body condition on reproductive output in the guinea pig. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol*. 2012;317(1):24-31. [10.1002/jez.714](http://dx.doi.org/10.1002/jez.714).
10. Brannian JD. Obesity and fertility. *S D Med*. 2011;64(7):251-4.
11. Gigante DP, Dias-da-Costa JS, Olinto MTA, Menezes AMB, Macedo S. Obesidade da população adulta de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, e associação com nível socioeconômico. *Cad Saúde Pública*. 2006;22(9):1873-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2006000900018>.
12. Hallal PC, Victora CG, Wells JC, Lima RC. Physical inactivity: prevalence and associated variables in Brazilian adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(11):1894-900.
13. Guzzatto P, Scarton J, Anzolch KJ, Oliveira OLM. Prevalência de Chlamydia trachomatis em pacientes com leucocitospermia. *RBAC*. 2010;42(3):205-7.
14. Carreno I, Costa JSD. Uso de preservativos nas relações sexuais: estudo de base populacional. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(4):720-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102006000500024>.
15. Silveira MF, Béria JU, Horta BL, Tomasi E. Autopercepção de vulnerabilidade às doenças sexualmente transmissíveis e Aids em mulheres. *Rev Saúde Pública*. 2002;36(6):670-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102002000700003>.
16. Béria J, Morris S, Carret MLV, Oliveira OMF. A transa e o uso de camisinha em adolescentes escolares no Sul do Brasil. Em Béria J, editor. *Ficar, transar... a sexualidade do adolescente em tempos de Aids*. Porto Alegre: Tomo Editorial; 1998. p. 79-94.
17. Ministério da Saúde. *Prevenção do câncer de colo do útero*. In: Manual técnico. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.
18. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. *Programa Nacional de D.S.T., Aids e Hepatites Virais. Pesquisa de conhecimento, atitudes e práticas na população brasileira*, Brasília; Editora, MS; 2011.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo original

Prevalência de doença periodontal em mulheres menopausadas atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará[☆]

Tatiana Garcia de Moraes, Diandra Costa Arantes, Liliane Silva do Nascimento*
e Adriano Maia Correa

Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 13 de setembro de 2013

Aceito em 22 de setembro de 2013

On-line em 14 de outubro de 2013

Palavras-chave:

Índice periodontal

Menopausa

Saúde da mulher

Saúde bucal

Síndrome da ardência bucal

R E S U M O

Objetivo: Identificar a prevalência da doença periodontal entre mulheres menopausadas e analisar fatores associados à doença periodontal.

Método: Trata-se de um estudo transversal exploratório, feito por meio de questionário próprio e exame clínico oral. A amostra foi composta por 40 mulheres usuárias dos serviços de Saúde da Mulher da Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará de janeiro a maio de 2011. **Resultados:** Os resultados obtidos mostram que 18% são pardas e 45% são casadas. Em relação à presença da síndrome da boca ardente, observou-se que 22,5% das mulheres apresentavam o quadro. De acordo com a análise estatística, o coeficiente de Spearman (r_s) = 0,2436 apresentou uma relação entre higiene oral deficiente e maior tendência a apresentar a síndrome da boca ardente ($t = 1,5483$ e $p = 0,1298$).

Conclusão: Observa-se que o índice de doença periodontal elevado e o grande número de sextantes excluídos na faixa etária analisada demonstram a assistência recebida por essas mulheres, que, pela situação atual do estado de saúde, têm agravamentos da condição periodontal dos elementos dentais restantes. Esses resultados podem auxiliar na formulação de políticas públicas dirigidas à promoção da saúde bucal na região estudada.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Prevalence of periodontal disease in postmenopausal women met at the Santa Casa de Misericórdia do Pará

A B S T R A C T

Purpose: This study aims to identify the prevalence of periodontal disease among menopausal women and examine factors associated with periodontal disease.

Method: This is an exploratory cross-sectional study, conducted by a questionnaire and an oral examination. The sample consisted of 40 women who used the services of Women's Health Foundation of Santa Casa de Misericórdia do Pará, between January and May of 2011.

Keywords:

Periodontal index

Menopause

Women's health

Oral health

Burning mouth syndrome

[☆] Trabalho realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: profaliliane@ufpa.br (L.S.d. Nascimento).

Results: The results of this study show that 18% are brown and 45% were married. Regarding the presence of burning mouth syndrome was observed that 22.5% of women had the picture. In statistical analysis, the Spearman coefficient (r_s) = 0.2436 showed a relationship between poor oral hygiene and a greater tendency to present the burning mouth syndrome ($t = 1.5483$ and $p = 0.1298$).

Conclusion: It is noted that the rate of periodontal disease and the high number of excluded sextants in the age group analyzed, demonstrates the care offered to these women and that the current state of health, is worsening the periodontal condition of the few remaining teeth. These results may help in the formulation of public policies aimed at promoting oral health in the region studied.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.
All rights reserved.

Introdução

Todos os caminhos que levam ao envelhecimento da mulher passam pela menopausa e por suas dores. Dores essas que são sentidas de formas diferentes por cada mulher, mas que trazem um traço comum, a necessidade da redefinição da sua identidade feminina.¹

O climatério é descrito como o estágio de transição entre o período reprodutivo e o não reprodutivo na vida da mulher, prolongando-se até os 65 anos. A menopausa constitui apenas um marco dentro do climatério, representando a interrupção permanente da menstruação. A média da menopausa é de 50 anos, sendo que a ocorrência da menopausa antes dos 40 anos é conhecida como menopausa precoce e a que acontece após os 55 anos como menopausa tardia.²

Para a Sociedade Brasileira de Climatério, o climatério é uma endocrinopatia caracterizada por alterações funcionais, morfológicas e hormonais, divididas em três fases: a pré-menopausal, a perimenopausal e a pós-menopausal. A menopausa natural é determinada quando houver a ocorrência de 12 meses consecutivos de amenorreia.³

O climatério, nas últimas décadas, tem sido reconhecido como mais do que apenas o encerramento da vida reprodutiva feminina. No entanto, ainda que referências a seu respeito encontrem-se descritas em textos escritos por Aristóteles (384-322 a.C.), até recentemente a condição de mulher “menopausada” era raramente expressa em público, sendo até considerada motivo de constrangimento.⁴

Em parte, a pouca atenção prestada ao climatério até o início do século passado deveu-se à menor expectativa de vida feminina até então, que não permitia à maioria das mulheres viver para atingir o climatério.⁴ O envelhecimento e, por conseguinte, o aumento da expectativa de vida humana criam um cenário favorável a pesquisas nessa fase da vida da mulher.

Nesse período, ocorre uma diminuição da produção e secreção dos hormônios ovarianos, principalmente o estrogênio, o qual é apontado como o maior responsável pela ocorrência de osteoporose em mulheres. Entende-se a osteoporose como uma redução da massa óssea, com alterações na microarquitetura tanto do osso trabecular quanto do cortical, como consequência entre a reabsorção e a aposição óssea.^{2,5}

O hipostrogenismo que se segue à menopausa leva a um aumento da reabsorção óssea, com perda da massa óssea e fraturas de corpos vertebrais, do rádio distal e do colo do fêmur.

O estrogênio tem ação direta no osso como droga antirreabsortiva e também ações indiretas via paratormônio, vitamina D e calcitonina.⁶

Por causa das variações hormonais, as mulheres tendem a desenvolver alterações no periodonto e no fluxo salivar, quadro que pode agravar-se por presença de inflamação gengival preexistente induzida por biofilme e cálculo, além de que também há a possibilidade de existência de osteoporose nos ossos maxilares, o que pode desencadear uma perda óssea em determinadas regiões dos maxilares.³

A redução dos estrogênios séricos promove maior perda óssea trabecular do que cortical. A condição de saúde bucal no período do climatério pode ser afetada de diversas formas, doenças periodontais severas, perdas dentais, entre outros. Nesse sentido, alguns pesquisadores encontraram, por meio da tomografia computadorizada quantitativa periférica feita em mulheres pós-menopausadas com fraturas, um afinamento no osso cortical e uma diminuição do volume do osso esponjoso, que apresenta menos trabéculas e maior espaçamento. Outros estudos revelam que a osteoporose da mandíbula pode estar associada à doença periodontal e à perda dentária após a menopausa.^{1,7}

Apesar da diferença etiológica da periodontite e da osteoporose pós-menopausal, a perda óssea ocorre em ambas e compartilham várias características. Por causa de os receptores de estrogênio serem expressos em células ósseas e imunes, levantou-se a hipótese de que a deficiência de estrogênio pode influenciar na remodelação óssea em sítios com processos inflamatórios, uma vez que as células do ligamento periodontal manifestam receptores específicos para estrogênios.⁸ Alguns estudos clínicos evidenciaram que não existe correlação entre a densidade mineral óssea (DMO) e a doença periodontal, enquanto outros mostraram o contrário.⁹

Entendem-se as doenças periodontais como infecções multifatoriais provocadas por uma complexa comunidade de espécies de bactérias, que têm como agente primário dessa doença o biofilme microbiano que se acumula ao redor dos dentes e penetra dentro do sulco gengival.^{10,11}

A periodontite tem início quando uma gengivite não é tratada. A infecção e a inflamação se disseminam desde as gengivas até o osso adjacente e o ligamento periodontal, o que causa mobilidade dental e, muitas vezes, consequente perda dental.¹¹ A periodontite produz fatores que destroem os suportes colagenosos do dente, podendo levar à perda de osso alveolar. Alguns fatores de risco sistêmico, como tabagismo,

diabetes, dieta e variação de níveis hormonais, afetam o nível ósseo sistêmico. A periodontite tem sido apontada como uma manifestação precoce de osteopenia generalizada. Com isso, a osteoporose seria classificada como um indicador de risco, em vez de um fator de risco para a doença.¹¹

No que tange à saúde bucal e a esse ciclo vital da mulher, outras alterações têm sido relatadas na literatura, como boca seca e a síndrome da boca ardente (SBA), caracterizada por dor do tipo queimação na cavidade oral, principalmente nas bordas laterais e na ponta da língua, que acomete geralmente mulheres na faixa entre 40 e 60 anos.¹²

Pacientes com ardor na boca muitas vezes não apresentam ferimento que possa justificar o sintoma. A xerostomia pode agravar a sensação de ardência e também é uma das consequências das alterações hormonais. Com a idade ou o envelhecimento ocorre perda linear de células acinosas e diminuição da produção de saliva, que leva ao ressecamento bucal e, consequentemente, diminui a proteção da cavidade bucal, que fica suscetível a doenças como cárie e doença periodontal.¹³

Percebe-se que as doenças periodontais e outras alterações da cavidade oral têm etiologias multivariadas que, quando interligadas ao ciclo vital da mulher, podem refletir em precárias situações de saúde geral e bucal, com destaque para as altas prevalências de osteoporose, doença periodontal e perdas dentárias. Desse modo, conhecer as condições periodontais relacionadas à saúde bucal da mulher durante essa fase do ciclo vital é fundamental para a fundamentação nosológica e para a melhor assertiva em decisões a serem tomadas acerca de tratamentos e intervenções. Portanto, este trabalho visa a identificar a prevalência da doença periodontal entre mulheres menopausadas e analisar os fatores associados à doença periodontal.

Método

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Santa Casa sob o protocolo 143/10 e seguiu todos os quesitos de ética em pesquisa para seres humanos. Trata-se de um estudo transversal exploratório feito com mulheres atendidas na Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará (FSCMP), de janeiro a maio de 2011. Estudo-piloto foi feito para validação do instrumento de pesquisa em relação a variáveis demográficas, econômicas, de identificação e de saúde geral e bucal.

Os critérios de inclusão foram: mulheres menopausadas (menopausa fisiológica ou menopausa cirúrgica), na faixa de 40 a 65 anos. Critério de exclusão: mulheres que não se encontravam na faixa etária pré-estabelecida para a pesquisa. A amostra de conveniência foi composta por 40 mulheres usuárias dos serviços de Saúde da Mulher da FSCMP.

A captação de sujeitos de pesquisa foi feita no ambulatório de climatério da FSCMP. As mulheres foram convidadas a participar de entrevistas voluntariamente e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Posteriormente, foram submetidas ao exame clínico oral, no qual se aferiu o Índice de Perda de Inserção Periodontal (PIP) e o Índice Periodontal Comunitário (CPI), validados na Pesquisa Nacional de Saúde Bucal, 2010.¹⁴

O CPI foi obtido por meio da sondagem do sulco gengival ou bolsa periodontal de seis pontos, em cada um dos dez dentes-índice (17, 16, 11, 26, 27, 37, 36, 31, 46 e 47). Esse índice permite avaliar a condição periodontal quanto à higiene, ao sangramento e à presença de cálculo ou de bolsa. Um único examinador devidamente padronizado foi responsável por mensurar o CPI. O exame foi feito sob luz natural, com o uso de espelho clínico plano número 5 e sonda *ball point*, modelo da Organização Mundial da Saúde (OMS).

O PIP permite avaliar a condição da inserção periodontal e toma como base a visibilidade da junção cimento-esmalte (JCE). Esse índice permite comparações entre grupos populacionais e não há intenção de descrever a situação de indivíduos considerados isoladamente. O PIP é, basicamente, um complemento do CPI. Os mesmos sextantes e dentes-índice são considerados sob as mesmas condições, porém esse índice só é usado para as faixas de 35 a 44 anos e 65 a 74 anos.

O exame foi feito individualmente segundo critérios de levantamento epidemiológico e as mulheres foram examinadas uma única vez. Durante exame a mulher ficou sentada confortavelmente e o examinador de pé. Os instrumentais usados para exame foram esterilizados em autoclave e todos os procedimentos seguiram as normas de biossegurança preconizadas.

Resultados

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que das 40 mulheres entrevistadas no ambulatório de climatério da FSCMP, 16 (40%) eram de cor parda; 18 (45%) eram casadas; 24 (60%) não terminaram o ensino fundamental; 37 (92,5%) tinham filhos; 23 (57,5%) não trabalhavam, pois estavam aposentadas, e a renda familiar de 29 (72,5%) girava em torno de um a três salários mínimos (tabela 1). Em relação à saúde da mulher no período de climatério, observa-se que 18 (45%) encontravam-se na menopausa pós-cirúrgica.

Sobre o tratamento hormonal, os dados revelam que 21 (52,5%) não estavam fazendo terapia de reposição hormonal por causa do alto custo do medicamento. Já com relação ao consumo de álcool e fumo, cinco (12,5%) relataram ser tabagistas e 16 (40%) ex-tabagistas.

A tabela 2 demonstra que 45% mulheres não visitavam o dentista havia mais de três anos; 70% só procuram tratamento odontológico quando apresentam quadro de dor; o local de assistência odontológica mais procurado foi o posto de saúde (57,5%); 65% da amostra relataram que nunca havia recebido orientação sobre higiene bucal e 100% já haviam perdido algum dente. A maior parte dessa perda teve como causa a cárie (82,5%), mas a doença periodontal foi significativa (15%).

Disseram que escovam os dentes duas ou mais vezes por dia 92%; 50% higienizam a língua; 65% não fazem bochechos com colutório e 67,5% não usam fio dental (76,9% das que usam passam o fio dental entre os dentes após a escovação). Em relação aos sintomas bucais, mais de 50% das examinadas relataram sensação de boca seca e 22,5% confirmaram o quadro da síndrome da boca ardente (fig. 1).

Na análise estatística, o coeficiente de Spearman (r_s) = 0,2436 apresentou relação entre higiene oral deficiente e maior tendência a apresentar a síndrome da boca ardente ($t = 1,5483$

Tabela 1 – Distribuição segundo as variáveis de identificação estudadas em mulheres atendidas no ambulatório de saúde da mulher da Santa Casa de Belém/PA (2011)

Variável	n	%
<i>Cor da pele</i>		
Preta	10	25,0
Branca	14	35,0
Parda	16	40,0
<i>Estado civil</i>		
Solteira	4	10,0
Casada	18	45,0
Viúva	7	17,5
Desquitada/divorciada	6	15,0
Amasiada	5	12,5
<i>Escolaridade</i>		
Analfabeta	-	-
Ensino fundamental completo	6	15,0
Ensino fundamental incompleto	24	60,0
Ensino médio completo	5	12,5
Ensino médio incompleto	5	12,5
<i>Filhos</i>		
Não	3	7,5
Sim	37	92,5
<i>Trabalha atualmente</i>		
Não	23	57,5
Sim	17	42,5
<i>Renda familiar</i>		
< 1 salário mínimo	4	10,0
1 a 3 salários mínimos	29	72,5
> 3 salários mínimos	7	17,5
<i>Período do climatério</i>		
Perimenopausa	7	17,5
Menopausa	-	-
Pós-menopausa	15	37,5
Menopausa pós-cirúrgica	18	45,0
<i>Tratamento hormonal atual</i>		
Não	21	52,5
Sim	19	47,5
<i>Conhecimento da osteoporose</i>		
Não	4	10,0
Sim	36	90,0
<i>Uso de medicação para osteoporose</i>		
Não	27	67,5
Sim	13	32,5
<i>Diabetes</i>		
Não	34	85,0
Sim	6	15,0
<i>Hipertensão</i>		
Não	21	52,5
Sim	19	47,5
<i>Tabagismo</i>		
Não fumante	19	47,5
Fumante	5	12,5
Ex-fumante	16	40,0
<i>Tipo de tabagismo</i>		
Cigarro	4	80,0
Cigarro de palha	1	20,0
Cachimbo	-	-
<i>Consumo de bebida alcoólica</i>		

Tabela 1 (Continuação)

Variável	n	%
Nunca consumiu	18	45,0
Sim	10	25,0
Já consumiu	12	30,0

n, número absoluto; %, valor percentual; -, valor igual a zero.

Tabela 2 – Distribuição segundo as variáveis sobre saúde bucal em mulheres atendidas no ambulatório de saúde da mulher da Santa Casa de Belém/PA (2011)

Variável	n	%
<i>Última visita ao dentista</i>		
Nunca foi	-	-
Menos de 1 ano	12	30,0
Entre 1 e 2 anos	5	12,5
Entre 2 e 3 anos	5	12,5
Mais de 3 anos	18	45,0
<i>Frequência de visita o dentista</i>		
Cada 6 meses	3	7,5
Uma vez ao ano	9	22,5
Raramente vai	28	70,0
<i>Assistência odontológica</i>		
Plano de saúde	-	-
Posto de saúde	23	57,5
Particular	17	42,5
<i>Já foi orientada sobre higiene bucal?</i>		
Não	26	65,0
Sim	14	35,0
<i>Perda dentária</i>		
Não	-	-
Sim	40	100
<i>Etiologia da perda dentária</i>		
Cárie	33	82,5
Trauma	1	2,5
Piorreia	6	15,0
<i>Escovação dental</i>		
Nenhuma	-	-
1 vez/dia	3	7,5
2 ou + vezes/dia	37	92,5
<i>Higienização da língua</i>		
Não	9	22,5
Sim	20	50,0
Eventual	11	27,5
<i>Uso de colutório</i>		
Não	26	65,0
Sim	7	17,5
Eventual	7	17,5
<i>Uso de fio dental</i>		
Não	27	67,5
Sim	13	32,5
<i>Quando usa o fio dental</i>		
Antes da escovação	3	23,1
Após a escovação	10	76,9

n, número absoluto; %, valor percentual; -, valor igual a zero.

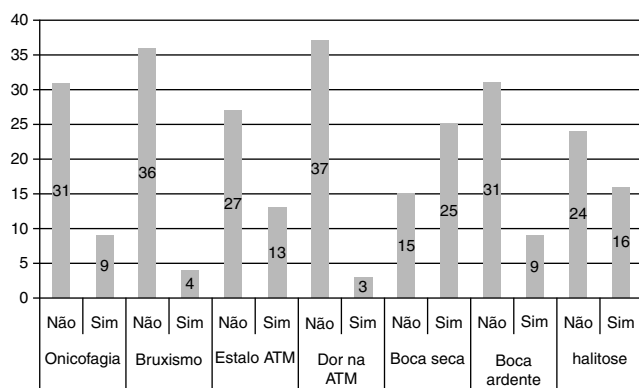


Figura 1 – Distribuição das mulheres atendidas no ambulatório de saúde da mulher da Santa Casa de Belém/PA, segundo hábitos parafuncionais e sintomatologia referida (2011).

e $p = 0,1298$). Não houve correlação entre a terapia hormonal e a síndrome da boca ardente ($p = 0,0885$ e r (Pearson) = $-0,2727$).

As condições gengivais avaliadas pelo CPI e pelo PIP indicam a presença de sangramento (gingivite), cálculo (tártaro) e bolsa periodontal. Entre os elementos examinados foi evidente a presença de cálculo dental e sangramento (tabelas 3 e 4). O edentulismo total superior foi observado em 57,5%. As perdas dentárias observadas entre as mulheres examinadas foram categorizadas em sua maioria como perda precoce, ainda na juventude, que teve como causa principal a cárie dentária.

Dentre as entrevistadas, 65% relataram que nunca haviam recebido orientação sobre higiene oral e associavam essa “falta de instrução” à condição de mutiladas no momento do exame.

Discussão

Historicamente a doença periodontal e a cárie são apontadas como os fardos globais mais relevantes em saúde bucal. Porém, a distribuição e a severidade variam em diferentes partes do mundo e dentro do mesmo país ou região. Os resultados do Projeto SB Brasil 2010 indicam que o percentual de indivíduos sem problema periodontal foi de 17% para adultos de 35 a 44 anos e somente 1,8% nos idosos de 65 a 74 anos.¹⁴

Na população idosa, faixa etária característica da menopausa, os problemas gengivais têm pouca expressão em termos populacionais, por causa do reduzido número de dentes presentes na cavidade bucal.¹⁵ Nesta pesquisa, a baixa prevalência de bolsas periodontais e problemas gengivais também se deve, provavelmente, ao reduzido número de dentes que as pacientes possuíam, já que todas relataram já ter feito exodontia de pelo menos um elemento dental e mais da metade apresenta o quadro de edentulismo total do arco superior.

Foi observado no exame clínico das pacientes que o sextante inferior anterior concentra o maior número de casos de cálculo e sangramento, os quais geram gingivite e possível futura perda dental por problemas periodontais. Esse quadro, porém, poderia ser tratado por meio de procedimentos pouco complexos de atenção básica, disponíveis nas unidades de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS), caso as

Tabela 3 – Valor do Índice Periodontal Comunitário (CPI) entre mulheres menopausadas examinadas no ambulatório de saúde da mulher da Santa Casa de Belém/PA (2011)

	Sextante (n / %)					
Condição	16/17	11	26/27	36/37	31	46/47
Excluído	29/72,5	28/70,0	34/85,0	24/60,0	2/5,0	25/62,5
Hígido	9/22,5	11/27,5	6/15,0	15/37,5	21/52,5	11/27,5
Sangramento	2/5,0	1/2,5	-	1/2,5	17/42,5	4/10,0
Cálculo	10/25,0	1/2,5	4/10,0	11/27,5	29/72,5	12/30,0
Bolsa 4-5 mm	3/7,5	-	-	3/7,5	7/17,5	4/10,0
Bolsa > 6 mm	-	1/2,5	-	-	1/2,5	1/2,5

n, número absoluto; %, valor percentual; mm, milímetros; -, valor igual a zero.

Tabela 4 – Valor do Índice de Perda de Inserção Periodontal (PIP) entre mulheres menopausadas examinadas no ambulatório de saúde da mulher da Santa Casa de Belém/PA (2011)

	Sextantes (n / %)					
Condição	16/17	11	26/27	36/37	31	46/47
0 a 3 mm	3/7,5	11/27,5	1/2,5	4/10,0	20/50,0	4/10,0
4 a 5 mm	7/17,5	-	4/10,0	9/22,5	15/37,5	9/22,5
6 a 8 mm	1/2,5	1/2,5	1/2,5	3/7,5	3/7,5	2/5
9 a 11 mm	-	-	-	-	-	-
>12 mm	-	-	-	-	-	-
Excluído	29/72,5	28/70,0	34/85,0	24/60,0	2/5,0	25/62,5

n, número absoluto; %, valor percentual; mm, milímetros; -, valor igual a zero.

pacientes frequentassem o cirurgião-dentista periodicamente e não apenas em casos de dor, como a maior parte das mulheres relatou fazer. A grande prevalência de sextantes excluídos revela, ainda, a assistência odontológica mutiladora recebida pelas mulheres e a falta de orientação e promoção de hábitos saudáveis por parte dos profissionais.

Nessa dimensão, os dentes perdidos com a doença periodontal não são registrados em estudos epidemiológicos, o que pode levar à subestimação da prevalência e da gravidade da patologia.¹¹ Além disso, em virtude da relevante prevalência de síndrome da boca ardente encontrada, essa síndrome deve ser objeto de investigação e prevenção entre os profissionais que fazem a assistência à saúde da mulher.

Evidências científicas da associação entre sintomas de boca seca ou sensação de queimação e alterações hormonais na mulher são fracas. Dados sobre o efeito dos hormônios sexuais femininos na cavidade oral são baseados em estudos com contraceptivos orais e durante a gravidez. Na prática clínica, no entanto, a maioria das pacientes com síndrome da boca ardente está no climatério.¹⁶

A sensação de boca seca é relativamente comum na população idosa, além dos pacientes em tratamento para câncer. Esse sintoma incide com o decorrer da idade, com média de aparecimento na faixa entre 50 e 60 anos, e tem forte predileção pelo sexo feminino, fato esse que sugere que a menopausa tem papel importante na incidência de xerostomia e de SBA.¹⁶

A literatura oferece dados de prevalência geral da SBA, que variam entre 14 e 40%, sempre maior entre as mulheres, e sua frequência em idosos, nos quais oscila entre 13 e 39% para aqueles capazes de cuidar de si próprios e aumenta até 60% em indivíduos institucionalizados ou hospitalizados.¹⁷⁻²⁰ Nesse contexto, a literatura também afirma que alterações em glândulas salivares muitas vezes estão relacionadas com a idade, porém não há evidências de que a xerostomia é apenas uma consequência do processo de envelhecimento e as causas mais frequentemente associadas a ela são menopausa e quadros depressivos.^{21,22} Muitas mulheres na menopausa sofrem alterações de humor, principalmente transtornos depressivos, que têm sido associados com xerostomia, embora a relação causal entre esses dois fatores e a redução do fluxo salivar não seja clara.²³

Vale ressaltar ainda, em relação à saúde geral da mulher no período de climatério, que considerável parcela da população estudada encontrava-se na menopausa pós-cirúrgica, mas esse número é significativo principalmente porque o local de realização da pesquisa é referência para as mulheres com necessidade cirúrgica.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

À Fundação Santa Casa de Misericórdia do Pará e às mulheres atendidas no ambulatório dessa instituição.

REFERÊNCIAS

1. Netto JRC. Mulheres no climatério: nível de informações, ansiedade, depressão, qualidade de vida e resultados de uma intervenção psicológica. [dissertação] Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo. 2002.
2. Brunetti MC. Periodontia médica: uma abordagem integrada. São Paulo: Senac. 2004.
3. Lima SMRR, Botogowski SR. Menopausa – O que você precisa saber: abordagem prática e atual do período do climatério. São Paulo: Atheneu. 2009.
4. De Lorenzi DRS, Barakat EC, Saciloto B, Padilha Júnior I. Fatores associados à qualidade de vida após menopausa. Rev Assoc Med Bras. 2006;52:312-7, doi.org/10.1590/S0104-42302006000500017.
5. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. Climatério: manual de orientação do climatério. São Paulo: Febrasgo. 2010.
6. Aldrighi JM, Aldrighi CMS, Aldrighi APS. Alterações sistêmicas no climatério. Rev Bras Med. 2002;59:15-21.
7. Lopes FF, Loureiro FHF, Pereira AFV, Pereira ALA, Alves CMC. Associação entre osteoporose e doença periodontal em mulheres na pós-menopausa. Rev Bras de Ginecol Obstet. 2008;30:379-83, doi.org/10.1590/S0100-72032008000800002.
8. Passos J. Osteoporose e doença periodontal em mulheres, pós-menopausadas., [dissertação]., Feira de Santana. Universidade Estadual de Feira de Santana. 2007.
9. Araújo MG, Sukekava F. Epidemiologia da doença periodontal na América Latina. Periodontia. 2007;17:7-13.
10. Lindhe J. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
11. Speciali JG, Stuginski-Barbosa J. Burning mouth syndrome. Curr Pain Headache Rep. 2008;12:279-84.
12. Tarkkila L, Linna M, Tiitinen A, Lindqvist C, Meurman JH. Oral symptoms at menopause-the role of hormone replacement therapy. Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod. 2001;92:276-80.
13. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de Saúde Bucal. SB Brasil 2010. Pesquisa nacional de saúde bucal: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
14. Pereira AC. Saúde coletiva: métodos preventivos para doenças bucais. São Paulo: Artes Médicas. 2013.
15. Frutos R, Rodríguez S, Miralles-Jorda L, Machuca G. Oral manifestations and dental treatment in menopause. Med Oral. 2002;7:26-30, 31-5.
16. Bergdahl BJ, Anneroth G. Burning mouth syndrome: literature review and model for research and management. J Oral Pathol Med. 1993;22:433-8.
17. Sardella A, Lodi G, Demarosi F, Bez C, Cassano S, Carrassi A. Burning mouth syndrome: a retrospective study investigating spontaneous remission and response to treatments. Oral Dis. 2006;12:152-5, doi:10.1111/j.1601-0825.2005.01174.x.
18. Petrucci M, Lauritano D, De Benedittis M, Baldoni M, Serpico R. Systemic capsaicin for burning mouth syndrome: short-term results of a pilot study. J Oral Pathol Med. 2004;33:111-4, doi:10.1111/j.1600-0714.2004.0194n.x.
19. Sardella A, Lodi G, Demarosi F, Tarozzi M, Canegallo L, Carrassi A. Hypericum perforatum extract in burning mouth syndrome: a randomized placebo-controlled study. J Oral Pathol Med. 2008;37:395-401, doi: 10.1111/j.1600-0714.2008.00663.x.
20. De Moura SA, Sousa JM, Lima DF, Negreiros AN, Silva FV, da Costa LJ. Burning mouth syndrome (BMS): sialometric and

-
- sialochemical analysis and salivary protein profile. Gerodontology. 2007;24:173–6, doi: 10.1111/j.1741-2358.2007.00158.x.
22. Lamey PJ, Murray BM, Eddie SA, Freeman RE. The secretion of parotid saliva as stimulated by 10% citric acid is not related to precipitating factors in burning mouth syndrome. J Oral Pathol Med. 2001;30:121–4, doi: 10.1034/j.1600-0714.2001.300209.x.
23. Bergdahl M, Bergdahl J. Low unstimulated salivary flow and subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. J Dent Res. 2000;79:1652–8, doi: 10.1177/00220345000790090301.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo de revisão

A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização *in vitro*: uma revisão sistemática[☆]

Camila Filardi Silveira^{a,*}, Lara Meireles de Azeredo Coutinho^a,
Waldemar Naves do Amaral^{b,c} e Eduardo Camelo de Castro^{a,d}

^a Ambulatório de Infertilidade da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

^b Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

^c Sociedade Brasileira de Ultrassom, São Paulo, SP, Brasil

^d Sociedade de Ginecologia e Obstetrícia de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 29 de julho de 2013

Aceito em 27 de agosto de 2013

On-line em 19 de outubro de 2013

Keywords:

Antral follicle count

Ovarian functional tests

Ovarian follicle

In vitro fertilization

R E S U M O

Objetivo: Revisar a capacidade da contagem dos folículos antrais de prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*.

Método: Foi feita revisão sistemática de trabalhos publicados nos últimos 13 anos que tiveram como objetivo determinar a capacidade da contagem dos folículos antrais de prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*. Esses estudos estavam disponíveis nas bases de dados científicas Medline, Lilacs e Scielo. Os descritores de busca foram contagem de folículos antrais, reserva ovariana e fertilização *in vitro*.

Resultados: Verificou-se a existência de 975 artigos publicados. Foram selecionados 16 deles publicados de 2000 a 2013 que mostraram a importância de a contagem dos folículos antrais prever resultados nos ciclos de fertilização *in vitro* em pacientes em idade fértil, sem história prévia de cirurgia ovariana, não fumantes e submetidas ao primeiro ciclo de fertilização *in vitro*.

Conclusão: Grande parte dos estudos mostrou que a contagem de poucos folículos antrais está associada com a ocorrência de má resposta ovariana e maior chance de cancelamento dos ciclos de fertilização *in vitro*, assim como com uma baixa quantidade de oócitos aspirados. Ainda não há um método ideal para prever gravidez de forma confiável.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho realizado no Ambulatório de Infertilidade da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: camila_filardi@hotmail.com (C.F. Silveira).

1413-2087/\$ – see front matter © 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.recli.2013.08.003>

Antral follicle count in the prediction of in vitro fertilization cycles results: A systematic review

A B S T R A C T

Palavras-chave:

Contagem de folículos antrais

Testes de função ovariana

Folículo ovariano

Fertilização in vitro

Objective: To review the ability of the antral follicle count in the prediction of in vitro fertilization cycles outcomes.

Method: A systematic review of studies published in the last 13 years that aimed to determine the ability of the antral follicle count to predict outcome in IVF cycles was done. These studies were available in the scientific databases MEDLINE, LILACS and Scielo. The keywords were the antral follicle count, ovarian reserve and in vitro fertilization.

Results: During the search it was found that there were 975 published articles. We selected 16 articles published between the years of 2000 to 2013 that showed the importance of the antral follicle count to predict in vitro fertilization cycles outcomes in patients of childbearing age, with no history of ovarian surgery, non-smokers and undergoing the first in vitro fertilization cycle.

Conclusion: Most studies show that few antral follicle counts is associated with the occurrence of poor ovarian response and greater chance of canceling cycles of in vitro fertilization cycles, as well as a low amount of collected oocytes. There is still no ideal method for predicting pregnancy reliably.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

O aumento da escolaridade da população feminina e a participação ativa da mulher na força de trabalho das sociedades ocidentais trouxeram um evidente aumento na média da idade em que as mulheres engravidam do primeiro filho.¹ Sabe-se que a fertilidade natural começa a declinar após os 30 anos e, nessa idade, a reserva ovariana já está diminuindo progressivamente.^{2,3}

A idade isoladamente não assegura um determinado padrão de resposta ovariana à indução de ovulação na fertilização in vitro (FIV). Segundo estudos, algumas mulheres com mais de 40 anos ainda têm reserva folicular suficiente para lhes garantir uma resposta satisfatória, enquanto outras, mais jovens, podem responder abaixo do esperado no tratamento.⁴ Além disso, esse parâmetro tem valor limitado, porque mulheres da mesma idade podem estar em diferentes fases do processo de depleção folicular e o estabelecimento de uma gravidez é influenciado por mais fatores, muitos deles desconhecidos.^{5,6}

A reserva ovariana é resultante da qualidade e da quantidade de oócitos.⁷ Nas últimas décadas, vários exames foram introduzidos com a finalidade de determinar a reserva de oócitos, os chamados testes de reserva ovariana. Cada teste tem uma acurácia diferente para prever os resultados dos ciclos de FIV em termos de ocorrência de gravidez.

Os testes disponíveis na atualidade são dosagem sérica do FSH, estradiol, inibina B, hormônio anti-Mülleriano (HAM), contagem de folículos antrais (CFA), volume ovariano e fluxo sanguíneo do ovário. Além desses, há os testes do citrato de clomifeno, do FSH exógeno e o de estimulação com agonista do GnRH.

Apesar de a medida direta do pool de folículos primordiais não ser possível, demonstrou-se que o número de folículos antrais nos ovários está proporcionalmente relacionado com

o tamanho do estoque de folículos primordiais a partir do qual eles foram recrutados.⁸ Acredita-se que a CFA feita por meio da ultrassonografia endovaginal represente um parâmetro quantitativo do envelhecimento ovariano.⁹ No entanto, apesar do seu uso generalizado, ainda não foi bem estabelecido que os folículos visualizados representam aqueles potencialmente saudáveis com oócitos competentes.¹⁰

Aparentemente, existe uma relação direta entre a CFA e a quantidade de oócitos captados, o número de embriões disponíveis para seleção na FIV, a transferência, o congelamento e a maior ou menor chance de engravidar.¹¹ Uma CFA de ambos os ovários inferior a 10 pode estar associada com um risco aumentado de cancelamento do ciclo, podendo representar importante parâmetro de avaliação preditiva da resposta ovariana.¹²

Segundo os critérios do Consenso de Bologna,¹³ uma paciente pode ser classificada como pobre respondedora (*poor ovarian response* – POR) quando apresentar dois dos três critérios listados a seguir: idade materna avançada (≥ 40 anos) ou qualquer outro fator de risco para POR (ou seja, todas as condições genéticas ou adquiridas possivelmente associadas com uma diminuição da quantidade de folículos); POR anterior (≤ 3 oócitos após estimulação pelo protocolo convencional); teste anormal de reserva ovariana (CFA de cinco a sete folículos ou HAM de 0,5-10,1 ng/mL). É importante ressaltar que dois episódios de POR após estimulação máxima já são suficientes para definir uma paciente como pobre respondedora na ausência de idade materna avançada ou teste anormal de reserva ovariana.¹³

Uma má resposta ovariana pode estar associada com baixas taxas de gravidez e muitos desses ciclos são cancelados sem proceder à recuperação de oócitos.¹⁴ Por outro lado, a resposta do ovário exagerada leva a um aumento do risco da síndrome de hiperestímulo ovariano (SHO).

Uma estimativa de resposta antes da estimulação do ovário é útil para o aconselhamento de pacientes e para a escolha

individualizada da dosagem de gonadotrofina na estimulação ovariana para ciclos de FIV.^{15,16} A CFA é um teste relativamente rápido e com custo-benefício favorável, ao contrário de outros testes endocrinológicos de alto custo, e pode ser aplicado à rotina geral dos serviços.¹⁷

Este trabalho tem como objetivo revisar o desempenho da contagem dos folículos antrais na predição de resultados nos ciclos de fertilização *in vitro*. As variáveis analisadas foram má resposta ovariana, cancelamento de ciclo, número de óocitos captados, gravidez e nascidos vivos.

Método

Estudo de revisão sistemática dos trabalhos publicados de janeiro de 2000 a fevereiro de 2013. Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (Medline), Literatura Latino-Americana e do Caribe (Lilacs) e Scientific Eletronic Library Online (Scielo) foram as bases de dados consultadas. Os descriptores usados foram: contagem de folículos antrais, reserva ovariana e fertilização *in vitro*.

Os critérios de inclusão definidos para os artigos foram pacientes em idade fértil, sem história prévia de cirurgia ovariana, não fumantes e submetidas ao primeiro ciclo de FIV. A seleção dos estudos foi feita por dois autores, de forma independente e cega, obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão. Nos casos em que houve discordância entre os dois autores, a opinião de terceiro autor foi empregada.

Foram identificados 975 artigos publicados a partir dos descritores e filtros usados. Procedeu-se à leitura dos resumos, sendo selecionados 34 artigos que relacionavam a contagem de folículos antrais (CFA) como método de predição de resultados em FIV. A partir desses 34 artigos foram selecionados 10 que obedeciam aos critérios de inclusão definidos para este estudo.

As listas de referências dos artigos selecionados foram analisadas para verificar a possibilidade de inclusão de novos artigos que abordassem o tema. Foram incluídos mais seis artigos que obedeciam aos critérios de inclusão propostos, totalizando 16 artigos analisados no presente estudo. A figura 1 mostra o fluxograma que resume a estratégia adotada para identificação e inclusão dos estudos.

Para a análise dos dados, procedeu-se à tabulação dos estudos encontrados com a distribuição de artigos por ano e por resultados para melhor análise comparativa. Como se trata de uma revisão de dados da literatura, não foi necessária aprovação de Comitê de Ética em Pesquisa.

Resultados

A partir dos dados dos artigos foi construída a tabela 1 para análise comparativa. Pode-se observar que a maioria dos artigos usou desenho prospectivo e dois estudos fizeram ensaio retrospectivo. Foram analisadas, ainda, duas metanálises e três revisões sistemáticas. Porém, como não forneceram dados para comparação, não foram incluídas na figura 1.

O estudo mais antigo data de 2000 e foi feito por Ng et al.,⁴ em Hong Kong, enquanto o mais atual foi publicado nos EUA, por Lai et al.,¹⁸ em 2013. A maior população estudada foi na Espanha, por Melo et al. (2009),¹⁹ que avaliaram 1.074

Tabela 1 – Apresentação dos resultados encontrados na revisão sistemática

Referências (Autores)	Ano	Local	População	Desenho	Predição		Diâmetro folicular	Ultrassonografia
					Pobre resposta	Gravidez		
Ng et al.	2000	Hong Kong – China	128	prospectivo	≤ 6	≥ 9	não citado	Aloka, Model SSD-620; Aloka Co, Ltd, Japan
Kurjac & Kupecic	2002	Croácia	56	prospectivo	7	11	não citado	Combison 530D:7.5 MHz probe
Muttukrishna et al.	2005	Inglaterra	108	retrospectivo	≤ 4	não citado	não citado	não especificado
Ng et al.	2005	Hong Kong – China	300	prospectivo	< 10	não citado	não citado	Aloka, Model SSD-5500; Aloka Co. Ltd, Japan
Kwee et al.	2007	Holanda	110	prospectivo	6	não citado	2 a 10 mm	6.5MHz vaginal Aloka SSD-1700 ultrasound apparatus (5.0 MHz probe)
Souza et al.	2007	Brasil	51	prospectivo	< 6	não citado	2 a 10 mm	GE logic 400 Pró-Series
Maseelall et al.	2009	Estados Unidos	278	retrospectivo	não citado	não citado	2 a 10 mm	não especificado
Melo et al.	2009	Espanha	1074	prospectivo	< 5	não citado	2 a 10 mm	Sonoline Sienna 6.5-MHz vaginal transducer
Jayaprakasan et al.	2010	Reino Unido	135	prospectivo	≤ 3	não citado	2 a 10 mm	Voluson Expert 730 (Kretz, Austria) e four-dimensional 5-to-9 MHz transvaginal
Jayaprakasan et al.	2012	Reino Unido	1012	prospectivo	< 14	não citado	2 a 10 mm	Voluson Expert 730 e 3D “volume” 5-9 MHz transvaginal probe
Lai et al.	2013	Estados Unidos	214	prospectivo	não citado	não citado	2 a 10 mm	não especificado

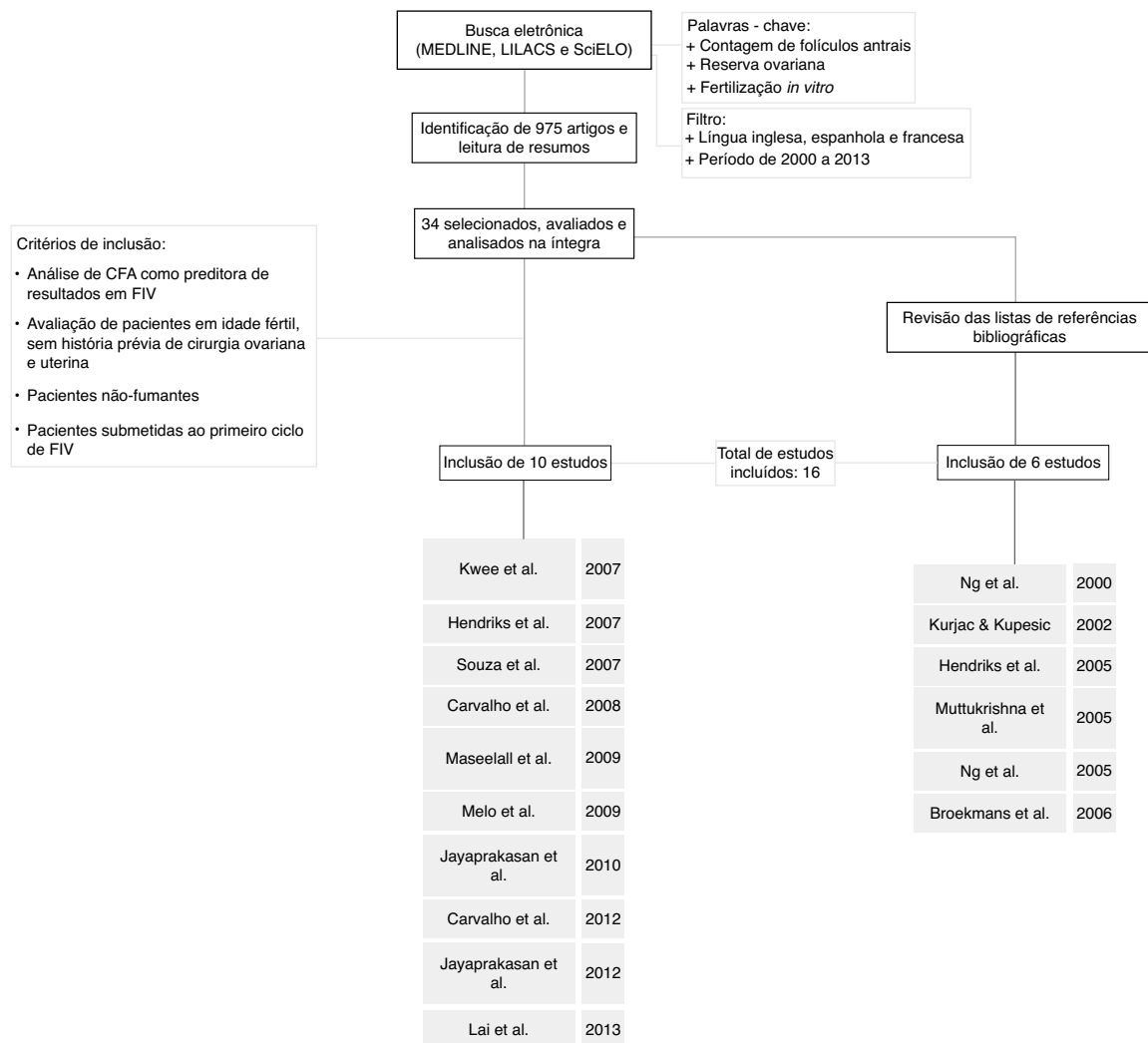


Figura 1 – Fluxograma da metodologia empregada na revisão sistemática.

mulheres, e a menor, com 51 mulheres, foi estudada no Brasil, por Souza et al. (2007).²⁰

A definição de pobre resposta foi divergente entre os estudos, variando de três a nove folículos antrais. A maioria dos pontos de corte ficou no intervalo entre três e seis folículos. Somente dois estudos estabeleceram a relação entre a CFA e chances de gravidez. A maioria dos artigos considerou como folículo antral aquele que media de 2 mm a 10 mm de diâmetro à ultrassonografia endovaginal.

Discussão

A maioria dos artigos apresentou evidência de que uma contagem menor do que três a seis folículos antrais está associada com má respondedoras e maior chance de cancelamento de ciclo, assim como menor número de oócitos aspirados. O ensaio de Kupesic e Kurjac (2002)²¹ sugere que a CFA foi a melhor preditora de resultados favoráveis em FIV.

Em estudo prospectivo de Ng et al. (2000)⁴ feito com 128 mulheres foi constatado que as pacientes com CFA ≤ 6

tiveram maior número de ciclos cancelados. Esse estudo mostrou que a CFA teve correlação significativa com o número de oócitos obtidos, que foi o melhor fator preditor de resposta em FIV quando comparado com os outros marcadores. Os mesmos autores,²² em novo estudo prospectivo feito em 2005, compararam a CFA com a concentração de FSH após o teste de citrato de clomifeno. Observaram que a CFA alcançou, da mesma forma, um melhor valor preditivo em relação ao número de oócitos aspirados.

Souza et al. (2007)²⁰ também concordaram em seu trabalho que a CFA apresenta boa correlação com o número de oócitos captados com o uso do mesmo ponto de corte do estudo de Ng et al. (2000)⁴ na CFA. Apesar disso, este estudo verificou que a relação entre a CFA e gravidez foi inversa. A provável explicação pode ter sido o tamanho reduzido da amostra. Os autores Kupesic e Kurjac (2002)²¹ também conseguiram estabelecer uma boa correlação entre o número total de oócitos aspirados e a CFA ao avaliar prospectivamente 56 mulheres. No entanto, o ponto de corte usado pelos autores para o insucesso da FIV foi de sete folículos contados.

Outro trabalho que conseguiu mostrar que a CFA tem melhor valor preditivo em relação ao número de oócitos obtidos foi o estudo de Lai et al. (2013).¹⁸ Porém, diferentemente dos outros autores, não foram estabelecidos pontos de corte para análise.

O estudo de Jayaprakasan et al. (2010)²³ se diferenciou dos demais pois acrescentou na análise, além da CFA, a dosagem do hormônio anti-Mülleriano (HAM) como marcador de reserva ovariana. Entretanto, a conclusão foi a mesma, ou seja, tanto a CFA como a dosagem do HAM foram considerados os melhores preditores do número de oócitos recuperados.

A CFA também pode ser relacionada à pobre resposta ovariana, como concluíram Jayaprakasan et al. em 2010,²³ com sensibilidade de 93% e especificidade de 88%. Outro estudo prospectivo desses mesmos autores,²⁴ feito em 2012, que usou como ponto de corte uma CFA menor ou igual a quatro, avaliou uma coorte de 1.012 mulheres e confirmou que a CFA é um preditor significativo da má resposta ovariana. Porém, acrescentaram que a CFA também obteve um valor estatisticamente significativo em relação à predição de nascidos vivos e de SHO moderada ou grave.

Os autores sugerem que, embora a CFA tenha a melhor capacidade de predição de má resposta ovariana e SHO entre todos os marcadores convencionais da reserva ovariana medidos no estudo,^{23,24} a CFA e a idade tiveram o mesmo valor preditivo em relação aos nascidos vivos, contrariando o que foi demonstrado no estudo retrospectivo elaborado por Mase-elall et al. (2009).²⁵ Nesse estudo, foi definido que a CFA é um fator independente significante, capaz de prever índice de nascidos vivos. Segundo eles, uma CFA menor ou igual a 10 está associada ao maior risco de aborto espontâneo e cancelamento do ciclo, ao maior uso de gonadotrofinas, ao menor número de oócitos recuperados e à menor taxa de gravidez clínica em comparação a pacientes com CFA maior ou igual a 11. A taxa de nascidos vivos é maior nesse último grupo.

Outros estudos também apontam a CFA como melhor preditora da má resposta ovariana. Porém, em alguns deles não houve concordância entre os pontos de corte das quantificações dos folículos antrais usados. A análise retrospectiva de Muttukrishna et al. (2005)²⁶ encontrou que uma CFA menor do que cinco foi boa preditora de pobre resposta, com sensibilidade de 89% e especificidade de 39%. Nesse trabalho, as pacientes foram divididas em dois grupos: pobres respondedoras (≤ 4 oócitos coletados) e respondedoras normais (≥ 5 oócitos coletados). As pacientes foram também separadas em três grupos para análise: entre um e quatro folículos antrais (grupo 1); de cinco a nove folículos antrais (grupo 2) e maior ou igual a 10 folículos antrais (grupo 3). Os índices de gravidez foram de 18,2%, 32% e 48%, respectivamente. Já no estudo de Kwee et al. (2007),¹⁷ a pobre resposta foi estabelecida com uma CFA inferior a seis, com sensibilidade de 73% e especificidade de 95%.

A metanálise de Hendriks et al. (2005)²⁷ não citou seus pontos de corte para pobre resposta. Porém, definiu bom desempenho da CFA para prever má resposta ovariana, enquanto sua capacidade para predição de não gravidez foi deficiente. Isso é ratificado por Ramalho de Carvalho et al. (2012),²⁸ que demonstraram que a CFA é um excelente indicador da resposta ovariana, com superioridade significativa em relação a outros marcadores, mas com baixa sensibilidade

para prever não gravidez. Eles concluíram, também, que a CFA não deve ser usada como critério para a exclusão da terapia de reprodução assistida, e sim como uma ferramenta para o aconselhamento quanto à baixa probabilidade de atingir gravidez e determinar individualmente os protocolos de tratamento de ciclos de FIV.

Em 2007, Hendriks et al.²⁹ fizeram outra metanálise que concordou com o estudo de revisão de Carvalho et al. (2012).²⁸ Ambos apontaram que a CFA é preferível em relação a outros marcadores na avaliação quantitativa da reserva ovariana. Broekmans et al. (2006)⁹ também consideraram que a acurácia da CFA para prever pobre resposta ovariana é adequada, mas a CFA não tem grande valor clínico para prever gravidez. Eles consideraram que esse método pode ser usado como teste de *screening* para possíveis pobres respondedoras e para direcionar futuros passos diagnósticos na primeira tentativa de FIV, concordando com o estudo de Ng et al. (2000),⁴ o qual mostrou que, apesar do reduzido número de oócitos obtidos em mulheres com baixa CFA, as taxas de gravidez por ciclo pareceram similares às de mulheres com CFA maior, sugerindo que a CFA não seria uma boa preditora das taxas de gestação.

A hiper-resposta ovariana também pode ser prevista pela CFA, como mostram o estudo de Jayaprakasan et al. (2012)²⁴ e o estudo de Kwee et al. (2007),¹⁷ os quais estabeleceram risco de SHO com uma CFA superior a 14, dado importante para direcionar a decisão de ajuste da dose de gonadotrofinas para prevenir uma possível SHO.

Apesar de algumas diferenças importantes entre os estudos nesta revisão, é consenso que o melhor marcador de reserva ovariana deve ser capaz de identificar as mulheres cujas chances de gravidez, em ciclos de FIV, estaria tão perto de zero que não se justificaria submetê-las aos potenciais efeitos adversos da estimulação exógena. Nesse aspecto, a CFA é designada como o marcador basal mais confiável de reserva ovariana na predição de uma pobre resposta.²⁹ No entanto, apesar de a CFA ter demonstrado ser um indicador sensível e específico da resposta ovariana, segundo os resultados de Melo et al. (2009),¹⁹ esse método não conseguiu prever a qualidade dos oócitos.

Conclusões

A maioria dos dados bibliográficos levantados concorda que a CFA pode ser usada como *screening* para detectar prováveis pobres respondedoras e tem o melhor valor preditivo do número de oócitos que serão captados nos ciclos de fertilização *in vitro*. Os estudos ainda mostram divergência em relação ao uso da CFA como método para prever gravidez nas técnicas de FIV. Ainda não há um método ideal para prever gravidez de forma confiável, mas uma baixa CFA pode ser usada na prática diária como instrumento no aconselhamento de casais quanto à menor probabilidade de alcançar gravidez.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Leridon H. Demographic effects of the introduction of steroid contraception in developed countries. *Hum Reprod Update*. 2006;12:603-16, doi:10.1093/humupd/dml025.
- Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril*. 2009;91:705-14, doi:10.1016/j.fertnstert.2007.12.013.
- Castro EC, Florêncio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. Correlação entre a idade e a contagem dos folículos antrais em mulheres inférteis. *RBGO*. 2012;34(4):184-8.
- Ng EH, Tang OS, Ho PC. The significance of the number of antral follicles prior to stimulation in predicting ovarian responses in an IVF programme. *Hum Reprod*. 2000;15:1937-42, doi:10.1093/humrep/15.9.1937.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2004;81:35-41.
- Scheffer GJ, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein M, Fauser BC, te Jong FH, et al. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum Reprod*. 2003;18:700-6, doi:10.1093/humrep/deg135.
- Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive aging. *Hum Reprod Update*. 2002;8:141-54, doi:10.1093/humupd/8.2.141.
- Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of nongrowing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*. 1994;50:653-63, doi:10.1095/biolreprod50.3.653.
- Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*. 2006;12:685-718, doi:10.1093/humupd/dml034.
- Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril*. 2010;94:1044-51, doi:10.1016/j.fertnstert.2009.04.040.
- Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1997;12:220-3, doi:10.1093/humrep/12.2.220.
- Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2000;74:512-7.
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011;26:1616-24, doi:10.1093/humrep/der092.
- Pellicer A, Lightman A, Diamond MP, Russell JB, Decherney AH. Outcome of in vitro fertilization in women with low response to ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 1987;47:812-5.
- Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Antral Follicle Counting In Predicting The Retrieved Oocyte Number After Ovarian Hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001;18:320-4, doi:10.1023/A: 1016688806431.
- Andersen AN, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B. Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod*. 2011;26:3413-23, doi:10.1093/humrep/der318.
- Kwee J, Elting ME, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;5:9, doi:10.1186/1477-7827-5-9.
- Lai Q, Chen C, Zhang Z, Zhang S, Yu Q, Yang P, et al. The significance of antral follicle size in predicting ovarian response in a multiple dose GnRh antagonist protocol. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6:258-66, www.ijcep.com /ISSN: 1936-2625/IJCEP1211017.
- Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Meseguer M, Pellicer A, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. *Fertil Steril*. 2009;91:148-56, doi:10.1016/j.fertnstert.2007.11.042.
- Souza MCB, Souza MM, Oliveira JBA, Henriques CA, Cardoso FFO, Mancebo ACA, et al. Utilização da contagem de folículos antrais para predição do padrão de resposta em ciclos de hiperestimulação controlada com antagonista de GnRH. *RBGO*. 2007;30(1):36-41.
- Kupesic S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Human Reprod*. 2002;17:950-5, doi:10.1093/humrep/17.4.950.
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Ho PC. Antral follicle count and FSH concentration after clomiphene citrate challenge test in the prediction of ovarian response during IVF treatment. *Hum Reprod*. 2005;20:1647-54, doi:10.1093/humrep/deh833.
- Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;93:855-64, doi:10.1016/j.fertnstert.2008.10.042.
- Jayaprakasan K, Chan Y, Islam R, Haoula Z, Hopkisson J, Coomarasamy A, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertil Steril*. 2012;98:657-63, doi:10.1016/j.fertnstert.2012.05.042.
- Maseelall PB, Hernandez-Rey AE, Oh C, Maagdenberg T, McCulloh DH, McGovern PG. Antral follicle count is a significant predictor of livebirth in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2009;91:1595-7, doi:10.1016/j.fertnstert.2008.11.001.
- Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count anti-müllerian hormone inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *BJOG*. 2005;112:1384-90, doi:10.1111/j.1471-0528.2005.00670.x.
- Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril*. 2005;83:291-301.
- Ramalho de Carvalho B, Gomes Sobrinho DB, Vieira AD, Resende MP, Barbosa AC, Silva AA, et al. Ovarian reserve assessment for infertility investigation. *ISRN Obstet Gynecol*. 2012;2012:576385, doi:10.5402/2012/576385.
- Hendriks DJ, Kwee J, Mol BW, te Velde ER, Broekmans FJ. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertil Steril*. 2007;87:764-75.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo de revisão

Perspectivas de uso da hibridização genômica comparativa como rastreamento pré-implantacional em biópsias de embrião humano no estágio de blastocisto[☆]

Pabline Barbosa Lima Almeida^{a,*}, Oscar Barbosa Duarte Filho^b
e Jonathas Borges Soares^a

^a Projeto Alfa-Infertilidade Conjugal e Reprodução Humana, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^b Centro de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 13 de maio de 2013

Aceito em 27 de maio de 2013

On-line em 15 de agosto de 2013

Palavras-chave:

Hibridização genômica comparativa

Técnicas reprodutivas

Diagnóstico genético

pré-implantacional

Blastocisto

R E S U M O

O rastreamento genético pré-implantacional parece melhorar as taxas de gravidez em certos grupos de pacientes com mau prognóstico nos tratamentos de fertilização *in vitro*. Mais recentemente tem-se sugerido seu uso para a seleção visando à transferência de um embrião único. O presente artigo tem como objetivo discorrer sobre a técnica de hibridização genômica comparativa, a biópsia do embrião na fase de blastocisto e as perspectivas de uso desses como rastreamento genético pré-implantacional. Foi feita revisão bibliográfica em artigos científicos, livros e periódicos. O método de hibridização genômica comparativa é capaz de analisar todos os pares cromossômicos e mostra-se promissor na identificação das aneuploidias. A biópsia do embrião na fase de blastocisto parece ser menos agressiva e fornece mais material genético do que aquela feita na fase de clivagem. A transferência de um embrião geneticamente normal aumenta as chances de gravidez nos procedimentos de fertilização *in vitro*. Entretanto, ainda não temos estudos randomizados controlados suficientes para assegurar que a hibridização genômica comparativa em blastocisto tenha impacto prático suficiente para aumentar as chances de gravidez.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho feito no Projeto Alfa, São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: pablinealmeida@hotmail.com (P.B.L. Almeida).

Prospects of using comparative genomic hybridization in blastocyst stage human embryo biopsy as pre-implantation genetic screening

A B S T R A C T

Keywords:

Comparative genomic hybridization
Reproductive techniques
Pre-implantation genetic screening
Blastocyst

Pre-implantation genetic screening could improve pregnancy rates in certain groups of patients with poor prognosis undergoing *in vitro* fertilization procedures. Recently its use as screening has been suggested aiming single embryo transfers. This paper evaluates comparative genomic hybridization technique, blastocyst stage embryo biopsy and analyzes the prospects of using both as pre-implantation genetic screening. A bibliographical review in scientific articles, books, journals and websites was done. Comparative genomic hybridization is able to analyze all chromosomes being promising as pre-implantation genetic screening. Blastocyst biopsy seems to be less aggressive to the embryo and provides additional genetic material compared to cleavage stage biopsies. The transfer of a genetically normal embryo increases pregnancy rates in *in vitro* fertilization procedures. However there are insufficient randomized controlled trials to ensure that comparative genomic hybridization in blastocysts cells has a practical impact in pregnancy rates.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

Casais que experimentam a infertilidade recorrem a tecnologias de reprodução assistida para conseguir a gravidez. Muitos desses casais submetem-se a múltiplos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) sem sucesso e frequentemente procuram outras opções para melhorar suas chances de um bom resultado.

A aneuploidia cromossômica é causa reconhecida de abortamentos espontâneos e responsável por cerca de dois terços desses.¹ As aberrações encontradas podem variar desde simples trissomias ou monossomias até anomalias mais complexas, que envolvem múltiplos cromossomos. Os resultados de gravidez variam desde falhas de implantação, abortamentos precoces ou tardios até nascimentos anormais, o que depende dos cromossomos envolvidos.

A estratégia mais usada para a identificação de embriões viáveis é baseada na avaliação de critérios morfológicos, tais como o número e tamanho das células, a presença de multinucleação, o percentual de fragmentação e a taxa de clivagem.²⁻⁵ A avaliação morfológica é praticada em todos os laboratórios de FIV e continua a ser o esteio na avaliação do embrião. No entanto, alguns dos aspectos mais importantes da viabilidade do embrião permanecem invisíveis para tais análises.

Recentemente, com a evolução das técnicas de biópsia embrionária e o aprimoramento dos testes genéticos, várias estratégias têm sido sugeridas para se alcançar uma avaliação mais acurada de todos os cromossomos a partir do material biopsiado de embriões ou óocitos. Atualmente, a mais promissora delas parece ser a hibridização genômica comparativa (CGH).⁶⁻¹⁰

Em 2008, durante a reunião da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM), os dados clínicos de ciclos que usam a CGH para analisar biópsias de blastocisto foram apresentados e indicaram aumento estatisticamente significativo, superior a duas vezes, nas taxas de implantação (30-62%, $p < 0,001$) para mulheres com uma idade média de 38 anos e com história de 1-10 falhas em ciclos de FIV. A taxa de

gravidez em curso foi de 78%, bem acima das taxas de gravidez esperadas sem PGS.¹¹

Desde então, vários centros de reprodução assistida no mundo têm usado o método como opção para se diminuir as falhas em FIV, principalmente naqueles casais com mau prognóstico gestacional.

Diagnóstico genético pré-implantacional

O diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) foi desenvolvido há mais de vinte anos e inicialmente usado para a determinação do sexo em embriões de casais com risco para a transmissão de uma doença recessiva ligada ao X.¹² O procedimento envolve a geração de embriões por FIV, seguido pela biópsia desses e teste do material embrionário.

A biópsia pode ser feita em diferentes estágios de desenvolvimento do embrião: dia 0, com a remoção do primeiro corpo polar (PB) do ovócito maduro; dia 1, com a biópsia do segundo corpo polar do zigoto (o primeiro PB também pode ser obtido nesse momento); dia 3, por meio da remoção de 1-2 células (blastômeros) do embrião em fase de clivagem; ou nos dias 5-6, com a remoção de um pequeno grupo de células do trofoectoderma (células TE) do blastocisto.¹³ O PGD para doenças hereditárias foi feito com sucesso em 1990 e permitiu que casais portadores de uma anomalia genética pudessem ter um filho normal.^{12,14}

Rasteamento genético pré-implantacional

Sabendo-se que as anormalidades cromossômicas desempenham um importante papel nas falhas de implantação embrionária em tratamentos de FIV, surgiu a hipótese de que o estudo genético dos embriões melhoraria as taxas de implantação. Em 1993, Munné et al. usaram a hibridização fluorescente *in situ* (Fish) para detectar anormalidades cromossômicas em cinco cromossomos e, assim, fizeram os

primeiros casos de rastreamento genético pré-implantacional (PGS).¹⁵

Tais técnicas passaram, então, a ser usadas para o rastreamento genético, com a finalidade de tentar melhorar as taxas de gravidez em certos grupos de pacientes com mau prognóstico nos procedimentos de FIV, como aquelas com idade materna avançada, abortamentos de repetição, repetidas falhas de implantação e fator masculino grave.¹⁶ Desde então, o PGS começou a ser feito com a finalidade de aumentar as taxas de implantação e nascidos vivos, além de reduzir os abortamentos espontâneos em pacientes sem desordem genética conhecida.¹⁷

O PGS oferece aos casais submetidos à FIV uma ferramenta de seleção adicional sobre a simples análise morfológica, visando a escolher o melhor embrião para transferência. A seleção dos embriões sem erros cromossômicos pode melhorar as taxas de sucesso na implantação e reduzir a probabilidade de abortamentos associados a aneuploidias.¹⁸

O PGS foi relatado pela primeira vez em 1995, na análise de corpos polares.^{19,20} Desde então, numerosos artigos foram publicados sobre o seu uso. No entanto, como acontece com várias novas tecnologias em reprodução humana, houve pouca evidência de que aumentasse as taxas de gestação. A maioria dos estudos randomizados e não randomizados de PGS foi feita com a biópsia de embriões na fase de clivagem, o que pode ser parte da razão para o seu mau desempenho até agora. Embriões nesse estágio de desenvolvimento mostram níveis elevados de anormalidades cromossômicas e mosaicismo.^{19,21} Por isso, a análise de uma única célula do embrião na fase de clivagem pode não representar seu real estado genético.

Além disso, a maioria desses estudos usou a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (Fish), que é capaz de detectar somente metade ou menos do cariótipo humano (de 5 a 12 cromossomos), além do que a eficiência do método é reduzida quando muitos cromossomos são analisados ao mesmo tempo.

Hibridização *in situ* fluorescente

A hibridização *in situ* fluorescente foi desenvolvida e aperfeiçoada para uso em amostras com muitas centenas de células para contar, o que permite variações naturais na eficiência da hibridização, sobreposição de sinal e outras questões técnicas a serem levadas em conta sobre toda a análise da amostra. Dessa maneira, mesmo que algumas células apresentem uma contagem anormal em uma sonda por problemas técnicos, a maioria das outras células terá a contagem real, que permite o diagnóstico da amostra.

A Fish não foi projetada para testar um conjunto de amostras de uma única célula. Portanto, as limitações técnicas do teste são amplas e podem levar a resultados falso-positivos e falso-negativos e afetar a capacidade do teste no PGS. Surgiu, então, a necessidade de se avaliar o momento da biópsia, visando à obtenção de um maior número de células e do desenvolvimento de novos métodos capazes de analisar todos os pares de cromossomos.¹³

Hibridização genômica comparativa

A hibridização genômica comparativa (CGH) é uma técnica que faz a ponte entre a genética molecular e a citogenética.⁸ Permite um rastreamento cromossômico abrangente, capaz de determinar com precisão todas as aneuploidias cromossômicas. Combina a amplificação de todo o genoma das células biopsiadas, seguida da marcação fluorescente e hibridização com cromossomos normais numa lâmina de microscópio. Mais recentemente a hibridização genômica comparativa com arrays (array CGH ou aCGH) foi introduzida e proporcionou resultados similares àquela com células em metáfase (mCGH), mas num período de tempo mais rápido.²²

A CGH já foi aplicada com sucesso para o rastreamento genético pré-implantacional (PGS) de corpos polares,²³⁻²⁵ embriões em estágio de clivagem^{10,26} e blastocistos, com resultados clínicos promissores.²⁷⁻²⁹ Além da detecção de aneuploidias que afetam os cromossomos inteiros, a CGH também é capaz de identificar ganhos e perdas de segmentos desses e deve, portanto, ser capaz de detectar os desequilíbrios provocados por uma ampla variedade de rearranjos cromossômicos.^{7,10,27} Na CGH, o ácido desoxirribonucleico (DNA) da amostra e o de um controle normal são amplificados separadamente, com o uso de uma amplificação genômica completa (WGA). A WGA em células individuais para PGD foi relatada tanto para fins clínicos como para de pesquisa.³⁰⁻³⁵

Na mCGH, um software de computador especializado analisa a razão de fluorescência vermelho-verde ao longo do comprimento de cada cromossomo metafásico em cerca de seis conjuntos diferentes em um ideograma. Ganhos em vermelho indicam que a amostra é deficiente na região ou no cromossomo e ganhos em verde que o teste tem cópias extras da região ou do cromossomo. O processo é demorado e tecnicamente desafiador e leva até 72 horas para se fazer o trabalho em bancada de laboratório, mais o tempo adicional necessário para a análise detalhada dos dados.¹³

O aCGH segue o mesmo princípio do mCGH, mas usa um chip de DNA, geralmente cromossomos artificiais bacterianos (BACs) afixados na lâmina do microscópio, e já foi aplicado a uma única célula ou embrião. Cada clone de BAC corresponde a uma parte específica do cromossomo e um software de computador analisa a razão vermelho-verde de fluorescência em cada local que irá corresponder a uma perda ou ganho de região, semelhantemente ao mCGH. A análise é totalmente automatizada e todo o processo pode ser feito em 24 horas, o que permite a transferência dos embriões no mesmo ciclo.¹³

A vantagem principal da CGH em comparação com o método de Fish é que a primeira permite, em um único teste, a detecção de alterações numéricas (aneuploidias) em todos os cromossomos. Além disso, reduz os erros potenciais associados à fixação dos blastômeros. É também um método consistente, que fornece uma informação completa de todos os cromossomos, enquanto a Fish baseia-se no diagnóstico de uma pequena região do DNA.³⁶

Biópsia embrionária

Durante duas décadas a fase de biópsia embrionária predominante tem sido o estágio de clivagem, no qual geralmente

um ou por vezes dois blastômeros são biopsiados no terceiro dia de desenvolvimento do embrião.¹³ Os primeiros estudos clínicos sobre PGS em embriões no estágio de clivagem mostraram aumento nas taxas de implantação e de gravidez em curso, bem como diminuição nas taxas de abortamento espontâneo.³⁷⁻³⁹ A biópsia do blastocisto geralmente remove entre 5-10 células e conseqüentemente fornece mais DNA do que a biópsia na fase de clivagem, com 1 a 2 blastômeros.

Já está bem documentado que o embrião na fase de clivagem mostra elevados níveis de mosaicismos cromossômico.^{21,40} O mosaicismos cromossômico na pré-implantação do embrião dificulta a acurácia do PGS, pois as células removidas podem não representar a totalidade do embrião. Portanto, a análise de maior número de células torna o diagnóstico mais preciso.⁴¹ Entretanto, estudos recentes indicam que isso também ocorre com blastocistos.²⁷

A cultura de embriões humanos até o estágio de blastocisto é uma inovação que só se tornou costumeira nos últimos anos. Avanços foram feitos na cultura estendida de embriões com o uso de uma combinação sequencial de meios de cultura ultraestáveis com pouco oxigênio específica para cada estágio do embrião.^{42,43} Os embriões que se tornam blastocistos *in vitro* são considerados de melhor qualidade e, geralmente, têm um melhor potencial de implantação. Por essa razão a cultura para a fase de blastocisto é cada vez mais feita nas clínicas de reprodução assistida em todo o mundo. O que se torna cada vez mais evidente, no entanto, é que o cultivo desses embriões até blastocistos não elimina a aneuploidia.

Assim como em oócitos e embriões no estágio de clivagem, até recentemente a Fish foi o método de escolha para a análise citogenética de blastocistos humanos no contexto de pesquisa.⁴⁴⁻⁴⁸ Dados obtidos com esses estudos têm demonstrado que um grande número de erros cromossômicos persiste até a fase de blastocisto, mas suas taxas tendem a ser mais baixas em comparação com a fase de clivagem do desenvolvimento.^{44,48,49}

Postula-se que o PGS na fase de blastocisto pode levar a melhores resultados clínicos para casais inférteis porque seriam escolhidos embriões de melhor qualidade.^{6,13} Semelhantemente à de corpo polar, a biópsia das células trofoectodérmicas do blastocisto é considerada menos prejudicial para o embrião do que aquela na fase de clivagem. Apesar de serem retiradas cerca de cinco células, a proporção relativa tomada do volume do embrião é menor do que aquela associada à retirada de uma única célula na fase de clivagem. Além disso, a massa de células removidas é destinada a formar a placenta, e não o feto.

Perspectivas do rastreamento genético pré-implantacional

Na reprodução humana as taxas de gravidez e implantação de embriões são inversamente proporcionais à idade materna. Dados de três décadas de estudo sugerem um aumento nos erros de segregação cromossômica na ovogênese em mulheres acima de 35 anos. Assim, o aumento da idade materna aumenta o risco de aneuploidias embrionárias, eleva o risco de abortamentos e diminui as taxas de implantação dos embriões

por aberrações cromossômicas incompatíveis com o desenvolvimento e a diferenciação celular.

Outro grupo de mulheres com elevada produção de embriões geneticamente alterados é o daquelas com repetidas falhas em tratamentos de reprodução assistida ou com abortamentos recorrentes. Esses embriões apresentam taxas de aneuploidia em torno de 70% e a taxa habitual é de 30%.²⁵

Atualmente, o uso do PGS em tratamentos de FIV tem sido proposto nos casos de idade materna avançada (AMA), falhas de implantação em repetidos ciclos de FIV anteriores (RIF) e abortamentos recorrentes (RPL).¹⁷ Além disso, o PGS tem sido proposto também para mulheres com gestações trissômicas anteriores⁵⁰ e naquelas que têm parceiros com fator masculino grave.⁵¹⁻⁵³ Estudos demonstram que a incidência de aneuploidias é alta nos procedimentos de fertilização *in vitro*, mesmo quando avaliamos mulheres jovens e sem problemas reprodutivos como em casos de ovodação.⁵⁴ Mais recentemente, na reprodução assistida, têm sido crescentes as tendências de se transferir um único embrião para diminuir as taxas de gestações múltiplas, principal fator de risco em FIV.⁵⁵⁻⁵⁹

Gestações múltiplas são mais propensas à prematuridade, com um maior risco de baixo peso ao nascer, atrasos de desenvolvimento, paralisia cerebral e malformações congênitas.⁶⁰⁻⁶² A transferência de múltiplos embriões normalmente é usada para melhorar as taxas de implantação. A transferência de embrião único é o ideal para a prevenção de nascimentos múltiplos. Um embrião de alta qualidade tem mais probabilidade de culminar em uma gravidez em curso e, em última análise, no nascimento de um bebê único e saudável.^{63,64}

Conclusão

A triagem de aneuploidias para a seleção de embriões já percorreu um longo caminho desde que foi inicialmente proposta como uma forma de melhorar os resultados clínicos em pacientes submetidas a tratamentos de fertilização *in vitro*. Dados mostram que o uso da hibridização *in situ* fluorescente para analisar tanto blastômeros como células trofoectodérmicas do blastocisto é dificultado por inúmeros problemas técnicos. Esses podem potencialmente aumentar o risco de erro diagnóstico.

As deficiências nas técnicas iniciais do rastreamento genético pré-implantacional levaram vários grupos de investigação a desenvolver métodos opcionais, citogenéticos e moleculares e examinar todos os pares cromossômicos de células individuais. Esses métodos já foram aperfeiçoados e validados e são cada vez mais usados no ambiente clínico.

Como a biópsia do embrião na fase de clivagem pode acarretar um maior risco de erro diagnóstico por causa do mosaicismos, muitas clínicas de fertilização *in vitro* têm escolhido fazer a biópsia dos embriões no estágio de blastocisto. Entretanto, ainda não temos evidência científica suficiente para assegurar o benefício da técnica. Estudos randomizados controlados estão em curso nos Estados Unidos e na Europa com o uso da biópsia de blastocisto em combinação com métodos de citogenética molecular abrangentes para o rastreamento genético pré-implantacional.

Esperamos que os resultados obtidos a partir desses estudos possam esclarecer se o PGS realmente faz diferença significativa nos resultados clínicos para os casais que necessitam de fertilização *in vitro*, com o estabelecimento de uma gravidez bem sucedida e, finalmente, o nascimento de um bebê vivo, único e saudável.

Atualmente, o uso do rastreamento para pacientes saudáveis e sem indicações com o propósito de melhorar os resultados de fertilização *in vitro* está em ascensão. Entretanto, as evidências científicas ainda não são suficientes para recomendar a aplicação clínica da hibridização genômica comparativa em biópsias de embrião no estágio de blastocisto com a finalidade de rastreamento genético pré-implantacional.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Lathi RB, Westphal LM, Milki AA. Aneuploidy in the miscarriages of infertile women and the potential benefit of preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril*. 2008;89:353-7.
- Cummins JM, Breen TM, Harrison KL, Shaw JM, Wilson LM, Hennessey JF. A formula for scoring human embryo growth rates in *in vitro* fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with visual estimates of embryo quality. *J In vitro Fert Embryo Transf*. 1986;3:284-95.
- Puissant F, Van Rysselberge M, Barlow P, Deweze J, Leroy F. Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod*. 1987;2:705-8.
- Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod*. 1999;14:2345-9.
- Sakkas D, Gardner DK. Noninvasive methods to assess embryo quality. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2005;17:283-8.
- Fragouli E, Lenzi M, Ross R, Katz-Jaffe M, Schoolcraft WB, Wells D. Comprehensive molecular cytogenetic analysis of the human blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2008;23:2596-608.
- Wells D, Delhanty J. Evaluating comparative genomic hybridization (CGH) as a strategy for preimplantation diagnosis of unbalanced chromosome complements. *Eur J Hum Genet*. 1996;4 Suppl 1:125.
- Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992;258:818-21.
- Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, Delhanty DA. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genome hybridization. *Nucleic Acids Res*. 1999;27:1214-8.
- Voullaire L, Wilton L, Slater H, Williamson R. Detection of aneuploidy in single cells using comparative genome hybridization. *Prenat Diagn*. 1999;19:846-51.
- Goossens V, Harton G, Moutou C, Traeger-Synodinos J, Van Rij M, Harper JC, PGD ESHRE. Consortium data collection IX: cycles from January to December 2006 with pregnancy follow-up to October 2007. *Hum Reprod*. 2009;24:1786-810.
- Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RML. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*. 1990;344:768-70.
- Harper JC, Harton G. The use of arrays in preimplantation genetic diagnoses and screening. *Fertil Steril*. 2010;94:1173-7.
- Harper JC. Preimplantation genetic diagnosis. Cambridge: Cambridge University Press; 2009.
- Munné S, Lee A, Rosenwaks Z, Grifo J, Cohen J. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. *Hum Reprod*. 1993;8:2185-91.
- Goossens V, De Rycke M, DeVos A, Staessen C, Michiels A, Verpoest W, et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod*. 2008;23:481-92.
- Ly KD, Agarwal A, Nagy GP. Preimplantation genetic screening: does it help or hinder IVF treatment and what is the role of the embryo? *J Assist Reprod Genet*. 2011;28:833-49.
- Munné S, Wells D, Cohen J. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes. *Fertil Steril*. 2010;94:408-30.
- Munné S, Dailey T, Sultan KM, Grifo J, Cohen J. The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. *Hum Reprod*. 1995;10:1014-20.
- Verlinsky Y, Cieslak J, Freidline M, Ivakhnenko V, Wolf G, Kovalinskaya L, et al. Pregnancies following pre-conception diagnosis of common aneuploidies by fluorescent in-situ hybridization. *Hum Reprod*. 1995;10:1923-7.
- Harper JC, Coonen E, Handyside AH, Winston RM, Hopman AH, Delhanty JD. Mosaicism of autosomes and sex chromosomes in morphologically normal, monospermic, preimplantation human embryos. *Prenat Diagn*. 1995;15:41-9.
- Gutierrez-Mateo C, Colls P, Sanchez-Garcia J, Escudero T, Prates R, Ketterson K, Wells D, Munne S. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertil Steril*. 2011;95:953-8.
- Wells D, Escudero T, Levy B, Hirschhorn K, Delhanty JD, Munné S. First clinical application of comparative genome hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertil Steril*. 2002;78:543-9.
- Fishel S, Gordon A, Lynch C, Dowell K. Live birth after polar body array comparative genome hybridization prediction of embryo ploidy. The future of IVF? *Fertil Steril*. 2010;93, 1006.e7-1006.e10.
- Fragouli E, Wells D, Delhanty JD. Chromosome abnormalities in the human oocyte. *Cytogenet Genome Res*. 2011;133:107-18.
- Wilton L, Voullaire L, Sargeant P, Williamson R, McBain J. Preimplantation aneuploidy screening using comparative genomic hybridization of fluorescence in situ hybridization of embryos from patients with recurrent implantation failure. *Fertil Steril*. 2003;80:860-8.
- Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, Goodall NN, Mania A, Griffiths T, et al. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod*. 2010;26:480-90.
- Wells D, Alfarawati S, Fragouli E. Use of comprehensive chromosomal screening for embryo assessment: microarrays and CGH. *Mol Hum Reprod*. 2008;14:703-10.
- Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munné S, Katz-Jaffe MG, Wells D. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril*. 2010;94:1700-6.
- Hellani A, Coskun S, Tbakhi A, Al-Hassan S. Clinical application of multiple displacement amplification in preimplantation genetic diagnosis. *Reprod Biomed Online*. 2005;10:376-80.
- Burlet P, Frydman N, Gigarel N, Kerbrat V, Tachdjian G, Feyereisen E, et al. Multiple displacement amplification

- improves PGD for fragile X syndrome. *Mol Hum Reprod*. 2006;12:647-52.
32. Lledó B, Ten J, Galán FM, Bernabeu R. Preimplantation genetic diagnosis of Marfan syndrome using multiple displacement amplification. *Fertil Steril*. 2006;86:949-55.
 33. Fiegler H, Geigl JB, Langer S, Rigler D, Porter K, Unger K, et al. High resolution array-CGH analysis of single cells. *Nucleic Acids Res*. 2007;35:e15.
 34. Renwick PJ, Lewis CM, Abbs S, Ogilvie CM. Determination of the genetic status of cleavage-stage human embryos by microsatellite marker analysis following multiple displacement amplification. *Prenat Diagn*. 2007;27:206-15.
 35. Ren Z, Zhou C, Xu Y, Deng J, Zeng H, Zeng Y. Mutation and haplotype analysis for Duchenne muscular dystrophy by single cell multiple displacement amplification. *Mol Hum Reprod*. 2007;13:431-6.
 36. Rawe V, Cuzzi J. La CGH conarrays (aCGH) para todos los cromosomas: un concepto avanzado para el diagnóstico genético preimplantatorio. *Reproduccion*. 2012;27:96-100.
 37. Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Velilla E, Walmsley R, Sadowy S, et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online*. 2003;7:91-7.
 38. Munné S, Fischer J, Warmer A, Chen S, Zouves C, Cohen J, et al. Preimplantation genetic diagnosis significantly reduces pregnancy loss in infertile couples: a multicenter study. *Fertil Steril*. 2006;85:326-32.
 39. Colls P, Escudero T, Cekleniak N, Sadowy S, Cohen J, Munné S. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for infertility using "no result rescue". *Fertil Steril*. 2007;88:53-61.
 40. Munné S, Sultan KM, Weier HU, Grifo JA, Cohen J, Rosenwaks Z. Assessment of numeric abnormalities of X, Y, 18, and 16 chromosomes in preimplantation human embryos before transfer. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172 4 Pt 1:119199.
 41. Harper JC, Sengupta SB. Preimplantation genetic diagnosis: state of the ART 2011. *Hum Genet*. 2012;131:175-86.
 42. Schoolcraft WB, Gardner DK, Lane M, Schlenker T, Hamilton F, Meldrum DR. Blastocyst culture and transfer: analysis of results and parameters affecting outcome in two in vitro fertilization programs. *Fertil Steril*. 1999;72:604-9.
 43. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, de Boer KA, Jansen RP. Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. *Fertil Steril*. 2005;84:1628-36.
 44. Evsikov S, Verlinsky Y. Mosaicism in the inner cell mass of human blastocysts. *Hum Reprod*. 1998;13:3151-5.
 45. Magli MC, Jones GM, Gras L, Gianaroli L, Korman I, Trounson AO. Chromosome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts in vitro. *Hum Reprod*. 2000;15:1781-6.
 46. Sandalinas M, Sadowy S, Alikani M, Calderon G, Cohen J, Munné S. Developmental ability of chromosomally abnormal human embryos to develop to the blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2001;16:1954-8.
 47. Bielanska M, Tan SL, Ao A. Chromosomal mosaicism throughout human preimplantation development in-vitro: incidence, type, and relevance to embryo outcome. *Hum Reprod*. 2002;17:413-9.
 48. Santos MA, Teklenburg G, Macklon NS, Van Opstal D, Schuring-Blom GH, Krijtenburg PJ, et al. The fate of the mosaic embryo: chromosomal constitution and development of day 4, 5 and 8 human embryos. *Hum Reprod*. 2010;25:1916-26.
 49. Coonen E, Derhaag JG, Dumoulin JC, Van Wissen LC, Bras M, Janssen M, et al. Anaphase lagging mainly explains chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos. *Hum Reprod*. 2004;19:316-24.
 50. Munné S, Bahçe M, Sandalinas M, Escudero T, Márquez C, Velilla E, et al. Differences in chromosome susceptibility to aneuploidy and survival to first trimester. *Reprod Biomed Online*. 2004;8:81-90.
 51. Silber S, Escudero T, Lenahan K, Abdelhadi I, Kilani Z, Munné S, et al. Chromosomal abnormalities in embryos derived from testicular sperm extraction. *Fertil Steril*. 2003;79:30-8.
 52. Platteau P, Staessen C, Michiels A, Tournaye H, Van Steirteghem A, Liebaers I, et al. Comparison of the aneuploidy frequency in embryos derived from testicular sperm extraction in obstructive and non-obstructive azoospermic men. *Hum Reprod*. 2004;19:1570-4.
 53. Donoso P, Platteau P, Papanikolaou EG, Staessen C, Van Steirteghem A, Devroey P. Does PGD for aneuploidy screening change the selection of embryos derived from testicular sperm extraction in obstructive and non-obstructive azoospermic men? *Hum Reprod*. 2006;21:2390-5.
 54. Munné S, Ary J, Zouves C, Escudero T, Barnes F, Cinioglu C, Ary B, Cohen J, et al. Wide range of chromosome abnormalities in the embryos of young egg donors. *Reprod Biomed Online*. 2006;12:340-6.
 55. Tiitinen A, Halttunen M, Härkki P, Vuoristo P, Hyden-Granskog C. Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Hum Reprod*. 2001;16:1140-4.
 56. Dhont M. Single-embryo transfer. *Semin Reprod Med*. 2001;19:251-8.
 57. Adamson D, Baker V. Multiple births from assisted reproductive technologies: a challenge that must be met. *Fertil Steril*. 2004;81:517-22.
 58. Varghese AC, Nagy ZP, Agarwal A. Current trends, biological foundations and future prospects of oocyte and embryo cryopreservation. *Reprod Biomed Online*. 2009;19:126-40.
 59. Stillman RJ, Richter KS, Banks NK, Graham JR. Elective single embryo transfer: a 6-year progressive implementation of 784 single blastocyst transfers and the influence of payment method on patient choice. *Fertil Steril*. 2009;92:1895-906.
 60. Leese B, Denton J. Attitudes towards single embryo transfer. twin and higher order pregnancies in patients undergoing infertility treatment: a review. *Hum Fertil (Camb)*. 2010;13:28-34.
 61. Strömberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnström O, Köster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet*. 2002;359:461-5.
 62. Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Andersen AN. Morbidity in a Danish national cohort of 472 IVF/ICSI twins, 1132 non-IVF/ICSI twins and 634 IVF/ICSI singletons: health-related and social implications for the children and their families. *Hum Reprod*. 2003;18:1234-43.
 63. Gelbaya TA, Tsoumpou I, Nardo LG. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2010;94:936-45.
 64. Patchava S, Gelbaya TA, Nardo LG. Managing the complications associated with assisted reproductive technologies. *Minerva Ginecol*. 2009;61:347-55.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Artigo de revisão

Androgênios em más respondedoras[☆]

Rejane Cristina Malavazzi Casare^{a,*}, Gilberto da Costa Freitas^a e Lídio Jair Centa^b

^a Projeto Alfa – Infertilidade Conjugal e Reprodução Assistida, São Paulo, SP, Brasil

^b Disciplina de Reprodução Humana, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 20 de maio de 2013

Aceito em 29 de setembro de 2013

On-line em 6 de novembro de 2013

Palavras-chave:

Indução da ovulação

Androgênios

Testosterona

Fertilização in vitro

Gonadotrofinas

Estimulação ovariana

R E S U M O

O tratamento de estímulo ovariano das pacientes más respondedoras é um desafio na medicina reprodutiva.

Objetivo: Avaliar o efeito sinérgico dos androgênios na foliculogênese ao promover um aumento na sensibilidade ovariana ao hormônio folículo estimulante (FSH) e resposta folicular às gonadotrofinas.

Método: Revisão de literatura que avaliou a resposta ovariana com o uso de androgênios previamente ao início do estímulo ovariano de pacientes más respondedoras que se submeteriam a ciclo de FIV (fertilização in vitro).

Resultados: A maioria dos artigos mostrou um aumento na resposta ovariana com maior número de óocitos recuperados e maduros em mulheres que usaram a testosterona transdérmica. Além disso, houve aumento de taxas de gestações clínicas e nascidos vivos. Mulheres que receberam dehidroepiandrosterona (DHEA), inibidores da aromatase, hormônio luteinizante recombinante (LHr) ou hormônio gonadotrófico humano recombinante (hCGr) não tiveram diferenças dos parâmetros estudados.

Conclusão: O tratamento prévio com testosterona transdérmica parece melhorar a resposta ovariana nas pacientes más respondedoras. Ela aumentou a taxa de gestação clínica e de nascidos vivos. Não houve prova de benefícios com o uso de DHEA, inibidores da aromatase, LHr ou hCGr.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Androgens in poor responders

A B S T R A C T

Treatment of poor-responder patients to controlled ovarian stimulation is a challenge in reproductive technology.

Objective: To evaluate some synergistic effects in folliculogenesis by improving the ovarian sensitivity to FSH (Follicle Stimulating Hormone) and follicular response to gonadotrophins.

Method: A literature review that evaluated the use of androgens in ovarian response of pretreatment of ovarian stimulation on low-responder IVF (In Vitro Fertilization) patients.

Results: The most articles showed an increase on ovarian response in patients who used transdermic testosterone before ovarian stimulation. Those women achieved greater

Keywords:

Ovulation induction

Androgens

Testosterone

Fertilization in vitro

Gonadotrophins

Ovarian stimulation

[☆] Trabalho realizado na Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e no Projeto Alfa, São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: rejane_casare@hotmail.com (R.C.M. Casare).

number of recovered oocytes and more mature ones in women who used transdermal testosterone. In addition, it increased clinical pregnancy and live birth rates. Women who received DHEA (dehydroepiandrosterone), aromatase inhibitors, rLH (recombinant luteinizing hormone) or rhCG (recombinant gonadotropin releasing hormone) showed no significant differences in studied parameters.

Conclusion: Pretreatment with transdermal testosterone seems to be beneficial to ovarian response on poor-responder patients. It has increased clinical pregnancy and live birth rates. There were no benefits with use of rLH, hCG, DHEA or aromatase inhibitors proved in those studies.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

A resposta ao estímulo ovariano é uma das peças-chave na reprodução assistida. Apesar dos recentes avanços das técnicas, as pacientes más respondedoras ainda representam um desafio para os médicos da especialidade.^{1,2} A incidência de baixa resposta ovariana varia de 9% a 24% da população estudada³ e acontece principalmente em mulheres com idade acima de 40 anos, hormônio folículo estimulante (FSH) basal elevado (níveis maiores do que 10 mUI/ml, preferencialmente dosado no terceiro dia do ciclo menstrual), inibina B baixa, hormônio anti-Mülleriano (AMH) reduzido (independentemente da fase do ciclo), baixa contagem de folículos antrais (menor do que seis) e volume ovariano menor do que 3 cc. Além do baixo número de oócitos recuperados, a qualidade também pode estar comprometida, o que leva a menor taxa de implantação e de gravidez clínica, assim como a maior taxa de abortamentos em relação a mulheres com a mesma idade e com melhor resposta.⁴

Foram documentadas evidências da ação dos androgênios em altas doses em humanos. Spinder (1989)⁵ descreveram mudanças morfológicas em ovários de mulheres transexuais que faziam terapia hormonal com altas doses de testosterona exógena. Elas tiveram um aumento significativo de folículos antrais, que lembrou o padrão policístico. É importante lembrar que a síndrome dos ovários policísticos (SOP) não é considerada causa de hiperandrogenismo, como a hiperplasia congênita da adrenal ou os tumores produtores de androgênios. Pensando assim, os níveis de androgênios surgem como um possível marcador de correlação positiva com o número de folículos antrais.^{6,7}

Posteriormente, estudos experimentais feitos em macacos Rhesus sugeriram que os androgênios poderiam ampliar o efeito do FSH na foliculogênese.⁸ O uso de testosterona ou dehidrotestosterona (DHEA) nesses animais aumentaria o número de receptores do FSH nas membranas das células da granulosa.^{9,10} Assim, estimularia o crescimento inicial do folículo, faria um recrutamento precoce dos folículos primordiais⁴ e desenvolveria um maior número de folículos pré-antrais e antrais.¹¹

De acordo com a “teoria das duas células”, os androgênios exercem função crítica na regulação adequada da esteroideogênese.¹² Eles servem de substrato para a ação da aromatase nas células da granulosa, nas quais eles são convertidos em estrogênios. Além disso, podem exercer efeito direto na regulação da foliculogênese. Alguns receptores específicos

para androgênios que mediam a ação desses esteróides foram isolados por imuno-histoquímica no ovário humano.^{13,14} Também foi demonstrado que esses receptores androgênicos desaparecem progressivamente conforme a maturação folicular.¹⁵

Pensando nisso, foram feitos alguns estudos com o uso de androgênios antes da indução ovariana com o intuito de melhorar a resposta à estimulação ao FSH exógeno em pacientes classificadas anteriormente como “má respondedoras” ou com baixa reserva. Essas intervenções incluíram: pré-tratamento com testosterona transdérmica,¹⁶ pré-tratamento com DHEA,¹⁷ adição de inibidores da aromatase,¹⁸ associação de hormônio luteinizante recombinante (LHr)¹⁹ e adição de gonadotrofina coriônica humana (hCG) na estimulação ovariana.^{20,21}

Os androgênios são produtos derivados do metabolismo do colesterol nas células da teca folicular pela ação do hormônio luteinizante (LH), convertido em estrogênio pela ação do FSH nas células da granulosa. Eles exercem função reguladora na maturação folicular e podem estimular o crescimento ou causar a atresia do folículo.²²⁻²⁵ A produção de estrógenos é limitada pela quantidade de receptores para os andrógenos produzidos pela teca, que servem de substrato para a aromatização induzida pelo FSH.

Estudos clínicos têm demonstrado que o tratamento conjunto de androgênios poderia aumentar tanto a quantidade quanto a qualidade dos oócitos e embriões, aumentar as taxas de gestação de mulheres com baixa reserva ovariana e até causar falência ovariana precoce (FOP).^{2,26} Resultados melhores de estímulo ovariano e até melhores taxas de gestação após o uso de inibidores da aromatase poderiam ser consequência do aumento de níveis androgênicos intrafoliculares pela indução dos receptores de FSH nas células da granulosa.^{18,27} Além disso, eles estão envolvidos no recrutamento dos folículos antrais e pré-antrais, promovem o crescimento e desenvolvimento folicular e aumentam a expressão do IGF 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1) no ovário primata, que também exerce papel essencial no desenvolvimento folicular.^{4,11}

Os inibidores da aromatase poderiam causar aumento nos níveis intrafoliculares de androgênios e impedir a aromatização para estrogênios. Porém, Mitwally e Casper (2002),¹⁸ Kashyap et al. (2005)²⁸ e Ozmen et al. (2009)²⁹ não encontraram resultado significativo.

A ação do LHr também é fundamental para manter a concentração adequada de androgênios intrafoliculares e promover a esteroideogênese e o crescimento folicular. Também foi sugerido que o uso de análogos agonistas do hormônio

liberador de gonadotrofina (GnRH) com supressão do eixo hipotálamo-hipófise levaria a níveis extremamente baixos do LH endógeno e comprometeria a chance de gestação.^{30,31} Embora se acredite que o tratamento prévio com LHR³² ou a adição do LHR juntamente com as gonadotrofinas³³ possa trazer benefício para as más respondedoras,³⁴ seu uso ainda é controverso.

Foram estudados exaustivamente os efeitos biológicos dos androgênios, inclusive a modulação da aromatase nas diversas fases do desenvolvimento folicular. É vista uma ação estimulante em folículos pequenos, enquanto que em folículos pré-ovulatórios a aromatase é modulada negativamente.^{35,36} O excesso de androgênios na foliculogênese geralmente leva à atresia dos folículos em desenvolvimento em roedores.^{23,37}

Vendola (1998)¹¹ observaram em primatas sinergismo dos androgênios com o FSH, que aumentou o recrutamento folicular. Doses altas administradas por pouco tempo induziram mudança morfológica importante nos ovários, que passaram a ter aspecto policístico. A contagem de folículos antrais aumentou de 2,5 para 4,5, mas o número de folículos em desenvolvimento permaneceu inalterado.⁹ Weil (1999) mostraram o efeito benéfico no crescimento folicular dos androgênios, com aumento do número de receptores celulares de FSH nas células da granulosa. Junto com Vendola (1998)¹¹ sugeriram apoptose celular induzida por androgênios. Entretanto, estudos posteriores feitos por Zeleznik (2004)³⁸ não conseguiram comprovar relação positiva dos androgênios em ovários de primatas com o uso de modelo mais fisiológico.

Sabe-se que o pico de LH causado pela administração do hCG é capaz de promover o crescimento e completar o amadurecimento dos folículos pré-ovulatórios.^{39,40} Questiona-se, agora, se o uso do hCG durante o período de estímulo poderia trazer benefícios às más respondedoras. O objetivo deste estudo é buscar evidências na literatura sobre o uso de androgênios e a resposta ovariana à indução com gonadotrofinas exógenas previamente a ciclo de reprodução assistida de alta complexidade em fertilização *in vitro* (FIV) ou injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

Método

Trata-se de revisão narrativa da literatura com consulta à base de dados do Medline/Pubmed e Cochrane, com o uso dos seguintes DeCS/MeSH: “fertilization *in vitro*”, “androgens”, “ovulation induction”, “testosterone” e “gonadotrophin/ovarian stimulation”.

Os artigos foram selecionados a partir da leitura dos seus títulos e resumos. Procurou-se priorizar estudos que mostrassem o impacto do uso dos androgênios em ciclos de reprodução assistida e foram considerados elegíveis os artigos publicados nas duas últimas décadas. Nos critérios de seleção estavam grupos de mulheres a serem submetidas a ciclo de FIV/ICSI com análogos do GnRH cujo uso de androgênios (testosterona, DHEA) ou seus moduladores (LHR, hCG, inibidores da aromatase) formava o grupo de intervenção.

Foram avaliados estudos quanto à gravidez clínica (presença de saco gestacional, com embrião com atividade cardíaca presente) e nascidos vivos. Consideraram-se a duração temporal do estímulo e a dose total de gonadotrofinas usadas,

oócitos recuperados na aspiração folicular, oócitos maduros, número de embriões fertilizados e transferidos e taxa de cancelamento.

Resultados

Bahceci et al. (2007)⁴¹ estudaram níveis hormonais séricos e intrafoliculares de hormônios sexuais, fator de crescimento epidermal (EGF) e IGF-1 em mulheres submetidas a ciclo de FIV com resposta ovariana baixa (menos do que cinco oócitos) e normal (10 ou mais oócitos). Foram analisadas 48 mulheres em estudo prospectivo, pareadas conforme idade. Dosaram-se níveis de FSH, LH, estradiol, progesterona e testosterona séricos e foliculares, assim como EGF e IGF-1 intrafoliculares nos dois grupos. Mulheres com má resposta tiveram menores níveis de estradiol e progesterona, a T folicular estava mais baixa nas más respondedoras, mas sem significância estatística. Apesar de o FSH sérico ser sabidamente maior nas mulheres com menor resposta, não houve diferença intrafolicular de gonadotrofinas nos dois grupos, assim como o EGF. Já o IGF-1 esteve notadamente menor nas mulheres com resposta ruim. Este estudo sugere que a redução da expressão do IGF-1 acarretaria esteroidogênese ovariana comprometida.

Testosterona transdérmica hormônio luteinizante recombinante

No primeiro ensaio clínico prospectivo randomizado controlado com placebo, Fábregues et al.,⁴² na Espanha, em 2008, incluíram 62 casais inférteis cujo ciclo anterior de FIV fora cancelado por má resposta. Foram randomizadas em dois grupos com protocolo de agonista de GnRH (acetato de leuprolida – aplicação diária). No grupo 1 usaram testosterona transdérmica, 2,5 mg/dia por cinco dias antes do início do estímulo com dose padrão de gonadotrofinas (somente FSH recombinante), enquanto que no grupo 2 FSH recombinante associado a gonadotrofinas combinadas (75 UI FSH com 75UI LH). Nas pacientes com FSH baixo (menor do que 10 mUI/ml), a suplementação com testosterona reduziu a duração do estímulo ovariano e a dose total de gonadotrofinas administrada e ocasionou menor taxa de baixa resposta. O número de oócitos recuperados foi semelhante nos dois grupos.

Resultado compartilhado por Kim et al. (2011),⁴³ que usaram 12,5 mg de testosterona transdérmica por 21 dias previamente à indução de 111 pacientes más respondedoras com antagonista em ensaio clínico prospectivo randomizado. Eram mulheres que haviam tido três ou menos folículos menores ou iguais a 16 mm, ou com menos de três oócitos recuperados, apesar do uso de mais de 2.500 UI de gonadotrofinas em ciclo prévio de FIV/ICSI. O grupo que usou testosterona necessitou de menor dose de FSHr e menos dias de indução. Além disso, alcançou maior número de oócitos recuperados e oócitos maduros, maior taxa de fertilização, além de embriões de melhor qualidade do que o grupo controle. O mais importante é que teve maior taxa de implantação embrionária e gravidez por ciclo. Nenhuma paciente relatou efeito adverso com o uso da T.

Esses primeiros estudos não levavam em consideração os níveis basais séricos de testosterona. Pensando nisso,

Yingying et al. (2011)⁴⁴ reuniram em estudo retrospectivo 1.260 mulheres chinesas para avaliar os níveis de testosterona basal em pacientes com reserva ovariana normal e diminuída. Excluídas pacientes com síndrome dos ovários policísticos (SOP) e endometriose, formaram-se dois grupos: baixa reserva ovariana FSH > 10 (n = 187) e reserva normal FSH < 10 (n = 1.073). Usou-se análogo agonista de GnRH (acetato de triptorelina 0,1 mg/dia) em ciclo longo e FSH recombinante (FSHr) conforme resposta individual. Níveis maiores de testosterona estavam ligados à maior taxa de gestação em mulheres com baixa reserva, assim como maior número de folículos no dia do hCG. O nível basal de testosterona de 47,85 ng/dL foi capaz de predizer com 52,8% de sensibilidade e 65,3% de especificidade a chance de gestação em mulheres com FSH > 10.⁴⁴

Dehidroepiandrosterona

De acordo com metanálise publicada por Bosdou et al. (2012),⁴⁵ foram incluídos e analisados estudos sobre os androgênios relatados a seguir. Wiser et al. (2010),⁴⁶ em estudo com 33 pacientes, usaram dose de 75 mg/dia de dehidroepiandrosterona (DHEA) por seis semanas antes da estimulação. Usaram como definição de má resposta menos de cinco folículos recuperados, embriões de baixa qualidade, número de oócitos recuperados e ciclo anterior cancelado por má resposta ou alta dose inicial de gonadotrofina, mais de 300 UI/dia. Com o uso de protocolo longo com 450 UI de FSHr associado a 150 UI de LHr, não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação a folículos recuperados, gravidez clínica ou nascidos vivos.⁴⁵

Inibidores de aromatase

O letrozol foi usado por Ozmen et al. (2009)²⁹ na dose de 2,5 mg, duas vezes ao dia, a partir do terceiro dia de estímulo. Eles usaram como critério de má resposta ciclo anterior cancelado por estrogênio, com estradiol E2 menor do que 130 pg/ml no sexto dia, ou E2 menor do que 450 pg/mL no dia do hCG, ou menos de quatro oócitos recuperados. Conseguiu-se redução na quantidade de gonadotrofinas e não houve diferença entre oócitos recuperados ou gravidez clínica. No entanto, a taxa de nascidos vivos não pôde ser avaliada.⁴⁵

Hormônio gonadotrófico humano recombinante (hCGr)

Berkkanoglu et al. (2007)²¹ fizeram estudo com o uso de hCG 75 UI/dia do sétimo dia de estímulo até a punção em 99 mulheres. O critério de definição de resposta pobre foi a contagem de folículos antrais (CFA) menor do que 12 e menor do que três folículos no sétimo dia de estímulo. Conseguiram-se menor dose de FSH e estímulo mais curto.⁴⁵

Discussão

No geral, os estudos mostram uma associação positiva no uso da testosterona nos ciclos de indução para FIV em mulheres más respondedoras. Bosdou et al (2012),⁴⁵ em metanálise publicada recentemente, concluíram, após analisar vários ensaios clínicos sobre o uso de diversos androgênios,

que somente a testosterona transdérmica obteve resultados promissores. Elas conseguiram obter ciclos de indução mais curtos com menor dose de gonadotrofinas. Alguns autores conseguiram demonstrar embriões de melhor qualidade com maior taxa de implantação, gravidez clínica e nascidos vivos. Esses benefícios devem ser vistos com cuidado, pois são estudos geralmente com amostras reduzidas e grupos heterogêneos.

Além disso, a metanálise esbarra na heterogeneidade de definições e de protocolos. A iniciar pela definição de *poor responder*, sobre a qual não existe consenso sobre a baixa resposta ovariana.⁴⁷ Os parâmetros dos critérios de elegibilidade de má resposta variam conforme o grupo e não são padrões homogêneos. A exemplo do FSH, que para alguns autores tem como linha de corte para boa resposta níveis menores do que 12 mUI/mL e para outros é de 10 mUI/mL. A maioria considera que má respondedora é a paciente com resposta menor do que a esperada. Parte dessas mulheres teve seu primeiro ciclo cancelado justamente por resposta abaixo do esperado. Novamente os critérios para cancelamento de ciclo também sofrem pequenas alterações, conforme o protocolo de cada serviço.

Entende-se como resposta inadequada: a) quantidade de oócitos menor ou igual a três ou quatro recuperados na punção ovariana; b) níveis de estradiol menores do que 300 ou 500 ng/L no dia da aplicação do hCG; c) uso diário de gonadotrofinas superior a 300 UI/dia ou 3.000 UI durante o todo o estímulo; d) indução prolongada por mais de 15 dias ou cancelamento de ciclo anterior por baixa resposta.⁴⁸

Os critérios de inclusão também devem ser questionados: alguns estudos excluíram mulheres que tinham endometriose ovariana,⁴⁹ porém não especificaram se as pacientes com endometriose em outros sítios foram incluídas e não citaram qual o critério de discriminação para endometriose ovariana (clínico ou cirúrgico).

O análogo usado não foi escolha homogênea entre os autores. Alguns preferiram ciclo com agonista e outros com antagonista, até dentro do mesmo trabalho.⁴⁹ Houve variação de doses de gonadotrofinas entre o grupo tratamento e o controle. Também não houve especificação sobre a inclusão ou não de mulheres com diagnóstico ou suspeita de SOP, o que poderia causar um viés.

As doses e o tempo de uso da testosterona transdérmica não obedeceram a padrão. Alguns autores usaram doses de 10 mg/dia por 15 a 20 dias prévios ao estímulo,⁴⁹ enquanto outros usaram 12,5 mg/dia por 21 dias previamente ao ciclo.⁴³ A maioria dos trabalhos também não pareou as pacientes de acordo com o FSH.

Em reação aos inibidores de aromatase, a dose total de gonadotrofinas usada realmente foi menor com significância estatística, apesar de o número de oócitos recuperados não ter apresentado diferença. A associação de hCG foi relacionada ao encurtamento do ciclo de estímulo. Já o uso de LHr não trouxe diferenças significativas entre os dois grupos comparados em termos de dose total de FSHr, duração do ciclo e número de oócitos recuperados.

Esses resultados discordantes abrem espaço para o questionamento se esses diferentes métodos de uso de androgênios teriam o mesmo efeito ou se agiriam pelo mesmo mecanismo. Alguns parâmetros importantes também deixaram de ser

avaliados em alguns estudos, como o tempo de uso, o tipo de substância usada e a dose. A falta desses dados torna os resultados obtidos de difícil avaliação pela impossibilidade de reprodução em maior escala.

Outro fator de extremo valor das substâncias a serem estudadas é a sua segurança. Inibidores da aromatase usados no estímulo ovariano já estiveram associados ao aumento de incidência de malformações congênitas.⁵⁰ Entretanto, estudo posterior pareceu não demonstrar resultados alarmantes.⁵¹ Identificar a segurança desses compostos nos estudos avaliados é difícil, uma vez que nenhum deles reporta dados relevantes nesse sentido. O uso da testosterona tópica e do DHEA é considerado seguro, já que nenhum estudo descreveu efeitos adversos^{43,46,49} ou malformações congênitas.⁴³

Conclusão

A testosterona transdérmica prévia à indução ovariana, além de resultar em estímulo mais curto e menor dose de gonadotrofinas, parece aumentar a taxa de gestação clínica e de nascidos vivos nas pacientes más respondedoras, submetidas a ciclo de terapia de reprodução assistida de alta complexidade. Por ser um método seguro, de fácil manuseio e aplicação, a princípio sem potencial teratogênico, pode ser ponderado como terapia adjuvante em pacientes não responsivas ao tratamento convencional, sem prejuízo para o ciclo. Ainda faltam estudos maiores e mais homogêneos sobre o comportamento dos androgênios em mulheres com má resposta em ciclos de reprodução assistida.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Verhagen TE, Hendriks DJ, Bancsi LF, Mol BW, Broekmans FJ. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2008;14:95-100, <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmn001>.
- McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the unity of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. *Hum Reprod*. 2007;22:778-85, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/del435>.
- Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*. 2000;73:667-76.
- Vendola K, Zhou J, Wang J, Famuyiwa OA, Bievre M, Bondy CA. Androgens promote oocyte insulin-like growth factor I expression and initiation of follicle development in the primate ovary. *Biol Reprod*. 1999;61:353-7, <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod61.2.353>.
- Spinder T, Spijkstra JJ, van den Tweel JG, Burger CW, van Kessel H, Hompes PG, et al. The effects of long term testosterone administration on pulsatile luteinizing hormone secretion and on ovarian histology in eugonadal female to male transsexual subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69:151-7, <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-69-1-151>.
- Jonard S, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decanter C, Dewailly D. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Hum Reprod*. 2003;18:598-603, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg115>.
- Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5957-62, <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2003-030727>.
- Hugues JN, Torresani T, Herve F, Martin-Pont B, Tamboise A, Santarelli J. Interest of growth hormone-releasing administration for improvement of ovarian responsiveness to gonadotropins in poor responder women. *Fertil Steril*. 1991;55:945-51.
- Weil SJ, Vendola K, Zhou J, Adesanya OO, Wang J, Okafor J, et al. Androgen receptor gene expression in the primate ovary: cellular localization, regulation, and functional correlations. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:2479-85, <http://dx.doi.org/10.1210/jc.83.7.2479>.
- Weil S, Vendola K, Zhou J, Bondy CA. Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:2951-6, <http://dx.doi.org/10.1210/jc.84.8.2951>.
- Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest*. 1998;101:2622-9, <http://dx.doi.org/10.1172/JCI2081>.
- Ryan KJ, Petro Z, Kaiser J. Steroid formation by isolated and recombined ovarian granulosa and thecal cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1968;28:355-8.
- Horie K, Takakura K, Fujiwara H, Suginami H, Liao S, Mori T. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to estrogen and progesterone receptor expression. *Hum Reprod*. 1992;7:184-90.
- Suzuki T, Sasano H, Kimura N, Tamura M, Fukaya T, Yajima A, et al. Immunohistochemical distribution of progesterone, androgen and oestrogen receptors in the human ovary during the menstrual cycle: relationship to expression of steroidogenic enzymes. *Hum Reprod*. 1994;9:1589-95.
- Hillier SG, Tetsuka M. Role of androgens in follicle maturation and atresia. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1997;11(2):249-60.
- Balasch J, Fábregues F, Peñarrubia J, Carmona F, Casamitjana R, Creus M, et al. Pretreatment with transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in poor-responder IVF patients with normal basal concentrations of FSH. *Hum Reprod*. 2006;21:1884-93, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/del052>.
- Casson PR, Lindsay MS, Pisarska MD, Carson SA, Buster JE. Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series. *Hum Reprod*. 2000;15:2129-32, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/15.10.2129>.
- Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril*. 2002;77:776-80, [http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(01\)03280-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(01)03280-0).
- Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli MC, D'Angelo A, Farfalli V, Montanaro N. Exogenous luteinizing hormone in controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction techniques. *Fertil Steril*. 2004;82:1521-6.
- Ferrari B, Barusi L, Coppola F. Clinical and endocrine effects of ovulation induction with FSH and hCG supplementation in low responders in the midfollicular phase. A pilot study. *Reprod Med*. 2002;47:137-43.
- Berkkanoglu M, Isikoglu M, Aydin D, Ozgur K. Clinical effects of ovulation induction with recombinant follicle-stimulating

- hormone supplemented with recombinant luteinizing hormone or low-dose recombinant human chorionic gonadotropin in the midfollicular phase in microdose cycles in poor responders. *Fertil Steril*. 2007;88:665–9.
22. Zeleznik AJ, Hillier SG, Ross GT. Follicle stimulating hormone-induced follicular development: an examination of the role of androgens. *Biol Reprod*. 1979;21:673–81, <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod21.3.673>.
 23. Billig H, Furuta I, Hsueh AJ. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology*. 1993;133:2204–12, <http://dx.doi.org/10.1210/en.133.5.2204>.
 24. Kaipia A, Hsueh AJ. Regulation of ovarian follicle atresia. *Annu Rev Physiol*. 1997;59:349–63, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.59.1.349>.
 25. Pradeep PK, Li X, Peegel H, Menon KM. Dihydrotestosterone inhibits granulosa cell proliferation by decreasing the cyclin D2 mRNA expression and cell cycle arrest at G1 phase. *Endocrinology*. 2002;143:2930–5, <http://dx.doi.org/10.1210/en.143.8.2930>.
 26. Barad D, Brill H, Gleicher N. Update on the use of dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian function. *J Assist Reprod Genet*. 2007;24:629–34, <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-007-9178-x>.
 27. Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, Sawhney V, Kumar J, Chaudhury K, et al. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with poor ovarian response: a preliminary report. *Hum Reprod*. 2004;19:2031–5, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deh359>.
 28. Kashyap S, Wells G, Davis O, Williams-Pittman MA, Rosenwaks Z. Aromatase inhibitors improve IVF outcomes in poor responders: a randomized controlled pilot study. *J Soc Gyn Invest*. 2005;2:709.
 29. Ozmen B, Sönmezer M, Atabekoglu CS, Olmus H. Use of aromatase inhibitors in poor-responder patients receiving GnRH antagonist protocols. *Reprod Biomed Online*. 2009;19:478–85.
 30. Westergaard LG, Laursen SB, Andersen CY. Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod*. 2000;15:1003–8, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/15.5.1003>.
 31. Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Andersen CY. Ovarian response and pregnancy outcome related to mid-follicular LH levels in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and recombinant FSH stimulation. *Hum Reprod*. 2002;17:2016–21, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/17.8.2016>.
 32. Durnerin CI, Erb K, Fleming R, Hillier H, Hillier SG, Howles CM, et al. Effects of recombinant LH treatment on folliculogenesis and responsiveness to FSH stimulation. *Hum Reprod*. 2008;23:421–6, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem388>.
 33. Humaidan P, Bungum M, Bungum L, Yding Andersen C. Effects of recombinant LH supplementation in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and stimulation with recombinant FSH: an opening study. *Reprod Biomed Online*. 2004;8:635–43.
 34. Mochtar MH, Van der V, Ziech M, van Wely M. Recombinant luteinizing hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;18:CD005070.
 35. Harlow CR, Shaw HJ, Hillier SG, Hodges JK. Factors influencing follicle-stimulating hormone-responsive steroidogenesis in marmoset granulosa cells: effects of androgens and the stage of follicular maturity. *Endocrinology*. 1988;122:2780–7, <http://dx.doi.org/10.1210/endo-122-6-2780>.
 36. Shaw HG, Hillier SG, Hodges JK. Developmental changes in luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin steroidogenic responsiveness in marmoset granulosa cells: effects of follicle-stimulating hormone and androgens. *Endocrinology*. 1989;124:166977, <http://dx.doi.org/10.1210/endo-124-4-1669>.
 37. Hillier SG, Ross GT. Effects of exogenous testosterone on ovarian weight, follicular morphology, and intraovarian progesterone concentrations in estrogen-primed hypophysectomized immature female rats. *Biol Reprod*. 1979;20:261–8, <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod20.2.261>.
 38. Zeleznik AJ, Little-Ihrig L, Ramasawamy S. Administration of dihydrotestosterone to rhesus monkeys inhibits gonadotropin-stimulated ovarian steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:860–6, <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2003-031292>.
 39. Filicori M, Cognigni GE, Tabarelli C, Pocognoli P, Taraborrelli S, Spettoli D, et al. Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH activity administration in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1156–61.
 40. Filicori M, Cognigni GE, Gamberini E, Parmegiani L, Troilo E, Roset B. Efficacy of low-dose human chorionic gonadotropin alone to complete controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2005;84:394–401.
 41. Bahceci M, Ulug U, Turan E, Akman MA. Comparisons of follicular levels of sex steroids, gonadotropins, and insulin like growth factor-1 (IGF-1) and epidermal growth factor (EGF) in poor responder and normoresponder patients undergoing ovarian stimulation with GnRH antagonist. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;130:93–8.
 42. Fábregues F, Peñarrubia J, Creus M, Manau D, Casals G, Carmona F, et al. Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. *Hum Reprod*. 2009;24:349–59, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/den428>.
 43. Kim CH, Howles CM, Lee HA. The effect of transdermal testosterone gel pretreatment on controlled ovarian stimulation and IVF outcome in low responders. *Fertil Steril*. 2011;95(2):679–83.
 44. Qin Y, Zhao Z, Sun M, Geng L, Che L, Chen ZJ. Association of basal serum testosterone levels with ovarian response and in vitro fertilization outcome. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;20:9, <http://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-9-9>.
 45. Bosdou JK, Venetis CA, Kolibianakis EM, Toulis KA, Goulis DG, Zepiridis L, et al. The use of androgens or androgenmodulating agents in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012;18:127–45, <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmr051>.
 46. Wiser A, Gonen O, Ghetler Y, Shavit T, Berkovitz A, Shulman A. Addition of dehydroepiandrosterone (DHEA) for poor-responder patients before and during IVF treatment improves the pregnancy rate: a randomized prospective study. *Hum Reprod*. 2010;25:2496–500, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deq220>.
 47. Thurhan NO. Poor response – The devil is in the definition. *Fertil Steril*. 2006;86:777.
 48. Karande CV. Managing and predicting low response to standard in vitro fertilization therapy. *Treat Endocrinol*. 2003;2:257–72.
 49. Massin N, Cedrin-Durnerin I, Coussieu C, Galey-Fontaine J, Wolf JP, Hugues JN. Effects of transdermal testosterone application on the ovarian response to FSH in poor responders undergoing assisted reproduction technique – A prospective, randomized, double-blind study. *Hum Reprod*. 2006;21:1204–11, <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dei481>.
 50. Mitwally MF, Biljan MM, Casper RF. Pregnancy outcome after the use of an aromatase inhibitor for ovarian stimulation. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192:381–6.
 51. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2006;85:1761–5.



Reprodução & Climatério

<http://www.sbrh.org.br/revista>



Comunicação breve

Protocolos de estimulação ovariana controlada para criopreservação de oócitos em pacientes com câncer de mama[☆]

Mario Cavagna^{a,*}, Artur Dzik^a, Nilka Donadio^a, Patricia Tourinho da Silva^a,
Fernanda Lima Saldanha^a e Luiz Henrique Gebrim^b

^a Serviço de Infertilidade Conjugal, Hospital Pérola Byington, São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento Técnico, Hospital Pérola Byington, São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 16 de setembro de 2013

Aceito em 22 de setembro de 2013

On-line em 22 de outubro de 2013

Palavras-chave:

Preservação da fertilidade

Indução da ovulação

Neoplasias da mama

R E S U M O

Os autores apresentam os protocolos de estimulação ovariana usados no Centro de Referência da Saúde da Mulher para captação e vitrificação de oócitos em pacientes com câncer de mama que desejam preservar a fertilidade antes de se submeter a quimioterapia.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Controlled ovarian stimulation protocols for cryopreservation of oocytes in patients with breast cancer

A B S T R A C T

The authors present the ovarian stimulation protocols employed at the Women's Health Reference Center in order to retrieve oocytes for vitrification in breast cancer patients wishing fertility preservation prior to chemotherapy.

© 2013 Sociedade Brasileira de Reprodução Humana. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), surgem anualmente no Brasil cerca de 50.000 casos novos de câncer de mama, sendo 10% a 15% em mulheres em idade

reprodutiva.¹ Visando a não comprometer a qualidade de vida, da qual a saúde sexual e a reprodutiva são elementos fundamentais, levanta-se a questão da preservação da fertilidade.

[☆] Trabalho realizado no Centro de Referência da Saúde da Mulher, São Paulo, SP, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mail: cavagna@hotmail.com (M. Cavagna).

A primeira pergunta que surge é quais são as pacientes às quais devem ser oferecidos procedimentos de preservação de fertilidade. Obviamente, doença avançada metastática é contraindicação. O problema da idade é mais complexo, mas consideramos que após os 35 anos a indicação deve ser feita com muita cautela, pois os resultados reprodutivos tendem a ser insatisfatórios, independentemente das técnicas usadas.

A preservação da fertilidade tem indicação nas mulheres em fase reprodutiva com diagnóstico de câncer de mama, desde que o prognóstico da doença não seja afetado com a ocorrência de uma gravidez. A quimioterapia, especialmente os agentes alquilantes, tem o potencial de diminuir significativamente a população folicular, o que compromete a fertilidade futura.

No Centro de Referência da Saúde da Mulher – Hospital Pérola Byington, oferecemos o programa de vitrificação de oócitos antes da quimioterapia como método de preservar a fertilidade após o tratamento oncológico. Aproximadamente 10% das mulheres com câncer de mama terminam obtendo uma gravidez após o tratamento.²

Atualmente, os dados existentes embasam a hipótese de que a gestação não parece afetar de forma negativa o prognóstico da paciente tratada por câncer de mama.²⁻⁴ Em 2007, os níveis de sobrevivência para o câncer de mama aos cinco e 10 anos foram melhores em mulheres australianas que conceberam em relação aos seus controles.⁴ Prognósticos iguais ou superiores aos controles também foram obtidos em outras populações.^{4,5}

Sankila et al. (1994)⁶ descreveram esse efeito benéfico como uma marca de identificação de pacientes com melhor prognóstico para o câncer de mama.⁶ Por outro lado, apesar do número insuficiente de informações sobre o acompanhamento de crianças nascidas após a exposição dos ovários aos agentes quimioterápicos, efeitos adversos específicos não foram descritos até o momento, até mesmo quando essas drogas foram usadas durante a gestação.^{7,8}

Levando-se em conta que, em muitos casos, a paciente com câncer de mama tem a quimioterapia agendada em breve período, faz-se necessário que a estimulação ovariana para coleta de oócitos seja feita de maneira rápida e segura. Nosso objetivo é apresentar os protocolos usados no Centro de Referência da Saúde da Mulher, baseados em mais de 70 ciclos de preservação da fertilidade em mulheres jovens com câncer de mama.

Protocolos de estimulação ovariana controlada

Os protocolos de estimulação ovariana controlada (EOC) são divididos de acordo com a fase do ciclo em que se encontra a paciente, a saber: fase folicular inicial (sem folículo dominante), fase folicular tardia (com folículo dominante) e fase lútea. A dosagem de gonadotropinas empregada é determinada com base na contagem de folículos antrais (FA), uma vez que não há tempo para se determinarem os níveis de hormônio anti-Mülleriano.

Início da fase folicular

Se não houver folículo dominante (> 10 mm), a estimulação será iniciada com 150 a 300 UI de FSH recombinante ou hMG; com mais de 15 FA, prescrevem-se 150 UI; entre 10 e 15 FA, 225 UI e com menos de 10 FA, 300 UI. Independentemente de receptores hormonais, todas as pacientes farão uso de 5 mg de letrozol diariamente, iniciando-se juntamente com o FSH ou hMG. No sexto dia de estímulo será feito o primeiro controle ecográfico. O análogo antagonista (0,25 mg) será introduzido na presença de folículo ≥ 14 mm. O desencadeamento da ovulação será feito na presença da maioria dos folículos ≥ 19 mm, com 0,2 mg de triptorelina. Nesse momento, serão dosadas as concentrações séricas de estradiol e progesterona. A aspiração folicular será programada para 35-36 horas depois da administração da triptorelina.

Fase folicular tardia

Se houver folículo dominante (> 10 mm), a conduta deverá ser baseada na urgência de se iniciar a quimioterapia. Se houver tempo, continua-se a estimular o folículo dominante com 75 UI de FSH ou hMG, juntamente com antagonista e letrozol, e desencadeia-se a ovulação com triptorelina 0,2 mg quando o folículo atingir 19 mm. Aspira-se o folículo e vitrifica-se o oócito obtido. Após a aspiração, administra-se antagonista do GnRH por dois a três dias e reinicia-se o estímulo apenas com gonadotropinas (150 a 300 UI) e 5 mg de letrozol. Estradiol e progesterona são dosados no dia da administração da triptorelina, no dia da aspiração do folículo e no dia de início da nova estimulação. A conduta na segunda estimulação será a mesma usada no início da EOC na fase lútea. Se o início da quimioterapia for urgente, desconsidera-se o folículo dominante e inicia-se a estimulação com FSH recombinante ou hMG, antagonista e letrozol usados concomitantemente até o dia do desencadeamento da ovulação, nos mesmos moldes anteriores.

Fase lútea

Se a estimulação se inicia na fase lútea, administra-se 0,25 mg de antagonista por dois dias. Após esse período, inicia-se a estimulação com 150 a 300 UI de FSH recombinante (na fase lútea, não usar hMG) e letrozol 5 mg. O antagonista só será reintroduzido com folículo ≥ 14 mm. A partir de então, a mesma conduta dos itens anteriores será adotada.

Considerações finais

Se houver imuno-histoquímica com receptor hormonal positivo, além do letrozol a paciente fará uso de 20 mg de tamoxifeno, diariamente, enquanto durar a estimulação, principalmente quando se trata de quimioterapia neoadjuvante. Quando se usar antagonista para luteólise, início da EOC na fase lútea, preconizamos dosar estradiol e progesterona antes do início do antagonista e antes do início do FSH, além do dia do desencadeamento da ovulação. Reiteramos que todas as pacientes devem receber, durante a EOC, letrozol 5 mg,

diariamente, até o dia do desencadeamento da ovulação, independentemente da imuno-histoquímica. Com o início da EOC na fase lútea, não devem ser usadas gonadotropinas que contenham LH em sua formulação.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer (Inca). Câncer na criança e no adolescente no Brasil: dados dos registros de base populacional e de mortalidade. Rio de Janeiro: Inca; 2008.
2. Kroman N, Jensen MB, Melbye M, Wohlfahrt J, Mouridsen HT. Should women be advised against pregnancy after breast-cancer treatment? *Lancet*. 1997;350:319-22.
3. Ives A, Saunders C, Bulsara M, Semmens J. Pregnancy after breast cancer: population based study. *BMJ*. 2007;334:166-7, doi.org/10.1136%2Fbmj.39035.667176.55.
4. Largillier R, Savignoni A, Gligorov J, Chollet P, Guillaume M, Spielmann M, et al. Prognostic role of pregnancy occurring before or after treatment of early breast cancer patients aged < 35 years: a GET(N)A Working Group analysis. *Cancer*. 2009;115:5155-65.
5. Velentgas P, Daling JR, Malone KE, Weiss NS, Williams MA, Self SG, et al. Pregnancy after breast carcinoma: outcomes and influence on mortality. *Cancer*. 1999;85:2424-32.
6. Sankila R, Heinavaara S, Hakulinen T. Survival of breast cancer patients after subsequent term pregnancy: "healthy mother effect". *Am J Obstet Gynecol*. 1994;170:818-23.
7. Cardonick E, Iacobucci A. Use of chemotherapy during human pregnancy. *Lancet Oncol*. 2004;5:283-91.
8. Avilés A, Neri N. Hematological malignancies and pregnancy: a final report of 84 children who received chemotherapy in utero. *Clin Lymphoma*. 2001;2:173-7.