

Reprodução & Climatério

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

Editor

Mario Cavagna

Editores Associados

Eduardo Pandolfi Passos

João Sabino Pinho Neto

Paulo Spinola

Editores Anteriores

Araken Irerê Pinto

Dirceu Mendes Pereira

Edmund Chada Baracat

Nelson Vitiello

Nilson Donadio

Nilson Roberto de Melo

Newton Eduardo Busso

Marcos Felipe Silva de Sá

Rui Alberto Ferriani

Conselho Editorial

Aarão Mendes Pinto Neto, Campinas, SP

Agnaldo Pereira Cedenho, São Paulo, SP

Alberto Soares Pereira Filho, Rio de Janeiro, RJ

Alkindar Soares, Rio de Janeiro, RJ

Almir Antonio Urbanetz, Curitiba, PR

Álvaro Petracco, Porto Alegre, RS

Anaglória Pontes, Botucatu, SP

Angela Maggio da Fonseca, São Paulo, SP

Aroldo Fernando Camargos, Belo Horizonte, MG

Artur Dzik, São Paulo, SP

César Eduardo Fernandes, São Paulo, SP

Edmund Chada Baracat, São Paulo, SP

Eduardo Leme Alves da Motta, São Paulo, SP

Elsimar Metzner Coutinho, Salvador, BA

Fernando Freitas, Porto Alegre, RS

Gilberto Costa Freitas, São Paulo, SP

Hans Wolfgang Halbe, São Paulo, SP

Hugo Maia Filho, Salvador, BA

João Carlos Mantese, São Paulo, SP

José Carlos de Lima, Recife, PE

José Mendes Aldrighi, São Paulo, SP

Juliano Augusto Brum Scheffer, Belo Horizonte, MG

Lucas Vianna Machado, Belo Horizonte, MG

Marco Aurélio Albernaz, Goiânia, GO

Marcos Felipe Silva de Sá, Ribeirão Preto, SP

Maria Celeste Osório Wender, Porto Alegre, RS

Maria Yolanda Makuch - Campinas - SP

Marta Finotti, Goiânia, GO

Maurício Simões Abrão, São Paulo, SP

Newton Eduardo Busso, São Paulo, SP

Nilson Roberto de Melo, São Paulo, SP

Polimara Spritzer, Porto Alegre, RS

Ricardo Baruffi, Ribeirão Preto, SP

Ricardo Melo Marinho, Belo Horizonte, MG

Rogério Bonassi Machado, São Paulo, SP

Ronald Bossemeyer, Santa Maria, RS

Rosaly Rulli Costa, Brasília, DF

Rui Alberto Ferriani, Ribeirão Preto, SP

Sebastião Freitas de Medeiros, Cuiabá, MT

Selmo Geber, Belo Horizonte, MG

Sonia Maria Rolim Rosa Lima, São Paulo, SP

Wagner José Gonçalves, São Paulo, SP

Conselho Editorial Internacional

Cesare Aragona, Roma, Italia

Gian Benedetto Melis, Cagliari, Italia

Paolo E. Levi Setti, Milão, Italia

Diagramação, revisão e projeto gráfico

Zeppelini Editorial Ltda.

Rua Dr. César, 530 - Sala 1308 - Santana - São Paulo/SP

Tel.(11)2978-6686

www.zeppelini.com.br



SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO HUMANA
SBRH

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

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

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

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

Diretoria Biênio 2007-2008

Presidente

Dirceu Henrique Mendes Pereira

1º Vice-Presidente

Sebastião de Freitas Medeiros

2º Vice-Presidente

Ricardo Mello Marinho

Secretário Executivo

Artur Dzik

Secretário Adjunto

Claudio Barros Leal

Tesoureira - Geral

Nilka Fernandes Donadio

Tesoureiro - Adjunto

Marcelino Hofmeister Poli

Diretora Científica

Claudete Reggiani

Presidente do Conselho de Delegados

Waldemar Naves do Amaral

Delegados da SBRH — Biênio 2007-2008

AC - Julio Eduardo Gomes Pereira

AL - Fabio Castanheira

AM - Lourivaldo Rodrigues De Sousa

AP - Aljerry Dias do Rego

BA - Karina de Sá Adami Gonçalves

CE - Marcelo Borges Cavalcante

DF - Hitomi Miura Nakagawa

ES - Jules Whyte Soares Sousa

GO - Mario Aprobato

MA - Luciane Maria Oliveira Brito

MG - Tulio Tadeu Marcolini

MS - Alex Bortotto Garcia

MT - Marcia Marly Winck Yamamoto

PA - Nelson Luiz de Oliveira Santos

PB - Ricardo Lucena Ramos

PE - Vilma Guimarães de Mendonça

PI - Joaquim Castelo Branco Barros

PR - Jaime Kulak

RJ - Carlos André Henriques

RN - George Dantas de Azevedo

RO - Marines Rodrigues Santos Cesar

RR - José Antonio Nascimento Filho

RS - Maria Celeste Osorio Wender

SC - Ubiratan Cunha Barbosa

SE - George Hamilton Caldas Silveira

SP - Vilmon de Freitas

TO - Fábio Roberto Ruiz de Moraes

Editorial

- 93 Avanços na criopreservação de oócitos: o congelamento de embriões teria seus dias contados?

Mario Cavagna

Atualização

- 95 Toxicidade gonadal induzida pelo tratamento oncológico

Gonadal toxicity induced by oncological treatment

Fábio Leite Couto Fernandez¹, Reinaldo Azoubel², Alexandre Sérgio de Oliveira Azoubel³

- 99 O uso de complexos emagrecedores por mulheres em idade reprodutiva e suas implicações na gravidez

The use of complexes to treat the obesity by women in reproductive age and its implications on gestation

Carla Cristina Barcella, Tatiana Montanari

- 105 Células-tronco endometriais: o atual e o futuro

Endometrial stem cells: today and future

Lívia Regina Theilacker¹, Robertson Rodrigues P Junior¹, Ivan Araujo Penna²

- 111 Ultra-sonografia na avaliação da reserva ovariana

Ultrasonographic evaluation of ovarian reserve

Raquel Meirelles Gaspar Coelho¹, Wellington de Paula Martins², Francisco Mauad Filho³

Artigo Original

- 115 Efeito vascular do acetato de medroxiprogesterona nas artérias oftálmica e central da retina avaliados pela ultra-sonografia Doppler: ensaio clínico controlado aleatorizado, duplo-cego e controlado com placebo

Medroxyprogesterone acetate vascular effect in retinal and ophthalmic artery evaluated by ultrasound Doppler: randomized clinical trial, triple blinding and placebo controlled

Marco Aurélio Martins de Souza¹, Gustavo Veloso de Souza², Selmo Geber³

- 122 Ação toxicológica da lidocaína na motilidade espermática e na fecundação do ouriço-do-mar

Toxicological action of lidocaine in the sperm motility and fertilization of sea urchin

Zenaldo Porfírio¹, Valter Alvino²

Opinião

- 126 Consentimento livre e informado na criopreservação de gametas: visão bioética

Informed consent for gametes cryopreservation: a bioethical view

Affonso Renato Meira

Instruções aos autores

A Revista Reprodução & Climatério publica artigos originais, artigos de atualização, opiniões, breves comunicações, relatos de caso e cartas ao editor (no máximo 500 palavras), na área de Medicina Reprodutiva, Climatério, Ginecologia Endócrina e Sexualidade. São aceitos artigos em português, espanhol ou inglês.

Os originais devem ser encaminhados para a Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH), aos cuidados do editor, exclusivamente por correio eletrônico (sbrh@terra.com.br). Eles devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo entre as linhas e margens de 3 cm em páginas numeradas. A fonte a ser utilizada é a Times New Roman, tamanho 12.

Os originais devem ser preparados na seguinte sequência:

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

Resumo: deverá conter, no máximo, 200 palavras e, no caso de artigos originais, apresentar Objetivo, Material e métodos, Resultados, Conclusões e Unitermos. Evitar abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso (duas ou três linhas) com as principais conclusões do trabalho, para ser colocado no índice da revista. Para artigos de atualização, comunicações breves, opiniões e relatos de casos, não é necessário que o Resumo seja estruturado.

Abstract: versão fiel do inglês do texto do Resumo, acompanhado de Unitermos.

Texto do trabalho: se for um artigo original, deverá obrigatoriamente conter Introdução, Material e métodos, Resultados, Discussão e Referências bibliográficas; outros tipos de artigo podem apresentar estrutura variável. As abreviações devem ser restritas e sempre definidas na primeira aparição no texto. Eventuais Tabelas deverão ser numeradas em algarismos arábicos, com título explicativo do conteúdo. Não devem ser colocados traços verticais, e os traços horizontais são limitados a um acima da tabela e um ao final. Figuras e Gráficos devem ser limitados ao estritamente necessário e também serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, Figuras e Gráficos devem ser enviados em páginas separadas.

Referências bibliográficas: devem obedecer às normas de Vancouver. Maiores esclarecimentos poderão ser obtidos no site: www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use estes números para as citações no texto. Todos os autores devem ser citados, exceto se houver mais de seis, quando os seis primeiros são seguidos pela expressão latina “et al”. Observe alguns exemplos de citações:

Artigos em periódicos:

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

Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.

Volume com suplemento:

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

Livros:

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

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

Material eletrônico:

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

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

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

Cartas e editoriais:

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

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

Avanços na criopreservação de oócitos: o congelamento de embriões teria seus dias contados?

Uma das pautas constantes nas sessões do último congresso europeu de reprodução humana da European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), realizado em Barcelona, na Espanha, em julho de 2008, foi o crescente sucesso com as técnicas de vitrificação oocitária, que vêm permitindo taxas de sobrevivência, fertilização e implantação cada vez mais animadoras. Antinori et al.¹ apresentaram taxas de sobrevivência próximas a 100% e taxas de fertilização superiores a 90%. Esses resultados são semelhantes aos já publicados por Cobo et al.². No mesmo congresso, Fasolino et al.³, apresentando resultados de congelamento lento de oócitos, referem taxas de sobrevivência e fertilização de cerca de 70%; resultados seguramente bons, mas longe dos obtidos com a vitrificação. Parece, portanto, que a vitrificação oocitária é uma técnica que veio para ficar; se ainda é considerada experimental, deve-se ao fato que o número de nascimentos ainda não permite que se estabeleça a completa segurança do método, embora as evidências apontem para isso. Confirmando-se a eficácia e a segurança da vitrificação oocitária, surge uma pergunta espontânea: por que congelar embriões? Não seria mais natural, em ciclos de reprodução assistida, inseminar no máximo três oócitos, vitrificando-se os excedentes para fertilização e transferência futuras ou mesmo para doação? Seriam evitados problemas éticos, pois o eventual descarte de gametas não suscitaria quaisquer questionamentos de natureza moral ou religiosa. Mesmo para técnicas de preservação da fertilidade em mulheres jovens, com indicação para quimio ou radioterapia, onde o congelamento de embriões é considerado o procedimento mais eficiente para a obtenção de uma gravidez pós-tratamento, os excelentes resultados com a vitrificação poderiam mudar esse conceito. Não há necessidade de se ter um parceiro (muitas mulheres jovens, e quase todas as adolescentes não o têm). Além disso, a mudança de parceiro após a quimioterapia, ou mesmo o desfecho negativo do tratamento oncológico, não implicariam a presença de embriões cujo destino seria motivo de controvérsias e até mesmo ações legais. Nesta edição, publicamos interessante opinião do professor Affonso Renato Meira, grande expoente em Bioética, que escreve textualmente⁴: “Um gameta masculino ou feminino pode vir a ser criopreservado sem que o doador ou doadora tenha uma vida conjugal. Assim não é possível e mesmo não necessária a recomendação estabelecida no número 3 do item V da Resolução CFM 1.358, quando estabelece que os cônjuges ou companheiros, no momento da criopreservação, devem expressar sua vontade, por escrito, quanto ao destino a ser dado ao pré-embrião. No caso de criopreservação de gametas, seja espermatozóide ou ovócito, não cabe solicitar nada ao cônjuge, ou companheiro ou companheira.” Sendo assim, o professor Meira recomenda que o consentimento livre e esclarecido para a criopreservação de gametas deve ter redação diferente daquele para o congelamento de embriões, não havendo necessidade da participação do cônjuge ou companheiro na sua assinatura.

Observa-se, pelos fatos expostos, a maior simplicidade da criopreservação de oócitos, em relação ao congelamento de embriões. Os resultados animadores da vitrificação, se confirmados pela experiência que deverá ser acumulada, permitem que se levante a seguinte indagação: com taxas de sobrevivência e fertilização de oócitos vitrificados próximas a 100%, não se tornariam muito restritas, e praticamente procedimentos de exceção, as indicações para o congelamento de embriões?

Muito obrigado e boa leitura a todos!

Mario Cavagna

Referências bibliográficas

1. Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Three years of clinical application in human oocytes vitrification: high survival rate and healthy deliveries. *Hum Reprod.* 2008;23(Suppl.1):i34.
2. Cobo A, Kuwayama M, Pérez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril.* 2008;89(6):1657-64.
3. Fasolino M, Ferraretti AP, Magli C, Baffoni A, Tabanelli C, Gianaroli L. Oocytes cryopreservation: factors affecting the results. *Hum Reprod.* 2008;23(Suppl.1):i69.
4. Meira AR. Consentimento livre e informado na criopreservação de gametas: visão bioética. *Reprod Clim.* 2008; 23(3):126-9.

Toxicidade gonadal induzida pelo tratamento oncológico

Gonadal toxicity induced by oncological treatment

Fábio Leite Couto Fernandez¹, Reinaldo Azoubel², Alexandre Sérgio de Oliveira Azoubel³



O Dr. Fábio Couto é médico especialista pela Sociedade Brasileira de Urologia (SBU). Atualmente, é professor da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo). Tem experiência na área em Urologia e Cancerologia e é responsável pelo Serviço de Oncologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (Famerp).

Resumo

A incidência de neoplasias malignas no Brasil e no mundo vem aumentando a cada ano. Fatores como o aumento da expectativa de vida, a industrialização, a urbanização e os avanços tecnológicos estão diretamente relacionados com esse aumento. Por outro lado, o armamentário terapêutico, do qual dispõe, permite a cura em alguns tipos de câncer e importante aumento na sobrevida em muitos outros. Entretanto, a citotoxicidade inerente ao tratamento das doenças malignas incorre, geralmente, em infertilidade. Quando do diagnóstico de uma neoplasia maligna, grande parte dos pacientes são jovens e ainda não estão com a sua prole constituída. Este artigo propõe uma reflexão a respeito da incidência de neoplasias malignas em indivíduos em idade fértil e sobre a obrigatoriedade de se abordar a questão da infertilidade relacionada ao tratamento oncológico, com o paciente, previamente à sua realização. Controvérsias sobre a qualidade dos tecidos reprodutivos de indivíduos afetados face às técnicas convencionais e modernas de reprodução assistida e criopreservação também são discutidas.

Unitermos: Quimioterapia; Falência ovariana prematura; Fertilidade.

Abstract

The incidence of malignant neoplasias in Brazil and in the world has been increasing each year. Factors such as increased life expectancy, industrialization, urbanization and technological advances are directly related to this increased incidence. On the other hand, the available therapeutic arsenal permits a cure in some types of cancer and a significantly increased survival rates in many others. Meanwhile, the cytotoxicity inherent in treatment of malignant diseases generally occur in the form of infertility. Among those diagnosed with malignant neoplasia, most are young and still without offspring. This article proposes a reflection on the incidence of malignant neoplasias in individuals of fertile age and those obligated to broach the question of infertility related to oncological treatment as a patient previous to its realization. Controversies as to the quality or reproductive tissues of affected individuals faced with conventional and recent techniques of assisted reproduction and cryopreservation are discussed.

Uniterms: Drug therapy; Ovarian failure, premature; Fertility

Departamento de Pós-graduação da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FMRP) – São José do Rio Preto (SP), Brasil.

¹ Mestrando da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FMRP) – São José do Rio Preto (SP), Brasil.

² Professor-associado e livre docente da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

³ Mestrando da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FMRP) – São José do Rio Preto (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Fábio Luiz Couto Fernandez – Avenida Brigadeiro Faria Lima, 5.416 – Vila São Pedro – CEP 15090-000 – São José do Rio Preto/SP – Fone: (17) 3201-5700 – Fax: (17) 3229-1777 – E-mail: guilherme@famerp.br

Os dados epidemiológicos disponíveis permitem configurar o câncer como problema de Saúde Pública em todo o mundo. Dados da American Cancer Society (ACS), de 1999, estimavam: 7.400 novos casos de câncer de testículo; 3.800 novos casos de doença de Hodgkin; 16.800 casos de leucemia; 1.400 casos de neoplasia óssea; 4.200 casos de neoplasias malignas de tecidos moles; 25.800 novos casos de melanoma; 9.500 novos casos de tumores cerebrais e do sistema nervoso central e 36.400 novos casos de linfoma¹. Para 2003, a mesma entidade previu incidência semelhante para todos os tipos de tumores no sexo masculino. Foram diagnosticados 1.334.100 novos casos de câncer nos Estados Unidos, somados ambos os sexos, ocorrendo 556.500 mortes².

No Brasil, o câncer se constitui na segunda causa de morte por doença, atualmente. Com exceção da região Nordeste, onde as doenças infecto-parasitárias atingem percentuais importantes, as neoplasias seguem-se às doenças cardiovasculares, como principal causa de morte, e sua proporcionalidade aumenta na medida em que se desloca para a região Sul³. Esta diferenciação em incidência regional reflete as contradições do processo de desenvolvimento do país.

Além de mudanças de hábitos de vida da população, diversos fatores como o aumento da expectativa de vida, a industrialização, a urbanização e os avanços tecnológicos observados na área da saúde estão diretamente relacionados com o aumento do risco de desenvolvimento de câncer³.

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), em 2001 foram diagnosticados cerca de 100.000 novos casos de câncer, apenas no estado de São Paulo, com aproximadamente 35.000 óbitos. A estimativa para 2003 foi de 147.410 novos casos, com ocorrência de 38.040 mortes⁴.

Apesar dos números alarmantes, a sobrevivência de pacientes com câncer aumentou significativamente nas últimas décadas, com o advento da multimodalidade de abordagens terapêuticas e da implementação de sofisticadas ferramentas diagnósticas¹.

Hallak et al.⁵ estimaram que mais de 70% dos pacientes com câncer têm sobrevivência maior do que cinco anos. Além disso, a cura é um objetivo real para muitos pacientes com neoplasia de testículo, doença de Hodgkin e certamente outros tipos de câncer⁶. No caso específico do tumor de testículo, que incide, principalmente, sobre indivíduos entre 20 e 40 anos de idade, a chance de sobrevivência, após o tratamento, está em torno de 90%, em cinco anos⁷. Entretanto, a citotoxicidade inerente ao tratamento das doenças malignas também afeta os testículos, e a esterilidade é uma consequência potencial^{8,9}. A infertilidade tem sido frequentemente o preço para um tratamento agressivo e curativo para o câncer. A incidência de azoospermia, em pacientes após um tratamento para doenças malignas, é, ainda, alta^{6,9}.

A infertilidade pode ser causada pelo uso da radioterapia, quimioterapia, cirurgia ou a combinação das diferentes modalidades de tratamento¹⁰. O tratamento de câncer com radioterapia ou quimioterapia, geralmente, danifica o epitélio seminífero dos testículos, e em alguns casos permanentemente¹¹. Aliás, pacientes com câncer em idade fértil podem não ter completado suas famílias quando do início do tratamento oncológico. Porém, para contornar a esterilidade induzida pelo tratamento oncológico, recomenda-se a utilização da criopreservação^{6,8,9}.

A criopreservação de sêmen é o ramo da criobiologia que estuda a conservação dos espermatozoides, com a finalidade de mantê-los indefinidamente em nitrogênio líquido à temperatura de -196°C, preservando sua capacidade de fertilização e desenvolvimento embrionário inicial¹². Esta técnica tornou-se um tratamento complementar à abordagem terapêutica em jovens com doenças malignas. Alguns centros especializados em câncer têm armazenado tecido ovariano previamente ao tratamento de mulheres jovens e adultas, esperando que os avanços nos próximos anos justifiquem os seus esforços¹³.

Os trabalhos pioneiros de Bunge e Sherman despertaram o mundo científico para a possibilidade da utilização de sêmen congelado para inseminação artificial⁸. Apesar da criopreservação com sucesso ter-se tornado possível na metade dos anos 1970, o armazenamento de sêmen foi considerado impraticável recentemente¹². Isto ocorria tendo em vista a constatação, por alguns cientistas, do prejuízo do sêmen, quando do diagnóstico da neoplasia, em cerca de 30 a 60 % dos casos^{1,6}.

Hallak et al.¹⁰ demonstraram que o percentual de motilidade foi significativamente menor nos pacientes com câncer, quando comparados com os doadores, em amostras pré-congeladas e após a descongelação. Após a criopreservação, os espermatozoides dificilmente estabeleciam gravidez, em face aos danos relativos ao procedimento¹³. No mesmo estudo, o autor demonstrou, ainda, que o processo de congelamento e descongelamento incorreria em morte e perda da motilidade e capacidade de fertilização dos oócitos¹³. Apesar dos avanços na técnica, a criopreservação, ainda hoje, diminui a qualidade do sêmen^{6,10}.

Agarwal¹ e Agarwal et al.⁸ demonstraram que os efeitos da criopreservação são os mesmos sobre o sêmen de indivíduos com câncer e do Grupo Controle. Apesar disso, a situação mudou dramaticamente em 1992, com o sucesso da nova técnica de reprodução assistida, a fertilização *in vitro* (FIV), com a injeção intracitoplasmática de gametas (ICSI)¹³. Com a ICSI, uma única célula seminal é injetada diretamente no interior de cada oócito, após a mulher ter sido submetida a um ciclo de estimulação ovariana. A técnica da FIV-ICSI permite taxas de fertilização de cerca de mais de 47,7% por complexo oócito-cumulus e 66,4% quando injetados em oócitos na metáfase II; já a taxa de gravidez girou entre 31 a 37%⁹. Sanger, Olson e Sherman⁶

relatarem bons resultados, inclusive em indivíduos com menos de 500.000 espermatozoides móveis. Em suma, pode-se afirmar que a técnica da FIV-ICSI revolucionou, em poucos anos, o tratamento de pacientes com infertilidade severa devido ao fator masculino⁵.

Outra questão que mereceu – e ainda merece – acalorados debates no meio científico era concernente à transmissão natural de genes ligados a doenças malignas, aos riscos de transmissão de quem foi submetido a um tratamento radioterápico ou quimioterápico, bem como aos efeitos genéticos induzidos pelas técnicas de criopreservação. Sanger, Olson e Sherman⁶, em 1992, já confirmavam que a incidência de nascimento de crianças com algum tipo de anomalia, filhas de indivíduos submetidos a tratamento oncológico, era a mesma da população normal. Mutações nas células seminais existem, porém são de caráter transitório¹. Kliesch et al.⁷ demonstraram não haver nenhum dado relativo ao aumento de risco de transmissão genética para a prole desses indivíduos, especificamente nascida a partir de técnicas de fertilização assistida.

O Código de Ética Médica brasileiro faz alusão clara aos princípios fundamentais quanto ao exercício da Medicina, os direitos do médico, bem como sua responsabilidade profissional e os direitos humanos que devem ser respeitados¹⁴. Numa análise detida nesses princípios, pode-se perceber o quanto a indicação à criopreservação de gametas, anteriormente ao tratamento oncológico, faz-se necessária, tanto para preservação física, moral e emocional do paciente quanto para responsabilidade jurídica do profissional que prescreve o tratamento.

Isto posto, a existência de um banco de gametas constitui-se parte do tratamento oncológico, além de ser é inócuo e pouco dispendioso.

A seguir, há a transcrição de uma carta enviada ao editor da revista *New England Journal of Medicine*, na edição de junho de 1990¹⁵, sobre a criopreservação:

Para qualquer paciente ou família, o diagnóstico de câncer é um choque terrível. Discussões a respeito do tratamento enfatizam o desconforto e a probabilidade de recaída. Porém, muitas vezes, não é dado ênfase ao lado positivo, incluindo a possibilidade de cura e uma vida normal. Parte dessa vida pode incluir o desejo de ter uma criança nascida de si mesmo, mas isso geralmente não é possível após um tratamento à base de quimioterapia ou radiação. Em 1984, meu marido recebeu o diagnóstico de Leucemia Mielóide Crônica e foi submetido a um tratamento com sucesso, através de transplante de medula óssea. O protocolo pré-tratamento a que foi submetido tornou-o estéril. Nossa história teve um final feliz com o nascimento de nosso filho, porque o médico do meu esposo havia discutido a possibilidade de armazenar seu sêmen muito antes de David ter sido submetido a qualquer forma de tratamento. O conhecimento que nós tivemos a respeito da possibilidade da cura pelo transplante de medula, mas, também, de uma vida familiar feliz, foi um fator importante para dar a ele determinação durante este difícil processo.

Eu gostaria de incitar todos os médicos a discutir o processo de armazenamento de sêmen com seus pacientes e familiares, previamente, durante o processo de aconselhamento. Atualmente, muito mais do que antes, pacientes com câncer ou leucemia podem ter uma maior sobrevida por longo período, e esta sobrevida pode ser intensificada pelas alegrias e recompensas da paternidade. Assinado: Pam Hamilton -2.301, 33rd Ave. S.E.

Portanto, a questão da fertilidade deve ser discutida previamente a qualquer terapêutica tóxica que possa afetar as gônadas, e é obrigatória a opção por uma futura fertilidade.

Referências bibliográficas

1. Agarwal A. Semen banking in patients with cancer: 20-year experience. *Int J Androl*. 2000;23 Suppl 2:6-19.
2. American Cancer Society 2003. Cancer Facts and Figures. Disponível em http://www.cancer.org/docroot/STT/content/STT_1x_Cancer_Facts_and_Figures_2008.asp?from=fast. Acesso em 22 de agosto, 2008.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA. Estimativas de Câncer para 2003. Disponível em: http://www.inca.gov.br/releases/press_release_view_arq.asp?ID=34. Acesso em 22 de agosto, 2008.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA. Revista Brasileira de Cancerologia. 2001;47:111-14.
5. Hallak J, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Why cancer patients request disposal of cryopreserved semen specimens posttherapy: a retrospective study. *Fertil Steril*. 1998;69(5):889-93.
6. Sanger WG, Olson JH, Sherman JK. Semen cryobanking for men with cancer--criteria change. *Fertil Steril*. 1992; 58(5):1024-7.
7. Kliesch S, Bergmann M, Hertle L, Nieschlag E, Behre HM. Semen parameters and testicular pathology in men with testicular cancer and contralateral carcinoma in situ or bilateral testicular malignancies. *Hum Reprod*. 1997;12(12):2830-5.
8. Agarwal A, Tolentino MV Jr, Sidhu RS, Ayzman I, Lee JC, Thomas AJ Jr, et al. Effect of cryopreservation on semen quality in patients with cancer. *Urology* 1995;46(3):382-9.

9. Hallak J, Hendin BN, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Investigation of fertilizing capacity of cryopreserved spermatozoa from patients with cancer. *J Urol*. 1998;159(4):1217-20.
10. Hallak J, Mahran A, Chae J, Agarwal A. Poor semen quality from patients with malignancies does not rule out sperm banking. *Urol Res*. 2000;28(4):281-4.
11. Miestrich ML, Chawla SP, da Cunha MF, Johnson SL, Plager S, Papadopoulos NE, et al. Recovery of sperm production after chemotherapy for osteosarcoma. *Cancer* 1989;63(11):2115-23 .
12. Hallak J, Brand VBF, Graziottin TM. Criopreservação de sêmen humano. In: Glina S, Damião R, editores. *Infertilidade Masculina*. São Paulo: BG Cultural; 1999. p.75-81.
13. Schover LR, Agarwal A, Thomas AJ Jr. Cryopreservation of gametes in young patients with cancer. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1998;20(5):426-8.
14. Conselho Regional de Medicina. Código de Ética Médica. Diário Oficial da União, 1983.
15. Hamilton P. Sperm banking before chemotherapy or radiotherapy for cancer . *N Engl J Med*. 1990;322(25):1822.

Recebido em: 21/03/2008
Aprovado para publicação: 11/08/2008

O uso de complexos emagrecedores por mulheres em idade reprodutiva e suas implicações na gravidez

The use of complexes to treat the obesity by women in reproductive age and its implications on gestation

Carla Cristina Barcella¹, Tatiana Montanari²



Carla Cristina Barcella é farmacêutica graduada pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2006) e atualmente faz pós-graduação em Farmácia Hospitalar no Instituto de Administração Hospitalar e Ciências da Saúde. Este trabalho foi desenvolvido como Trabalho de Conclusão de curso de graduação, orientada pela Profa. Dra. Tatiana Montanari, coordenadora do Laboratório de Biologia da Reprodução.

Resumo

Os padrões atuais de beleza têm estimulado o uso de complexos emagrecedores, principalmente por mulheres em idade reprodutiva. Como uma grande parte das gestações não é planejada, esta conduta pode resultar em dano para o embrião/feto. Este trabalho analisa os efeitos dos componentes dessas formulações na gravidez. Foi feita uma revisão da literatura, consultando a bibliografia da área e os bancos de dados PubMed, MedLine, ScienceDirect e Micromedex. Os complexos emagrecedores contêm estimulantes do sistema nervoso central – os anorexígenos (derivados da anfetamina, como femproporex) e os antidepressivos (fluoxetina); depressores do sistema nervoso central (benzodiazepínicos); diuréticos, e produtos de origem vegetal. Os fármacos derivados da anfetamina não devem ser teratogênicos, mas o femproporex demonstrou efeitos adversos na implantação. Já fluoxetina promove a síndrome de abstinência neonatal, enquanto o diazepam pode causar fendas orais, baixo peso ao nascer e mudanças neurocomportamentais. Diuréticos, como furosemida, provocaram anomalias esqueléticas em ratos pela depleção de potássio, e o hidroclorotiazida causa complicações na mãe e no feto. Atualmente, há poucos estudos sobre a segurança no uso das plantas medicinais. Por causa dos diversos efeitos sobre o embrião/feto, as mulheres que fazem uso de complexos emagrecedores devem ser alertadas para os riscos em caso de concepção.

Unitermos: Complexos emagrecedores; Fármacos; Plantas medicinais; Toxicidade reprodutiva; Gravidez; Teratogênese.

Abstract

The current standards of beauty have stimulated the use of multiple drugs complexes to treat the obesity, mainly by women in reproductive age. As the majority of the pregnancy is not planned, this use might result in damage for the embryo/fetus. This study aims to analyze the effect of these components in the pregnancy. In order to perform the literature review, pertinent bibliography and data base PubMed, MedLine, ScienceDirect e Micromedex were consulted. The complexes have stimulants of the central nervous system – the anorectic medications (derived from the amphetamine, as fenproporex) and the antidepressants (fluoxetine); depressants of the central nervous system (benzodiazepines); diuretics, and natural products. The amphetamine derivatives might not be teratogenic, however, femproporex had adverse effects on implantation. The fluoxetine promotes the neonatal abstinence syndrome. Diazepam might cause oral cleft, low weight at birth and neurobehavioral changes. Diuretics, as furosemida, provoked skeletal anomalies in rats due to potassium depletion, and hydrochlorothiazide causes complications in both mother and fetus. There are few studies about secure use of medicinal plants. Because the various effects on embryo/fetus, women who use complex to treat of obesity must be alerted for the risks in conception case.

Uniterms: Complex for treatment of obesity; Drugs; Plants, medicinal; Reproductive toxicity; Pregnancy; Teratogenicity.

Departamento de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre (RS), Brasil.

¹ Formada em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); pós-graduanda em Farmácia Hospitalar no Instituto de Administração Hospitalar e Ciências da Saúde (IAHCS).

² Coordenadora do Laboratório de Biologia da Reprodução da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

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

Introdução

Os atuais padrões de beleza estimulam o uso (e abuso) de drogas para emagrecimento, especialmente por mulheres em idade reprodutiva. As diversas apresentações dessas fórmulas contêm moderadores de apetite, antidepressivos, ansiolíticos, diuréticos e laxantes. A inclusão de plantas medicinais com esses fins ou outros, geralmente, é comum. O objetivo deste trabalho foi reunir dados da literatura sobre o efeito dos componentes dos complexos emagrecedores sobre a gestação e o desenvolvimento embrionário e fetal, a fim de contribuir para o esclarecimento dos riscos do uso desses medicamentos em caso de concepção.

Metodologia

Para avaliar os efeitos dos constituintes dos complexos emagrecedores sobre a gravidez, foram consultados os seguintes bancos de dados: PubMed, MedLine, ScienceDirect e Micromedex (pelo Micromedex foram acessados o AltMedDex Summary, Drugdex Evaluations, Martindale: The Complete drug reference, Poisindex Managements e USP DI: Drug Information for the Health Care Professional)¹⁻⁵. Foram cruzados os termos obesity, pregnancy, teratogenicity, malformations, medicinal plants, phytotherapy, o nome genérico dos medicamentos diethylpropione (anfepramone), mazindol, fenproporex, fluoxetine, diazepam, furosemide, hydrochlorothiazide e o nome científico das plantas e das algas *Hypericum perforatum*, *Paullinia cupana*, *Melissa officinalis*, *Passiflora*, *Piper methysticum*, *Valeriana officinalis*, *Equisetum arvense*, *Echinodorus grandiflorus*, *Rhamnus purshianus*, *Senna alexandrina*, *Agar agar*, *Baccharis trimera*, *Cynara scolymus*, *Peumus boldus*, *Coleus barbatus*, *Fucus vesiculosus* e *Spirulina*. Livros clássicos da área bem como publicações de órgãos de regulamentação como Comissão E e ESCOP⁶ também foram utilizados.

Resultados

Os complexos emagrecedores são constituídos por fármacos e por plantas medicinais com diversas propriedades. Há estimulantes do sistema nervoso central (SNC), como os derivados de anfetamina, que são anorexígenos, e a fluoxetina e o hipérico, que são antidepressivos. Há também depressores do SNC atuando como ansiolíticos; diuréticos, laxantes, plantas que tratam de problemas digestivos e hepáticos; e algas para suplementação alimentar e para outros fins.

Estimulantes do sistema nervoso central

A anfetamina foi o primeiro anorexígeno utilizado no manejo da obesidade; sua ação noradrenérgica inibe o centro da fome no hipotálamo. Suas propriedades excitatórias no SNC levaram à procura de derivados que possuíssem o mesmo efeito anorético, mas sem o mesmo potencial de dependência. A dietilpropiona (anfepramona), o mazindol e o femproporex são amplamente utilizados no tratamento da obesidade⁷.

Estudos em animais com dietilpropiona (anfepramona) não resultaram em teratogenicidade. Em humanos, um estudo com 1.232 gestações não evidenciou um aumento nas taxas de malformações congênitas⁸. No entanto, o uso de medicamentos para perda de peso durante a gravidez e a lactação é desaconselhável, porque pode interferir na nutrição da mãe e, conseqüentemente, na do feto².

Estudos em animais demonstraram fetotoxicidade com altas doses de mazindol, mas pesquisas em humanos não identificaram aumento na ocorrência de malformações^{9,10}.

A toxicidade materna e a teratogenicidade do femproporex foram avaliadas em camundongas. O número de sítios de implantação obtido no Grupo Tratado foi menor do que no Grupo Controle, sugerindo que afete o processo de implantação. Perda pós-implantação não foi promovida, e o crescimento intra-uterino não foi afetado¹¹. Os filhotes machos de camundongas expostas à droga durante toda a gestação foram avaliados quando adolescentes e adultos em vários testes de toxicidade. Os adolescentes expostos tenderam a um comportamento mais ativo que o Grupo Controle, indicando uma toxicidade comportamental de longa duração, característica da transmissão dopaminérgica alterada¹².

Antidepressivos da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, como a fluoxetina, também são estimulantes do SNC presentes nos complexos emagrecedores. Além da ação antidepressiva, causam perda de apetite como efeito contralateral^{2,13}.

Revisando quatro estudos sobre a toxicidade reprodutiva de antidepressivos usados durante a gravidez, foi identificada, em um destes levantamentos, uma taxa maior de parto prematuro e baixo peso ao nascer. Além disso, uma maior frequência de anomalias menores (sem importância funcional ou estética) foi registrada em crianças expostas à fluoxetina. Contudo, esse fármaco não aumentou o risco de morte intra-uterina nem causou defeitos congênitos mais graves. O desenvolvimento das crianças, em termos de funções cognitivas e de comportamento, não foi alterado. Porém, a síndrome de abstinência ocorreu em alguns neonatos cujas mães eram tratadas com o antidepressivo perto do nascimento¹⁴.

Em investigações experimentais com ovelhas no final da gestação, a fluoxetina causou um aumento do nível plasmático de serotonina, provocando diminuição no fluxo de sangue para o útero e, portanto, na oferta de oxigênio e de nutrientes para o feto. Este pode ser o mecanismo responsável pela redução do crescimento dos fetos e pela indução do parto prematuro¹⁵.

A concentração de fluoxetina e de seu metabólito ativo – norfluoxetina – foi avaliada no recém-nascido de mães expostas à droga, no último trimestre de gestação. O acúmulo dessas substâncias se deve à pronta transferência placentária, à meia-vida longa da fluoxetina – de um a quatro dias (determinada no adulto) – e à capacidade metabólica limitada do feto para eliminar a droga¹⁶.

A exposição *in utero* a inibidores seletivos da recaptação de serotonina pode provocar toxicidade serotoninérgica em 30% dos neonatos, resultando na síndrome de abstinência neonatal. Os sintomas são: choro persistente, irritação, tremores, hipertonia, taquipnéia, taquicardia, febre, distúrbios gastrintestinais, do sono e do sistema nervoso autônomo (bocejar, espirrar e fungar), eventos cianóticos e petéquias na face e ao longo do tronco¹⁷⁻¹⁹. Em relação ao desenvolvimento neurológico, avaliando crianças em fase pré-escolar expostas à fluoxetina *in utero*, não foram encontradas alterações no QI global, na linguagem e no comportamento. Entretanto efeitos sutis no desenvolvimento motor foram observados¹⁸.

O *Hypericum perforatum* L. (hipérico ou erva-de-são-joão), adicionado nas formulações, apresenta propriedades de inibidores seletivos da recaptação de serotonina por meio da hipericina e pseudohipericina. A longa meia-vida de ambas as substâncias (cerca de 30 dias) indica um acúmulo no feto em uma exposição prolongada. Os trabalhos experimentais não identificaram efeitos adversos nos parâmetros reprodutivos, no crescimento e na maturação física da prole, nem no comportamento e nas funções cognitivas¹⁹⁻²². Entretanto, a análise histológica revelou danos no fígado e nos rins (justamente nos órgãos de excreção) dos filhotes de ratas expostas na gestação e/ou na lactação²³. Não há estudos durante a gravidez humana e, até que seus efeitos sejam melhor compreendidos, recomenda-se que seja utilizado com cuidado por mulheres grávidas²⁴.

Paullinia cupana Kunth (guaraná) possui entre os seus principais constituintes a cafeína, que foi investigada em altas doses em animais, verificando-se abortos espontâneos, problemas de crescimento e arritmias fetais. Contudo, é preciso mais estudos sobre a cafeína em doses mais baixas, mais próximas às usuais para avaliar a sua segurança na gravidez²⁵.

Depressores do sistema nervoso central

O diazepam é freqüentemente incluído nos complexos com o objetivo de diminuir os efeitos excitatórios provocados pelos estimulantes. Embora haja vários trabalhos a respeito do uso de benzodiazepínicos na gestação, os dados a respeito da teratogenicidade e da sua ação no desenvolvimento e no comportamento pós-natal ainda não estão bem claros²⁶.

Briggs, Freeman e Yafee⁸ citaram alguns estudos sobre o diazepam como responsável por fendas labiais e palatinas, os quais consideravam o risco baixo: 0,4% para fenda labial e 0,2% para fenda palatina. No entanto, se comparados com a taxa de incidência das fendas orais, na população em geral, que são 0,1% para fenda labial e 0,04% para fenda palatina²⁷, esse risco não pode ser menosprezado.

Além disso, na metanálise realizada por Dolovich et al.²⁸, revisando a literatura científica publicada entre 1966 e 1997 sobre a exposição a benzodiazepínicos no primeiro trimestre, foi identificado um risco significativo da ocorrência destas malformações nos estudos de caso-controle, embora não tenham encontrado associação na análise estatística dos estudos de coorte.

Em outro estudo de caso-controle, realizado na Hungria, entre 1985 e 1990, foi encontrado baixo peso ao nascimento²⁹.

Investigações experimentais demonstraram que a exposição pré-natal a esta substância altera os mecanismos embriológicos responsáveis pelo desenvolvimento correto do SNC, causando mudanças neurocomportamentais^{26,30}.

Devido aos relatos de risco de teratogenicidade, este fármaco deve ser evitado no primeiro trimestre de gestação e, por causa da toxicidade neonatal, seu uso no terceiro trimestre também deve ser cauteloso^{26,30,31}.

Duas síndromes neonatais podem ocorrer após o uso prolongado e em altas doses pela gestante. A floppy infant syndrome está associada ao acúmulo do fármaco na circulação fetal e é caracterizada por hipotonia, letargia e dificuldades de sucção, além de hipotermia e depressão respiratória. A síndrome de abstinência está relacionada à abrupta diminuição dos níveis séricos do diazepam no recém-nascido em consequência do parto e caracteriza-se em tremores, irritabilidade, hipertonicidade, diarreia, vômito e sucção vigorosa^{8,32,33}.

Piper methysticum G. Forst (kava-kava) e *Valeriana officinalis* L. (valeriana) são algumas das plantas ansiolíticas que podem estar presentes nos complexos emagrecedores. Não há estudos disponíveis sobre possíveis riscos de kava-kava na gravidez. Entretanto, várias espécies do gênero *Piper* sp. são usadas como abortivas^{34,35}. Já a valeriana, administrada a ratas, não promoveu fetotoxicidade, porém houve retardo na ossificação com altas doses administradas³⁶.

Diuréticos

O emprego de diuréticos na gravidez não é aconselhado porque provoca a depleção do volume sanguíneo, diminuindo a perfusão útero-placentária e, conseqüentemente, prejudica o crescimento e o desenvolvimento fetal. A furosemida, por causar hipocalcemia e alcalose metabólica, resultou em anomalias esqueléticas em ratos. Já a hidroclorotiazida causa várias complicações na mãe e no feto, como desequilíbrio eletrolítico, hiperglicemia e hiperuricemia^{2,37,38}.

Laxantes

Existe a crença de que plantas laxativas, como *Rhamnus purshianus* D.C. (cáscara-sagrada) e *Senna alexandrina* Mill. (sene) contribuem para a perda de peso. Esta perda é conseqüência da diarreia induzida pelo laxante e pode provocar uma grande perda de água e eletrólitos. A cessação do tratamento é seguida pela restauração do peso³⁹. Laxantes estimulantes são contra-indicados na gravidez por possuírem antraquinonas, que estimulam a contratilidade muscular e são citotóxicas^{6,40-42}.

Medicamentos para problemas digestivos e hepáticos

As formulações podem conter plantas que auxiliam na emulsificação dos lipídios, como *Baccharis trimera* (Less) D.C. (carqueja), *Cynara scolymus* L. (alcachofra), *Peumus boldus* Mol. (boldo ou boldo-do-chile) e *Coleus barbatus* B. (falso-boldo).

Não há dados disponíveis sobre o efeito na gravidez da carqueja e da alcachofra. No entanto, o boldo já causou abortos e efeitos teratogênicos em fetos de ratas previamente tratadas⁴³, e o falso-boldo mostrou um efeito anti-implantação em ratas e provocou um atraso no desenvolvimento fetal⁴⁴.

Medicamentos para outros fins

As algas auxiliam no emagrecimento porque suprimem o apetite ao dar uma sensação de plenitude gástrica e ao retardar o esvaziamento gástrico. Além disso, diminuem a absorção de glicídios e lipídios⁴⁵.

O *Fucus vesiculosus* L. é um polissacarídeo de algas rico em iodo. Por isso, interfere na síntese dos hormônios da tireóide do feto, causando hipotireoidismo. O bócio congênito resultante pode obstruir as vias aéreas no período neonatal⁴⁶.

As investigações experimentais sobre a toxicidade reprodutiva da *Spirulina* não indicam efeitos adversos na gestação, inclusive para o feto^{47,48}. Por ter uma composição rica em ferro, pode ser uma boa suplementação nesse período para combater a anemia⁴⁹.

Discussão

O uso de complexos emagrecedores é feito geralmente por mulheres em idade reprodutiva. Como uma grande parte das gestações não é planejada, a mulher, antes de ter conhecimento da sua gravidez, pode expor o embrião a essas substâncias, justamente no período mais crítico do desenvolvimento: até a oitava semana, quando termina a organogênese. As conseqüências podem ser um efeito embriotóxico, a inibição da implantação, o surgimento de malformações e/ou de anomalias. Os efeitos sobre o feto dependem do fármaco, da época de exposição durante a gestação, da frequência e da dose total. Os medicamentos administrados depois da fase de organogênese, ou seja, durante o segundo e terceiro trimestres, portanto, no período fetal, pouco provavelmente produzirão malformações, ainda que alguns possam alterar o crescimento normal dos órgãos e interferir no crescimento e no ganho do peso do feto^{27,50}.

Além disso, para muitos medicamentos incluídos nos complexos não há informações em relação à segurança do seu uso durante a gestação e, para outros, os dados disponíveis são contraditórios. O ideal é evitar qualquer tipo de medicamento, principalmente durante o primeiro trimestre e, em especial, as associações, porque podem potencializar os efeitos adversos sobre o embrião/feto.

As mulheres que fazem uso de complexos emagrecedores, especialmente aquelas em idade reprodutiva, sujeitas a uma gestação não-planejada, devem ser alertadas para os riscos em caso de concepção e devem ser constantemente monitoradas para a ocorrência de uma possível gravidez.

Referências bibliográficas

- Altmeddex Summary. Disponível em: <http://www.thomsonhc.com>
- Drugdex evaluations. Disponível em: <http://www.thomsonhc.com>
- Martindale. The Complete Drug Reference. Disponível em: <http://www.thomsonhc.com>
- PoisonDex Managements. Disponível em: <http://www.thomsonhc.com>
- USP DI Drug Information for the health care professional. Disponível em: <http://www.thomsonhc.com>
- E/S/C/O/P Monographs: The scientific foundation for herbal medicinal products. 2nd ed. Exeter: Escop; 2003.
- Nadvorny S, Wannmacher L. In: Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 886-94.
- Briggs GG, Freeman RK, Yafee SJ. Drugs in pregnancy and lactation: a reference guide to fetal and neonatal risk. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998.
- Peres RM. Drogas psicoativas. In: Sanseverino MTV, Spritzer DT, Schüler-Faccini L. (Org.). Manual de Teratogênese. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS; 2001. p. 127-48.
- Procianoy F. Fórmulas para emagrecimento. In: Sanseverino MTV, Spritzer DT, Schüler-Faccini L. (Org.). Manual de Teratogênese. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS; 2001. p. 291-5.
- Moreira CQ, Faria MJ, Baroneza JE, Oliveira RJ, Moreira EG. Developmental exposure to fenproporex: reproductive and morphological evaluation. Hum Experim Toxicol. 2005; 24(8): 397-402.
- Moreira CQ, Faria MJ, Moreira EG. Behavioral neurotoxicity in adolescent and adult mice exposed to fenproporex during pregnancy. Hum Experim Toxicol. 2005;24(8):403-8.
- Halpern A, Mancini MC. Treatment of obesity: an update on anti-obesity medications. Obes Rev. 2003;4(1):25-42.
- Wisner KL, Gelenberg AJ, Leonard H, Zarin D, Frank E. Pharmacologic treatment of depression during pregnancy. JAMA. 1999;282(13): 1264-69.
- Morrison J, Riggs KW, Rurak DW. Fluoxetine during pregnancy: impact on fetal development. Reprod Fertil Dev. 2005;17(6):641-50.
- Kim J, Riggs KW, Misri S, Kent N, Oberlander TF, Grunau RE, et al. Stereoselective disposition of fluoxetine and norfluoxetine during pregnancy and breast-feeding. Br J Clin Pharmacol. 2005;61(2):155-63.
- Anbu AT, Theodore A. Fluoxetine withdrawal syndrome in the newborn. Indian Pediatr. 2006;43(1):66-9.
- Levinson-Castiel R, Merlob P, Linder N, Sirota L, Klinger G. Neonatal abstinence syndrome after in utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors in term infants. Arch Pediatr Adolesc Med. 2006;160(2):173-6.
- Moses-Kolko EL, Bogen D, Perel J, Bregar A, Uhl K, Levin B, et al. Neonatal signs after in utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors: literature review and implications for clinical applications. JAMA. 2005;293(19):2372-83.
- Rayburn WF, Christensen HD, Gonzales CL. Effect of antenatal exposure to Saint John's wort (Hypericum) on the neurobehavior of developing mice. Am J Obst Gynecol. 2000;183(5):1225-31.
- Rayburn WF, Gonzales CL, Christensen HD, Harkins TL, Kupiec TC. Impact of Hypericum perforatum (St. John's-wort) given prenatally on cognition of mice offspring. Neurotoxicol Teratol. 2001;23(6): 629-37.
- Rayburn WF, Gonzales CL, Christensen HD, Steward JD. Effect of prenatally administered hypericum (St John's wort) on growth and physical maturation of mouse offspring. Am J Obst Gynecol. 2001;184(2):191-5.
- Gregoretti B, Stebel M, Candussio L, Crivellato E, Bartoli F, Decorti G. Toxicity of Hypericum perforatum (St. John's wort) administered during pregnancy and lactation in rats. Toxicol Applied Pharmacol. 2004;200(3):201-5.
- Conover EA. Over-the-counter products: nonprescription medications, nutraceuticals, and herbal agents. Clin Obst Gynecol. 2002;45(1):89-98.
- Christian MS, Brent RL. Teratogen update: evaluation of the reproductive and developmental risks of caffeine. Teratology. 2001;64(1):51-78.
- Cannizzaro E, Martire M, Gagliano M, Plescia F, La Barbera M, Mantia G, et al. Reversal of prenatal diazepam-induced deficit in a spatial-object learning task by brief, periodic maternal separation in adult rats. Behav Brain Res. 2005;161(2):320-30.
- Moore KL, Persaud TVN. Embriologia clínica. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004.
- Dolovich LR, Addis A, Vaillancourt JM, Power JD, Koren G, Einarson TR. Benzodiazepine use in pregnancy and major malformations or oral cleft: meta-analysis of cohort and case-control studies. BMJ. 1998;317(7162):839-43.
- Czeizel AE, Szegal BA, Joffe JM, Rác J. The effect of diazepam and promethazine treatment during pregnancy on the somatic development of human offspring. Neurotoxicol Teratol. 1999;21(2):157-67.
- Nicosia A, Giardina L, Di Leo F, Medico M, Mazzola C, Genazzani AA, et al. Long-lasting behavioral changes induced by pre- or neonatal exposure to diazepam in rats. Eur J Pharmacol. 2003;469(1-3):103-9.

31. Igbal MM, Sobhan T, Aftab SR, Mahmud SZ. Diazepam use during pregnancy: a review of the literature. *Del Med J*. 2002;74(3):127-35.
32. Mcelhatton PR. The effects of benzodiazepine use during pregnancy and lactation. *Reprod Toxicol*. 1994;8(6):461-75.
33. Gonzáles de Dios J, Moya-Benavent M, Carratalá-Marco F. ["Floppy Infant" syndrome in twins secondary to the use of benzodiazepines during pregnancy]. *Rev Neurol*. 1999;29(2):121-3.
34. Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GA, Crane FA, Fong HH. Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. *J Pharm Sci*. 1975;64(4):535-98.
35. Piyachaturawat P, Glinsukon T, Peugvicha P. Postcoital antifertility of piperine. *Contraception*. 1982;26(6):625-33.
36. Tufik S, Fujita K, Seabra Mde L, Lobo LL. Effects of a prolonged administration of valepotriates in rats on the mothers and their offspring. *J Ethnopharmacol*. 1994;41(1-2):39-44.
37. Robertson RT, Minsker DH, Bokelman DL, Durand G, Conquet P. Potassium loss as a causative factor for skeletal malformations in rats produced by indacrinone: a new investigational loop diuretic. *Toxicol Applied Pharmacol*. 1981;60(1):142-50.
38. Moser CM, Procianoy F. Agentes anti-hipertensivos e antiarrítmicos. In: Sanseverino MTV, Spritzer DT, Schüler-Faccini L. (Org.). *Manual de Teratogênese*. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS; 2001. p. 171-88.
39. Müller-Lissner SA, Kamm MA, Scarpignato C, Wald A. Myths and misconceptions about chronic constipation. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(1):232-42.
40. Blumenthal M. The complete German Commission E monographs: therapeutic guide to herbal medicines. Austin: American Botanical Council; 1998.
41. Belew C. Herbs and the childbearing woman. Guidelines for midwives. *J Nurse Midwifery*. 1999;44(3):231-52.
42. Falkenberg MB. Quinonas. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC; 2003. p. 657-84.
43. Almeida ER, Melo AM, Xavier H. Toxicological evaluation of the hydro-alcohol extract of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. *Phytother Res*. 2000;14(2):99-102.
44. Almeida FC, Lemonica IP. The toxic effects of *Coleus barbatu* B. on the different periods of pregnancy in rats. *J Ethnopharmacol*. 2000;73(1-2):53-60.
45. Von Poser GL. Polissacarídeos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC; 2003. p. 497-518.
46. Niebyl JR. *O Uso de drogas na gravidez*. 2.ed. São Paulo: Roca, 1989.
47. Salazar M, Chamorro GA, Salazar S, Steele CE. Effect of spirulina máxima consumption on reproduction on peri- and postnatal development in rats. *Food Chem Toxicol*. 1996;34:353-9.
48. Foster S, Tyler VE. *Tyler's honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies*. 4th ed. New York: The Haworth Herbal Press; 1999.
49. Kapoor R, Mehta U. Supplementary effect of spirulina on hematological status of rats during pregnancy and lactation. *Plant Foods Hum Nutr*. 1998;52(4):315-24.
50. Schüler-Faccini L, Schwartzman L, Cecchin CR. Teratogênese humana e o SIAT. In: Sanseverino MTV, Spritzer DT, Schüler-Faccini L. (Org.). *Manual de Teratogênese*. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS; 2001. p. 11-7.

Recebido em: 13/02/2008

Aprovado para publicação em: 16/06/2008

Células-tronco endometriais: o atual e o futuro

Endometrial stem cells: today and future

Lívia Regina Theilacker¹, Robertson Rodrigues P Junior¹, Ivan Araujo Penna²



O Dr. **Ivan Penna** é médico ginecologista e obstetra, Mestre e Doutor pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Foi bolsista da CAPES, com programa de Doutorado realizado conjuntamente com a Universidade de Yale, nos Estados Unidos. Atualmente, é Professor Adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Valença.

Resumo

Células-tronco são definidas pelas suas propriedades de autoduplicação e de diferenciação em diversos tipos histológicos, sendo que na forma adulta podem ser obtidas a partir da medula óssea e de sítios extramedulares. Recentemente, foi localizado no endométrio um nicho com células pluripotentes que, além de se diferenciar em células endometriais, também se diferencia em outros tipos histológicos. Esta revisão analisa o conceito de célula-tronco, suas particularidades no endométrio e discute o futuro da empregabilidade desses avanços na fisiopatologia das doenças e na proposta de novos tratamentos.

Unitermos: Células-tronco; Endométrio; Infertilidade; Endometriose.

Abstract

Stem cells are defined by their unique capacity for self-renewal and multilineage differentiation. Stem cells have been obtained from multiple extramedullary tissues. Recently, a population of progenitor cells have been identified in the endometrium and a multilineage differentiation of endometrial stem cells has been reported. This narrative review will analyze the stem cell concept, the endometrial characteristics and the importance in the disease and future treatments.

Uniterms: Stem cells; Endometrium; Infertility; Endometriosis.

¹ Graduandos da Faculdade de Medicina de Valença – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

² Professor adjunto de Ginecologia da Faculdade de Medicina de Valença – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Endereço para correspondência: Ivan Araújo Penna – Faculdade de Medicina de Valença – Rua Professor Saldanha, 142 – Jardim Botânico – Rio de Janeiro/RJ – E-mail: pennai@terra.com.br

Introdução

Em um homem adulto, existem cerca de 75 trilhões de células, dentre as quais, encontram-se em torno de 200 tipos celulares distintos, sendo que todos derivam de células precursoras, denominadas células-tronco. O processo de diferenciação, que gera as células especializadas – da pele, dos ossos e cartilagens, do sangue, dos músculos, do sistema nervoso e dos outros órgãos e tecidos humanos –, é regulado em cada caso pela expressão de genes específicos na célula-tronco e por citocinas locais, mas ainda não se sabe em detalhes como isso ocorre e que outros fatores estão envolvidos¹. Um dos grandes desafios da ciência na atualidade é compreender e controlar esse processo.

Nos últimos anos, a literatura médica tem identificado diversos sítios de formação de células-tronco: medula óssea, fígado e cérebro. Recentemente, Taylor² demonstrou a presença de células-tronco derivadas da medula óssea no endométrio. Essa descoberta abre um número ilimitado de possibilidades para o tratamento das mais diferentes patologias em ginecologia.

O presente estudo revisa o conceito de célula-tronco, sua presença no endométrio, assim como propõem novas possibilidades para tal descoberta.

Células-tronco

A célula-tronco típica é o óvulo fertilizado (zigoto). Essa única célula é capaz de gerar todos os tipos celulares existentes em um organismo adulto, até os gametas. A capacidade de gerar um organismo adulto completo a partir de apenas uma célula tem fascinado os biólogos desde a sua descoberta pelo alemão Theodor Schwann, em 1839³.

Já no início do século 20, vários embriologistas, entre eles os alemães Hans Spemann e Jacques Loeb, começaram a decifrar os segredos das células-tronco por meio de experimentos engenhosos com células de embriões. Tais pesquisas revelaram que, quando as duas primeiras células de um embrião de anfíbio são separadas, cada uma é capaz de gerar um girino normal, e que, mesmo após as quatro primeiras divisões celulares de um embrião de anfíbio, o núcleo dessas células embrionárias ainda pode transmitir todas as informações necessárias à formação de girinos completos, se transplantado para uma célula da qual o núcleo tenha sido retirado (célula enucleada)⁴.

As células-tronco têm as seguintes características básicas: são indiferenciadas e têm a capacidade de gerar não só novas células-tronco como grande variedade de células diferenciadas funcionais⁵.

Usando uma classificação quanto o momento de obtenção das células-tronco, pode-se dividi-las em:

- adultas: são encontradas em diversos tecidos do corpo humano, como medula óssea, sangue, fígado, cordão umbilical, placenta e endométrio. Estudos recentes mostram que estas células têm uma limitação na sua capacidade de diferenciação, o que reduz a formação *in vitro* de tecidos a partir delas, e que possuem a mesma idade cronológica do indivíduo adulto, sendo visto pela qualidade dos telômeros das mesmas;
- embrionárias: são encontradas no embrião humano e são classificadas como totipotentes ou pluripotentes, devido à possibilidade de diferenciação em qualquer outra célula.

Dentre todas, as embrionárias são conhecidas há mais tempo, mas nas últimas décadas, descobriu-se que tecidos já diferenciados de organismos adultos conservam essas células precursoras, podendo citar como exemplos o cérebro, a medula, o fígado e, mais recentemente, o endométrio. A capacidade de diferenciação também determina um dos tipos de caracterização das células-tronco:

- totipotentes, que podem produzir todas as células embrionárias e extra-embrionárias;
- pluripotentes, que podem produzir todos os tipos celulares do embrião, menos placenta e anexos;
- multipotentes, que podem produzir células de várias linhagens;
- oligopotentes, que podem produzir células dentro de uma única linhagem;
- unipotentes, que produzem somente um único tipo celular maduro⁵.

Células-tronco adultas

Sabe-se que alguns tecidos de um organismo adulto regeneram-se constantemente. Isso acontece com a pele, com as paredes intestinais e, principalmente, com o sangue e endométrio, que têm suas células destruídas e renovadas constantemente em um complexo finamente regulado processo de proliferação e diferenciação celular.

Os estudos feitos há décadas sobre a hematopoiese, a partir de células-tronco multipotentes, mostraram que elas originam células progressivamente mais diferenciadas e com menor capacidade proliferativa. Essas células-tronco podem gerar as linhagens precursoras mielóide e linfóide, que originam todos os nove tipos celulares presentes no sangue, de hemácias a linfócitos⁶.

É recente a constatação de que, além da pele, do intestino e da medula óssea, o endométrio e outros tecidos e órgãos humanos têm um estoque de células-tronco e uma capacidade limitada de regeneração após lesões. Mais recente ainda é a ideia de que essas células-tronco adultas são não apenas multipotentes, mas também pluripotentes e podem migrar dos nichos formadores para os tecidos alvos (locais de reparação)⁷.

Essa pluripotência foi demonstrada pela primeira vez por Gussoni et al.⁸, que transplantaram a medula óssea de camundongos saudáveis em imunodeficientes com lesões musculares e verificaram que as células-tronco mesenquimais não-hematopoéticas, geneticamente marcadas, e por isso identificáveis como do animal doador, migraram da medula para a área muscular lesada do animal e promoveram a cura.

O trabalho, portanto, estabeleceu duas novas e importantes idéias: de que as células-tronco de medula óssea (células-tronco mesenquimais não-hematopoéticas) podem dar origem a células musculares esqueléticas e que podem migrar da medula para regiões lesadas no músculo.

Um resultado ainda mais surpreendente foi relatado Bjornson et al.⁹, que demonstraram que células-tronco neurais de camundongos adultos podem restaurar as células hematopoéticas. Com isso, introduziram o conceito de plasticidade, em que uma célula tronco-adulta derivada de um tecido altamente diferenciado e com limitada capacidade de proliferação pode seguir um programa de “de-diferenciação” totalmente diverso, se colocada em um ambiente adequado.

A grande maioria dos sistemas e órgãos apresenta uma quantidade de células-tronco multipotentes, localizadas numa pequena porção do tecido, chamadas de nichos. Os nichos são microambientes ideais de oxigenação, temperatura e pH e onde as células-tronco estão em intensa multiplicação com ativação mínima de DNA¹⁰. O processo de mobilização das células a partir do nicho para o local de diferenciação ou de um nicho para outro é chamado homing e é feita por atividade parácrina e não hormonal¹¹. O gatilho mais freqüente para o homing é o dano celular, sendo este resultado de hipóxia, calor ou reagentes químicos. Os principais sinalizadores para o processo são as citocinas: fator estromal derivado 1 (FED-1) e fator regulador de hipóxia-1 (FRH-1)¹².

Não está claro como é desencadeado o processo de homing a partir da medula óssea para o nicho de células-tronco endometriais e daí para a reposição celular, porém um fator determinante para a ativação do processo é o dano celular e/ou tecidual seguido da liberação de citocinas.

Essa pluripotencialidade das células-tronco adultas coloca a questão do uso medicinal dessas células em bases totalmente novas. São eliminadas não só as questões ético-religiosas envolvidas no emprego das células-tronco embrionárias, mas também os problemas de rejeição imunológica, já que células-tronco do próprio paciente adulto podem ser usadas para regenerar seus tecidos ou órgãos lesados.

Endométrio

O endométrio é um dos mais dinâmicos tecidos do corpo humano e seu remodelamento periódico só é comparável ao do

sistema hematopoiético. Sob a influência dos hormônios esteróides ovarianos sofrem profundas mudanças, que vão desde o epitélio glandular endometrial até o sistema microvascular, preparando-se para uma possível implantação embrionária a cada 28 dias¹³.

Caso isso não ocorra, o tecido sofre nova modificação e a menstruação ocorre seis dias depois. A reepitelização começa já com o processo de descamação endometrial e segue-se então a regeneração dos componentes estromais e nova fase proliferativa. As bases moleculares desse dramático processo de remodelação não são bens conhecidos, porém uma das hipóteses é a atuação das células-tronco.

O endométrio apresenta três camadas histologicamente distintas: profunda ou basal; intermediária ou esponjosa; superficial ou compacta. As camadas intermediária e superficial formam a camada funcional do endométrio, desprendendo-se em grande parte por ocasião da menstruação. Já a camada basal não é eliminada e permite a renovação do endométrio para o próximo ciclo menstrual.

Divide-se a camada basal em duas: lamina lúcida, que está adjacente à membrana basal, e a lamina densa, que está localizada abaixo desta e onde se encontra o nicho de células-tronco embrionárias, responsáveis por parte da regeneração do tecido. Esse nicho é um microambiente ideal de oxigenação e pH e está limitado a uma pequena porção da camada basal¹⁰.

Estudos de Schawab, Chan e Gargett¹⁰ e Chan, Schwab e Gargett¹⁴ comprovaram a presença do nicho de células-tronco embrionárias na lâmina densa, e que, sob a influência do fator de crescimento epidérmico, fator alfa de transformação do crescimento e o fator de crescimento derivado das plaquetas BB, esse nicho libera células que se diferenciam em células endometriais estromais e epiteliais independente da fase do ciclo menstrual.

Durante o estabelecimento da gestação por meio do homing, os nichos endometriais favorecem a formação de novos nichos de células-tronco, em especial os localizados na decídua basal e decídua parietal. O líquido amniótico é rico de células-tronco no segundo e terceiro trimestres, sendo estas provenientes tanto do feto como da mãe (decídua) e podem representar a primeira linha de defesa na vigência de uma ruptura prematura de membranas¹⁵.

Células endometriais derivadas de células-tronco de medula óssea

Uma das mais intrigantes constatações sobre a plasticidade das células-tronco não-hematopoética derivadas da medula óssea é a feita por Taylor. Nesse estudo, o autor avaliou biópsias endometriais de quatro pacientes, que, devido à leucemia, receberam doações de medula óssea. Comparou por imuno-

histoquímica, o tipo do HLA das células do tecido biopsiado com a das doadoras e constatou que parte das células endometriais era das doadoras. A maior proporção das doadoras era de células estromais, representando quase 50% do total².

Seguindo o mesmo raciocínio, Du e Taylor¹⁶ repetiram o desenho do estudo anterior em camundongos, porém, dessa vez, testaram a possibilidade de células-tronco da medula óssea de camundongos machos povoarem os nichos endometriais e serem a origem das células diferenciadas endometriais. Para tanto, os autores irradiaram a medula de camundongos fêmeas, realizaram o transplante de medula óssea com machos doadores e, por meio da técnica de FISH observaram que parte das células endometriais possuíam o cromossomo Y. Com esses dados, não só comprovaram o resultado do estudo anterior, como demonstraram que é possível ser formar tecido gênero específico independente do sexo genético.

Pluripotência das células tronco endometriais

Uma vez demonstrada a presença do nicho de células-tronco no endométrio, criou-se a possibilidade desse ser uma fonte extramedular de células pluripotentes, ou seja, que essas células poderiam dar origem a outros tipos histológicos.

Para provar essa teoria, Wolff et al.¹⁷ obtiveram biopsia endometrial de uma paciente no menacme. A partir dessa, realizou-se a cultura das células endometriais em um meio de cultura específico para o desenvolvimento de condrócitos, chamado de meio de cultura condrogênico. Após o período de incubação de 21 dias, as células foram analisadas quanto à presença de marcadores de tecido cartilaginoso como sulfato de glicosaminoglicanas e colágeno do tipo II. Os dados demonstraram claramente a formação de tecido cartilaginoso, provando a teoria da pluripotencialidade.

Implicações das células-tronco endometriais

A descoberta da presença de células pluripotentes no endométrio nos permite criar ilações sobre a fisiopatologia e cura de diversas doenças ginecológicas.

Endometriose

A endometriose é uma das únicas doenças benignas capazes de produzir metástases. Como isso ocorre? Em parte, devido a sua fisiopatologia. Existem inúmeras teorias, sendo que todas convergem para a presença de células endometriais ectópicas. Nesse ponto, o estudo de Taylor com as células-tronco da medula óssea traz à luz a possibilidade de que essas células, quando

na presença de um microambiente adequado, poderiam se diferenciar em células endometriais. Parte dessa ilação já foi esclarecida por Leyendecker et al.¹⁸, quando os mesmos demonstraram que o epitélio ectópico apresenta nichos de células tronco endometriais.

Ablação de endométrio

As técnicas de segunda geração de ablação endometrial destroem entre 3 a 5 mm do endométrio, o suficiente para a remoção da membrana basal. Por isso, deveria ser o suficiente para causar amenorréia; entretanto, apesar de 90% das pacientes submetidas à técnica apresentarem redução do volume menstrual, apenas 50% entra em amenorréia e um número significativo apresenta recidiva nos cinco anos seguintes ao procedimento¹⁹.

Entre as explicações para esse fenômeno estão estudos com muitos baías, variação nas técnicas e possivelmente as células-tronco. A hipótese seria que a destruição da membrana basal do endométrio dispararia um processo de homing em que células-tronco de outros nichos, como medula óssea, repovoariam o local e desenvolveriam um novo endométrio.

Infertilidade

As técnicas de reprodução assistida sofreram grandes avanços nos últimos anos; entretanto, nos melhores casos, as taxas de gravidez raramente superam os 40%. Uma das explicações para essa porcentagem é o processo de implantação criado pela qualidade endometrial. A maioria das alterações endometriais que possam reduzir o sucesso das técnicas é desconhecida, porém outras como aderências endometriais e discordância da datação histológica do endométrio podem ser, no futuro, passíveis de correção com a utilização de células-tronco.

Tratamentos no futuro

Dentre as grandes discussões sobre o uso das células-tronco, está a ética na forma de obtenção das mesmas. Os dados do trabalho de Wolff e Taylor criaram novo horizonte a possibilidade de sua obtenção a partir de endométrio e futuramente da menstruação de células capazes de ser “de-diferenciar” em diversas outras.

Outro ponto importante é de que essas descobertas favoreçam a Medicina Regenerativa. O grande objetivo dessa nova área é restaurar células, tecidos e órgãos perdidos ou lesionados²⁰. A plasticidade inerente às células-tronco, em especial as comprovadamente capazes de se “de-diferenciar” é a base da Medicina Regenerativa moderna, sendo que sua utilização pode ser feita por cinco métodos diferentes:

- implantação local: seria a introdução de células-tronco no local específico e nesse ambiente estas se diferenciariam no tecido lesado;
- transplante sistêmico: o método é semelhante ao realizado no transplante de medula óssea, entretanto, nesse caso, células-tronco provenientes da medula óssea não-hematopoiética seriam introduzidas de forma sistêmica com o intuito de promover a regeneração tecidual. Esse procedimento já foi realizado com sucesso em crianças com osteogênese imperfeita²¹;
- terapia genética em células tronco: as modificações genéticas das células-tronco são atrativas, pois dessa forma, apenas uma célula-tronco modificada pode dar origem a todo um tecido geneticamente diferente. Um exemplo seria formar todo um endométrio a partir de uma célula-tronco onde o gene HOXA10, essencial para a implantação, tenha sido incrementado, favorecendo assim a implantação;
- engenharia tecidual: o conhecimento de que determinado microambiente pode direcionar a diferenciação das células-tronco já utilizadas para, de forma artificial ou *in vitro*, criar tecidos e alguns órgãos a partir dessas células;
- indução do homing: entender, dominar e controlar quais citocinas e quais quantidades são responsáveis pelo processo de homing e diferenciação significará a possibilidade de se promover a regeneração de tecidos, sem a necessidade da fase extra-corpórea e, conseqüentemente, com menores riscos e menos questões éticas²².

As células-tronco já são realidade no cotidiano atual da sociedade. Importantes passos têm sido dados na pesquisa dessas células precursoras, em Ginecologia e Obstetrícia e muito outros ainda virão. As células-tronco provenientes do endométrio podem, em um futuro próximo, tornar-se a fonte mais fácil de obtenção.

Referências bibliográficas

1. Olsson F, Denham M, Cole TJ, Hooper SB, Mollard R. Deriving respiratory cell types from stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2007;2(3):197-208.
2. Taylor HS. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *JAMA*. 2004;7;292(1):81-5.
3. Sander K. On the causation of animal morphogenesis: concepts of German-speaking authors from Theodor Schwann (1839) to Richard Goldschmidt (1927). *Int J Dev Biol*. 1996;40(1):7-20.
4. Loeb J, Wasteneys H. Fertilization of the eggs of various invertebrates by ox-serum. *Science*. 1912;36(921):255-6.
5. Spangrude GJ. Future challenges for hematopoietic stem cell research. *Biotechniques*. 2003;35(6):1273-9.
6. Stroncek DF, Confer DL, Leitman SF. Peripheral blood progenitor cells for HPC transplants involving unrelated donors. *Transfusion*. 2000;40(6):731-41.
7. Karussis D, Kassis I, Kurkalli BG, Slavin S. Immunomodulation and neuroprotection with mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs): a proposed treatment for multiple sclerosis and other neuroimmunological/neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci*. 2008;265(1-2):131-5.
8. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*. 1999;401(6751):390-4.
9. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science*. 1999;283(5401):534-7.
10. Schwab KE, Chan RW, Gargett CE. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril*. 2005;84 Suppl 2:1124-30.
11. Moore KA, Lemischka IR. Stem cells and their niches. *Science*. 2006;311(5769):1880-5.
12. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood*. 2005;106(6):1901-10.
13. Dockery P, Khalid J, Sarani SA, Bulut HE, Warren MA, Li TC, et al. Changes in basement membrane thickness in the human endometrium during the luteal phase of the menstrual cycle. *Hum Reprod Update*. 1998;4(5):486-95.
14. Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod*. 2004;70(6):1738-50.
15. Peng HH, Wang TH, Chao AS, Chang SD. Isolation and differentiation of human mesenchymal stem cells obtained from second trimester amniotic fluid; experiments at Chang Gung Memorial Hospital. *Chang Gung Med J*. 2007;30(5):402-7.
16. Du H, Taylor HS. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem Cells*. 2007;25(8):2082-6.
17. Wolff EF, Wolff AB, Hongling Du, Taylor HS. Demonstration of multipotent stem cells in the adult human endometrium by in vitro chondrogenesis. *Reprod Sci*. 2007;14(6):524-33.
18. Leyendecker G, Herbertz M, Kunz G, Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. *Hum Reprod*. 2002;17(10):2725-36.

19. Banu NS, Manyonda IT. Alternative medical and surgical options to hysterectomy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005;19(3):431-49.
20. Brockes JP, Kumar A. Appendage regeneration in adult vertebrates and implications for regenerative medicine. *Science*. 2005;310(5756):1919-23.
21. Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(13):8932-7.
22. Penna IA, Taylor HS. Bone marrow derived stem cells in the human endometrium. In: Simon C, Pellicer A. *Stem Cells in Reproductive Medicine: Basic Science and Therapeutic Potential*. 1.ed. Oxon, UK: Informa Healthcare; 2006. p. 121-34.

Recebido em: 10/04/2008
Aprovado para publicação: 01/09/2008

Ultra-sonografia na avaliação da reserva ovariana

Ultrasonographic evaluation of ovarian reserve

Raquel Meirelles Gaspar Coelho¹, Wellington de Paula Martins², Francisco Mauad Filho³



A Doutora Raquel Coelho é médica formada pela Universidade da Região de Joinville (Univille), em 2004. Fez residência médica em Ginecologia e Obstetrícia no Hospital Regional da Asa Sul (HRAS), do Distrito Federal. Tem pós-graduação *lato sensu* na área de Ecografia em Ginecologia e Obstetrícia pela Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica Ribeirão Preto (EURP).

Resumo

Os ovários sofrem constantes alterações físicas e funcionais durante o ciclo de vida da mulher. Seu envelhecimento reflete o processo de depleção folicular e a queda na qualidade oocitária, estando diretamente relacionado ao declínio da fertilidade feminina. Na busca de prever alterações ovarianas relacionadas à infertilidade, diversos testes foram desenvolvidos, destacando-se a ultra-sonografia transvaginal, por ser um método não-invasivo, de fácil acesso e de boa acurácia na avaliação da reserva ovariana, quando comparado aos demais. Este artigo tem por objetivo mostrar qual o papel da ultra-sonografia até então, na área de Reprodução Assistida, detalhando como este método pode ser utilizado de diferentes formas na abordagem de pacientes com infertilidade conjugal, auxiliando em seu rastreamento, diagnóstico e tratamento.

Unitermos: Ultra-sonografia; Ultra-sonografia Doppler; Infertilidade.

Abstract

The ovaries are constantly submitted to physical and functional changes, through women's life. It's own aging reflects the process of follicular depletion and the downfall at the oocitary brand, which are directly related to the abatement of the female fertility. Many tests were developed aiming the prediction of ovarian changes related to infertility. Transvaginal ultrasound is non invasive method that shows good accuracy for ovarian reserve evaluation. The objective of this article was to discuss the applications of ultrasonography in the Human Reproduction field nowadays; showing the different possible uses for the infertility evaluation for its screening, diagnosis and treatment.

Uniterms: Ultrasonography; Doppler ultrasonography; Infertility.

¹ Especialista em Ginecologia e Obstetrícia, aluna de Pós-Graduação da Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica de Ribeirão Preto (EURP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil

² Doutor em Ginecologia e Obstetrícia, médico assistente do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), professor da Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica de Ribeirão Preto (EURP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil

³ Doutor em Ginecologia e Obstetrícia, professor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), professor da Escola de Ultra-sonografia e Reciclagem Médica de Ribeirão Preto (EURP) – Ribeirão Preto (SP), Brasil

Endereço para correspondência: Wellington de Paula Martins – Avenida dos Bandeirantes, 3.900, 8º andar – CEP 14090-900 – Ribeirão Preto/SP – E-mail: wpmartins@gmail.com

Introdução

Os ovários são órgãos femininos que sofrem constantes alterações físicas e funcionais durante o ciclo de vida da mulher. Modificações em seu tamanho, volume, pool folicular e em sua função hormonal e reprodutiva são observadas durante o desenvolvimento feminino. A depleção progressiva de folículos primordiais como resultado da atresia e do recrutamento folicular no ciclo ovulatório é um dos mais importantes fatores determinantes da fertilidade feminina¹. Sabendo-se que o envelhecimento ovariano reflete o processo de depleção folicular e o declínio na qualidade oocitária², diversos testes foram desenvolvidos com o intuito de avaliar a reserva ovariana e prever o sucesso de uma estimulação oocitária, ou mesmo seu desfecho³. A redução da reserva ovariana está associada não só ao processo de infertilidade feminina, mas também a capacidade do ovário em responder ao estímulo, com o uso de gonadotrópicos durante os tratamentos de reprodução assistida¹. Sendo assim, a identificação de mulheres com redução de sua reserva folicular permite um aconselhamento pré-tratamento adequado, ou mesmo alterações no protocolo adotado inicialmente, buscando otimizar seu potencial de resposta¹.

Ultra-sonografia transvaginal

Frente aos vários testes hormonais disponíveis atualmente, a ultra-sonografia transvaginal apresenta-se como um método não-invasivo e acurado na avaliação da reserva ovariana, quando comparado aos demais⁴. As variações inter e intra-observador, na aferição do volume ovariano e na contagem de folículos antrais, demonstraram ser pequenas quando utilizada essa técnica, o que a elege como um bom método de avaliação⁵.

Em relação ao volume ovariano, estudos confirmam que sua redução é um sinal precoce de baixa reserva folicular^{6,8}. Um volume ovariano reduzido está relacionado também a uma alta taxa de cancelamento de ciclos induzidos^{2,7}. No entanto, como preditor de resposta estimulatória, sua sensibilidade e especificidade são inferiores à contagem de folículos antrais⁶.

A contagem de folículos antrais (entre 2 e 5 mm) presente na fase folicular inicial representa o pool folicular, podendo ser facilmente avaliada pela ultra-sonografia⁶. Um número reduzido de folículos antrais, como preditor de baixa reserva folicular, surge precocemente à elevação do nível sérico de FSH². Outra grande vantagem desse parâmetro de estudo, em relação aos demais, é a possibilidade de prever uma hiper-resposta ou baixa resposta a um estímulo ovariano. Estudo realizado por Kwee et al.⁶ demonstrou que um número superior a 14 folículos antrais aumenta o risco de uma hiper-resposta, ou mesmo do surgimento da síndrome do hiperestímulo ovariano (SHO).

Ultra-sonografia tridimensional

Recentemente, vários estudos analisando o uso da ultra-sonografia tridimensional vêm sendo realizados com o intuito de demonstrar sua aplicabilidade na área de Reprodução Assistida.

Com esta técnica a avaliação ovariana pode ser abordada de algumas maneiras. O modo multiplanar fornece informações simultâneas do plano longitudinal, transversal e coronal, permitindo a rotação da imagem, e sua avaliação espacial, com consequente abordagem do volume ovariano (Figura 1). O modo Virtual Organ Computer-aided Analysis (VOCAL) utiliza o delineamento manual do córtex ovariano no plano transversal para o cálculo do seu volume (Figura 2). O modo tridimensional invertido é um modo aplicado no VOCAL que permite subtrair o córtex ovariano, para uma visualização única dos folículos antrais (Figura 3)⁹.

Em estudo realizado por Jayaprakasan et al.⁹, ficou demonstrado que a utilização da ultra-sonografia tridimensional na medida do volume ovariano está menos sujeita a uma discordância inter-observador, por mostrar uma imagem mais próxima da real. No entanto, seu uso ainda não é consenso para avaliação dos folículos antrais¹. Quanto à variação desses parâmetros de reserva ovariana entre ciclos menstruais, a contagem dos folículos antrais mostrou ser o mais estável quando comparado ao volume ovariano e ao FSH basal¹. Tendo-se como base que a variação interciclo do número total de folículos antrais é pequena, não parece ser necessária a aferição prévia desse parâmetro antes de cada ciclo de fertilização *in vitro* (FIV), caso os ciclos subsequentes sejam realizados dentro de seis meses do primeiro acesso a este parâmetro¹.

Um estudo publicado em 2007⁹ mostrou que a medida dos folículos antrais pelo método tridimensional acrescenta poucas informações quando comparado ao bidimensional, na predição do número de folículos com tamanho maior ou igual a 10 mm, no número real de oócitos que serão captados e na taxa de não-concepção. Além disso, a técnica tridimensional, no modo inversão, necessita de um tempo maior para sua realização, do que o método bidimensional ou tridimensional modo multiplanar. No entanto, este mesmo estudo mostrou que o modo de inversão tridimensional possibilita uma melhor relação entre número de folículos antrais e número de oócitos captados. Provavelmente devido a uma melhor percepção da imagem, por permitir o isolamento dos mesmos, com atenuação dos erros, principalmente na presença de grande número de folículos.

A contagem de folículos antrais medida por qualquer uma das três metodologias – bidimensional, tridimensional multiplanar ou invertida – parece ser um bom preditor de má-resposta ovariana isolado, com alta sensibilidade e especificidade, com um ponto de corte ótimo entre seis a sete folículos⁹.

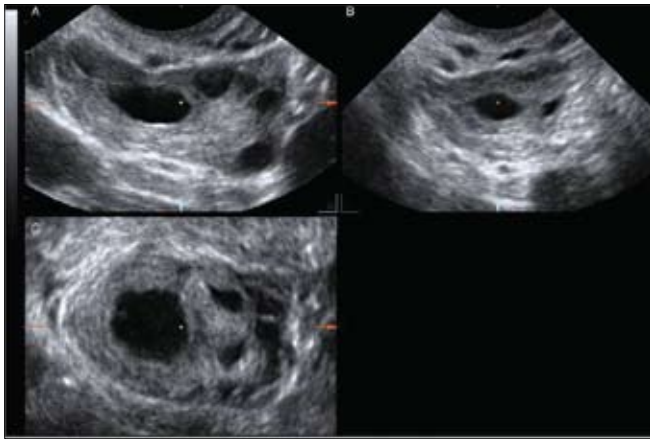


Figura 1 - Ultra-sonografia tridimensional do ovário: modo multiplanar demonstrando três planos de imagens relacionadas: longitudinal (acima e à esquerda); transversal (acima e à direita) e coronal (abaixo e à esquerda). Os pontos amarelos na imagem A, vermelho na imagem B e azul na imagem C correspondem ao mesmo ponto ovariano visto em planos diferentes.

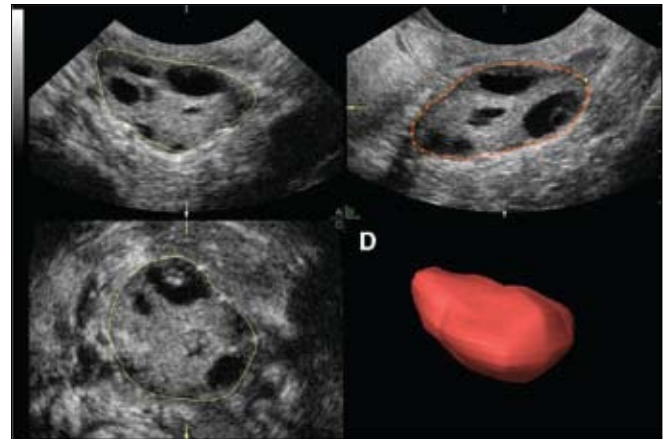


Figura 2 - Ultra-sonografia tridimensional do ovário: modo VOCAL – a medida é realizada no plano B por meio do delineamento manual do córtex ovariano e por meio da rotação em 180° forma-se a imagem tridimensional do ovário (D).

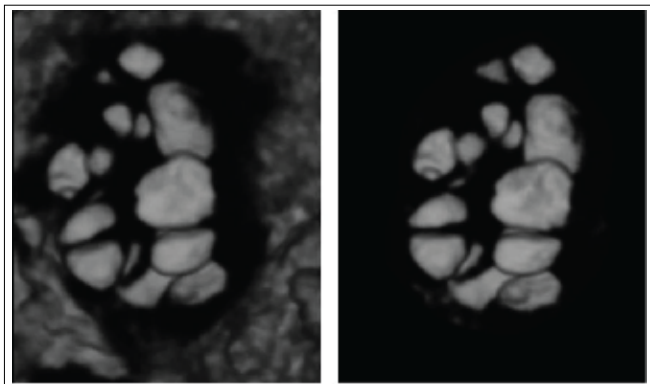


Figura 3 - Ultra-sonografia tridimensional do ovário: modo invertido aplicado sob o modo VOCAL, com demonstração dos folículos antrais.

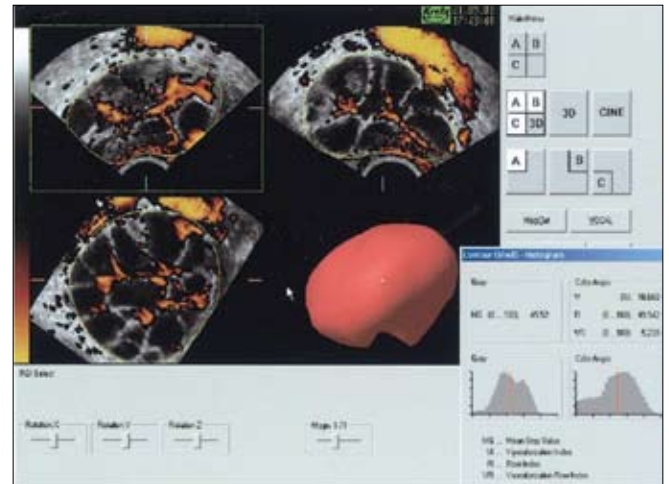


Figura 4 - Ultra-sonografia Doppler: avaliação folicular.

Ultra-sonografia Doppler

Com o conhecimento de que o fluxo sanguíneo folicular surge na fase antral e parece ter um papel importante no crescimento e desenvolvimento do folículo que contém o oócito, e também na qualidade oocitária, alguns estudos^{7, 8, 10} foram realizados com o objetivo de verificar a relação da vascularização folicular e ovariana com a resposta ovariana e o desfecho dos ciclos de FIV.

Utilizando-se da técnica Color Doppler ou Power Doppler (Figura 4) e analisando-se o pico de velocidade sistólica dos folículos individualmente, procura-se prever o número de oócitos captados, o potencial de desenvolvimento oocitário, a qualidade embrionária e a taxa de gestação. Em estudo realizado por Jarvela et al.⁷, ficou demonstrado que um pico de

velocidade sistólica estromal alto ou um índice de resistência baixo, avaliados antes do início da estimulação gonadotrófica, parece estar associado a um número maior de oócitos captados. A estimulação com gonadotrofinas parece induzir alterações na vascularização e no fluxo sanguíneo ovariano, que se relacionam com a contagem de folículos antrais, podendo ter um impacto sob a concepção⁷.

Até o momento não está definido o real papel da ultra-sonografia Doppler na área de Reprodução Assistida. Há os que referem que a avaliação do Doppler após supressão pituitária não parece demonstrar nenhuma informação adicional na predição da resposta estimulatória, durante um ciclo de FIV⁷. E há os que defendem que o método auxilia a análise de resposta ovariana quando associado a outros parâmetros, apresentando significância na predição de oócitos captados⁸.

Considerações finais

A busca por parâmetros que forneçam dados concretos e fidedignos sobre a reserva ovariana não cessam. Estudos recentes avaliaram outras formas de aferição ovariana que possam ser tão ou mais fidedignas quanto o volume ovariano. A medida da maior largura ovariana demonstrou ter uma boa relação com sua reserva, quando comparada com ao seu comprimento ou a média entre comprimento e largura ovarianos⁵. Em uma metanálise, observou-se que, comparando os vários testes preditores da reserva ovariana existentes, usados conjuntamente, com a avaliação isolada do número de folículos antrais, não havia diferença estatística na predição de baixa resposta ovariana, mostrando a superioridade desse método, até então³.

Porém, mesmo sabendo-se que o número total de folículos antrais continua sendo o melhor preditor de resposta ovariana, comparado com idade, níveis de FSH basal e volume ovariano

médio, nenhuma dessas variáveis é capaz de prever a taxa de não-concepção⁹.

É importante perceber que os testes utilizados atualmente para avaliação de reserva ovariana dão informações apenas em relação à quantidade de oócitos, e não em relação à qualidade oocitária¹. Por essa razão, a avaliação de reserva ovariana pré-FIV continua sendo controversa, por ainda não haver um meio de prever a não-concepção¹.

Mesmo com a presença de meios mais refinados capazes de fornecer informações detalhadas da morfologia, ocupação espacial na pelve, ou mesmo sobre a vascularização folicular, ainda não se alcançou uma definição do papel da análise ovariana na área de Reprodução Assistida. O que hoje parece estar bem definido é que, não importando o método ultra-sonográfico utilizado para sua aferição, a contagem de folículos antrais permanece como o melhor parâmetro isolado preditor de reserva ovariana e resposta estimulatória.

Referências bibliográficas

1. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Clewes J, Johnson I, Raine-Fenning N. Establishing the intercycle variability of three-dimensional ultrasonographic predictors of ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2008.
2. Johnson NP, Bagrie EM, Coomarasamy A, Bhattacharya S, Shelling AN, Jessop S, et al. Ovarian reserve tests for predicting fertility outcomes for assisted reproductive technology: the International Systematic Collaboration of Ovarian Reserve Evaluation protocol for a systematic review of ovarian reserve test accuracy. *BJOG*. 2006;113(12):1472-80.
3. 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(2):95-100.
4. 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(4):764-75.
5. Bowen S, Norian J, Santoro N, Pal L. Simple tools for assessment of ovarian reserve (OR): individual ovarian dimensions are reliable predictors of OR. *Fertil Steril*. 2007;88(2):390-5.
6. 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.
7. Jarvela IY, Sladkevicius P, Kelly S, Ojha K, Campbell S, Nargund G. Quantification of ovarian power Doppler signal with three-dimensional ultrasonography to predict response during in vitro fertilization. *Obstet Gynecol*. 2003;102(4):816-22.
8. Merce LT, Barco MJ, Bau S, Troyano JM. Prediction of ovarian response and IVF/ICSI outcome by three-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;132(1):93-100.
9. Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, et al. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment? *Hum Reprod*. 2007;22(7):1932-41.
10. Wu MH, Pan HA, Chang FM. Three-dimensional and power Doppler ultrasonography in infertility and reproductive endocrinology. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2007;46(3):209-14.

Recebido em: 28/03/2008

Aprovado para publicação: 15/08/2008

Efeito vascular do acetato de medroxiprogesterona nas artérias oftálmica e central da retina avaliados pela ultra-sonografia Doppler: ensaio clínico controlado aleatorizado, duplo-cego e controlado com placebo

Medroxyprogesterone acetate vascular effect in retinal and ophthalmic artery evaluated by ultrasound Doppler: randomized clinical trial, triple blinding and placebo controlled

Marco Aurélio Martins de Souza¹, Gustavo Veloso de Souza², Selmo Geber³



O **Doutor Marco Aurélio** é mestre e doutor em Ginecologia e Obstetrícia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). É professor adjunto e preceptor da residência de Ginecologia e Obstetrícia no Hospital Universitário Clemente Faria da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES). É diretor presidente da Clínica SEMESP – Serviços Médicos São Paulo.

Resumo

Objetivo: avaliar os efeitos do acetato de medroxiprogesterona na resistência vascular das artérias oftálmica e central da retina medidos por meio do estudo dopplerfluxométrico. **Material e métodos:** foi realizado ensaio clínico, prospectivo, longitudinal, aleatorizado, controlado com placebo, duplo-cego, com 216 mulheres na menopausa, sendo que 108 utilizaram acetato de medroxiprogesterona (Grupo Estudo) e 108 placebo (Grupo Controle). No Grupo Estudo, das 108 mulheres que iniciaram o estudo, 92 retornaram após 30 dias para a realização do exame e no Grupo Controle retornaram 93. Foram estudadas as artéria oftálmica e central da retina, determinando-se o índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP) e relação sístole/diástole (S/D). As aferições foram feitas antes do início do uso da medicação e 30 dias após seu início. Foi utilizado o teste *t* de Student para amostras independentes na comparação das médias entre os grupos e para amostras dependentes na comparação entre as médias dentro do mesmo grupo. **Resultados:** a comparação das características das mulheres nos dois grupos não mostrou diferenças significantes entre elas, em relação a: idade, tempo de menopausa, índice de massa corpórea, pressão arterial, paridade e frequência cardíaca. O grupo que usou o princípio ativo acetato de medroxiprogesterona apresentou elevação dos IR, IP e S/D, tanto nas artérias oftálmicas como central da retina. No Grupo Controle não houve aumento dos índices avaliados no segundo exame, 30 dias depois. **Conclusões:** o acetato de medroxiprogesterona apresenta efeito na microvascularização cerebral, determinando uma elevação da resistência vascular nas artérias oftálmicas e centrais da retina, medidos por ultrasonografia Doppler.

Unitermos: Progesterona; Artéria oftálmica; Artéria central da retina; Ultra-sonografia Doppler; Terapia de reposição hormonal.

Abstract

Objective: to evaluate the Doppler ultrasound parameter of the ophthalmic artery and central retinal artery after Medroxyprogesterone acetate administration. **Material and methods:** a prospective, longitudinal, randomized, double blind placebo controlled study, with 216 climateric women. A total of 108 patients used medroxyprogesterone acetate (study group) and 108 used placebo (control group). In the study group 92 women completed the study and in the control group 93 women. Ophthalmic and central retinal arteries were evaluated in order to determine the resistance index (RI), pulsatility index (PI) and systole/diastole (S/D) relation. The examination were performed before starting medication and on the 30th day of medication. **Results:** both groups were similar in relation to age, time of menopause, body mass index, blood pressure, parity and cardiac frequency. The study group presented increase of all Doppler flow indexes: RI, PI and S/D of the ophthalmic and central retinal arteries after using medroxiprogesterone acetate. In the control group all indexes were similar after using medication. **Conclusions:** medroxyprogesterone acetate affects cerebral vascularity increasing vascular resistance.

Uniterms: Progesterone; Ophthalmic artery; Central retinal artery; Ultrasonography, Doppler; Hormonal replacement therapy.

¹ Professor adjunto da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes) – Montes Claros (MG), Brasil.

² Acadêmico de Medicina da Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais (FCMMG) – Belo Horizonte (MG), Brasil.

³ Professor-associado do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – Belo Horizonte (MG), Brasil.

Endereço para correspondência: Marco Aurélio Martins de Souza – Avenida Deputado Esteves Rodrigues, 616, sala 203 – Montes Claros/MG – CEP 39400-215 E-mail : marcoams@uai.com.br

Introdução

Os progestagênios são largamente utilizados na prática médica e uma das suas principais indicações é na reposição hormonal do climatério, quando se associa ao estrogênio visando à proteção endometrial. A associação do progestagênio à terapia de reposição hormonal combinada (estrogênio+progestagênio), seja de maneira contínua ou cíclica, tem a finalidade de impedir a hiperplasia e o adenocarcinoma do endométrio¹; são esteróides sexuais, tendo em sua estrutura química o anel comum aos ésteres do colesterol, o cicloperidrofenantreno.

O progestagênio mais usado em reposição hormonal é o acetato de medroxiprogesterona² e tem por nome científico: 17- α -acetoxi-6- α -metilprogesterona-6-ametil-17- α -acetoxi-progesterona. Trata-se de um derivado C 21(C₂₄H₃₄O₄) e, como tal, tem pouca atividade androgênica. Bioquimicamente, age por meio de mecanismos que envolvem a ativação do receptor intranuclear (ação genômica) e também por ações não-genômicas, ao estimular fatores de crescimento e outras substâncias intracelulares.

A progesterona e outros progestagênios, como o acetato de medroxiprogesterona (MPA), diferem nas ações endoteliais. Podem, dependendo da dose, vias de administração e tipo de composto, exercer atividades vasodilatadoras ou constritoras³.

Os progestagênios agem principalmente ao se combinarem com estruturas específicas no núcleo, que são membros da família dos receptores esteróides. Existem duas formas isoméricas dos receptores dos progestagênios: A (PR-A) e B (PR-B). São semelhantes, com exceção de 164 aminoácidos adicionais no término do PR-B. Por esta razão, os dois variam em sua atividade biológica, sendo o PR-B dez vezes mais ativo do que o PR-A⁴. Evidências sugerem que, em decorrência da similaridade receptor-hormônio, 60% dos domínios obrigatórios nas ligações entre os receptores androgênicos incluem ações dos progestagênios, como o MPA, que, por sua vez, pode se ligar em ambos os receptores esteróides.

A presença de receptores progestogênicos nos vasos sanguíneos é relevante, visto ter, além das ações genômicas clássicas, possibilidade de interações com co-fatores, os quais podem condicionar uma resposta vascular ampla, dose-dependente, via de administração dependente, tipo de progestagênio induzido, contrabalançada por fatores antiprogestínicos, etc. Essa ação parece ser dose-dependente, ter o estímulo em tempo prolongado e, também como por meio de progestagênio sintético, pode ter efeito adverso, com proliferação desordenada do endotélio, levando à maior reatividade vascular⁵. O predomínio de ações não-genômicas pode definir o efeito vascular principal dos progestagênios, se eles ocasionam vasodilatação ou vasoconstrição.

A facilidade de acesso aos vasos orbitais, simplicidade de execução, ausência de efeitos adversos e desconforto, além de rapidez no procedimento, tornam o método, utilizado nesse estudo, reprodutível⁶. Ressalta-se que, a microvascularização desse sítio anatômico reflete de maneira confiável os efeitos no sistema nervoso central, pois a artéria oftálmica é ramo direto da artéria carótida interna, e a central da retina, a sua continuação. O que ocorre nesses pequenos vasos pode representar o que ocorre no cérebro.

Algumas observações clínicas indicam ser a progesterona vasodilatadora e os progestagênios sintéticos vasoconstritores, em contraposição aos estudos em animais e *in vitro*, os quais constatarem efeito direto vasodilatador de ambos⁷. Os fatores responsáveis por essas discrepâncias são desconhecidos; podem envolver uma combinação de efeitos genômicos e não-genômicos responsáveis pelas observações clínicas. Talvez os efeitos não-genômicos predominem no laboratório (*in vitro*), sendo, assim, responsáveis pela discrepância no padrão esperado de ações vasculares dos progestagênios.

Material e métodos

Realizou-se estudo longitudinal, de abril de 2003 a 2005, aleatório, duplo-cego, controlado com placebo, contando com a participação de 216 mulheres menopausadas, voluntárias, provenientes do ambulatório de climatério da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), após se inteirarem da pesquisa, dirimirem todas as dúvidas, lerem, discutirem e assinarem o consentimento pós-informado de pesquisa em seres humanos. O projeto foi aprovado pela Comitê de Ética em Pesquisa da instituição.

A seleção das pacientes foi feita baseada nos seguintes critérios de elegibilidade: mulheres híginas, sem uso prévio de medicamentos com potencial efeito vascular, sem uso de medicação hormonal e sem menstruar há pelo menos um ano; com idade mínima de 46 anos e máxima de 65 anos; com exame ultra-sonográfico pélvico indicando endométrio com espessura maior ou igual a 6 mm para indicar o uso do acetato de medroxiprogesterona. De um total de 3.200 mulheres atendidas no ambulatório de climatério da Unimontes, no período de 2001 a 2003, 680 preenchiam esses critérios e 216 aceitaram participar do estudo. Como critérios de retirada foram definidos: não-comparecimento na data marcada para os exames; informação da não-ingestão adequada dos medicamentos; queixa de algum evento adverso aos medicamentos; desistência do termo de concordância ou consentimento.

Assim, do grupo de 216 pacientes que aceitaram, gerou-se duas seqüências de números aleatórios. utilizando-se o programa Excel, associando-as: uma seqüência para as 216 pacientes e

outra sequência associava as duas possibilidades: acetato de medroxiprogesterona (Grupo A) e placebo (Grupo B). A geração das sequências, a entrada no protocolo e a distribuição dos envelopes lacrados contendo o número da paciente bem como qual o medicamento a ser usado ficaram para o último momento da pesquisa e a cargo do pesquisador. A distribuição da medicação bem como o agendamento dos exames ficaram por conta das secretárias do ambulatório. Assim, as pacientes eram orientadas a usar por 30 dias ou o medicamento do lote 021 (MPA) formando o Grupo A ou o placebo, lote 041, formando o Grupo Controle (B).

Antes de iniciar o uso da medicação, as participantes foram submetidas ao estudo doplervelocimétrico das artérias oftálmica e central da retina, na tomada de tempo zero, sempre pela manhã, após 15 minutos de repouso, para diminuir a frequência cardíaca do exercício físico inicial de caminhada até a clínica e padronizar a aferição. Após a obtenção da frequência cardíaca e da pressão arterial, iniciava-se o exame doplervelocimétrico.

O exame foi realizado no período matutino, no horário entre as 8 e 10 horas, para se evitar o viés do ciclo circadiano, pelo mesmo examinador, com o mesmo aparelho: Sonoace 9900 (Medison Co. Seoul, Korea), com o transdutor linear de frequência variável, modelo L5-12IM, para evitar-se viés de variação interobservador e interaparelhos⁹. Uma vez identificado o melhor traçado Doppler, coletavam-se três medidas de cada índice para, em seguida, considerar a média aritmética. A determinação dos índices de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP) e a relação sístole/diástole (SD) eram obtidas manualmente contornando-se todo o traçado das ondas e o software do aparelho definia os valores obtidos, por meio de cálculo automático.

Com relação à técnica, utilizava-se um ângulo de insonação entre 0 e 20° e um volume da amostra igual ou inferior a 2 mm. O ajuste fino da doplervelocimetria era feito com o filtro de 50 Hz e a frequência de repetição de pulso (PRF) entre 1,2 a 6 KHz. A participante sempre ficava em decúbito dorsal. O transdutor era posicionado transversalmente em sua pálpebra superior com os olhos fechados, após a colocação de uma gota de gel. O examinador realizava movimentos no sentido cranial e caudal, a fim de identificar os vasos, mantendo o cuidado para não pressionar o transdutor sobre a pálpebra, o que poderia alterar os resultados doplervelocimétricos obtidos. O tempo médio descrito para a execução do exame foi de dois a três minutos para cada órbita.

A artéria oftálmica era identificada mais profundamente na face temporal da região retrobulbar, sendo possível ver seu cruzamento anterior ao nervo óptico, prosseguindo medialmente em relação ao nervo em sua porção mais superficial. O registro da artéria foi feito sempre no momento do cruzamento com o nervo óptico, onde era obtido um fluxo de maior velocidade, com padrão dicrótico (incisura) na fase de desaceleração, semelhante ao observado na artéria carótida interna (Figura 1).

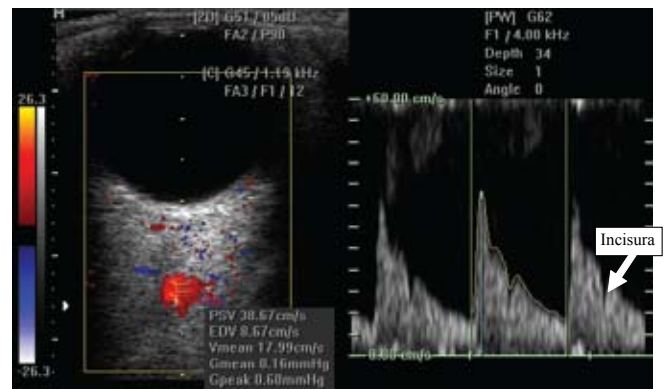


Figura 1 - Representação doplervelométrica da artéria oftálmica.

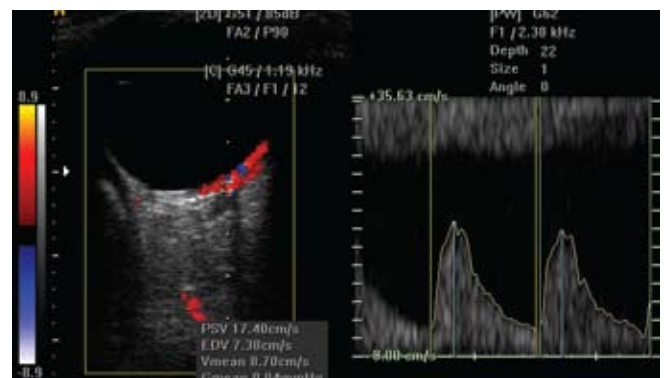


Figura 2 - Representação doplervelométrica da artéria central da retina.

A artéria central da retina era identificada no interior dos 5 mm proximais do nervo óptico e sua onda de velocidade de fluxo mostrava-se pulsátil, com baixas velocidades, sendo necessário, em algumas vezes, reduzir a PRF para obter melhor registro ou usar o Power Doppler. O ponto de amostra foi sempre no mesmo local, o mais próximo possível do disco óptico (Figura 2).

Ressalta-se que, para ambas as artérias, o local de insonação era sempre o mesmo em cada mulher, para evitar viés de medidas por modificação do sítio de estudo doplervelocimétrico. É importante lembrar que o registro pulsátil e positivo da artéria central da retina sempre era acompanhado do registro contínuo e negativo da veia homônima.

Com o propósito de avaliar as diferenças observadas entre as artérias oftálmica direita e esquerda e entre as artérias centrais da retina direita e esquerda, utilizou-se o teste *t* de Student para amostras pareadas (dependentes). Trata-se de um teste paramétrico que tem por objetivo comparar medidas realizadas no mesmo indivíduo. O teste avalia se a diferença média entre as medidas é ou não significativamente diferente de zero, isto é, se existem ou não diferença entre a primeira e a segunda medidas (lado direito e esquerdo).

No intuito de investigar a influência das outras variáveis, como paridade, pressão arterial, idade da menopausa, idade do grupo, utilizou-se o teste *t* de Student para amostras independentes. Ao

considerarem-se os grupos A (MPA) e B (placebo), rejeitou-se a hipótese nula ($H_0: M_1=M_2$), se no Grupo A o valor obtido foi estatisticamente diferente do Grupo B, representado por um valor, no teste *t* de Student, de $p<0,05$ (5%), como ponto de corte para significância, ou seja, nível necessário para rejeição da hipótese.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p<0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

Resultados

No Grupo A, das 108 pacientes que iniciaram o estudo, 92 retornaram após 30 dias para a realização do segundo exame; no Grupo B, 93 retornaram. Foram, portanto, retiradas 16 do Grupo A e 15 do Grupo B. A principal razão de saída no Grupo A foi a dor mamária ($n=10$) e os outros seis em virtude de não terem comparecido na data agendada para o segundo exame, informando que o motivo foi esquecimento ou desistência sem justificativa. No Grupo B, quatro mulheres queixaram dor pélvica e alguns sintomas gastrointestinais como justificativa para o abandono. As restantes ($n=11$) não compareceram na data agendada, sem motivo aparente. Nenhuma, nos dois grupos, apresentou queixas relativa ao exame Doppler.

A idade média no Grupo A foi de $54\pm 6,5$ anos e no Grupo B de $55\pm 6,5$ anos. A idade média da menopausa foi de $47\pm 4,0$ anos no Grupo A e de $48\pm 4,2$ anos no Grupo B. A paridade para o Grupo A foi de 5 ± 2 filhos e no B de 4 ± 3 filhos; a frequência cardíaca de base após o repouso foi de 69 ± 10 batimentos por minuto (bpm) para o Grupo A e de 70 ± 11 bpm no Grupo B. A pressão arterial sistólica apresentou médias de $132\text{ mmHg}\pm 22,4$ no Grupo A e de $135\text{ mmHg}\pm 22,9$ no Grupo B e a diastólica médias de $85\pm 15,1$ no Grupo A e de $84\pm 12,1$ no Grupo B (Tabela 1).

A média do IP na artéria oftálmica no olho direito foi de 1,30 e no olho esquerdo de 1,32 ($p=0,76$); o IR no olho direito foi de 0,70 e no olho esquerdo de 0,72 ($p=0,10$); o S/D da artéria oftálmica para o olho direito foi de 3,39 e para o olho esquerdo de 3,54 ($p=0,08$). As análises da artéria central da retina mostraram médias no olho esquerdo para o IP de 1,15 e no olho direito de 1,09 ($p=0,16$); para o IR no olho esquerdo obteve-se média de 0,72 e no direito 0,70 ($p=0,10$); para o S/D à esquerda 3,09 e à direita 2,82 ($p=0,23$).

Após ter-se demonstrado que as médias nas artérias oftálmicas e centrais da retina não mostravam diferenças significativas entre os dois olhos, utilizou-se então a média de ambos os olhos para as demais análises.

Inicialmente, foram analisados os efeitos da medicação sobre a artéria oftálmica. Os resultados observados quando se mediu o IP das mulheres do Grupo A apresentaram aumento significativo

quando comparado o IP pós-tratamento com o pré-tratamento. Nas mulheres do Grupo B, entretanto, o IP foi semelhante nas duas fases do tratamento. Em relação ao IR, no Grupo A houve aumento significativo no pós-tratamento comparado ao pré-tratamento. No Grupo B, o IR manteve-se semelhante quando avaliado em ambas as fases do tratamento. A análise da S/D mostrou aumento significativo no exame realizado pós-tratamento em relação ao pré-tratamento nas mulheres do Grupo A. Nas participantes do Grupo B, não foi constatada diferença entre as duas fases analisadas (Tabela 2).

Quanto aos resultados obtidos na análise das artérias centrais da retina quando o IP foi avaliado, ele aumentou significativamente no pós-tratamento quando comparado ao pré-tratamento nas mulheres do Grupo A. Em relação ao IR, também foi observado aumento significativo no pós-tratamento, em comparação ao realizado no período pré-tratamento, para as participantes do Grupo A. O mesmo se deu quando da análise da relação S/D, isto é, aumento na relação após o uso da medicação, novamente para as mulheres do Grupo A. Não foram identificadas diferenças entre as duas fases para as participantes do Grupo B em nenhuma das três variáveis analisadas (Tabela 3).

Os resultados demonstram que as mulheres do Grupo A que utilizaram o medicamento do lote 021, isto é, MPA, tiveram modificações nos IR vascular de ambas as artérias estudadas, o que parece aumentar a vasoconstrição. Já as mulheres do Grupo B que usaram o medicamento do lote 041 (placebo) não apresentaram diferenças nos IR vascular, em ambas as artérias estudadas, após o uso da medicação. Quando comparados os dois grupos no final do estudo, não houve diferenças significativas entre as médias dos índices avaliados.

Discussão

O propósito do presente estudo foi avaliar os parâmetros Doppler nos vasos orbitais, descrevendo os possíveis efeitos do MPA nesse sítio. Provavelmente, em condições normais, o que ocorre nesse território vascular pode ser, em parte, transposto para outros vasos cerebrais, em virtude das características anatômicas, pois são ramos diretos e indiretos da carótida interna. A artéria central da retina é anatômica e funcionalmente semelhante aos vasos intracranianos de igual diâmetro. É ramo da artéria oftálmica, que tem sua origem na artéria carótida interna⁸. Utilizando os índices dopplervelocimétricos, observou-se elevação no IR, IP e SD no grupo que usou MPA.

Considerando-se o tempo da medicação, alguns trabalhos na literatura oferecem respaldo de que 30 dias de uso é suficiente para apreciar-se o efeito da intervenção. Chataigneau et al.⁹ examinaram a progesterona natural ou o MPA em ratas ooforectomizadas, estudando o tônus arterial da mesentérica superior. As

cobaias receberam injeção subcutânea diária de progesterona ou de MPA por quatro semanas. A progesterona, administrada em ratas ooforectomizadas por esse período, atenuou as respostas vasoconstritoras observadas ao se usar epinefrina, com provável interação na ação endotelial de produção de óxido nítrico. A medroxiprogesterona não teve este efeito.

Pirhonen et al.¹⁰ investigaram o efeito da TH nas artérias uterinas de 423 mulheres menopausadas com idade entre 58 e 59 anos. Perceberam que em todas aquelas sob terapia hormonal (TH), houve diminuição da resistência vascular, traduzida por menor valor do IP, quando comparadas ao tempo sem a reposição. Essa ação já era observada com 30 dias de tratamento.

Na presente pesquisa, todos os exames foram realizados pelo mesmo examinador, eliminando-se, assim, as chances de variação interobservador. Segundo Mikkonen¹¹, existem diferenças significativas quando os exames são realizados por mais de um examinador, especialmente quando se usam medidas de velocidade (pico sistólico, velocidade diastólica final). Esses índices possuem mais probabilidade de variações em decorrência da calibragem dos ângulos, volume da amostra, posicionamento do local a ser insonado, etc. Esse autor relatou que, ao se usarem as outras medidas de fluxo, tais como IP, IR e S/D, essa variabilidade se reduz, permitindo maior reprodutibilidade do método, o que foi feito neste estudo.

Outro aspecto importante observado na pesquisa foi a padronização do local de amostra tanto para a retiniana quanto para a oftálmica. Todos os exames foram realizados no mesmo local, próximo do disco ótico para a central da retina e logo no início da oftálmica, portanto, foram evitadas modificações que pudessem interferir nos resultados. Além disso, para cada vaso, realizaram-se três medidas consecutivas para as variáveis de interesse, sendo posteriormente tabuladas para efeito de cálculo o valor médio.

Quaranta et al.¹² avaliaram a reprodutibilidade do estudo Doppler dos vasos orbitais entre dois observadores e os resultados sugerem que é uma ferramenta de confiança para a avaliação quantitativa e qualitativa do fluxo arterial nesse compartimento anatômico. Isso permite uma possível confrontação desta pesquisa, por parte de outros, possibilitando a validação científica.

Os dados coletados para a artéria oftálmica e central da retina estão dentro dos valores normais relatados na literatura. Venturini et al.¹³ obtiveram valor médio para o IR na artéria oftálmica de 0,75 e na central da retina de 0,72 e IP médio 1,20±0,19 na oftálmica e 1,12±0,24 na retiniana. No presente estudo, a média do IR na artéria oftálmica foi de 0,74 e na central da retina 0,70 e de IP 1,15 e 1,30, respectivamente. Não existem, até o presente, na literatura, valores abordando a S/D, porém, como são índices correlatos ao IP e IR, se estes estão dentro da média, é de se esperar o mesmo comportamento da outra variável estudada, no caso a relação S/D.

Tabela 1 - Características gerais dos dois grupos de estudo

Variáveis	Grupo A	Grupo B	Valor p
Idade (anos) *	54	55	0,71
Menopausa (anos) *	47	48	0,55
Paridade	5 ± 2	4 ± 3	0,14
Frequência cardíaca (bpm)	69 ± 10	70 ± 11	0,80
PA sistólica (mmHg)	132 ± 22,4	135 ± 22,9	0,39
PA diastólica (mmHg)	85 ± 15,1	84 ± 12,1	0,34

Teste t de Student; valores são média ± desvio-padrão; * = valores são mediana.

Tabela 2 - Distribuição das variáveis doplervelocimétricas nas artérias oftálmicas no grupo usando acetato de medroxiprogesterona e no grupo placebo

Acetato de medroxiprogesterona			
Variáveis	Antes da medicação n= 108	30 dias após n= 94	Valor p
IR	0,71 ± 0,05	0,73 ± 0,07	0,004
IP	1,29 ± 0,22	1,33 ± 0,25	0,04
S/D	3,49 ± 0,77	3,70 ± 0,94	0,015
Placebo			
Variáveis	Antes da medicação n= 108	30 dias após n= 94	Valor p
IR	0,71 ± 0,07	0,72 ± 0,07	0,35
IP	1,34 ± 0,24	1,36 ± 0,26	0,31
S/D	3,51 ± 0,75	3,62 ± 0,92	0,20

Teste t de Student; valores são média ± desvio-padrão; IR= índice de resistência; IP= índice de pulsatilidade; S/D= relação sistole/diástole.

Tabela 3 - Distribuição das variáveis doplervelocimétricas nas artérias centrais da retina no grupo usando acetato de medroxiprogesterona e no grupo placebo

Acetato de medroxiprogesterona			
Variáveis	Antes da medicação n= 108	30 dias após n= 94	Valor p
IR	0,66 ± 0,09	0,69 ± 0,10	0,008
IP	1,15 ± 0,29	1,22 ± 0,32	0,02
S/D	3,09 ± 0,95	3,30 ± 1,07	0,03
Placebo			
Variáveis	Antes da medicação n= 108	30 dias após n= 94	Valor p
IR	0,68 ± 0,10	0,69 ± 0,11	0,65
IP	1,21 ± 0,30	1,22 ± 0,32	0,73
S/D	3,28 ± 1,01	3,38 ± 1,17	0,38

Teste t de Student; valores são média ± desvio-padrão; IR= índice de resistência; IP= índice de pulsatilidade; S/D= relação sistole/diástole.

No meio médico, o trabalho de Viana et al.¹⁴ estudou a circulação orbital e percebeu que o IP varia durante o ciclo, com redução significativa (p=0,037) na fase folicular média, quando comparada com a folicular inicial, manutenção no período periovulatório e, posteriormente, apresentando aumento significativo na fase lútea média, tornando-se comparável ao observado na fase folicular inicial. O estudo postulou redução da resistência

vascular por efeito dos estrogênios e posterior aumento no período que corresponde à maior síntese da progesterona natural.

O estudo do fluxo orbital é importante, pela possibilidade de se inferir a respeito do compartimento cerebral. Isso pode representar um importante avanço na abordagem de síndromes mais complexas, pois, por uma via de mais fácil acesso, em que se estudam as artérias orbitais, poder-se-ia diagnosticar e prever eventos no sistema nervoso central, bem como universalizar ações vasculares (rins, coração, músculo, aparelho digestório, etc.).

A avaliação dos vasos orbitais tem sido usada em anos recentes em um grande número de distúrbios oculares. Atualmente, detectam-se fluxos delicados de baixa impedância e velocidades outrora despercebidas pelos aparelhos. As velocidades que são um requisito para a avaliação quantitativa do fluxo, hoje são aferidas com mais precisão, possibilitando a reprodutibilidade do método. A artéria oftálmica, a artéria e a veia central da retina, a artéria ciliar posterior e a veia oftálmica superior podem facilmente ser identificadas, usando-se a doplervelocimetria colorida¹⁵.

Como características especiais do estudo Doppler do complexo retrobulbar ocular e cerebral, há de se ressaltar a comunicação do sistema carotídeo, artérias oftálmica e central da retina, possibilitando o acesso fácil a esses vasos e prováveis correlações. Por conseguinte, a técnica é passível de reprodutibilidade e os achados que encontrados no presente estudo podem ser confrontados com novas pesquisas.

Chama-se a atenção para o fato de ser o sistema carotídeo a principal fonte de vascularização do encéfalo e, por isso, o estudo da microcirculação orbital, por ser sua continuidade, oferece indícios de que a observação do que acontece nos vasos oculares pode refletir de maneira bastante provável o que acontece dentro do cérebro, e talvez em outros sítios orgânicos. Este é um dos elementos fundamentais desta pesquisa.

Muitos conceitos modificaram-se recentemente, em virtude de novos parâmetros definidos por ensaios clínicos com metodologia adequada e grande amostra. Um deles, de maior impacto, foi o WHI, interrompido precocemente em 5,2 anos, em decorrência do risco de câncer de mama. Isso pode ter prejudicado os benefícios em longo prazo que poderiam ter sido demonstrados e que, se analisados por este lado, talvez compensassem os riscos da TH.

Existe clara necessidade de se ter respostas a várias indagações que se tornaram patentes com a divulgação dos ensaios clínicos randomizados (HERS I, II e WHI), contrários aos dados observacionais e ao que era paradigma na TH. As indicações específicas para iniciar e continuar a TH e a informação sobre os riscos reais e não apenas dos riscos relativos são uma alternativa equilibrada. As indicações para a TH não mudaram: sintomas vasomotores acentuados e atrofia urogenital¹⁶. O esquema contínuo de CEE+MPA parece ter mais riscos do que benefícios para a maioria das

mulheres. Estudos que permitam compreender melhor cada um desses compostos são promissores para melhor entendimento de toda a complexidade de ações dos hormônios no corpo humano.

A escolha de mulheres menopausadas na presente pesquisa teve o intuito de averiguar especificamente o efeito do hormônio que seria ministrado (MPA), afastando-se a possibilidade de interferência do estrogênio endógeno.

Poucos estudos na literatura avaliam alterações do fluxo vascular orbital nas mulheres pós-menopausa em função dos hormônios e nenhum deles investigou a medroxiprogesterona. Altintas et al.¹⁷ preconizaram que a menopausa ocasiona alterações importantes no globo ocular, quando se comparam mulheres em menacme. Estudando pessoas saudáveis de 40 a 50 anos, puderam observar que quanto maior o hipogonadismo, maior a resistência no fluxo dos vasos orbitais e maior a sensibilidade a substâncias vasoconstritoras. Ao iniciar a TH, provavelmente por ação do estrogênio, havia nítido decréscimo da resistência vascular. O fato de a pesquisa ter sido realizada com mulheres na menopausa e em hipogonadismo possibilitou a comparação homogênea entre os grupos.

Como o presente estudo sugere que o MPA eleva sutilmente os IR nos vasos da artéria central da retina e da artéria oftálmica, esse fato merece maiores investigações para melhor avaliar riscos/benefícios do seu uso na TH. A prevenção de doenças pode significar oportunidades inegáveis de melhoria de vida das usuárias e, pelo lado da indústria farmacêutica, de explorar novos mercados. A TH mostra que as intenções baseadas na plausibilidade biológica são boas, porém, os níveis de evidência dos estudos experimentais são mais fortes. As mulheres com sintomas menopausais têm de fazer opções e cabe aos médicos, cada vez mais, individualizar as decisões terapêuticas e expor os resultados, trazendo a opinião delas para discussão e opção de tratamento. Hoje, uma análise dos benefícios clínicos deve ser prioritária e levar à introspecção, em que se deve contrabalançar o futuro risco.

Existem diferenças nas ações vasculares entre os diversos tipos de progestagênios. De maneira geral, vários autores postulam ser a progesterona natural vasodilatadora, enquanto algumas sintéticas, como o MPA, são vasoconstritoras. Os mecanismos envolvidos nessas diferenças extrapolam a mediação genômica, antagonismo natural ao estrogênio (vasodilatador), passando provavelmente a envolver ações parácrinas/autócrinas, com a participação de fatores de crescimento (IGF, TGF, EGF, etc.) e outras substâncias vasoativas.

O efeito vascular do MPA pode ser explicado, em parte, por ter ação antagonista aos efeitos estrogênicos. O estrogênio induz o aumento na resposta do progestagênio ao promover elevação na concentração de receptores progestínicos intracelulares (A e B) e, por outro lado, a progesterona diminui parcialmente a ação estrogênica em tecidos alvos ao inibir a síntese de novos receptores a

partir do bloqueio do mecanismo de reabastecimento intracelular. Outra situação na qual a progesterona exerce seu efeito antiestrogênio é acelerando a recaptação dos receptores já existentes, ao estimular a síntese da enzima 17-OH esteróide-diidrogenase e sulfotransferase, que converte o forte estradiol em sulfato de estrona que, por sua vez, é eliminado da célula¹⁸. Além disso, a partir de recurso genômico, a progesterona inibe a expressão do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) induzido pelo estrogênio.

A progesterona, em níveis fisiológicos, inibe a incorporação da 3-timidina (medida da síntese do DNA) em cultura *in vitro* de células do músculo liso, tanto na espécie humana quanto em animais

de experimentação. A confirmação de que a progesterona inibe a proliferação de células do músculo liso da aorta foi demonstrada em animais de laboratório, sendo esse efeito anulado após a administração do RU486, antagonista do receptor da progesterona¹⁹.

A presente pesquisa oferece novos dados sobre a ação endotelial dos hormônios usados na prática médica e espera-se contribuir com este tema para que novas propostas e estudos definam com mais clareza o papel do MPA no rol da terapia de reposição hormonal e contracepção, bem como suas ações nos vasos orbitais e cerebrais. O MPA determina uma elevação na resistência vascular das artérias central da retina e oftálmica.

Referências bibliográficas

- Whitehead MI, McQueen J, Minardi J, Campbell S. Clinical considerations in the management of the menopause: the endometrium. *Postgrad Med J*. 1978;54 Suppl 2:69-73.
- Gabriel SR, Carmona L, Roque M, Sánchez GL, Bonfill X. Hormone replacement therapy for preventing cardiovascular disease in post-menopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;18(2):CD002229.
- Otsuki M, Saito H, Xu X, Sumitani S, Kouhara H, Kishimoto T, et al. Progesterone, but not medroxyprogesterone, inhibits vascular cell adhesion molecule-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:243-8.
- Wiegatz I, Kuhl H. Metabolic and clinical effects of progestogens. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2006;11(3):153-61.
- Vázquez F, Rodríguez-Manzanique JC, Lydon JP, Edwards DP, O'Malley BW, Iruela-Arispe ML. Progesterone regulates proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem*. 1999;274(4):2185-92.
- Bergès O, Koskas P, Lafitte F, Piekarski JD. [Sonography of the eye and orbit with a multipurpose ultrasound unit]. *J Radiol*. 2006;87(4 Pt 1):345-53.
- Delorme S, Weisser G, Zuna I, Fein M, Lorenz A, van Kaick G. Quantitative characterization of color Doppler images: reproducibility, accuracy, and limitations. *J Clin Ultrasound*. 1995;23(9):537-50.
- Fujioka S, Karashima K, Nakagawa H, Saito Y, Nishikawa N. Classification of ophthalmic artery flow in patients with occlusive carotid artery disease. *Jpn J Ophthalmol*. 2006;50(3):224-8.
- Chataigneau T, Zerr M, Chataigneau M, Hudlett F, Hirn C, Pernot F, et al. Chronic treatment with progesterone but not medroxyprogesterone acetate restores the endothelial control of vascular tone in the mesenteric artery of ovariectomized rats. *Menopause*. 2004;11(3):255-63.
- Pirhonen JP, Vuento MH, Mäkinen JJ, Salmi TA. Long-term effects of hormone replacement therapy on the uterus and on uterine circulation. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168(2):620-30.
- Mikkonen R. Incidence and risk factors for delayed allergy-like reactions to X-ray contrast media in adult and pediatric populations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 1998;1 Suppl 1:S11-5.
- Quaranta L, Harris A, Donato F, Cassamali M, Semeraro F, Nascimbeni G, et al. Color Doppler imaging of ophthalmic artery blood flow velocity: a study of repeatability and agreement. *Ophthalmology*. 1997;104(4):653-8.
- Venturini M, Zaganelli E, Angeli E, Castrucci M, Pierro L, Salvioni M, et al. [Ocular color Doppler echography: the examination technic, identification and flowmetry of the orbital vessels]. *Radiol Med*. 1996;91(1-2):60-5.
- Viana LC, Burman MAC, Sampaio M, Geber S. Variação do fluxo da artéria central da retina durante as diferentes fases do ciclo menstrual ovulatório. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007; 29(3): 147-52.
- Németh J, Knézy K, Tapasztó B, Kovács R, Harkányi Z. Different autoregulation response to dynamic exercise in ophthalmic and central retinal arteries: a color Doppler study in healthy subjects. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002;240(10):835-40.
- Speroff L. A clinician's review of the WHI-related literature. *Int J Fertil Womens Med*. 2004;49(6):252-67.
- Altıntaş O, Caglar Y, Yüksel N, Demirci A, Karabaş L. The effects of menopause and hormone replacement therapy on quality and quantity of tear, intraocular pressure and ocular blood flow. *Ophthalmologica*. 2004;218(2):120-9.
- Falany JL, Falany CN. Regulation of estrogen sulfotransferase in human endometrial adenocarcinoma cells by progesterone. *Endocrinology*. 1996;137(4):1395-401.
- Lee WS, Harder JA, Yoshizumi M, Lee ME, Haber E. Progesterone inhibits arterial smooth muscle cell proliferation. *Nat Med*. 1997;3(9):1005-8.

Recebido em: 17/04/2008

Aprovado para publicação: 17/07/2008

Ação toxicológica da lidocaína na motilidade espermática e na fecundação do ouriço-do-mar

Toxicological action of lidocaine in the sperm motility and fertilization of sea urchin

Zenaldo Porfírio¹, Valter Alvino²



O Professor **Zenaldo Porfírio** é mestre em Microbiologia pela Universidade Estadual de Londrina (UEL) e doutor em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo (USP). É professor adjunto da Universidade Federal de Alagoas (Ufal) e da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL), diretor do Centro de Patologia e Medicina Laboratorial e Coordenador do Laboratório de Microbiologia Aplicada da UNCISAL.

Resumo

Objetivo: o objetivo do presente estudo foi analisar a ação toxicológica para a lidocaína, usando como modelo os gametas de ouriço-do-mar.

Material e métodos: os ouriços da espécie *Arbacia lixula* foram coletados e levados ao laboratório, onde foram extraídos os espermatozóides e os óvulos. Foram adicionadas dosagens de 5, 10, 20, 30, 40 e 50% de lidocaína aos espermatozóides ativados e monitorou-se a motilidade. Os óvulos foram colocados em contato com a solução de lidocaína nas concentrações de 10, 30 e 50% e em seguida foram postos juntos aos espermatozóides ativados. **Resultados:** a lidocaína paralisou os espermatozóides imediatamente depois de adicionada em doses iguais e acima de 20%, e ainda mostrou-se gametotóxica para os óvulos de ouriço-do-mar na dose de 50%. **Conclusões:** a dosagem de lidocaína esteve diretamente relacionada com a toxicidade, e tanto os espermatozóides quanto os óvulos sofreram influência dessa toxicidade.

Unitermos: Lidocaína; Ouriços do mar; Motilidade espermática.

Abstract

Objective: the purpose of this study was to evaluate the toxicological action of lidocaine using the gametes of sea urchin. **Material and methods:** the urchins of specie *Arbacia lixula* were collected and taken to laboratory to extract the sperms and eggs. Doses of 5, 10, 20, 30, 40 and 50% of lidocaine were added in the active sperms and they were monitored by their motility. The eggs were put in touch with a solution of lidocaine in concentrations of 10, 30 and 50% after that they were placed next to the active sperms. **Results:** the lidocaine stopped the sperms immediately after the addition of doses of 20% and more, but it showed toxicity to eggs of sea urchin in dose of 50%. **Conclusions:** the dose of lidocaine was directly related with toxicity and both the sperms and the eggs were influenced by that toxicity.

Uniterms: Lidocaine; Sea urchin; Motility.

¹ Professor adjunto da Universidade Federal de Alagoas (Ufal) e Universidade Estadual de Ciências da Saúde (Uncisal), Laboratório de Microbiologia – Maceió (AL), Brasil.

² Farmacêutico-bioquímico, especialista em Microbiologia Clínica Hospitalar da Universidade Estadual de Ciências da Saúde (Uncisal), Laboratório de Microbiologia – Maceió (AL), Brasil.

Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Ciências da Saúde (Uncisal) – Rua Jorge de Lima, 113 – Trapiche da Barra – CEP 57010-300 – Maceió/AL – E-mail: porfírio@fapeal.br / microhospitalar@hotmail.com

Introdução

Nas últimas décadas, observou-se um grande número de casos de infertilidade humana. Dentre essas causas, a masculina constitui até 50% dos casos e caracteriza-se pelas alterações na motilidade e na morfologia dos espermatozóides, principalmente pelo uso de algumas drogas¹⁻⁵.

Reddy, Sahani e Meherji⁶ relataram que, em humanos, quando algumas drogas são aplicadas no canal vaginal antes das relações sexuais, há perda da motilidade dos espermatozóides, com conseqüente incapacidade de fecundação pelos mesmos, o que ratifica o poder espermicida que algumas drogas possuem.

A lidocaína, um anestésico local que obstrui a atividade dos canais iônicos, foi relatada como inibidora da motilidade dos espermatozóides, porém essa atividade não está bem estabelecida^{7,8}.

Os equinodermos constituem um grupo que continua a desempenhar um papel importante nos estudos de embriologia e biologia celular, particularmente porque oferecem certo número de vantagens, entre outras: podem ser obtidos em grande número no litoral brasileiro, seus gametas são facilmente obtidos e visualizados em microscópio óptico e seus óvulos são facilmente fertilizados e, quando fecundados ao mesmo tempo, apresentam um período de clivagem em que se dividem sincronicamente⁹.

O objetivo do presente estudo foi analisar a ação toxicológica para a lidocaína, usando como modelo os gametas de ouriço-do-mar.

Material e métodos

Coleta do ouriço-do-mar

Os ouriços-do-mar da espécie *Arbacia lixula* foram coletados próximo aos recifes da praia de Ponta Verde, na cidade de Maceió, Alagoas, nos períodos de maré baixa. Foram levados ao Laboratório de Microbiologia Aplicada (Lama), da Universidade Estadual de Ciências da Saúde (Uncisal), e mantidos em aquários de fluxo de água até a hora da extração dos gametas sexuais.

Obtenção dos gametas

No laboratório, os animais retirados do aquário foram lavados em água corrente para retirar possíveis impurezas existentes nos gonósporos. Os ouriços foram apoiados sobre uma bancada, com a região peribucal voltada para cima, na qual injetou-se 2,5 mL de cloreto de potássio (KCl) a 0,5 M ao redor dessa região. Isto provocou a eliminação dos gametas após alguns minutos.

Os espermatozóides identificados pela cor esbranquiçada foram coletados com pipeta Pasteur e colocados em tubo de ensaio

sem haver contato com água do mar para evitar a conseqüente ativação. Os óvulos, caracterizados pela cor alaranjada, foram acondicionados em recipiente Becker de 40 mL.

Teste com lidocaína injetável 2%

Para a realização dessa análise, 20 µL de sêmen foi diluída em 10 mL de água do mar filtrada, ativando os gametas. Em seguida, foram adicionadas dosagens de 5, 10, 20, 30, 40 e 50% de lidocaína aos tubos contendo os espermatozóides ativos. Monitorou-se a motilidade espermática, observando com quanto tempo os gametas eram totalmente inativados, e em seguida foram quantificadas em câmara de Neubauer as células espermáticas presentes na amostra.

Teste de fertilização

Foram colocado 10 µL de óvulos em contato com 1 mL de solução de lidocaína nas concentrações de 10, 30 e 50%, deixando-os nessas soluções por 15 minutos. Em seguida, os óvulos foram lavados com água do mar e foi adicionado 10 µL de espermatozóides ativados em 10 mL de água do mar para possibilitar a fecundação. Após decorrer uma hora em que os espermatozóides mantiveram contato com os óvulos, foi realizada a contagem em câmara de Neubauer dos óvulos fecundados.

Resultados

A lidocaína paralisou os espermatozóides imediatamente depois de adicionada em doses iguais e acima de 20% (Tabela 1). Nas doses de 5% e 10%, a lidocaína também conseguiu paralisar as células espermáticas, entretanto necessitou de um tempo igual ou superior a três minutos, conforme a Tabela 1.

De acordo com os dados apresentados, o número de células espermáticas é fator determinante no tempo de paralisação da motilidade. Na dose de 10%, houve paralisação dos espermatozóides em 1 minuto e 37 segundos, utilizando 2.217/0,9 mm³ de células; com a elevação do número de células para 4.860/0,9 mm³, um pouco mais que o dobro em relação ou primeiro, o tempo necessário para que houvesse completa paralisação subiu para 5 minutos e 47 segundos, mais que triplicando; e elevando-se o número células espermáticas para 12.960/0,9 mm³, quase seis vezes mais que utilizado no primeiro experimento, o tempo de paralisação foi de 15 minutos, um pouco mais que nove vezes. Assim, pode-se ter como tempo médio de paralisação dos espermatozóides 7 minutos e 28 segundos (Tabela 2). Para as doses seguintes de 30 e 50%, os resultados obtidos seguiram a razão observada na dose de 10%, o que mostrou que o tempo de paralisação da motilidade

Tabela 1 - Perfil toxicológico da lidocaína injetável 2% frente às células espermáticas

Dose	Tempo de paralisação	Número de espermatozoides	Desvio padrão do tempo
5%	11 min.	2.592/0,9 mm ³	2 min. 30 seg.
10%	3 min.	2.580/0,9 mm ³	1 min.
20%	imediato	2.313/0,9 mm ³	0
30%	imediato	2.217/0,9 mm ³	0
40%	imediato	2.417/0,9 mm ³	0
50%	imediato	2.103/0,9 mm ³	0

é inversamente proporcional a dosagem da lidocaína, como mostra a Tabela 2.

A lidocaína mostrou ser gametotóxica para os óvulos de ouriço-do-mar na dose de 50%, onde não se observou nenhum óvulo fecundado. Já na dose de 10%, 1% dos óvulos foi fecundado e na dose de 30%, observou-se 0,1% de óvulos fecundados (Tabela 3).

Discussão

A motilidade é um dos principais fatores para que ocorra a fecundação. Os bloqueadores de canais de cálcio são um grupo de agentes químicos que podem prejudicar a motilidade dos espermatozoides, obstruindo os canais de íon (cálcio) ou alterando propriedades da membrana dos espermatozoides¹⁰.

No Brasil, a prevalência de uso dos métodos anticoncepcionais é alta, porém concentrada na esterilização tubária e na pílula anticoncepcional, utilizadas por 40 e 21% das mulheres, respectivamente¹¹. Isso tem levado à discussão por diferentes métodos anticoncepcionais¹²; os anestésicos locais são fármacos que bloqueiam, de forma reversível, os canais de sódio da membrana celular¹³; a lidocaína, anestésico do grupo aminoamida, muito utilizada em decorrência de seu rápido início de ação, sua potência e seu moderado tempo de ação¹⁴, mostrou efeito gametotóxico sobre os espermatozoides do ouriço-do-mar, o que poderá ser usado futuramente como espermicida em métodos anticoncepcionais de barreira.

Estudos indicam que a velocidade e o número de espermatozoides com motilidade estão diretamente relacionados com a taxa de fertilização^{3,15,16}. Os resultados do presente estudo mostraram que a atividade locomotora das células espermáticas foi afetada pelo anestésico e sua atividade foi gradativamente

Tabela 2 - Comparativo da toxicidade da lidocaína injetável em função do número de espermatozoides

Dose	Número de espermatozoides	Tempo de paralisação
10%	2.217/0,9 mm ³	1 min. e 37 seg.
	4.860/0,9 mm ³	5 min. e 47 seg.
	12.960/0,9 mm ³	15 min.
Média	6.679/0,9 mm ³	7 min. e 28 seg.
30%	2.217/0,9 mm ³	imediato
	4.860/0,9 mm ³	29 seg.
	12.960/0,9 mm ³	1 min. e 14 seg.
Média	6.679/0,9 mm ³	34 seg.
50%	2.217/0,9 mm ³	Imediato
	4.860/0,9 mm ³	Imediato
	12.960/0,9 mm ³	45 seg.
Média	6.679/0,9 mm ³	15 seg.
Controle	6.979/0,9 mm ³	24 horas

Tabela 3 - Perfil toxicológico da lidocaína injetável 2% frente à capacidade de fecundação dos óvulos de ouriço-do-mar

Dose	Óvulos fecundados
10%	1%
30%	0,1%
50%	0%

reduzida a medida que a dosagem era aumentada. Esses dados caracterizam a viabilidade celular e indiretamente determinam a qualidade espermática, oferecendo informação para a fisiologia espermática e para as formas de conservação, dados também observados no trabalho feito por Gadea¹⁷.

A dinâmica espermática não é suficiente para determinar a capacidade de fertilização¹⁸. Os dados gerados com os experimentos usando os óvulos do ouriço-do-mar demonstraram que a dosagem de lidocaína foi inversamente proporcional a taxa de fecundação, na qual se observou apenas 1% de atividade na concentração de 10% do anestésico, ao decorrer de uma hora de exposição. Desta forma, o número e a resistência dos gametas aos produtos químicos veiculados em preparações terapêuticas, como géis, cremes e spray, deveriam ser testados antes do uso de quaisquer produtos que venham a causar esterilidade nos seres, tanto em animais como no homem. Assim, pode-se ter como modelo para testes os gametas de ouriço-do-mar e afirmar que a lidocaína se mostrou tóxica para os gametas sexuais, os óvulos e os espermatozoides do ouriço-do-mar, da mesma forma que deve haver uma padronização de métodos para determinar a atividade de novas drogas com potencial anestésico.

Referências bibliográficas

1. Sanz E, Avila LM, Gaitán P, Escobar M, Santos AM, Fernández A, Alberto J, Madero JI. importancia de las glándulas sexuales accesorias en el eculado. Medfertil. 1999;127:28-75.
2. Yanagimachi R. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. Zygote. 1994;2(4):371-2.
3. Birkhead T, Martínez JG, Burke T, Froman D. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. Proc Biol Sci. 1999;266(1430):1759-64.
4. Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S. Effects of medical therapy, alcohol, smoking and endocrine

- disruptors on male infertility. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 2004;59(6):375-82.
5. Zambelli D, Cunto M, Prati F, Merlo B. Effects of ketamine or medetomidine administration on quality of electroejaculated sperm and on sperm flow in the domestic cat. *Theriogenology*. 2007;68(5):796-803.
 6. Reddy KV, Shahani KS, Meherji KP. Spermicidal activity of Magainins: in vitro and in vivo studies. *Contraception*. 1996;53(4):205-10.
 7. Bennett SJ, Bolton V, Parsons J. The effects of lignocaine on human sperm motility. *J Assist Reprod Genet*. 1992;9(3):271-3.
 8. Hong CY, Wu P, Shieh CC, Chiang BN. Membrane stabilising activity and inhibition of human sperm motility. *Lancet*. 1986;2(8503):402.
 9. Briggs E, Wessel GM. In the beginning...animal fertilization and sea urchin development. *Dev Biol*. 2006;300(1):15-26.
 10. Wood BL, Doncel GF, Reddy PR, Sokal DC. Effect of diltiazem and methylene blue on human sperm motility, viability and cervical mucus penetration: potential use as vas irrigants at the time of vasectomy. *Contraception* 2003;67(3):241-5.
 11. Duarte GA. *Contracepção e aborto: perspectiva masculina* (dissertação de mestrado). São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2000.
 12. Espejo XC. *Variáveis associadas ao conhecimento em relação a métodos anticoncepcionais entre mulheres* (dissertação de mestrado). São Paulo: Escola de Enfermagem da USP; 2001.
 13. De Jong RH. Local anesthetic pharmacology. In: Brown DL. *Regional anesthesia and analgesia*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 124-42.
 14. Veering BT. Local anesthetics. In: Brown DL. *Regional anesthesia and analgesia*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 188-207.
 15. Gist DH, Turner TW, Congdon JD. Chemical and thermal effects on the viability and motility of spermatozoa from the turtle epididymus. *J Reprod Fertil*. 2000;119(2):271-7.
 16. Froman DP, Feltmann AJ, Rhoads ML, Kirby JD. Sperm mobility: A primary determinant of fertility in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Biol Reprod*. 1999;61(2):400-5.
 17. Gadea J. La evaluación de la capacidad fecundante de los espermatozoides porcinos mediante la fecundación in vitro (Revisión). *Investigación Agraria, Serie: Producción y Sanidad Animal* 2001;16:63-77.
 18. Urdiales R. Contrastación seminal. *Cunicultura* 2002;1:394-9.

Recebido em: 01/04/2008

Aprovado para publicação: 08/07/2008

Consentimento livre e informado na criopreservação de gametas: visão bioética

Informed consent for gametes cryopreservation: a bioethical view

Affonso Renato Meira



O **Professor Meira** é formado em Medicina pela Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp-EPM), em 1955. Possui pós-graduação em Ciências Sociais pela Fundação Escola de Sociologia e Política de São Paulo (FESPSP), em 1964. É Doutor pela Universidade de São Paulo (USP), em 1965, Fellow da Milbank Faculty, em 1967 e tem pós-doutoramento pela University of Kentucky, Medical School, em 1968/69. Foi Livre docente em 1986 e, depois, professor titular do Departamento de Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), em 1990. É professor emérito da FMUSP e membro da Academia de Medicina de São Paulo e sócio-fundador da Sociedade Brasileira de Bioética.

Resumo

A criopreservação de gametas recebe uma preocupação ética, no entanto, os artigos 67 e 68, do Código de Ética Médica em vigor, cuidam do assunto de maneira implícita e a Resolução do Conselho Federal Médico (CFM) nº 1.359 trata do assunto de modo nebuloso. Frente a esses aspectos, é evidenciada a necessidade de se estabelecer algumas observações na realização da expressão do consentimento, feito por pessoas que desejam que seus gametas sejam criopreservados.

Unitermos: Reprodução assistida; Criopreservação; Consentimento esclarecido.

Abstract

Gametes cryopreservation is a motive of concern. It is referred that the articles 67 and 68 of the current Medical Ethical Code analyze the argument in an implicit way, and the Resolution of the Federal Council of Medicine no 1,358 is not very clear. According to these aspects, it is evident the need to establish rules for the elaboration of the informed consent by people who desire to cryopreserve their gametes.

Uniterms: Assisted reproduction; Cryopreservation; Informed consent.

A criopreservação de gametas (ovócito ou oócito e espermatozóide: uma célula germinativa, que ao se unir a outra célula germinativa origina uma célula diplóide, que, por sua vez, pode se desenvolver e resultar em um novo indivíduo¹) é uma técnica usada para facilitar a realização de casos em que se processa uma reprodução humana assistida, mas que merece cuidados éticos em todo o procedimento. O Código de Ética Médica², atualmente em vigor, não descreve sobre o assunto em termos particulares, mas, de modo implícito, esse procedimento está inserido no prescrito para a prática da fecundação artificial. O Código em vigor, no capítulo V que normatiza a relação com pacientes e familiares, apresenta dois artigos que cuidam desse tema. Assim, há de ser respeitado o direito do paciente de decidir livremente sobre o método contraceptivo ou o conceptivo, devendo o médico sempre esclarecer sobre a indicação, a segurança, a reversibilidade e o risco de cada método, como também, só pode ser praticada a fecundação artificial desde que os participantes estejam de inteiro acordo e devidamente esclarecidos sobre o procedimento²:

Capítulo V – Relação com pacientes e familiares

É vedado ao médico:

Art.67 – Desrespeitar o direito do paciente de decidir livremente sobre método contraceptivo ou conceptivo, devendo o médico sempre esclarecer sobre a indicação, a segurança, a reversibilidade e o risco de cada método.

Art.68 – Praticar fecundação artificial sem que os participantes estejam de inteiro acordo e devidamente esclarecidos sobre procedimento.

A leitura destes artigos leva a um dos princípios propostos por Beauchamp e Childress³: o princípio da autonomia do paciente de decidir sobre a indicação do médico. Autonomia significa autodeterminação, autogoverno, refere-se à capacidade de decidir de acordo com o seu desejo, livre de qualquer opressão. A aceitação do paciente pressupõe que ele tenha sido devidamente esclarecido e que tenha tido não só uma compreensão do fato como também capacidade e responsabilidade para decidir. Para demonstrar que essa autonomia do paciente foi respeitada depois dele ter sido devidamente esclarecido, é fundamental que um termo de consentimento livre e esclarecido seja elaborado e anexado no prontuário do paciente. Deve ser feito em duas vias uma sendo entregue ao paciente.

O Conselho Federal de Medicina (CFM), no uso de suas atribuições conferidas por lei, publicou no Diário Oficial da União (DOU), do dia 19 de novembro de 1992, em Brasília, Distrito Federal, na seção 1, página 16.053, a Resolução CFM nº 1.358 de 11 de novembro do mesmo ano. Nesta Resolução, são adotadas

as Normas Éticas para a utilização das Técnicas de Reprodução Assistida⁴.

Essas normas tratam do assunto, nos itens IV e V⁴:

IV – Doação de Gametas ou Pré-embriões

1 – A doação nunca terá caráter lucrativa ou comercial.

2 – Os doadores não devem conhecer a identidade dos receptores e vice-Versa.

3 – Obrigatoriamente será mantido o sigilo sobre a identidade dos doadores de gametas e pré- embriões, assim como dos receptores.

Em situações especiais, as informações sobre doadores, por motivação médica podem ser fornecidas exclusivamente para médicos resguardando-se a identidade civil do doador.

4 – As clínicas, centros ou serviços que empregam a doação devem manter, e forma permanente, um registro de dados clínicos de caráter geral, características fenotípicas e uma amostra de material celular dos doadores.

5 – Na região de localização da unidade, o registro das gestações evitará que um doador tenha produzido mais que (duas) gestações, de sexos diferentes, numa área de um milhão de habitantes.

6 – A escolha dos doadores é de responsabilidade da unidade. Dentro do possível deverá garantir que o doador tenha a maior semelhança fenotípica e imunológica e a máxima possibilidade de compatibilidade com a receptora.

7 – Não será permitida ao médico responsável pelas clínicas, unidades ou serviços, nem aos integrantes da equipe multidisciplinar que nelas prestam serviços, participarem como doadores nos programas de RA.

V – Criopreservação de Gametas ou Pré-embriões

1 – As clínicas, centros ou serviços podem criopreservar espermatozoides, óvulos e pré-embriões.

2 – O número total de pré-embriões produzidos em laboratório será comunicado aos pacientes, para que se decida quantos pré-embriões serão transferidos a fresco, devendo o excedente ser criopreservado, não podendo ser descartado ou destruído.

3 – No momento da preservação, os cônjuges ou companheiros devem expressar sua vontade, por escrito, quanto ao destino que será dado aos pré-embriões criopreservados, em caso de divórcio, doenças graves ou de falecimento de um deles ou de ambos, e quando desejam doá-los.

Ainda que procure ser abrangente e esclarecedora, essa Resolução CFM nº 1.358 deixa alguns casos ainda um pouco nebulosos. Isso acontece particularmente na criopreservação de gametas, ou seja, na criopreservação de espermatozoides ou ovócitos.

Enquanto o pré-embrião só pode ser produto da união de gametas de sexos diferentes, provenientes ou não de diversas técnicas de fecundação assistida, sendo que os gametas provêm de doações de desconhecidos ou de um casal de vida em comum, no caso de criopreservação de gametas isso não ocorre, pois os gametas, sejam espermatozóides ou ovócitos, são oriundos de uma só pessoa, seja masculina ou feminina.

Assim sendo, um gameta masculino ou feminino pode ser criopreservado sem que o doador ou doadora tenha uma vida conjugal. Desse modo, não é possível e desnecessária a recomendação estabelecida no número 3 do item V da Resolução CFM nº 1.358, quando se estabelece que os cônjuges ou companheiros, no momento da criopreservação, devem expressar sua vontade, por escrito, quanto ao destino a ser dado ao pré-embrião. No caso de criopreservação de gametas, seja espermatozóide ou ovócito, não cabe solicitar nada ao cônjuge, ou companheiro ou companheira.

A criopreservação de um gameta, realizado por desejo de uma pessoa, seja masculina ou feminina, tendo ou não vida conjugal, caracteriza-se por um ato individual de quem já tenha sido informada e esclarecida sobre o procedimento. É a decisão de uma pessoa autônoma, adulta, responsável e esclarecida sobre o procedimento que está realizando. É a realização de um ato que reflete seu desejo íntimo. Decisão que pode ou não, se houver, ser partilhada com o cônjuge, ou com o companheiro ou companheira. A assinatura de um cônjuge ou companheiro(a) pode ser realizada ocorrendo o desejo do doador ou doadora e não como dever de expressão da vontade do casal. No caso de só o doador ou doadora ter assinado, o médico-assistente do procedimento tem a obrigação de manter sigilo sobre os fatos, só os revelando se houver permissão de quem realizou a doação do gameta; não há porque revelar ao cônjuge ou a outros familiares. No caso de assinatura do casal, o segredo é compartilhado pelos dois. Esse segredo seja de um ou do conhecimento de dois não deve ser revelado nem mesmo com a morte do doador ou doadora, conforme preceitua a Ética Médica e a Legislação brasileira²:

Capítulo IX

Segredo Médico

É vedado ao médico:

Art. 102 – Revelar o fato que tenha conhecimento em virtude do exercício de sua profissão, salvo por justa causa, dever legal ou autorização expressa do paciente.

Parágrafo único – Permanece essa proibição:

a) Mesmo que o fato seja de conhecimento público ou o paciente tenha falecido.

b) Quando do depoimento como testemunha. Nesta hipótese o médico comparecerá perante a autoridade e declarará seu impedimento.

Código Penal

Parte Especial

Título I

Dos crimes contra a pessoa

Capítulo VI

Dos crimes contra a liberdade individual

Seção IV

Dos crimes contra a inviolabilidade dos segredos

Art. 154 – Revelar alguém, sem justa causa, segredo, de que tem ciência em razão de função, ministério, ofício ou profissão, e cuja revelação possa produzir dano a outrem:

Pena – detenção, de 3 (três) meses a 1 (um) ano, ou multa.

Com essa visão, o autor deste artigo entende que os termos de consentimento livre e esclarecido devem ter uma redação diferenciada, seja ele para criopreservação de pré-embriões ou para criopreservação de gametas. No termo referente à criopreservação de pré-embriões, o referido nas Normas da Resolução nº 1.358 deve prevalecer, enquanto que na criopreservação de gametas não há porque essa exigência de que os cônjuges ou companheiros devam expressar sua vontade por escrito precisa ser mantida. Outra diferenciação entre esses dois procedimentos diz respeito ao descarte ou destruição. A Resolução CFM nº 1.358 veda a possibilidade de que os pré-embriões excedentes venham a ser descartados ou destruídos. No caso de gametas, essa proibição não encontra respaldo em qualquer consideração ética ou religiosa. Sendo assim, parece que os termos destinados ao consentimento informado e livre dos pacientes devem ter redação distinta. No caso dos pré-embriões, eles são produtos de um casal; no caso dos gametas de uma só pessoa. No consentimento informado e livre, unicamente as pessoas que solicitarão a criopreservação de seus gametas devem expressar sua vontade, por escrito, quanto ao destino que será dado aos gametas, inclusive em caso de doenças graves ou de falecimento, quando desejam doá-los, a quem desejam doá-los ou se desejam que sejam descartados ou destruídos depois de um período de tempo. E ainda assim não há porque exigir a assinatura do cônjuge.

Além dessas considerações ao se estabelecer um termo de consentimento livre e esclarecido, é preciso se ater ao que foi estabelecido pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), ao uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da Anvisa, aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, combinado com o art. 111, inciso I, alínea (b), § 1º do Regimento Interno, aprovado pela Portaria n.º 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU, de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 6 de fevereiro de 2006, na Resolução – RDC 33, de 17 de fevereiro de 2006¹.

O autor deste artigo considera que para se realizar a criopreservação de gametas, além da concordância livre dada pelo

interessado ou interessada, depois de uma informação minuciosa de todos os aspectos que são envolvidos, deve-se garantir a redação de um termo de consentimento livre e esclarecido, escrito antes da coleta do material. Este termo deveria conter ao menos:

- a) autorização para descartar as amostras que não atenderem aos critérios para armazenamento pelo Banco de Células e Tecidos Germinativos (BCTG) ou seu uso posterior;
- b) autorização para descartar as amostras, segundo condições preestabelecidas pelo doador ou doadora, em caso de doação para uso próprio;
- c) autorização para a coleta de sangue do doador ou da doadora para a realização dos testes obrigatórios pela legislação e outros descritos pelo BCTG;
- d) autorização para transferir, sob sigilo, os dados sobre a amostra e sobre o doador ou doadora, para serviços que irão utilizar a amostra, e garantido o anonimato;
- e) autorização para transferir, sob sigilo, fisicamente a amostra para o serviço que irá utilizá-la, sendo garantido o anonimato;
- f) manifestação da vontade de doar ou não o material para projetos de pesquisa que tenham sido previamente aprovados por Comitê de Ética em Pesquisa.
- g) manifestação da vontade do destino a ser dado ao material coletado no caso de falecimento ou qualquer evento que impossibilite o doador ou a doadora de manifestar seu desejo. Indicar, se quiser, quem poderá decidir nessa situação.

O termo de consentimento livre e esclarecido, que convém, deve ser redigido de maneira simples e clara, precisa e se referir, também, aos aspectos médicos, éticos, jurídicos e financeiros e que sejam pertinentes a cada situação.

Referências bibliográficas

1. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 33 de 17 de fevereiro de 2006. Diário Oficial da União, Poder Executivo de 20 de fevereiro de 2006.
2. Código de Ética Médica. São Paulo: Cremesp; 2004.
3. Beauchamp TL, Childress JF. Principles of biomedical ethics. New York: Oxford University Press; 1984.
4. Brasil. Conselho Federal de Medicina. Resolução CFM nº 1.358/92. Diário Oficial da União, 11 de novembro de 1992.

Recebido em: 01/08/2008
Aprovado para publicação: 25/08/2008



XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Humana

26 a 29 de novembro de 2008

Centro de Convenções Frei Caneca
São Paulo - SP

Convidados Internacionais Confirmados

- Ashok Agarwal – Cleveland - USA
- Carlos Carizza – Argentina
- Peter Nagy – Atlanta - USA

Conferências

- O estado da arte no atendimento à mulher na perimenopausa
- Avanços na investigação genética das perdas gestacionais
- Papel dos antioxidantes na infertilidade conjugal
- Estado atual do congelamento do óvulo
- Marcadores proteicos e metabólicos na implantação embrionária
- Andropausa: Hipogonadismo masculino tardio
- Prêmio Campos da Paz

Cursos Pré-Congresso

- Reprodução assistida para o ginecologista
- Infertilidade conjugal
- Planejamento familiar
- Sexualidade
- Endocrinologia reprodutiva
- Hormonioterapia na perimenopausa

Realização:



SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO HUMANA
SBRH

Organização:



www.growup-eventos.com.br
Tel.: 11 3849-0099 / 3044-1528 / 3044-1339

Agência Oficial:



www.macviagens.com.br
mac@macviagens.com.br
Tel.: 11 5594-8300 / 21 2544-6996 /
41 3039-1377 / 31 3281-6414

XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Humana

26 a 29 de novembro de 2008 - São Paulo - SP

Inscriva-se já

Valores		
Categoria	Até 14/11/2008	Local
Sócio	R\$ 250,00	R\$ 280,00
Médicos não sócio	R\$ 320,00	R\$ 390,00
Estudante / Residente	R\$ 140,00	R\$ 150,00
Outros profissionais		
Acompanhante	R\$ 160,00	R\$ 170,00

Inscrições on line

Preencha diretamente a ficha de inscrição no site
www.sbrhcongresso2008.org.br
Efetuar o pagamento através de boleto bancário

Dados para depósito

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana
Banco do Brasil
Agência: 0722-6
Conta Corrente: 17647-8

Inscrições via correio

Preencha a ficha de inscrição e envie com o
comprovante de depósito para o endereço abaixo:

Grow UP Eventos
Rua Alvorada, 631 - VI. Olímpia
04550-003 - São Paulo - SP

Informações

Sociedade Brasileira de Reprodução Humana
Telefone: (11) 5055-2438 - Telefax: (11) 5055-6494
Grow UP Eventos
Telefones: (11) 3849-0099 / 3044-1339 / 3044-1528

Ficha de Inscrição:

Nome:

Especialidade:

CRM: CPF: RG:

Endereço:

CEP: Cidade: Estado:

Telefone: Celular:

E-mail:

☐ Sócio ☐ Médico não sócio ☐ Estudante / Residente ☐ Acompanhante ☐ Outros profissionais