

**Universidade do Algarve**

**Faculdade de Ciências e Tecnologia**

***Avaliação e monitorização laboratorial do casal  
em consulta de infertilidade***

Dissertação de

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Cláudia Sofia Gomes

Trabalho efectuado sob a orientação do Prof. Dr. Rui Manuel Amaro Pinto  
(FFUL) e co-orientação do Prof. Dr. João Pedro Fidalgo Rocha (UALG).

**Faro, 2014**

**Universidade do Algarve**

**Faculdade de Ciências e Tecnologia**

***Avaliação e monitorização laboratorial do casal em  
consulta de infertilidade***

Dissertação de

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Cláudia Sofia Gomes

Trabalho efectuado sob a orientação do Prof. Dr. Rui Manuel Amaro Pinto  
(FFUL) e co-orientação do Prof. Dr. João Pedro Fidalgo Rocha (UALG).

**Faro, 2014**

*AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DO CASAL EM CONSULTA DE  
INFERTILIDADE*

***Declaração de autoria de trabalho***

Declaro ser a autora deste trabalho que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências bibliográficas incluída.

A aluna

Cláudia Sofia Gomes

Cláudia Sofia Gomes

©“A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor”.

## Resumo

Estima-se que 13% a 15% dos casais em idade fértil na população mundial apresentem problemas de infertilidade, o que se reflete numa procura emergente por ajuda médica especializada para obtenção de uma gravidez.<sup>[1,2]</sup> O acompanhamento do casal em consulta de infertilidade requer uma avaliação clínica rigorosa, a qual deve ser conduzida de forma faseada e incluir a construção da história clínica detalhada do indivíduo, o exame físico abrangente e a realização de exames complementares de diagnóstico, laboratoriais e imagiológicos.<sup>[1,3]</sup> Uma vez que a infertilidade é uma desordem multifatorial que pode acometer fatores masculinos e/ou femininos é fundamental que tanto o homem quanto a mulher sejam criteriosamente avaliados com vista à obtenção de um diagnóstico assertivo e terapêutica direcionada, a qual é bastante diversificada.<sup>[1,3,4]</sup> Nos últimos anos, o desenvolvimento e o refinamento de protocolos de indução da ovulação e de estimulação ovárica controlada têm contribuído significativamente para o tratamento da infertilidade, nomeadamente ao nível da promoção de um maior rendimento das Técnicas de Reprodução Assistida (TRA), uma vez que contribuem para o aumento do número de oócitos maduros em mulheres que requeiram maturação multifolicular para tratamentos de Fertilização *In Vitro* (FIV).<sup>[5,6]</sup>

A dimensão do fenómeno da infertilidade enquanto problema de Saúde Pública da máxima importância e o carácter inovador da investigação científica neste âmbito motivaram a realização desta monografia, cujos principais objetivos são: a análise extensiva do processo de avaliação clínica e laboratorial do casal em consulta de infertilidade e a exploração farmacoterapêutica da infertilidade por indução da ovulação e da estimulação ovárica controlada.

Termos Chave: Infertilidade, Avaliação do Casal Infértil, Indução da Ovulação, Estimulação Ovárica Controlada.

## **Abstract**

It is estimated that 13% to 15% of couples at reproductive age in the world population have problems of infertility, which is reflected in a demand for specialized medical advice to obtain a pregnancy. <sup>[1,2]</sup> The monitoring of the couple at infertility consultation requires a rigorous clinical evaluation, which must be conducted in a phased manner and include the construction of detailed medical history of the individual, comprehensive physical examination and performing diagnostic procedures, laboratory and imaging. <sup>[1,3]</sup> Since infertility is a multifactorial disorder that can affect male and/or female factors, is essential that both the man and the woman are carefully evaluated, so that a correct diagnosis and therapy (which can be very diverse) is obtained. <sup>[1,3,4]</sup> In recent years, protocols of ovulation induction and controlled ovarian stimulation have been developed and refined, and that has significantly contributed to the treatment of infertility, namely enhancing Assisted Reproductive Technology (ART) yield, since its usage increases the number of mature oocytes in women who require multi-follicular maturation for *In Vitro* Fertilization (IVF) treatment. <sup>[5,6]</sup>

The extent of infertility phenomenon as a public health problem of the utmost importance and the innovative nature of the scientific research in this field has motivated this monograph whose main objectives are: the extensive analysis of the clinical and laboratory evaluation process of the couple in infertility consultation, and the exploitation of ovulation induction and controlled ovarian stimulation (COS) infertility therapy.

Keywords: Infertility, Infertile couple evaluation, Ovulation Induction, Controlled Ovarian Stimulation.

## ÍNDICE

RESUMO.....	III
ABSTRACT .....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
ÍNDICE DE TABELAS .....	IX
INTRODUÇÃO.....	1
<b>CAPÍTULO 1 - A INFERTILIDADE .....</b>	<b>5</b>
1.1 A INFERTILIDADE ENQUANTO PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA.....	5
1.2 DEFINIÇÃO E CONCEITOS .....	6
1.3 EPIDEMIOLOGIA .....	7
1.4 ETIOLOGIA .....	11
1.4.1 <i>Infertilidade feminina</i> .....	12
1.4.1.1 Desordens endócrinas .....	13
1.4.1.1.1 Desordens ovulatórias .....	13
1.4.1.1.2 Hiperprolactinemia .....	14
1.4.1.1.3 Outros distúrbios endócrinos .....	15
1.4.1.2 Afeções anatómicas .....	16
1.4.1.2.1 Obstrução tubular .....	16
1.4.1.2.2 Endometriose .....	16
1.4.1.2.3 Anomalias da cavidade uterina.....	17
1.4.1.3 Reserva ovárica.....	17
1.4.2 <i>Infertilidade masculina</i> .....	20
1.4.3 <i>Infertilidade associada aos estilos de vida</i> .....	21
<b>CAPÍTULO 2 - ENDOCRINOLOGIA DA REPRODUÇÃO .....</b>	<b>24</b>
2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....	24
2.2 PRINCIPAIS HORMONAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO REPRODUTIVO .....	24
2.3 EIXO ENDÓCRINO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GÓNADAS.....	25
2.3.1 <i>Eixo endócrino hipotálamo-hipófise-ovários</i> .....	25
2.3.2 <i>O ciclo menstrual</i> .....	27
2.3.3 <i>Eixo endócrino hipotálamo-hipófise-testículos</i> .....	30
<b>CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DO CASAL INFÉRTIL – ABORDAGEM INICIAL .....</b>	<b>32</b>
3.1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....	32
3.2 AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DA MULHER INFÉRTIL – ABORDAGEM INICIAL .....	34
3.2.1 <i>História clínica</i> .....	34

3.2.2	<i>Exame físico</i> .....	36
3.2.3	<i>Exames complementares de diagnóstico</i> .....	36
3.2.3.1	Avaliação da função ovulatória .....	37
3.2.3.2	Avaliação da desobstrução das trompas de Falópio e patologias uterinas .....	41
3.3	AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DO HOMEM INFÉRTIL- ABORDAGEM INICIAL .....	43
3.3.1	<i>História clínica</i> .....	43
3.3.2	<i>Exame físico</i> .....	44
3.3.3	<i>Exames complementares de diagnóstico</i> .....	44
3.3.3.1	Análise ao sémen .....	45
3.3.3.1.1	Colheita da amostra .....	46
3.3.3.1.2	Avaliação de parâmetros macroscópicos .....	48
3.3.3.1.3	Avaliação de parâmetros microscópicos .....	49
3.3.4	<i>Interpretação dos resultados da análise ao sémen</i> .....	57
<b>CAPÍTULO 4 -AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DO CASAL INFÉRTIL – ABORDAGEM ADICIONAL .....</b>		<b>61</b>
4.1	CONTEXTUALIZAÇÃO .....	61
4.2	AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DA MULHER INFÉRTIL – ABORDAGEM ADICIONAL .....	61
4.2.1	<i>Avaliação da reserva ovárica</i> .....	61
4.2.1.1	Testes passivos de avaliação da reserva ovárica .....	62
4.2.1.1.1	Biomarcadores hormonais .....	63
4.2.1.1.2	Biomarcadores funcionais .....	67
4.2.1.2	Testes provocativos de avaliação da reserva ovárica .....	68
4.2.2	<i>Outros testes adicionais</i> .....	69
4.3	AVALIAÇÃO E MONITORIZAÇÃO LABORATORIAL DO HOMEM INFÉRTIL – ABORDAGEM ADICIONAL .....	70
4.3.1	<i>Análises complementares ao sémen</i> .....	70
4.3.1.1	Testes para avaliação da função dos espermatozoides .....	70
4.3.1.2	Testes para a determinação de anticorpos anti-espermatozoides .....	72
4.3.1.3	Testes para avaliação da integridade do DNA .....	73
4.3.2	<i>Avaliação endócrina</i> .....	75
4.3.3	<i>Avaliação genética</i> .....	76
4.3.4	<i>Exames imagiológicos</i> .....	76
4.3.5	<i>Biópsia testicular</i> .....	77
<b>CAPÍTULO 5 - TRATAMENTO DA INFERTILIDADE – TERAPÊUTICA POR INDUÇÃO DA OVULAÇÃO E ESTIMULAÇÃO OVÁRICA CONTROLADA .....</b>		<b>78</b>
5.1	CONTEXTUALIZAÇÃO .....	78
5.2	TERAPIA POR INDUÇÃO DA OVULAÇÃO E ESTIMULAÇÃO OVÁRICA CONTROLADA .....	78
5.2.1	<i>Terapêutica por Indução da Ovulação</i> .....	79

5.2.1.1	Fármacos de administração oral.....	79
5.2.1.2	Fármacos de administração injectável – gonadotrofinas exógenas .....	83
5.2.1.2.1	Protocolo de baixa dose crónica ( <i>step-up</i> ) .....	84
5.2.1.2.2	Protocolo de baixa dose crónica ( <i>step-down</i> ) .....	85
5.2.1.3	Fármacos de administração injetável – Hormona Libertadora de Gonadotrofinas (GnRH).....	86
5.2.1.4	Indução da ovulação através de cirurgia .....	87
5.2.1.5	Terapêutica de indução da ovulação para os diferentes grupos de desordens ovulatórias .....	87
5.2.1.6	Riscos associados à terapia de indução da ovulação .....	90
5.2.2	<i>Terapêutica por Estimulação Ovárica Controlada</i> .....	91
5.2.2.1	Agonistas da GnRH .....	92
5.2.2.1.1	Protocolos longos .....	93
5.2.2.1.2	Protocolo curto ( <i>flare up</i> ) .....	94
5.2.2.1.3	Protocolo ultracurto .....	94
5.2.2.2	Antagonistas da GnRH .....	96
5.2.2.2.1	Protocolo de dose única fixo e Protocolo de dose única flexível .....	96
5.2.2.2.2	Protocolos de múltiplas doses com administração fixa e de múltiplas doses com administração flexível.....	97
<b>CONCLUSÃO</b> .....		<b>99</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....		<b>101</b>

## Índice de Figuras

Figura 1.1 – Prevalência de infertilidade primária, em 2010. ....	9
Figura 1.2- Prevalência de infertilidade secundária, em 2010.....	10
Figura 1.3 - Representação esquemática do processo de concepção. ....	12
Figura 1.4 - Número de oócitos nos ovários antes e depois do nascimento. ....	18
Figura 1.5 - Idade média do nascimento do 1º filho, entre 1980 e 2005.....	19
Figura 2.1 - Eixo hipotálamo-hipófise-ovários .....	26
Figura 2.2 – Ciclo menstrual.....	27
Figura 2.3 - Regulação endócrina do eixo hipotálamo-hipófise-testículos .....	31
Figura 3.1 - Avaliação da infertilidade feminina.....	37
Figura 3.2 - Exemplos de espermatozoides com morfologia normal.....	53
Figura 3.3 - Exemplos de espermatozoides com morfologia “anormal” .....	53
Figura 3.4 - Estrutura reticular da câmara de <i>Neubauer</i> .....	54
Figura 3.5 - Algoritmo para monitorização da azoospermia.....	58
Figura 5.1 Protocolo de indução da ovulação de baixa dose crónica – <i>step up</i> .....	85
Figura 5.2 - Protocolos de estimulação ovárica controlada utilizando agonistas da GnRH .....	95
Figura 5.3 - Protocolos de estimulação ovárica controlada utilizando antagonistas da GnRH. ....	97

## Índice de Tabelas

Tabela 3.1 - Parâmetros do espermograma e respectivos valores de referência actualizados, segundo a OMS.....	56
Tabela 3.2 - Nomenclatura das patologias relacionadas com a qualidade do sémen de acordo com a OMS.....	56
Tabela 5.1 - Vantagens e desvantagens dos agonistas e antagonistas de GnRH na estimulação ovárica .....	98

## Lista de abreviaturas

TRA- Técnicas de Reprodução Assistida

FIV - Fertilização *In-Vitro*

IIU - Inseminação Intra-Uterina

OMS - Organização Mundial de Saúde

CMART - Comité para a Monitorização da Reprodução Tecnicamente Assistida

GnRH - Hormona Libertadora de Gonadotrofinas

FSH - Hormona Folículo Estimulante

LH - Hormona Luteínica

SOP - Síndrome dos Ovários Policísticos

SHBG - *Sex Hormone Binding Globulin*

TRH - Hormona Libertadora de Tireotrofina

DIP - Doença Inflamatória Pélvica

IMC - Índice de Massa Corporal

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSG - Histerossalpingografia

hCG - Hormona Gonadotrófica Coriônica

MP - Mobilidade Progressiva

NP - Mobilidade Não Progressiva

NM - Não Móvel

CASA - *Computer Assisted Semen Analyses*

HAM - Hormona *Anti-Mulleriana*

TGF- $\beta$  - Factor de Crescimento  $\beta$

CFA - Contagem de Folículos Antrais

EFORT - Teste de Reserva Ovária com FSH Exógeno

GAST - Teste de Estimulação com Agonista da GnRH

DHEA - Dehidroepiandrosterona

DHEAS - Sulfato de Dehidroepiandrosterona

DNA - *Desoxi-Ribonucleic-Acid*

IBT - *Immunobead Test*

MAR - *Mixed Agglutination Reaction*

TUNEL - *Deoxynucleotide Transferase mediated dUTP Nickend Labeling*

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

IEIC - Injeção Intra-Citoplasmática

CC - Citrato de Clomifeno

FSHu - Hormona Folículo Estimulante de origem urinária

FSHr - Hormona Folículo Estimulante de origem recombinante

hMG - Gonadotrofina Menopáusica Humana

LHr - Hormona Luteínica recombinante

UI - Unidades Internacionais

SHO - Síndrome da Hiperestimulação Ovárica

### Introdução

Para a grande maioria dos seres-vivos a reprodução é um dos propósitos maiores da vida, através da qual lhes é permitido perpetuar a sua própria existência por intermédio das gerações descendentes. <sup>[7]</sup> Para além de um objetivo pessoal, a concretização da paternidade é também um direito de qualquer indivíduo, estando consagrado no artigo XVI da Declaração Universal dos Direitos do Homem que “a partir da idade núbil, o homem e a mulher têm o direito de casar e de constituir família, sem restrição alguma de raça, nacionalidade ou religião”. <sup>[8]</sup>

Contudo, para muitos casais, o exercício deste direito revela-se um flagelo inesperado quando se deparam com um diagnóstico de infertilidade, cujo impacto se reflete de forma dramática no quotidiano de quem a experiencia, nomeadamente a nível físico, psicológico, sociocultural e económico. <sup>[1,3,4]</sup>

Ao longo da História da Humanidade, a infertilidade sempre constituiu motivo de inquietação e mistério, surgindo na maioria das vezes associada à figura da mulher, sobre a qual recaía toda a responsabilidade em procriar. <sup>[9]</sup> Contudo, apesar de ser reconhecida como uma condição humana milenar, é apenas no final do séc. XX e no início do séc. XXI que a infertilidade ganha destaque médico e investigacional, consequência dos derradeiros progressos científicos verificados. <sup>[9]</sup> De entre estes, podem destacar-se o refinamento de complexos métodos de diagnóstico (técnicas imagiológicas, doseamentos hormonais por radioimunoensaio e análises genéticas), o desenvolvimento de tratamentos de carácter inovador, nomeadamente as cirurgias minimamente invasivas e a reprodução medicamente assistida (da qual é um marco o nascimento de *Louise Brown* em 1978 através de Fertilização *in-Vitro*), e o aprimoramento do estudo da endocrinologia reprodutiva, através da qual é permitida a manipulação do eixo endócrino da mulher pela utilização de fármacos específicos. <sup>[5,9]</sup> Todas estas conceções vieram revolucionar por completo a Medicina da Reprodução e consequentemente o panorama da infertilidade, estimando-se que hoje em dia 85% a 90% dos casos de infertilidade possam ser diagnosticados e que 50-60% possam ser tratados com sucesso. <sup>[10]</sup>

Segundo *Boivin et al.*, 40,5 milhões de indivíduos na população mundial recorrem atualmente a orientação médica especializada para alcançar uma gravidez que não conseguiriam de forma espontânea. <sup>[11]</sup>

Aconselha-se o acompanhamento clínico do casal em consulta de infertilidade após doze meses de tentativas de concepção sem sucesso, após seis meses no caso de a mulher ter uma idade superior a 35 anos ou de forma imediata caso haja uma causa óbvia para a infertilidade. <sup>[1, 3]</sup>

O ponto de partida para um diagnóstico e tratamento assertivos passa por uma avaliação clínica rigorosa e exaustiva, a qual se deve desenvolver “*step-by-step*” e abranger simultaneamente o homem e a mulher, uma vez que na origem do problema podem estar fatores femininos, masculinos ou ambos. <sup>[1,4,12]</sup>

Em primeira instância é fundamental uma construção detalhada da história clínica de cada um dos indivíduos, seguida de exames físicos, laboratoriais e imagiológicos como meios de diagnóstico complementar. <sup>[3,4,13]</sup> Tendo em conta que as principais causas de infertilidade englobam anormalidades ao nível do sémen, disfunção ovulatória e obstrução uterina e das trompas, as investigações preliminares do casal em consulta de infertilidade centram-se nas análises ao sémen no homem e na avaliação da função ovulatória e desobstrução tubular na mulher. <sup>[1,4]</sup> Dependendo da história de cada indivíduo podem ser requeridos exames adicionais, nomeadamente para avaliação da reserva ovárica em mulheres que apresentem fatores de risco para uma falha ovárica prematura, como sejam: idade acima de 35 anos, ser fumadora, história familiar de menopausa precoce, fertilidade inexplicada (menstruação e análises ao sémen normais), cirurgia ovárica prévia e fraca resposta a fármacos estimulantes da ovulação. <sup>[1,4]</sup>

Consoante as causas de infertilidade subjacentes a cada situação e uma vez concluída a avaliação clínica pormenorizada, é fundamental estabelecer um plano de tratamento direcionado, podendo identificar-se três grandes vertentes: o tratamento médico, onde se destaca a terapia por Estimulação Controlada da Ovulação; o tratamento

cirúrgico; e as diferentes Técnicas de Reprodução Assistida, nomeadamente a Fertilização *In-Vitro* (FIV) e a Inseminação Intra-Uterina (IIU).<sup>[1,14]</sup>

Considerando a emergência e dimensão da infertilidade enquanto fenómeno global e a procura crescente de ajuda médica especializada por parte dos casais para consumir uma gravidez, é fundamental que todo o processo analítico e terapêutico a que um casal em consulta de infertilidade se propõe submeter esteja inequivocamente estruturado e padronizado, permitindo otimizar para cada indivíduo, o diagnóstico e tratamento adequados.<sup>[15]</sup> No entanto, apesar de todo o arsenal analítico e terapêutico disponível atualmente, muitos pacientes não recebem o tratamento que lhes seria recomendado, baseado na evidência científica e numa avaliação protocolada.<sup>[1]</sup> Atualmente, os inúmeros elementos existentes para a avaliação clínica e laboratorial da infertilidade estão em disputa, dividindo especialistas sobre quais são efetivamente as análises e os protocolos que primam pela excelência e indispensabilidade, bem como pela melhor adequação de custos e recursos a cada situação.<sup>[5]</sup>

Com vista à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas e a nortear procedimentos que se creem ambíguos surgiu a motivação de proceder a uma revisão bibliográfica no âmbito da infertilidade, a qual culmina com a apresentação desta monografia cujos **principais objetivos são:**

- Contextualizar a infertilidade conjugal enquanto problema clínico e social comum, enfatizando as suas definições, epidemiologia e etiologia;
- Enquadrar a endocrinologia reprodutiva enquanto pilar fundamental da fertilidade humana;
- Descrever as etapas de avaliação clínica às quais um casal é submetido quando acompanhado em consulta de infertilidade;
- Promover uma análise extensiva dos testes laboratoriais que se realizam neste contexto, nomeadamente os testes de avaliação da função ovulatória e os testes de reserva ovárica na mulher e as análises ao sémen no homem;

- Perspetivar a padronização de parâmetros laboratoriais na avaliação e na monitorização de um casal em consulta de infertilidade;
- Explorar a terapia por Indução da Ovulação e por Estimulação Controlada da Ovulação, descrevendo os fármacos e protocolos disponíveis e elucidar sobre as vantagens e problemas que advêm da sua aplicação.

## Capítulo 1 - A infertilidade

### 1.1 A infertilidade enquanto problema de Saúde Pública

A infertilidade apresenta-se como uma desordem clínica comum, de cariz complexo e origem multifatorial, que acomete homens e mulheres por todo o mundo. <sup>[4,16]</sup> Atualmente estima-se que 50 a 80 milhões de pessoas em idade reprodutiva sejam afetadas à escala global. <sup>[8,17]</sup> No ano 2000, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconheceu a infertilidade como um problema de Saúde Pública da máxima importância, uma vez que não detém apenas implicações individuais, como também acresce significativas consequências sociais, económicas e demográficas. <sup>[3,9,17]</sup>

Um diagnóstico de infertilidade pode refletir-se de forma dramática na vida dos indivíduos que a experienciam despertando estados depressivos associados a sentimentos de culpa, vergonha, frustração, e revolta, a par de outros como a discriminação e o ostracismo, que na prática se manifestam quase sempre em isolamento social, na diminuição do desempenho profissional e em muitos casos, no divórcio. <sup>[1,16,18]</sup>

Em algumas situações, a dimensão do impacto causado pela infertilidade é tal que pode interferir no desenvolvimento económico e nos índices demográficos de um país, permanecendo os indicadores de fecundidade inferiores aos níveis necessários para a substituição de gerações. <sup>[9]</sup> Desde o início dos anos 50, vários estudos demográficos têm demonstrado uma redução considerável nas taxas de nascimento em todos os países europeus, com variações não significativas entre regiões e classes sociais. <sup>[19]</sup> Este decréscimo surgiu ainda mais pronunciado uma vez que se seguiu a um período de pós-guerra em que o número de nascimentos atingiu o seu auge, o chamado *baby-boom*. <sup>[20]</sup> Para este cenário contribuem de forma significativa os numerosos casos de infertilidade registados, cuja progressão se verifica crescente não só nos países em desenvolvimento como nos países desenvolvidos. <sup>[6,20]</sup> Atendendo a este cenário emergente, a infertilidade é considerada um dos principais e mais inquietantes problemas de saúde das sociedades modernas. <sup>[19]</sup>

É desta forma, que num contexto de prioridade, o Programa de Ação da Conferência das Nações Unidas apresenta como objetivo primordial para o ano de 2015, a acessibilidade a serviços de saúde reprodutiva de qualidade a todos os indivíduos, através do desenvolvimento e implementação de estratégias com vista a proporcionar mecanismos quer preventivos quer efetivos capazes de abranger toda a população e a reduzir o impacto deste flagelo. <sup>[5]</sup>

### 1.2 Definição e conceitos

Não existe uma definição única e consensual de infertilidade, variando fortemente consoante a abordagem seja epidemiológica, demográfica ou clínica. <sup>[15,17,20]</sup>

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define epidemiologicamente a infertilidade como “mulher em idade fértil (15-49 anos) que em risco de engravidar (sexualmente ativa e sem uso de contraceção) apresenta incapacidade para alcançar uma gravidez após um período de 24 meses ou mais. <sup>[13,15]</sup> A demografia, por sua vez, considera a infertilidade como sendo a “incapacidade de uma mulher exposta a relações sexuais regulares e desprotegidas durante um período de 5 anos ter um nado-vivo”. <sup>[13,15]</sup>

Atendendo à vertente clínica, que aqui é privilegiada, a infertilidade é definida pela OMS e pelo Comité para a Monitorização da Reprodução Tecnologicamente Assistida (CMART) como uma “doença do sistema reprodutivo que se traduz na incapacidade de alcançar a conceção após 12 meses ou mais de relações sexuais regulares sem uso de métodos anticoncepcionais”. <sup>[13,15,21]</sup>

Esta definição baseia-se no conhecimento, de que, na população em geral, e para jovens casais saudáveis, a *fecundabilidade*, ou seja, a probabilidade concetiva por ciclo reprodutivo é cerca de 20 a 25%, sendo a probabilidade cumulativa de concepção 60% nos primeiros seis meses e 84% no primeiro ano. <sup>[22]</sup> A interpretação destes dados permite dizer que é expectável que 84 em 100 mulheres em risco de engravidar engravide durante o período de um ano. <sup>[22-</sup>

<sup>24]</sup> No entanto, sabe-se que de todas aquelas mulheres que não concebem no primeiro ano, mais de metade consegue atingir uma conceção durante o segundo ano, para o qual a probabilidade cumulativa é de 92%. <sup>[24]</sup>

A definição clínica é, como o próprio nome indica, a definição por excelência da prática clínica, a partir da qual e com base numa avaliação rigorosa através de meios de diagnóstico adequados, se pretendem determinar as causas da infertilidade para uma situação específica e providenciar o tratamento correto no tempo adequado. <sup>[16]</sup> A definição epidemiológica, ao alinhar de perto com a definição clínica é também utilizada como método para monitorizar a infertilidade. <sup>[16]</sup> Contudo, quando o objetivo é determinar padrões e tendências de infertilidade que caracterizem uma população, a definição demográfica sugere ser a mais apropriada e abrangente a uma série de questões, indo também de encontro à percepção pública de que o objetivo dos casais mais do que uma conceção, é a obtenção de um nado-vivo. <sup>[16]</sup>

Independentemente do contexto (clínico, epidemiológico e demográfico) é comum encontrar na literatura cada uma das definições associadas aos conceitos de *infertilidade primária* e de *infertilidade secundária*. <sup>[3,23,24]</sup> Considera-se que a infertilidade é primária quando o casal nunca conseguiu alcançar uma conceção, ou seja, quando não existe qualquer situação de gravidez anterior. A infertilidade é secundária se houver registo de pelo menos uma conceção prévia, mesmo que esta tenha resultado em aborto ou tenha sido uma gravidez ectópica (fora do útero). <sup>[3,25-27]</sup>

Outros dois conceitos inerentes à definição de infertilidade que vale a pena salientar são os conceitos de *infertilidade atual* e de *infertilidade ao longo da vida*, que ditam os diferentes prismas através dos quais a infertilidade pode ser avaliada. <sup>[17]</sup> A infertilidade atual é definida como a infertilidade que existe num determinado momento e a infertilidade ao longo da vida corresponde à infertilidade durante toda ou pelo menos parte da vida, na qual se incluem todos os casais que durante pelo menos 12 meses tentaram engravidar sem o conseguirem. <sup>[17]</sup>

### 1.3 Epidemiologia

Estima-se que a infertilidade afete aproximadamente 15% da população em idade fértil nos países desenvolvidos, podendo atingir 30% da população em países em desenvolvimento, como é o caso particular da África Sub-Sahariana, onde os recursos

para investigação e tratamento são limitados. <sup>[8,19,28]</sup> No entanto, é importante ressaltar que a prevalência da infertilidade varia consideravelmente com as diferentes definições, critérios de avaliação e metodologias de estudo (estudos prospetivos e retrospectivos; estudos demográficos, clínicos, inquéritos de base populacional) empregues por diferentes autores em diferentes pesquisas. <sup>[3,9,17]</sup> Uma vez que é influenciada por todos estes fatores, a prevalência exata da infertilidade é extremamente difícil de estimar, sendo comum encontrar vários valores de prevalência, consoante as abordagens. <sup>[9]</sup> Vejam-se os exemplos de dois dos estudos mais recentes realizados neste âmbito, “*National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys*”, de 2012 e “*International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care*”, de 2007.

Elaborado em parceria com a OMS e publicado em 2012, “*National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys*” propôs-se a avaliar as variações na prevalência de infertilidade entre 1990 e 2010 em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento. <sup>[16]</sup> Contrariamente à maioria dos estudos, que se baseiam na definição clínica/epidemiológica de infertilidade (intervalos de 12 ou 24 meses), os autores deste trabalho privilegiaram a definição demográfica e a partir de um algoritmo específico estimaram a prevalência de infertilidade em mulheres com idades compreendidas entre os 20 e os 44 anos expostas a relações sexuais regulares e desprotegidas durante 5 anos. <sup>[16]</sup>

Os resultados obtidos vieram mostrar que em 2010, 1,9% das mulheres entre os 20 e os 44 anos expostas a relações sexuais regulares e desprotegidas durante um período de 5 anos foram incapazes de ter o primeiro nado-vivo (infertilidade primária) e que 10,5% das mulheres entre os 20 e os 44 anos expostas a relações sexuais regulares e desprotegidas durante um período de 5 anos e detentoras de uma gravidez anterior foram incapazes de voltar a ter um nado-vivo (infertilidade secundária). <sup>[16]</sup>

Comparando os valores obtidos em 2010 com os valores obtidos em 1990, verificou-se que são bastante similares, registando-se apenas um decréscimo de 0,1% na

prevalência de infertilidade primária e de 0,4% na prevalência de infertilidade secundária, o que sugere de um modo geral a prevalência global de infertilidade se manteve estável nos últimos 20 anos. <sup>[16]</sup> No entanto, concluiu-se que o número absoluto de casais afetados pela infertilidade aumentou de 42 milhões em 1990 para 48,5 milhões em 2010 devido ao crescimento da população neste período de tempo. <sup>[16]</sup>

O mesmo estudo analisou ainda a distribuição mundial da prevalência da infertilidade primária e secundária em 2010. Tendo em conta a infertilidade primária, as taxas mais baixas registaram-se em países da América Latina (Peru, Bolívia, Equador e El Salvador; 0,8% - 1%), na Polónia, no Quênia e na República da Coreia (0,9%-1%). As prevalências mais elevadas registaram-se em países da Europa de Leste, no Norte de África, no Médio-Oriente e na África Sub-Sahariana, atingindo valores iguais ou superiores a 3% (Fig. 1.1). <sup>[16]</sup>

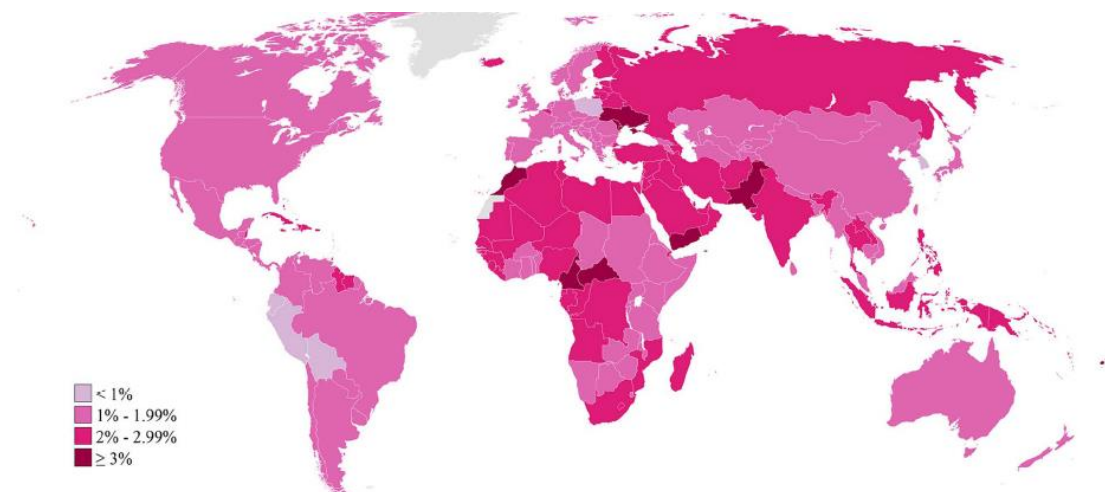


Figura 1.1 – Prevalência de infertilidade primária, em 2010. <sup>[16]</sup>

Os padrões de distribuição da prevalência de infertilidade secundária foram semelhantes aos verificados para a infertilidade primária, salientando-se no entanto duas exceções: a primeira é referente aos países do Norte de África e do Médio Oriente, os quais apesar de registarem as maiores prevalências de infertilidade primária, registaram também das menores prevalências de infertilidade secundária (7,2%); a segunda refere-se às regiões da Europa e da Ásia Central, onde as prevalências de infertilidade primária registadas foram baixas a intermediárias, mas as

prevalências de infertilidade secundária foram as mais elevadas (cerca de 18%) (Fig.1.2).<sup>[16]</sup>

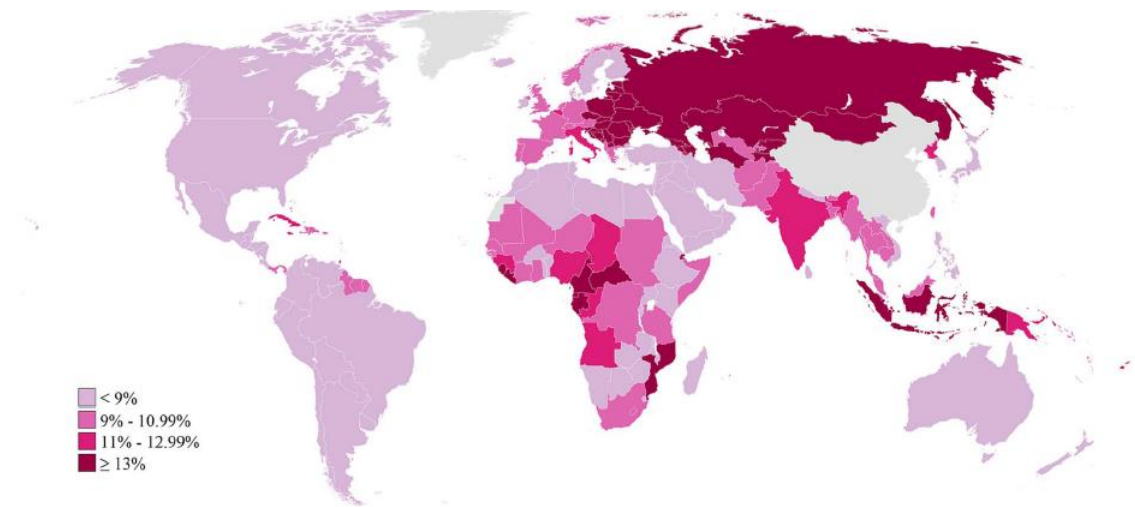


Figura 1.2- Prevalência de infertilidade secundária, em 2010.<sup>[16]</sup>

O estudo *“International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care”* publicado por *Boivin et al em 2007,* estimou a prevalência de infertilidade a partir de vários estudos abrangentes a mais de 25 países, considerando diferentes definições de infertilidade (12 meses, 24 meses e 5 anos).<sup>[8,11]</sup> Os resultados indicaram que a prevalência de infertilidade variou entre 3,5% e 16,7% nos países mais industrializados e 6,9% a 9,3% nos países em desenvolvimento e que o número absoluto de casais inférteis à escala mundial seria 72,8 milhões em 2006.<sup>[11]</sup>

À primeira vista e tendo em conta os valores do estudo anterior, é intuitivo que se tente compará-los. No entanto, e como referido anteriormente, não é de todo correto comparar dados provenientes de estudos que foram conduzidos de forma completamente díspar, cujas definições, critérios de avaliação, natureza e metodologias utilizadas não foram as mesmas.<sup>[16]</sup> Desta forma e devido à falta de uniformidade de métodos e conceitos, nenhum valor prevalece sobre o outro, considerando-se ambos válidos dentro do contexto em que se realizaram.<sup>[17]</sup>

Com vista à caracterização da infertilidade em Portugal onde a informação é bastante escassa, foram publicados em 2009 os resultados de um estudo de prevalência de infertilidade cuja metodologia se baseou na recolha de informação através de inquéritos distribuídos na comunidade. Pela análise dos dados obtidos, verificou-se que 9,8% das mulheres entre os 25 e os 69 anos e 8,2% das mulheres em idade reprodutiva (25-44 anos) reportaram problemas de infertilidade ao longo da vida e que apenas 43% a 48% das mulheres com infertilidade ao longo da vida e 57% a 61% das mulheres em idade reprodutora recorreram a consulta médica, com procura equivalente de serviços de saúde públicos e privados. <sup>[9]</sup>

A variabilidade de métodos e conceitos torna ambígua uma questão que se pretende objetiva, pois é crucial dispor de dados epidemiológicos e demográficos inequívocos que reflitam as tendências e a distribuição geográfica da infertilidade para que seja possível intervir corretamente ao nível das necessidades de cuidados de saúde de cada país, quer em termos preventivos quer em termos assistenciais. <sup>[15,17]</sup>

### **1.4 Etiologia**

Para que uma gravidez espontânea ocorra é fundamental que todos os eventos fisiológicos sequenciais envolvidos no complexo processo de conceção estejam em pleno funcionamento, nomeadamente: a produção de esperma de qualidade por parte do homem; a produção de um ócito viável através do processo de ovulação na mulher; a fertilização desse ócito por um espermatozóide competente na trompa de Falópio; o transporte do embrião para a cavidade uterina e a sua implantação no endométrio (Fig. 1.3). <sup>[27,29]</sup> Quando uma ou mais destas etapas fundamentais se encontra comprometida a conceção não irá ocorrer, estando-se perante um problema de infertilidade. <sup>[29]</sup>

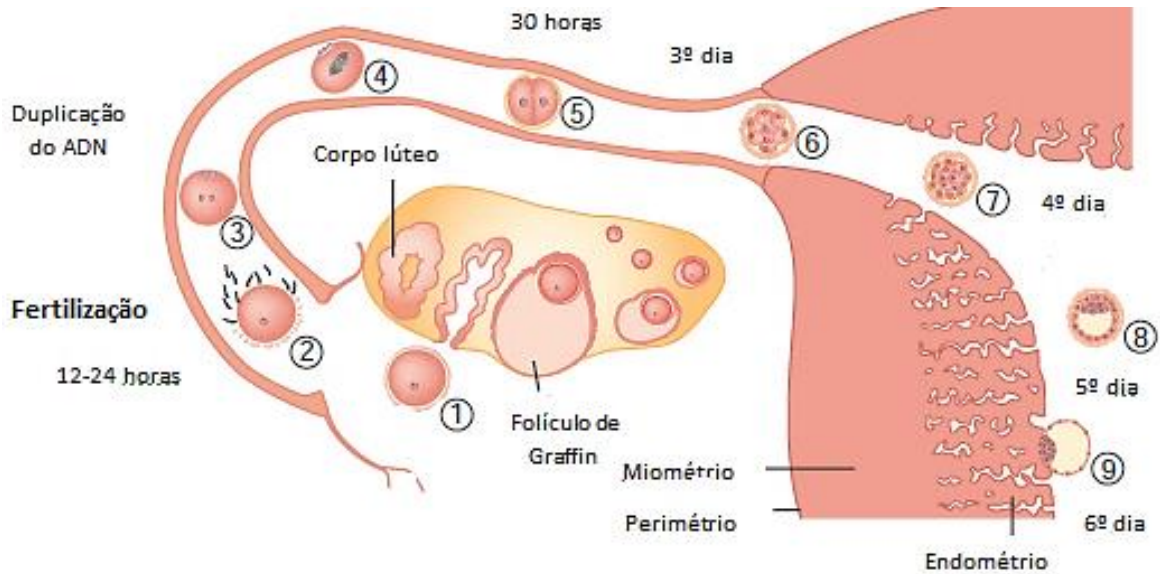


Figura 1.3 - Representação esquemática do processo de concepção. Adaptado de [29]

Com base num estudo realizado em países desenvolvidos, a Organização Mundial de Saúde estima que 37% dos casos de infertilidade se devem a fatores femininos, 8% a fatores masculinos, 35% a uma associação de fatores masculinos e femininos e em 15% dos casos não é possível identificar uma causa óbvia, sendo designada como infertilidade inexplicada. [30,31]

Para que se possa conduzir uma abordagem diagnóstica correta e fornecer uma terapêutica otimizada a um casal que recorre a ajuda médica para engravidar é fulcral dispor de um conhecimento sólido sobre quais as principais causas de infertilidade que afetam homens e mulheres. [4]

#### 1.4.1 Infertilidade feminina

A etiologia da infertilidade feminina assenta em duas grandes vertentes: as desordens endócrinas e as afeções anatómicas. [8] Dentro das primeiras, a OMS identifica as desordens ovulatórias e a hiperprolactinémia como sendo as causas mais comuns, enquanto nas segundas, a endometriose, a obstrução das trompas de Falópio e as anomalias da cavidade uterina compreendem as principais causas. [31]

### 1.4.1.1 Desordens endócrinas

#### 1.4.1.1.1 Desordens ovulatórias

As desordens ovulatórias constituem a principal causa de infertilidade na mulher, atingindo cerca de 25% das mulheres inférteis, contudo, alguns estudos identificam-nas como sendo responsáveis por cerca de 40 a 50% dos casos de infertilidade feminina. [10,22,27,29–32]

Fisicamente, as desordens ovulatórias são normalmente indicadas por amenorreia (ausência de menstruação) e oligomenorreia (menstruação irregular) e clinicamente manifestam-se sob três formas principais: anovulação (ausência de ovulação), ovulação com ciclos irregulares (devido a deficiência na fase luteínica o corpo lúteo não consegue produzir progesterona suficiente para manter a estabilidade do endométrio) e pseudo-ovulação (ciclos aparentemente normais, mas o folículo ovárico não rompe e conseqüentemente não liberta o oócito para as trompas de Falópio). [33–35]

A OMS classifica as desordens ovulatórias em três grandes grupos de acordo com os eventos que possam estar na sua origem: [14,22,33–35]

#### *Grupo 1- Disfunções hipotálamo-hipofisárias*

As desordens deste grupo são caracterizadas por disfunções hipotálamo-hipofisárias provocadas pelo *stress*, exercício físico e perda excessiva de peso (hipogonadismo hipogonadotrófico adquirido, amenorreia hipotálamica) ou provocadas por anomalias congénitas (hipogonadismo hipogonadotrófico congénito). [22,33–35] Devido a estas disfunções, as mulheres inseridas neste grupo apresentam uma secreção diminuída da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) a partir do hipotálamo ou uma diminuição da resposta da adeno-hipófise a esta hormona, o que se reflete na menor libertação da hormona folículo estimulante (FSH) e da hormona luteínica (LH) e conseqüentemente na menor produção de estradiol a nível ovárico. Laboratorialmente, as desordens deste grupo caracterizam-se assim por níveis sanguíneos de FSH e de LH ligeiramente diminuídos, níveis de estradiol muito reduzidos e níveis de prolactina normalizados. [22,33–35]

### *Grupo 2- Disfunções hipotálamo-hipófise-ovários*

As desordens deste grupo são caracterizadas por disfunções hipotálamo-hipofisárias provocadas por patologias ováricas comprometedoras da ovulação, das quais se destaca particularmente o Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP). Estima-se que o SOP seja a desordem endócrina feminina mais frequente, sendo responsável por 20% das afeções ovulatórias em mulheres inférteis em idade reprodutiva. [22,33-35] Clinicamente, o SOP é caracterizado por anovulação, oligomenorreia, hiperandrogenismo, morfologia ovárica policística e resistência à insulina, a qual pode ser determinada por fatores genéticos, endócrinos e ambientais. [19,36] Laboratorialmente, cerca de 75% a 85% das mulheres compreendidas neste grupo apresentam níveis sanguíneos normais de estrogénios, de FSH e prolactina, podendo a LH apresentar níveis sanguíneos elevados. [34]

### *Grupo 3- Falha ovárica*

Este grupo é caracterizado pela existência de falha ovárica. [22,32,34] Apesar do hipotálamo e da adeno-hipófise estarem funcionais e de não existir qualquer patologia ovárica, os ovários são incapazes de responder ao aumento dos níveis sanguíneos de LH e FSH, o que pode dever-se a causas genéticas, auto-imunes ou infecciosas. [10,29,32] A desordem mais comum deste grupo é a Insuficiência Ovárica Prematura que é caracterizada por concentrações bastante elevadas de FSH (> 40 UI/L), hipoestrogenismo e pelo menos quatro meses de amenorreia antes dos 40 anos. [34] Uma vez que o número de oócitos é baixo, as opções de tratamento são escassas. [32]

#### **1.4.1.1.2 Hiperprolactinémia**

Para além das desordens ovulatórias apresentadas, a OMS faz ainda referência à possibilidade da existência de um 4º grupo distinto onde se insere a hiperprolactinémia como desordem endócrina de importância considerável (7% dos casos). [34] Os elevados níveis de prolactina interferem com a secreção pulsátil de GnRH, condicionando assim a função ovárica normal, nomeadamente a nível da maturação folicular e da secreção de estradiol. [33] As principais causas de hiperprolactinémia incluem adenomas produtores de prolactina, tumores na hipófise,

deficiência de dopamina ou a toma de alguns fármacos neurolépticos e bloqueadores dos canais de cálcio. [32,34]

### 1.4.1.1.3 Outros distúrbios endócrinos

Apesar das desordens ovulatórias serem as principais desordens endócrinas responsáveis pela infertilidade feminina, existem outros distúrbios endócrinos que também podem estar associados, nomeadamente a nível da tiroide (hipertiroidismo e hipotiroidismo) e da glândula adrenal (hiperplasia adrenal congénita ou doença de *Addison*). [37,38]

Estima-se que a prevalência de infertilidade associada ao hipertiroidismo ronde 5,8% dos casos. [31] Nesta situação observam-se elevados níveis séricos de estradiol o que pode ser explicado com base no aumento dos níveis da hormona SHBG (*sex hormone binding globulin* - responsável pelo transporte das hormonas esteróides em circulação) e no aumento dos níveis de testosterona, que conseqüentemente se converte em estradiol pela ação da enzima aromatase. [31,37,38]

A prevalência da associação entre o hipotiroidismo e a infertilidade feminina é desconhecida. [31] As principais razões que explicam uma associação entre ambas são alterações do metabolismo dos estrogénios, hiperprolactinémia (devido à secreção hipotálamica de TRH), problemas na hemostase (deficiência de fatores de coagulação VII, VIII, IX e X , o que origina polimenorreia e menorragia) e distúrbios na secreção de GnRH que resultam numa libertação anormal de LH. [31,37,38]

É importante salientar que órgãos não endócrinos como o fígado e os rins envolvidos na depuração e no metabolismo das hormonas reprodutivas também podem estar relacionados com infertilidade. Se o seu normal funcionamento estiver alterado, as hormonas reprodutivas não são eliminadas e os mecanismos de *feed-back* do eixo hipotálamo-hipófise-ovários estarão perturbados, o que conseqüentemente resultará num comprometimento da maturação do oócito, da ovulação e em último caso em infertilidade. [34]

### 1.4.1.2 Afeções anatómicas

As afeções anatómicas contribuem de forma significativa para a infertilidade feminina, pois em algumas mulheres, apesar do processo de ovulação ocorrer sem problemas a fertilidade pode estar condicionada devido a bloqueios nas trompas de Falópio e a anomalias na cavidade uterina. <sup>[10,14,36]</sup>

#### 1.4.1.2.1 Obstrução tubular

O bloqueio das trompas de Falópio (obstrução tubular) é uma das causas de infertilidade feminina mais comuns, acometendo cerca de 22% das mulheres inférteis. <sup>[27,29,36]</sup> Estes bloqueios podem afetar qualquer zona das trompas, podendo apresentar-se de forma transitória (obstruções) ou permanentes (oclusões), comprometendo em ambos os casos o acesso do espermatozóide ao oócito para que ocorra a fertilização. <sup>[36]</sup> Na sua origem podem estar situações patológicas como apendicites complicadas, cirurgias pélvicas anteriores, mas principalmente inflamações uterinas e pélvicas como a Doença Inflamatória Pélvica (DIP) que é responsável por 50% dos casos de obstrução tubular. <sup>[10]</sup> A DIP é muitas vezes consequência de infeções sexualmente transmissíveis causadas por *Chlamydia Trachomattis*, e nos países em desenvolvimento, como por exemplo em África, a 85% das mulheres com diagnóstico de infertilidade é atribuída uma causa infecciosa, o que se perfila mais do dobro do que no resto do mundo. <sup>[8,36]</sup>

#### 1.4.1.2.2 Endometriose

A endometriose também assume particular destaque no concerne às causas de infertilidade feminina, sendo-lhe atribuídos cerca de 15% dos casos. <sup>[7,14,36]</sup> Esta patologia caracteriza-se por um reposicionamento do tecido endometrial para fora da cavidade uterina, nomeadamente nos ovários e nas trompas de Falópio, o que interfere com a interação espermatozóide-oócito e diminui a capacidade de receção e implantação do embrião. <sup>[10,19]</sup> Os mecanismos pelos quais a endometriose compromete a fertilidade são diversos, envolvendo componentes imunológicas, genéticas, ambientais, com predominância de fatores mecânicos em estádios avançados da doença. <sup>[36]</sup>

### 1.4.1.2.3 Anomalias da cavidade uterina

Para além da endometriose, outras anomalias que levem à distorção da cavidade uterina são responsáveis por 11% das causas de infertilidade feminina, podendo ser congénitas, como no caso do útero septado, ou adquiridas como no caso dos miomas. [32,33,40] Ao comprometerem a integridade da cavidade uterina estas malformações estão associadas a uma dificuldade acrescida de implantação do embrião, o que se manifesta através de abortos recorrentes ou infertilidade. [19,36]

### 1.4.1.3 Reserva ovárica

Independentemente das desordens endócrinas e anatómicas referidas anteriormente há um fator significativo que condiciona fortemente a fertilidade feminina, a sua reserva ovárica. [14,27,29,39-42]

A reserva ovárica descreve o *pool* folicular, ou seja, a quantidade e a qualidade de folículos ováricos disponíveis para originar um folículo dominante no final de cada fase folicular do ciclo menstrual, do qual se libertará um oócito (ovulação) para potencial fertilização. [43-45]

Intimamente relacionada com o conceito de reserva ovárica está a idade da mulher, sendo que, à medida que esta avança, a reserva ovárica vai diminuindo natural e progressivamente: às 20 semanas de gestação o feto feminino dispõe de um *pool* folicular de 6-7 milhões de oócitos, na altura do nascimento esse valor reduz-se para 1-2 milhões e na puberdade o número de oócitos cai até aos 300-500 mil, sendo apenas 25 000 aos 37 anos e 1000 aos 51 anos (Fig.1.4). [40-42]

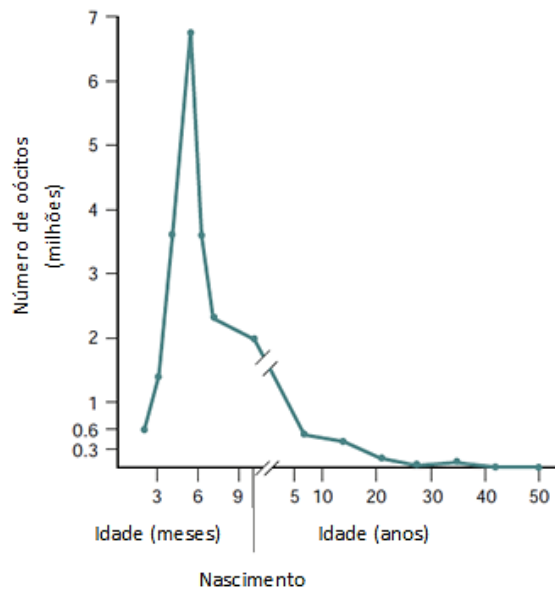


Figura 1.4 - Número de oócitos nos ovários antes e depois do nascimento. Adaptado de [29]

Para além da redução da quantidade do *pool* folicular, é importante também salientar outro aspeto importante: durante a idade reprodutiva os folículos mais sensíveis aos efeitos da hormona FSH são aparentemente selecionados para se tornarem no folículo dominante, no entanto, com o passar do tempo, os folículos remanescentes começam a tornar-se relativamente resistentes à FSH e tendem a degenerar pelo processo de atresia, o que significa que para além de uma diminuição da quantidade de oócitos com o avançar da idade da mulher, há um decréscimo da sua qualidade. [29]

Desta forma, o cada vez menor número de oócitos de qualidade disponíveis para a fertilização vai refletir-se consequentemente num declínio contínuo da fertilidade feminina. [46] Comparativamente a mulheres entre os 18 e os 29 anos verificam-se taxas de fertilidade 15 a 19% inferiores em mulheres entre os 30 e os 40 anos, 26 a 46% inferiores em mulheres entre os 35 e os 39 anos e até 95% inferiores em mulheres cujas idades se situam entre os 40 e os 45 anos, considerando-se assim que por volta dos 41 anos a maior parte das mulheres seja infértil. [8,19]

Ao longo dos anos tem-se verificado o adiar propositado da maternidade para idades mais avançadas, comportamento que surge como uma consequência das profundas mudanças nos costumes sociais, especialmente nos países desenvolvidos em que a mulher prescinde de ser mãe mais cedo em prol da carreira profissional e de alguma

estabilidade financeira (Fig.1.5). <sup>[19,39,40]</sup> Este fenómeno tem contribuído de forma significativa para os muitos casos de infertilidade registados, uma vez que ao remeter a gravidez para alturas mais tardias da vida a mulher está como vimos, a diminuir as probabilidades de vir a ser mãe. <sup>[19,40]</sup>

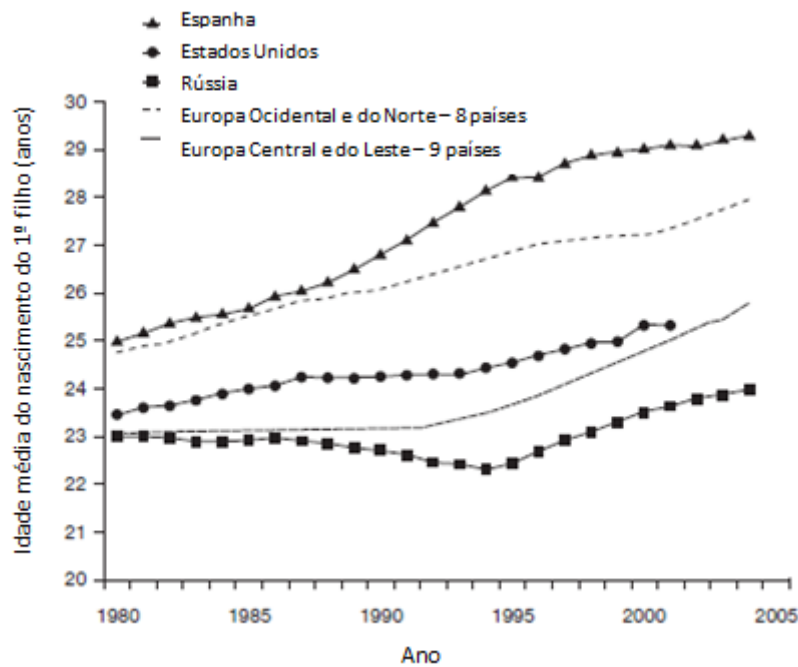


Figura 1.5 - Idade média do nascimento do 1º filho, entre 1980 e 2005. Adaptado de <sup>[40]</sup>

Contudo, é preciso ressaltar, que apesar da idade da mulher apresentar um peso fundamental no declínio da fertilidade feminina, nem todas as mulheres veem a sua fertilidade comprometida da mesma forma. <sup>[6]</sup> Isto acontece porque a idade cronológica de uma mulher nem sempre é equivalente à sua idade biológica, ou seja, uma mulher pode ser cronologicamente jovem e apresentar uma reserva ovárica característica de uma mulher cronologicamente mais velha, devido a outros razões que tenham desencadeado uma falha ovárica prematura, como por exemplo a endometriose ou cirurgias ováricas prévias. <sup>[6,40,47]</sup> Estima-se que uma em cada dez mulheres terá a sua fertilidade reduzida por volta dos 32 anos. <sup>[48]</sup>

Tendo estas situações em conta, a idade da mulher por si só não pode ser considerada um fator preditivo da sua fertilidade. <sup>[6]</sup> Neste contexto, os testes de reserva ovárica através da utilização de biomarcadores hormonais, genéticos e funcionais específicos

permitem quantificar perfis individuais de reserva ovária, facilitando a abordagem diagnóstica e direcionando estratégias terapêuticas (capítulo 4).<sup>[6]</sup>

### 1.4.2 Infertilidade masculina

No homem, qualquer processo que perturbe a produção de sémen e os seus parâmetros de qualidade contribui para a infertilidade masculina.<sup>[49]</sup>

Como causas mais comuns podem identificar-se afeções congénitas (Criptocirdismo; Ausência Congénita de Canais Deferentes; anomalias genéticas como os Síndromes de *Klinefelter* e *Kallman* e microdelecções no cromossoma Y) ou afeções adquiridas (varicocele, cancro testicular, traumas, exposição a gonadotoxinas, infecções urogenitais, doenças sistémicas, cirurgias que danifiquem a vascularização dos testículos, hipogonadismo hipogonadotrófico, disfunção sexual e ejaculatória, obstruções do trato genital e doenças imunológicas).<sup>[28,49-51]</sup>

Apesar da diversidade de causas e da investigação científica na área, em cerca de 50-70% dos casos a etiologia da infertilidade masculina permanece difícil de identificar, considerando-se como uma infertilidade idiopática, ou seja, apesar dos parâmetros de qualidade do sémen poderem estar alterados, nenhuma das afeções acima referidas a permite justificar.<sup>[28,49,52]</sup>

Dentro dos casos em que é possível identificar a etiologia, o varicocele é causa de infertilidade masculina mais comum, acometendo cerca de 12,3% dos casos de infertilidade no homem.<sup>[28,52]</sup> Esta patologia é caracterizada pela existência de uma veia varicosa no escroto que leva ao aumento da temperatura dos testículos, condicionando assim o seu funcionamento e os processos reprodutivos.<sup>[10,52]</sup> Com expressão estatística considerável (5%), podem destacar-se ainda as anomalias genéticas, as quais explicam 7% dos casos de infertilidade em homens com problemas ao nível da espermatogénese e 14% dos casos de infertilidade em homens com azoospermia. Em cerca de 3,1% dos casos, a infertilidade masculina pode ser explicada por condições imunológicas, nas quais o organismo produz anticorpos contra o próprio esperma.<sup>[10,52]</sup>

Contrariamente à mulher, a idade não parece assumir um papel tão preponderante no que à fertilidade masculina diz respeito, uma vez que ao contrário do ciclo ovário, a espermatogénese é contínua ao longo da vida. <sup>[7,29]</sup> No entanto, sabe-se que a mobilidade do espermatozóide, um importante indício de fertilidade, diminui com a idade. <sup>[7]</sup> Também com o avançar da idade o homem estará mais sujeito ao aparecimento de cancro, alterações hormonais e a outras doenças sistémicas que poderão vir a condicionar a sua fertilidade. <sup>[19]</sup>

### 1.4.3 Infertilidade associada aos estilos de vida

Para além de todas as causas que já foram referidas, também os estilos de vida são determinantes para a infertilidade feminina e masculina. Se nos meios desenvolvidos, o peso, o sedentarismo, o *stress*, o consumo de tabaco, álcool e cafeína e a exposição à poluição ambiental são os principais elementos a considerar, nos meios em desenvolvimento os comportamentos sexuais de risco assumem contornos importantes. <sup>[19,53]</sup>

#### *Peso*

Vários estudos têm comprovado que mulheres com um índice de massa corporal (IMC) < 19 e > 25 apresentem fertilidade reduzida e aumento do tempo de conceção. <sup>[19,53]</sup> A obesidade e a magreza excessiva influenciam o balanço hormonal, comprometendo assim a função ovulatória. <sup>[19]</sup> Estima-se que 50% das mulheres que estejam mais do que 20% acima do seu peso ideal terão problemas de anovulação, existindo também forte associação entre a obesidade, o SOP e a resistência à insulina. <sup>[35]</sup>

No homem, um IMC < 20 ou > 25 tem sido associado a uma redução da qualidade do espermatozóide. <sup>[19]</sup> Os tecidos adiposos segregam hormonas que alteram o funcionamento do eixo endócrino do homem com impacto final na produção de testosterona e na espermatogénese, produzindo também mediadores inflamatórios que aumentam a produção de espécies reativas de oxigénio. <sup>[19]</sup>

### *Sedentarismo*

A prática de exercício físico é aconselhada, desde que de uma forma moderada, pois permite o aumento da sensibilidade à insulina, o que melhora a função dos ovários e aumenta as hipóteses de concepção. No entanto, o excesso de exercício físico severo impõe elevado *stress* físico, o que pode comprometer a homeostasia do organismo. [19,53]

### *Stress psicológico*

Na mulher, uma das principais consequências da exposição crónica ao *stress* é a redução da secreção de gonadotrofinas para níveis similares aos encontrados em meninas em pré-puberdade, impossibilitando a ovulação. [19] No homem, o *stress* pode induzir *stress* oxidativo nas células, o que se reflete na redução do número de espermatozóides e na sua normal motilidade. [53]

### *Tabaco*

Estima-se que o risco de infertilidade seja o dobro em indivíduos fumadores comparativamente com indivíduos não fumadores, suspeitando-se que seja devido à vulnerabilidade da gametogénese a componentes tóxicos do tabaco como o cádmio e a cotinina. [19,53] No caso específico da mulher, a nicotina altera a contractilidade das trompas de Falópio o que vai afectar directamente a fertilização e a cotinina e o cádmio interferem no desenvolvimento folicular. [19] Vários estudos vieram alertar que mulheres que fumam demoram mais tempo a conseguir engravidar, podem ver antecipada a menopausa em 1 a 4 anos e apresentam um maior risco de ocorrência de aborto no primeiro trimestre, gravidez ectópica e mutações genéticas. [53] No homem, o tabaco perturba a espermatogénese, a mobilidade e a morfologia dos espermatozóides, estando associado a um elevado risco de danos a nível do ADN. [19,53]

### *Álcool*

Para além de teratogénico sabe-se que o álcool origina um declínio na fertilidade, no entanto os mecanismos pelos quais isso acontece ainda estão em debate. [19,53] Sugere-se que o álcool possa induzir um aumento nos estrogénios, o que reduz a secreção de

FSH, que por sua vez suprime a foliculogénese e a ovulação, podendo também condicionar a maturação do ócito e a implantação do embrião no útero. <sup>[19,53]</sup>

No homem, o abuso crónico de álcool reduz a libido sexual, interfere na produção de hormonas e na espermatogénese, favorecendo também a produção de espécies de oxigénio reativas. <sup>[19]</sup>

### *Cafeína*

Alguns estudos apontam que mulheres que consomam cafeína em quantidades superiores a 500 mg por dia veem prolongado o tempo de conceção, tendo aumentado também o risco de aborto espontâneo e morte fetal. <sup>[19]</sup> No que concerne ao homem, não parece haver evidências que permitam estabelecer uma associação entre o consumo de cafeína e a infertilidade. <sup>[19]</sup>

### *Poluição ambiental*

Os sistemas reprodutivos masculinos e femininos são bastante sensíveis aos efeitos da radiação e dependendo da dose recebida e do tempo de exposição podem verificar-se situações de infertilidade temporária ou definitiva. <sup>[9]</sup> Também a exposição a pesticidas e a gonadotoxinas está associada à produção de uma menor quantidade de esperma no homem e a um maior risco de endometriose na mulher. <sup>[2,7, 19]</sup>

## Capítulo 2 - Endocrinologia da reprodução

### 2.1 Contextualização

Praticamente todos os processos biológicos da reprodução humana são regulados internamente por hormonas. <sup>[10]</sup> As hormonas funcionam como mensageiros químicos, que uma vez segregadas pelas glândulas endócrinas e libertadas na corrente sanguínea são transportadas para determinados locais onde interagem com recetores específicos e vão exercer ações fundamentais na atividade fisiológica de órgãos e tecidos. <sup>[29,54]</sup> Ao atuarem nas estruturas reprodutoras, as hormonas não só permitem o seu desenvolvimento e maturação como também regulam o *timing* dos eventos reprodutivos, sendo que na mulher é a libertação coordenada de hormonas que permite que se dê a ovulação, ou seja, a libertação de um oócito a partir do ovário, a cada 28 dias. <sup>[10]</sup> Do sistema endócrino fazem parte as glândulas endócrinas e as células endócrinas isoladas, mas também o hipotálamo, a hipófise, e as gónadas (testículos e ovários), todos de relevância primordial na reprodução humana. <sup>[54]</sup> Tendo em consideração a dimensão da incidência que o aparato endocrinológico tem nos processos reprodutivos e conseqüentemente na fertilidade, surgiu a necessidade de promover uma abordagem, ainda que superficial da endocrinologia reprodutiva, que será de extrema importância para compreender as causas de infertilidade, o processo analítico-laboratorial e as opções terapêuticas do casal em consulta de infertilidade.

### 2.2 Principais hormonas envolvidas no processo reprodutivo

Em primeira instância é fundamental perceber quais são as principais hormonas envolvidas no processo reprodutivo e de que forma é que elas atuam. Podem distinguir-se normalmente dois grupos: as hormonas esteróides, que derivam do colesterol e as hormonas gonadotrofinicas (gonadotrofinas), as quais possuem, na sua maioria, origem glicoproteica. <sup>[10,54]</sup>

As hormonas esteróides compreendem os androgénios, que são responsáveis pelo desenvolvimento e função das estruturas reprodutoras masculinas, sendo por isso conhecidos como as hormonas sexuais masculinas e os estrogénios e a progesterona

que estimulam a maturação folicular e a função das estruturas reprodutoras femininas, sendo por isso designadas por hormonas sexuais femininas. [10,29]

No homem, o androgénio predominante é a testosterona, a qual é produzida nos testículos e cujo papel na espermatogénese é crucial, estando bem estabelecido que níveis reduzidos de testosterona intratesticular podem resultar em oligospermia ou azoospermia. Na mulher, o principal estrogénio é o estradiol, o qual é segregado pelos folículos ovários e pelo corpo lúteo. [10,55]

As hormonas gonadotróficas incluem a hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), produzida no hipotálamo, a hormona folículo-estimulante (FSH) e a hormona luteínica (LH), ambas sintetizadas na adeno-hipófise. A principal função destas hormonas é regular a produção das hormonas sexuais (androgénios, estrogénios e progesterona) a partir das gónadas (testículos e ovários) com consequências diretas ao nível da espermatogénese, da maturação dos folículos, da ovulação e da manutenção de uma gravidez. [7,10,55]

### **2.3 Eixo endócrino hipotálamo-hipófise-gónadas**

Uma vez que o processo de regulação endócrina da reprodução resulta de estreitas interações entre o hipotálamo, a hipófise e as gónadas, é fundamental conhecer o funcionamento deste eixo reprodutivo quer na mulher, quer no homem.

#### **2.3.1 Eixo endócrino hipotálamo-hipófise-ovários**

O corpo da mulher prepara-se todos os meses para a reprodução, através de ciclos repetitivos de desenvolvimento folicular, ovulação e preparação do endométrio para a implantação do embrião caso ocorra uma gravidez. [10,29]

A harmonia deste processo é possível graças à integração coordenada temporal e funcional de mecanismos hormonais complexos e extremamente controlados que envolvem o hipotálamo, a hipófise e os ovários. De um modo simplificado, este sistema pode explicar-se da seguinte forma: através de uma libertação pulsátil (secreção episódica de discretas quantidades hormonais em intervalos de 15 min a

intervalos de várias horas), o hipotálamo segrega a hormona GnRH a qual ao interagir com recetores específicos na adeno-hipófise vai modular a síntese e a libertação para a circulação sanguínea das hormonas FSH e LH. Estas, por sua vez, vão estimular os ovários a uma secreção coordenada de estradiol e progesterona, resultando como acontecimentos finais o desenvolvimento folicular, a ovulação e a formação do corpo lúteo (Fig.2.1).<sup>[10]</sup>

Uma característica fundamental deste processo é o efeito modulatório (*feed-back*) que as gónadas exercem no cérebro com vista a regular a secreção de gonadotrofinas, quer atuando diretamente na adeno-hipófise, quer alterando a amplitude ou a frequência da secreção de GnRH pelo hipotálamo.<sup>[29]</sup> Com base nas concentrações de estradiol, progesterona e inibinas (hormonas inibitórias produzidas nos ovários e com pico máximo na fase luteínica do ciclo menstrual) disponíveis, as gónadas dão ao cérebro as indicações das necessidades hormonais para assegurar o processo reprodutivo e de acordo com essas necessidades homeoestásicas, a secreção de gonadotrofinas é induzida (*feed-back* positivo) ou inibida (*feed-back* negativo) (Fig.6).<sup>[29]</sup>

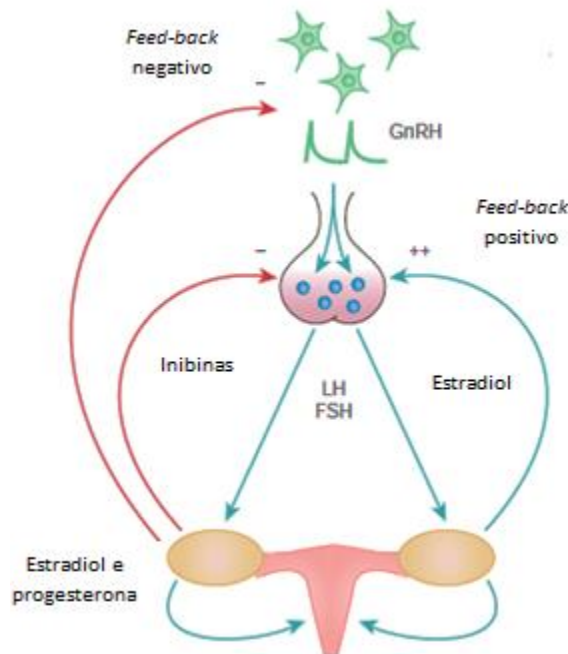


Figura 2.1 - Eixo hipotálamo-hipófise-ovários. Adaptado de<sup>[29]</sup>

De forma a elucidar com maior rigor como a regulação endócrina acima referida se repercute no ciclo hormonal feminino é de interesse abordar, ainda que de forma resumida, o ciclo menstrual.

### 2.3.2 O ciclo menstrual

Cada ciclo menstrual pode ser dividido em três fases principais: a fase menstrual (destrutiva), a fase folicular (proliferativa) e a fase luteínica (secretora), compreendendo cada uma delas não apenas eventos hormonais, mas também estruturais, tanto a nível ovárico como a nível uterino (Fig.2.2). [10,29]

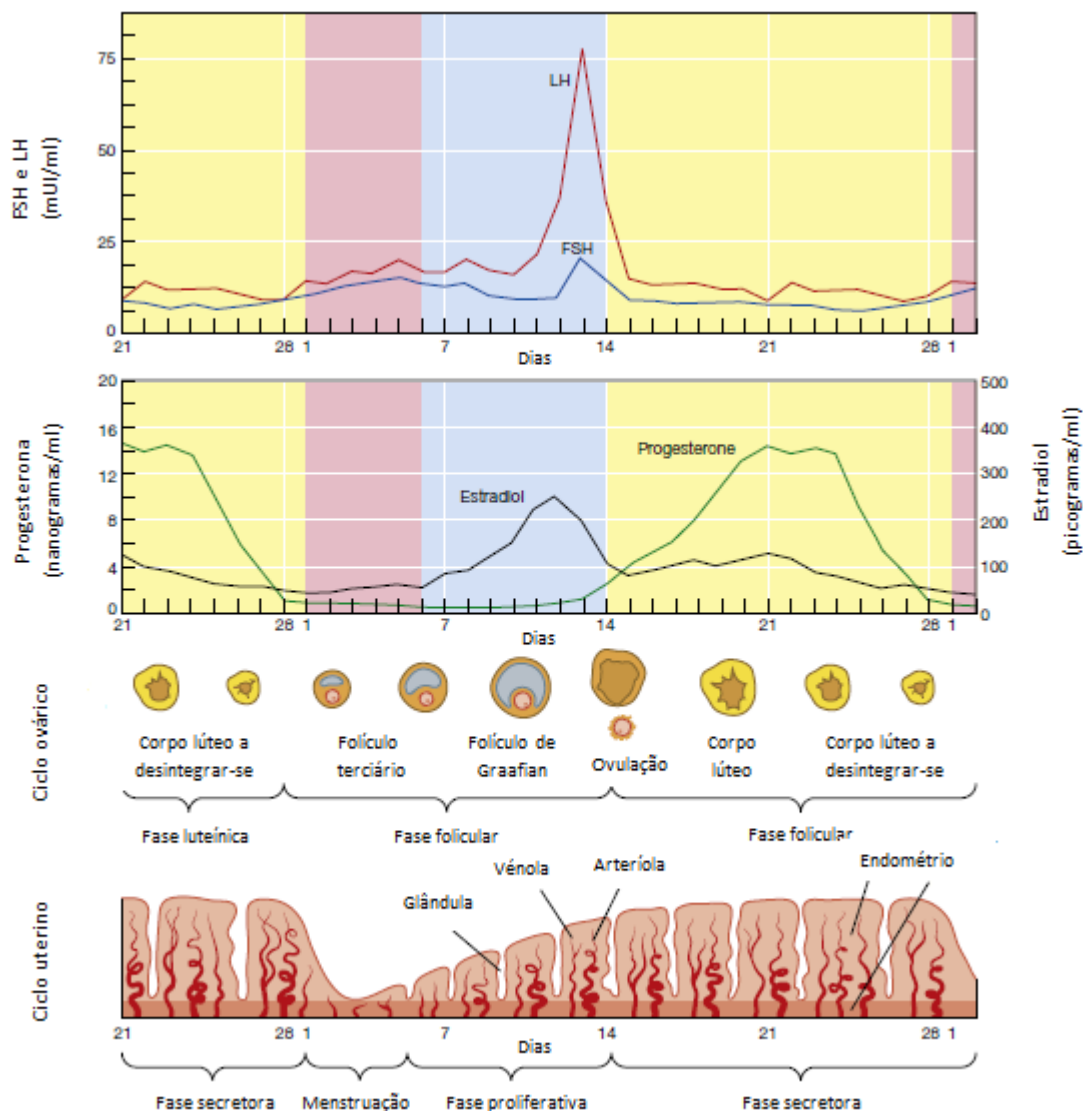


Figura 2.2 – Ciclo menstrual. Adaptado de [29]

### *Fase menstrual*

Antes do 1º dia do ciclo menstrual (que se considera o 1º dia da menstruação), o corpo lúteo formado após a ovulação começa a desintegrar-se e como este é produtor maioritário de estradiol e de progesterona, o seu desaparecimento vai repercutir-se em baixos níveis sanguíneos de estradiol e progesterona no início da fase menstrual e consequentemente na destruição do endométrio e na ocorrência da menstruação (Fig.2.2).<sup>[10,29]</sup>

No 1º dia do ciclo também os níveis sanguíneos das hormonas FSH e LH estão reduzidos, registando-se ao 3º dia um aumento dos níveis de FSH que irá ter um papel preponderante na estimulação do crescimento folicular. Os folículos formados começam a segregar maiores quantidades de estradiol, verificando-se um aumento dos níveis sanguíneos desta hormona a partir do 3º dia do ciclo. Nesta fase do ciclo, os níveis sanguíneos de progesterona permanecem baixos (Fig.2.2).<sup>[10,29]</sup>

### *Fase folicular*

Esta fase é marcada pelo rápido crescimento folicular, uma vez que sob a influência do aumento dos níveis sanguíneos de FSH, uma amostra de folículos é destituída de sofrer o processo de degenerescência (atresia) e começa a crescer rapidamente. Pelo 13º dia do ciclo apenas um único folículo maduro de grandes dimensões estará presente em cada ovário (folículo de *Graafian*), tendo todos os outros degenerado (Fig.2.2).<sup>[10,29]</sup>

A produção de estradiol por esses folículos de grandes dimensões leva a um aumento dos níveis sanguíneos desta hormona o que se repercute diretamente na proliferação do endométrio que adquire maior espessura e maior vascularização. Os níveis sanguíneos de estradiol continuam a aumentar até atingirem um pico máximo no 12º dia do ciclo, sendo que 24 a 48h horas após esse valor máximo ser atingido dá-se um aumento abrupto dos níveis sanguíneos de LH, ocorrendo a ovulação 9 a 12 horas depois. Antes da ovulação verifica-se também um ligeiro aumento nos níveis de FSH e de progesterona (Fig.2.2).<sup>[10,29]</sup>

Na fase folicular ocorrem alguns dos mecanismos de *feed-back* referidos anteriormente: <sup>[10,29]</sup>

- No início da fase folicular, quando os níveis séricos de estradiol são reduzidos, os níveis séricos de FSH aumentam devido à ausência de *feed-back* negativo sobre a secreção de GnRH por parte do estradiol, cujos valores são irrisórios.
- A meio da fase folicular, após atingir concentrações moderadamente elevadas devido à produção folicular, o estradiol vai exercer um *feed-back* negativo sobre a secreção de GnRH e conseqüentemente as concentrações sanguíneas de FSH começam a diminuir.
- Nos últimos dias da fase folicular, devido à secreção por folículos de grandes dimensões os níveis séricos de estradiol estão significativamente elevados, o que permite exercer um *feed-back* positivo sobre a secreção de GnRH, o que se vai repercutir no aumento abrupto da concentração sanguínea de LH no 14º dia do ciclo.

### *Fase luteínica*

Com a ovulação há a libertação de um oócito e a formação do corpo lúteo a partir da parede remanescente do folículo que ovulou. O corpo lúteo começa a produzir estradiol e principalmente progesterona em grandes quantidades, o que permite que o endométrio aumente de espessura e comece a segregar nutrientes, preparando-se para receber um embrião, caso o oócito produzido na ovulação seja fecundado. Se a fertilização não ocorrer, o corpo lúteo começa a degenerar (4 dias antes da menstruação) e os níveis de estradiol e progesterona começam obviamente a diminuir o que leva a que o endométrio se desintegre, ocorrendo a menstruação. Retoma-se assim novo ciclo menstrual (Fig.2.2). <sup>[10,29]</sup>

Também nesta fase há um mecanismo de *feed-back* a registar: <sup>[10,29]</sup>

- A presença de estradiol e principalmente de progesterona em altas concentrações resulta num *feed-back* negativo que se reflecte na diminuição da secreção de LH e FSH, daí os seus níveis serem tão baixos nesta fase. Tendo em conta o que se verificou no fim da fase folicular (a combinação de estradiol e progesterona antes da ovulação induzirem a secreção de FSH e LH), parece um contra-senso que na fase luteínica esta

mesma combinação seja responsável por exercer um *feed-back* negativo que leva à diminuição dessas hormonas. Isto pode ser explicado se tivermos em conta que no final da fase folicular o aumento de LH por *feed-back* positivo acontece quando os valores de estradiol se encontram mais elevados quando comparados com os de progesterona. Há ainda que considerar as inibinas, as quais apresentam um pico de concentração sanguínea na fase luteínica, inibindo assim por *feed-back* negativo a secreção de FSH e consequentemente o crescimento folicular. <sup>[10,32]</sup> As pílulas contraceptivas orais tentam mimetizar a condição hormonal da fase luteínica, contendo por isso baixas concentrações de estrogénios e altas concentrações de progesterona, prevenindo assim a ovulação e inibindo o crescimento folicular. <sup>[29]</sup>

### 2.3.3 Eixo endócrino hipotálamo-hipófise-testículos

Tal como na mulher, também o homem dispõe de um sistema integrado hipotálamo-hipófise-gónadas cuja coordenação é essencial para o funcionamento do seu sistema reprodutivo, nomeadamente ao nível da espermatogénese e da produção de androgénios (principalmente testosterona). <sup>[10,51]</sup>

Eis o seu funcionamento:

O hipotálamo masculino liberta de forma pulsátil a hormona GnRH, a qual interage com recetores específicos na adeno-hipófise promovendo a modulação da síntese e da libertação para a circulação sanguínea das hormonas FSH e LH que vão atuar a nível testicular: a LH induz as células de *Leydig* a produzirem testosterona, que por sua vez vai interagir com recetores específicos nas células de *Sertoli* de forma a promover a espermatogénese; a FSH ao ligar-se também a recetores específicos nas células de *Sertoli* amplifica e mantém os efeitos exercidos pela testosterona no processo de espermatogénese. <sup>[10,29,51]</sup> Alguma testosterona é convertida em estradiol pela enzima aromatase (Fig.2.3). <sup>[51]</sup>

A secreção de LH e FSH é regulada por mecanismos de *feed-back negativo* mediados pela ação da testosterona, do estradiol e das inibinas no hipotálamo e na adeno-hipófise (Fig.8): <sup>[10,29,51]</sup>

O hipotálamo é inibido de segregar GnRH através pela acção do estradiol e da testosterona juntos dos receptores, o que resulta numa diminuição da concentração de LH, com conseqüente redução da estimulação das células de *Leydig* e da produção de testosterona (Fig.8).<sup>[51]</sup> Por sua vez, a secreção de FSH é regulada através de dois mecanismos de *feed-back* negativo: a inibição da secreção hipotálamica de GnRH devido a elevados níveis de testosterona e a diminuição da sensibilidade das células secretoras de FSH à GnRH provocada pelas inibinas (Fig.8). Este mecanismo controlado permite assegurar a homeostasia necessária ao processo de espermatogénese.<sup>[10,29,51]</sup>

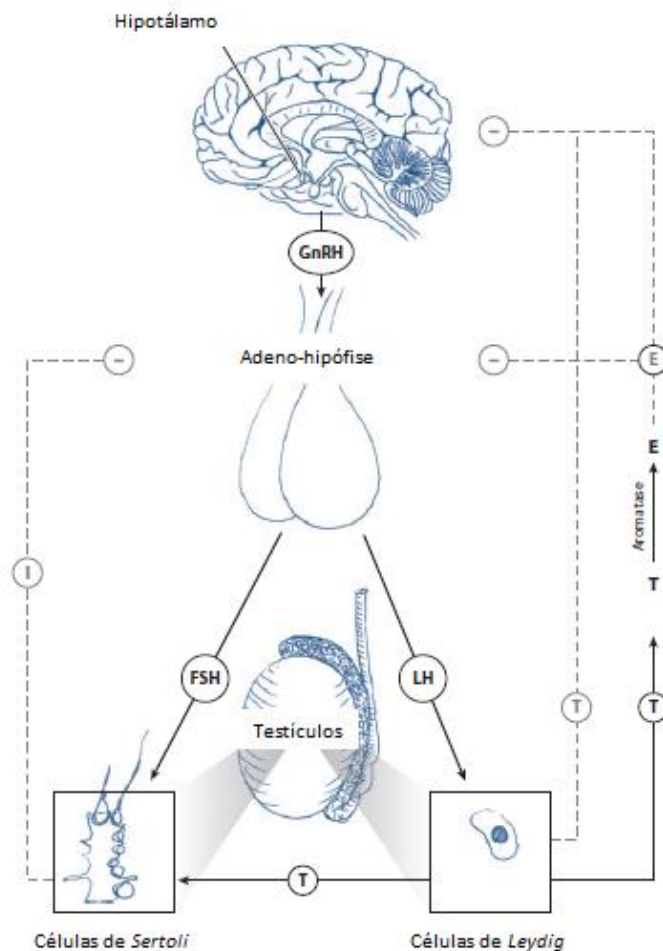


Figura 2.3 - Regulação endócrina do eixo hipotálamo-hipófise-testículos. E- estrogénios ; T- Testosterona. Adaptado de<sup>[51]</sup>

## Capítulo 3 - Avaliação e monitorização laboratorial do casal infértil – Abordagem inicial

### 3.1 Contextualização

A etapa mais importante na gestão da infertilidade é a avaliação clínica do casal, pois só através de um diagnóstico assertivo é possível perceber quais as causas por detrás do problema e otimizar as opções terapêuticas mais adequadas às várias situações. [24,56] Uma avaliação clínica inicial bem conseguida pode desvendar a causa da infertilidade do casal em 80% dos casos. [38] Desta forma, todo o processo avaliativo deve ser minucioso, conduzido de forma sequencial (*step-by-step*) e sempre baseado na evidência clínica. [1,57]

Tendo por base a definição clínica de infertilidade, que dita que a infertilidade é uma “doença do sistema reprodutivo que se traduz na incapacidade de alcançar a conceção após 12 meses ou mais de relações sexuais regulares sem uso de métodos anticoncepcionais”, uma avaliação diagnóstica da fertilidade do casal é normalmente aconselhada caso a aplicação da definição se verifique, ou seja, após doze meses de tentativas de conceção sem sucesso. [1,13,22,56]

No entanto, se a mulher tiver uma idade superior a 35 anos vai claramente apresentar um declínio na infertilidade devido à diminuição da quantidade e da qualidade da reserva ovariana pelo que, após um período de seis meses de tentativas de conceção sem sucesso, se aconselha o acompanhamento clínico nestes casos. [4,24,55]

Caso exista alguma causa clínica óbvia subjacente (historial de amenorreia ou oligo-amenorreia, afeções tubulares, endometriose, conhecimento ou suspeita de infertilidade masculina) ou outros fatores predisponentes conhecidos e identificáveis que estejam a condicionar a fertilidade do casal, recomenda-se que este comece a ser acompanhado em consulta de infertilidade imediatamente. [1,22,56]

De acordo com a Rede de Referenciação de Infertilidade, a referenciação dos casais para diagnóstico e tratamento de infertilidade pode ser dirigida a três instâncias diferentes: os cuidados de saúde primários (médico de família, ginecologista,

urologista), os cuidados hospitalares de 1ª linha (tratamentos médicos e cirúrgicos), os cuidados hospitalares de 2ª linha (centros de procriação medicamente assistida).<sup>[3]</sup>

Apesar de todo o processo envolver várias etapas progressivamente mais complexas e específicas, a primeira abordagem pressupõe uma avaliação global preliminar que deve ser feita a nível dos cuidados de saúde primários.<sup>[3]</sup>

Partindo do conhecimento que as dificuldades de um casal em conceber podem ter na sua origem fatores femininos, masculinos ou ambos é crucial que numa avaliação preliminar tanto o homem como a mulher sejam objeto de investigação.<sup>[2,4,10]</sup> A descoberta de um problema de infertilidade num dos membros do casal, não absolve o outro de ser corretamente avaliado, uma vez que em 35% dos casos a infertilidade tem origem em problemas que acometem o homem e a mulher em simultâneo.<sup>[24]</sup>

Para cada um dos elementos do casal, a avaliação inicial assenta em três etapas fundamentais: a história clínica detalhada, o exame físico abrangente e os exames complementares de diagnóstico (laboratoriais e imagiológicos).<sup>[1, 24]</sup>

Para além da importância óbvia do exame físico e dos exames complementares de diagnóstico, a construção pormenorizada da história clínica dos indivíduos é fundamental de forma a despistar situações, comportamentos e práticas que possam estar na essência da infertilidade.<sup>[56]</sup> Esta etapa é de máxima importância, devendo os casais serem entrevistados em conjunto e também individualmente, sendo que, até para os indivíduos cuja história clínica é conhecida, há aspetos que devem ser reavaliados uma vez que muitas situações de infertilidade poderão ser resolvidas com simples modificações nos estilos de vida.<sup>[3,4]</sup>

Neste capítulo pretende descrever-se o processo de avaliação inicial a que um casal referenciado a consulta médica é submetido. Tendo em conta que as causas de infertilidade mais comuns são anormalidades ao nível do esperma, desordens ovulatórias e obstrução uterina e das trompas, as investigações preliminares do casal em consulta de infertilidade centram-se nas análises ao sémen no homem e na avaliação da função ovulatória, da reserva ovárica e da desobstrução tubular na mulher.<sup>[4]</sup>

## 3.2 Avaliação e monitorização laboratorial da mulher infértil – Abordagem inicial

### 3.2.1 História clínica

A construção detalhada da história clínica da mulher deve compreender várias abordagens, nomeadamente a sua história atual, menstrual, obstétrica, contraceptiva e sexual, considerando também aspetos da sua história passada e familiar. <sup>[3,4]</sup>

#### *História atual*

Em primeiro lugar deve ser apurada a idade da mulher, qual o problema que a levou a recorrer à consulta de infertilidade e há quanto tempo é que este se prolonga. <sup>[3,4]</sup> Deve inquirir-se sobre a sua ocupação profissional, uma vez que algumas profissões acrescem riscos à fertilidade feminina, nomeadamente a indústria de tintas ou madeiras, devido ao contacto com solventes, e as profissões de farmacêutica e enfermeira devido à manipulação de agentes químicos como o mercúrio, cádmio e agentes neoplásicos. <sup>[3,4]</sup>

Para além disso, é importante registar: descargas mamárias de leite, episódios de afrontamentos, desordens alimentares, a existência de doenças como a Diabetes e a Hipertensão, dor abdominal ou pélvica e a toma de medicação (anti-inflamatórios não esteróides e antidepressivos podem estar relacionados com anovulação; a cimetidina pode causar um aumento dos níveis de prolactina; os imunossupressores podem interferir na capacidade de conceção e os fármacos citotóxicos podem induzir falência ovária). <sup>[3,4]</sup> O consumo de drogas recreativas como a marijuana e a cocaína, o consumo de tabaco, álcool e cafeína e a prática de exercício físico também devem ser registados. <sup>[3,4]</sup>

#### *História menstrual*

As desordens ovulatórias manifestam-se normalmente através de alterações do ciclo menstrual (amenorreia, oligomenorreia), pelo que a história menstrual é de fundamental importância para auxiliar na avaliação da função ovulatória. <sup>[4,12,56]</sup> Se a mulher apresentar um ciclo menstrual regular (intervalos entre 25 a 35 dias, com um

fluxo consistente e sintomas característicos) há 95% de probabilidades da ocorrência da ovulação, no entanto é importante a confirmação desta através da realização de exames complementares de diagnóstico. <sup>[1,3,4,12,56]</sup> No entanto, mulheres que registem um sangramento uterino anormal e reportem amenorreia ou oligomenorreia não necessitam da realização de exames complementares de diagnóstico para que se possa estabelecer um diagnóstico de desordem ovulatória. <sup>[56]</sup>

### *História obstétrica e contracetiva*

É importante registar a existência de gravidezes anteriores, situações de abortos de repetição, de interrupção voluntária da gravidez e de eventuais complicações infecciosas. <sup>[1,3]</sup> O uso de métodos de contraceptivos prévios também deve ser esclarecido, nomeadamente os dispositivos intra-uterinos e potenciais problemas que daí possam ter advindo. <sup>[1]</sup>

### *História sexual*

Deve inquirir-se a mulher sobre a frequência das relações sexuais vaginais, qual o *timing* em relação ao ciclo menstrual (é importante perceber se a mulher está a monitorizar a sua ovulação através de algum método), se é corrente o uso de lubrificantes sexuais (podem ter espermicidas), se há dor na relação sexual (dispareunia) ou se houve perda de líbido. <sup>[1,3]</sup>

### *História passada*

É importante esclarecer episódios passados de doenças como a Doença Inflamatória Pélvica, a tuberculose, as infeções sexualmente transmissíveis, bem como a realização de cirurgias abdominais ou pélvicas anteriores como a apendicectomia ou a cesariana que possam ter afetado a integridade cervical. <sup>[1-4]</sup>

### *História familiar*

Considera-se de grande significado não só o levantamento de situações de infertilidade na família, como também o registo de episódios de cancro de mama e outras doenças como a Diabetes e a Hipertensão, a Endometriose e o SOP. É importante também apurar a existência de atrasos mentais e de anomalias genéticas na história familiar,

inquirindo particularmente sobre a fibrose cística, uma vez que esta é uma doença genética autossômica recessiva fortemente relacionada com a incidência de infertilidade na mulher.<sup>[1,4]</sup>

### 3.2.2 Exame físico

Para além do exame geral (pressão arterial, IMC), a mulher deve ser avaliada fisicamente para verificação da presença dos caracteres sexuais secundários (mamas desenvolvidas, pêlos púbicos e axilares, ancas alargadas) e para a possibilidade da existência de desordens endócrinas como o Hipotirodismo, o Hipertirodismo, a Síndrome dos Ovários Polcísticos e a hiperprolactinémia.<sup>[1,4]</sup>

Para tal, do exame físico devem constar: a palpação da tiróide; a observação e a palpação da mama para avaliar o seu desenvolvimento e para detetar a existência de alguma patologia ou a presença de galactorreia; a observação de sinais físicos que revelem excesso de androgénios, como por exemplo o alopécia, o excessivo crescimento de pêlos na cara e no peito (hirsutismo), associado a acne ou não; a palpação e a observação abdominal para despiste da presença de alguma massa abdominal, organomegália ou ascites; o exame genital, por observação do tamanho, da forma, da consistência e da mobilidade do útero e por palpação dos ligamentos útero-sagrados e do septo recto-vaginal. A existência de nódulos nestas regiões pode ser indicativa de endometriose ou Doença Inflamatória Pélvica.<sup>[1,4,12]</sup> As estruturas vaginais também devem ser avaliadas quanto ao tamanho, forma e anomalias estruturais, devendo ser também verificado o corrimento típico da mulher.<sup>[1,4]</sup>

### 3.2.3 Exames complementares de diagnóstico

De forma a avaliar o estado de saúde geral da mulher devem ser realizadas análises clínicas de rotina, nomeadamente o hemograma, a urianálise, o exame citológico (*Papanicolau*), uma análise microbiológica de exsudado vaginal e análises serológicas para despiste de Rubéola, de infeções como a Hepatite B, a Hepatite C, presença do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e ainda outras infeções de cariz sexual, nomeadamente as provocadas por *Chlamydia trachomattis*.<sup>[1,3]</sup>

Partindo do conhecimento que as causas mais comuns de infertilidade feminina são as desordens ovulatórias, a obstrução das trompas de Falópio e as patologias uterinas, os exames complementares de diagnóstico numa abordagem inicial têm como principais objectivos a avaliação da função ovulatória e da reserva ovárica e a avaliação da desobstrução tubular/uterina (Fig. 3.1).<sup>[1,31]</sup>

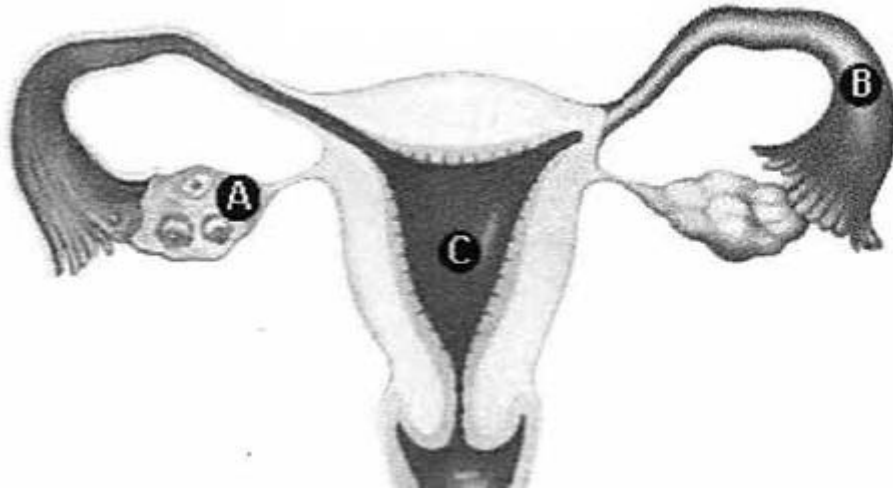


Figura 3.1 - Avaliação da infertilidade feminina: A- Ovários; B- Trompas de Falópio; C- Útero. Adaptado de<sup>[31]</sup>

### **3.2.3.1 Avaliação da função ovulatória**

Para além da importância da história menstrual, existem vários exames complementares de diagnóstico que permitem avaliar e monitorizar a função ovulatória, quer a nível laboratorial quer a nível imagiológico.<sup>[56]</sup>

Contudo, enquanto a infertilidade masculina dispõe de procedimentos e critérios estabelecidos pela OMS de forma a padronizar a sua avaliação, a inexistência de *guidelines* atualizadas que estabeleçam quais são efetivamente os exames que devem ser realizados para avaliação e monitorização laboratorial da infertilidade feminina origina uma falta de uniformização e ambiguidade das práticas laboratoriais neste âmbito.<sup>[58]</sup> Em seguida, são apresentados os exames laboratoriais e imagiológicos mais frequentes na literatura para avaliação da função ovulatória, sendo ainda sugerido, com base na extensa pesquisa bibliográfica efetuada, quais deles revelam carácter para serem considerados exames de referência a realizar na rotina clínica.

### *Determinação dos níveis séricos de progesterona a meio da fase luteínica*

A determinação dos níveis séricos de progesterona a meio da fase luteínica é a análise laboratorial mais utilizada para confirmar se a mulher está ou não a ovular. [3,25,56,57,59,60] Como foi visto no capítulo 2, aquando da abordagem do ciclo menstrual, a progesterona é uma hormonal crucial para a preparação e manutenção da gravidez, uma vez que permite que o endométrio aumente de espessura e comece a segregar nutrientes, preparando-se para receber um embrião. [29] Desta forma, durante a fase folicular do ciclo menstrual, os níveis séricos de progesterona são reduzidos (< 2 ng/ml), aumentando de forma pronunciada durante a fase luteínica, uma vez que é produzida em grandes quantidades pelo corpo lúteo, atingindo a sua concentração sanguínea máxima cerca de 5-10 dias após o aumento de LH que precede a ovulação. [25,56] Isto significa, que em mulheres cujo ciclo menstrual é típico (28 dias), a progesterona terá um pico da sua concentração sanguínea no dia 21 do ciclo menstrual (a meio da fase luteínica). Nestes casos, a concentração sanguínea de progesterona sérica ao dia 21 do ciclo menstrual é um bom indicador se a ovulação ocorreu ou não, devendo a colheita de sangue para análise laboratorial ser efetuada neste dia. Contudo, em mulheres cujo ciclo menstrual é irregular e não cumpre os 28 dias e forma a abranger ciclos mais curtos ou mais prolongados, a concentração máxima de progesterona deve ser medida em intervalos de 5 dias a partir dos 7 dias antes da data presumível da menstruação até a menstruação ter início. [3,27,55] Concentrações séricas de progesterona  $\geq 3$  ng/ml presumem que a ovulação ocorreu recentemente, o que sugere que a infertilidade do casal não tem origem numa desordem ovulatória feminina. [4,25,56] Concentrações séricas de progesterona  $\leq 3$  ng/ml indicam que a mulher deve ser avaliada para a existência de anovulação, através da realização de exames adicionais realizados com base no tipo de desordem ovulatória que se suspeita estar na origem do problema (capítulo 4). [56]

A determinação dos níveis séricos de progesterona é um método objetivo e fiável para avaliação da função ovulatória uma vez que os valores são obtidos no momento apropriado do ciclo menstrual, refletindo inequivocamente a ausência/ocorrência de

ovulação.<sup>[55]</sup> Por estas razões, este é considerado o exame de referência que deve ser realizado na rotina clínica para avaliação da função ovulatória.<sup>[56]</sup>

### *Determinação dos níveis urinários de LH*

Um método alternativo ao anterior, utilizado para verificar se a mulher está ou não a ovular é a determinação dos níveis urinários da hormona LH.<sup>[56]</sup> Existem no mercado vários *kits* rápidos para a deteção desta hormona na urina, os chamados “Kits Preditores de Ovulação”, cujo objetivo é identificar o pico máximo na concentração de LH que precede a ovulação, ao 13º dia do ciclo.<sup>[4,56]</sup> Este método fornece assim uma evidência indireta da ovulação e ajuda a definir o período de maior fertilidade, o dia do pico de LH e os dois dias seguintes.<sup>[56,60]</sup> Apesar de fornecer uma medida indireta é considerado um teste confiável, uma vez que os resultados estão normalmente bem correlacionados com o pico na concentração sérica de LH, particularmente quando o teste é efetuado com amostras de urina a meio do dia ou à noite.<sup>[56]</sup> Contudo, a sua utilização não se revela útil em mulheres que tenham condições patológicas associadas a níveis de LH constantemente elevados (Síndrome dos Ovários Policísticos, Falha ovárica prematura), uma vez que nestes casos não é possível detetar nenhum pico na concentração de LH, podendo surgir nestas situações resultados falso positivos. Uma vez que comporta estas exceções, não é considerado o método de excelência para avaliação da função ovulatória.<sup>[4,56]</sup>

### *Determinação da temperatura corporal basal*

A determinação da temperatura corporal basal é um método simples e barato para avaliação da função ovulatória.<sup>[56]</sup> Este método baseia-se no pressuposto de que a temperatura basal corporal aumenta aproximadamente 0,5°C na fase luteínica do ciclo menstrual, sendo que num ciclo menstrual regular, esse aumento da temperatura ocorre dois dias após o pico de LH que precede a ovulação e permanece elevada durante os 10 dias seguintes.<sup>[56]</sup> Este método requer assim que a mulher monitorize e registre diariamente a sua temperatura basal (sub-lingual, rectal ou vaginal), de preferência ao acordar e durante 3 meses.<sup>[3]</sup> Enquanto que em mulheres com função ovulatória normal os registos da monitorização revelam quase sempre duas fases de

temperatura corporal basal distintas, em mulheres cuja ovulação está comprometida os registos de temperatura basal corporal apresentam padrões monofásicos. <sup>[56]</sup> No entanto, a interpretação desses resultados pode ser dúbia e em 10 a 75% dos ciclos ovulatórios esse aumento de temperatura pode não se verificar. <sup>[56]</sup> Apesar de identificar a ovulação de forma retrospectiva, o teste não permite identificar o momento certo da ovulação, sendo a sua fiabilidade inferior à determinação da concentração de progesterona sérica e à determinação de LH na urina, pelo que não é considerado um teste preferencial para avaliação da função ovulatória. <sup>[4,56]</sup>

### *Biópsia endometrial*

A biópsia endometrial para o estudo histológico do endométrio é um método que permite avaliar o desenvolvimento da capacidade secretora do endométrio na fase luteínica, a qual resulta, como já vimos da ação da progesterona e que implica por conseguinte, a ocorrência de ovulação prévia. <sup>[56]</sup> Durante alguns anos este teste foi considerado o teste de excelência para avaliar a qualidade da função luteínica, no entanto, vários estudos têm vindo a demonstrar que este método não é um método de diagnóstico válido para avaliação da função ovulatória uma vez que carece de precisão e de exactidão e não permite distinguir mulheres férteis de mulheres inférteis. <sup>[56]</sup> Desta forma, a biópsia endometrial não é um exame que se deva realizar na rotina clínica para avaliação da função ovulatória, devendo a sua utilização ser limitada aos casos em que se suspeite fortemente de patologia endometrial como a endometriose. <sup>[4,59]</sup>

### *Ultrasonografia transvaginal*

A ultrasonografia transvaginal é um exame imagiológico que consiste na realização de ecografias seriadas aos ovários através das quais é possível monitorizar o tamanho e a quantidade do *pool* folicular, bem como acompanhar o seu desenvolvimento e presumir a ocorrência da ovulação através da observação do crescimento folicular progressivo, do rompimento do folículo primordial e da formação do corpo lúteo. <sup>[4,59]</sup> Contudo, devido aos elevados custos e ao apuro logístico necessário, a sua utilização na rotina clínica para avaliar a função ovulatória não é comum, sendo reservado para

mulheres em que os métodos mais simples de avaliação da função ovulatória se tenham revelado inconclusivos, para detetar patologias uterinas e para acompanhar a resposta ao tratamento em mulheres que estejam a receber estimulação ovárica para indução da ovulação. <sup>[56,59]</sup>

### ***3.2.3.2 Avaliação da desobstrução das trompas de Falópio e patologias uterinas***

A par da avaliação da função ovulatória, a avaliação inicial deve compreender a realização de exames radiológicos cujo objetivo é avaliar a anatomia do trato reprodutivo feminino. <sup>[56]</sup> Mesmo nas mulheres cujas desordens ovulatórias são a principal causa suspeita, é importante esta avaliação anatómica. <sup>[31]</sup>

#### ***Histerossalpingografia (HSG)***

A histerossalpingografia é um exame de eleição sempre que se pretende realizar uma avaliação das Trompas de Falópio e da cavidade uterina. <sup>[4]</sup> Este exame radiográfico consiste na injeção de um reagente de contraste no útero através de um cateter intra-cervical, que sob ligeira pressão se vai espalhar pelas trompas de Falópio e pelo útero permitindo que através de fluoroscopia se tenha acesso imagiológico a essas zonas do trato reprodutivo feminino e se avalie a existência de danos. <sup>[59,60]</sup> Aconselha-se a realização deste exame 2 a 5 dias depois do final da menstruação de forma a evitar interferências do tecido menstrual e a disrupção de uma potencial fertilização e implantação do embrião. <sup>[4]</sup>

Em relação à avaliação das Trompas de Falópio, através deste exame é possível determinar a sua permeabilidade, identificar oclusões proximais ou distais, demonstrar a presença de Salpingite Ístmica Nodosa e sugerir a presença de Fimose Fímbrica ou aderências peritubárias consoante o espalhamento do reagente de contraste. <sup>[56,59]</sup> A HSG é um exame com elevada sensibilidade, cerca de 81%, para detetar alterações tubulares, no entanto apresenta baixa especificidade (48%), podendo apresentar cerca de 25% de resultados falsos positivos. <sup>[56,59]</sup> Se a história clínica da mulher, o exame físico e os resultados de HSG forem sugestivos da presença de danos tubulares, como a Doença Inflamatória Pélvica ou a endometriose), devem ser realizados testes

adicionais como a laparoscopia e a histeroscopia. <sup>[1,61]</sup> É importante salientar que os métodos para avaliar a desobstrução tubular se complementam e não se excluem uns aos outros. <sup>[56]</sup>

Através da HSG é permitido também definir o tamanho e a forma da cavidade uterina, identificar anomalias genéticas uterinas, como o útero septado, ou anomalias adquiridas, como pólipos endometriais e miomas, todos com potenciais consequências reprodutivas. <sup>[4,59]</sup> Se a história clínica da mulher, o exame físico ou os resultados de HSG forem sugestivos de patologias uterinas, deve realizar-se adicionalmente um exame histeroscópico. <sup>[1,60]</sup> Como foi referido anteriormente, a par da histerossalpingografia, a ultrasonografia transvaginal é um dos exames radiológicos utilizados na prática clínica para detetar patologias uterinas. <sup>[56,59]</sup>

**Nota:** É importante ressaltar que antes da realização dos exames de diagnóstico com vista ao acesso ao trato reprodutivo feminino, é prudente despistar a existência de uma gravidez que possa ter ocorrido entretanto. <sup>[25]</sup> O método mais utilizado na rotina clínica para detetar a existência de uma gravidez é a determinação dos níveis da hormona gonadotrofinica coriônica humana (hCG), a qual é segregada pelo trofoblasto imediatamente a seguir à implantação do embrião, sendo responsável por promover a síntese de progesterona a partir do corpo lúteo, de forma a assegurar a maturação do endométrio para o estabelecimento de uma gravidez. <sup>[29]</sup>

A deteção da hCG pode ser efetuada no sangue ou na urina. <sup>[29]</sup> A deteção de hCG na urina está na base dos testes de gravidez comerciais, cujo objetivo é apenas fazer uma avaliação qualitativa, ou seja, determinar a presença ou a ausência da hormona e por conseguinte, a existência de gravidez. <sup>[25]</sup> Por sua vez, a determinação dos níveis séricos de hCG através de imunoensaios realizados laboratorialmente permite uma avaliação quantitativa da mesma, indicando não apenas a existência de uma gravidez, como permitindo a monitorização da sua evolução. <sup>[25,29]</sup> Cerca de 8-10 dias após a conceção a mulher já apresentará níveis séricos de hCG detetáveis, os quais devem duplicar a cada dois dias até um pico máximo na 12ª semana de gestação, decrescendo depois na restante gravidez. Homens e mulheres não grávidas apresentam valores séricos de hCG inferiores a 5mIU/ml. <sup>[25]</sup>

### 3.3 Avaliação e monitorização laboratorial do homem infértil- Abordagem inicial

Em 50% dos casais inférteis é possível identificar uma desordem da função reprodutiva masculina como causa principal ou como causa contributiva para a infertilidade do casal. [7,50]

#### 3.3.1 História clínica

Tal com no caso da mulher, a primeira etapa da avaliação clínica do homem infértil é a construção pormenorizada da história clínica de forma a despistar situações, comportamentos e práticas que possam estar na essência da infertilidade. [3,61]

A anamnese requer-se exaustiva, devendo ser apurada a história presente do indivíduo, nomeadamente a sua idade e ocupação profissional (para averiguar a exposição a gonadotoxinas, pesticidas e a fontes de calor que comprometam o normal funcionamento dos testículos), a duração do problema de infertilidade, a existência de problemas de saúde como a Hipertensão e a Diabetes, a toma de medicação (cimetidina e antidepressivos podem aumentar os níveis de prolactina; esteróides anabolizantes diminuem a qualidade do esperma;  $\beta$ -bloqueadores diminuem a função erétil; bloqueadores dos canais de cálcio e antibióticos podem prejudicar a capacidade de fecundação dos espermatozóides) e o consumo de tabaco, álcool, cafeína ou drogas recreativas. [3,24,57]

Para além disso, é fundamental conhecer algumas questões da vida sexual do indivíduo, nomeadamente a frequência das relações sexuais vaginais e se ocorrem durante o período fértil da mulher, a utilização de lubrificantes (podem ser espermicidas) e de métodos contraceptivos, a perda de libido (indicador de baixos níveis de testosterona), a frequência da masturbação e se há a registar alguma situação de disfunção erétil ou problemas na ejaculação. [1,51,55]

A par da história atual, também eventos passados podem ser de importância considerável, devendo o indivíduo ser inquirido sobre a existência de situações prévias de problemas de conceção e tipo de tratamento utilizado, a ocorrência de doenças

como a papeira, a tuberculose e infeções sexualmente transmissíveis, a existência de traumas genitais e cirurgias prévias como a apendicectomia ou a vasectomia. <sup>[1,7,24,57,61]</sup>

Para completar a informação são também requeridos dados de história familiar de infertilidade e de problemas mentais ou doenças genéticas como a fibrose cística, uma vez que homens com esta doença podem apresentar problemas de infertilidade. <sup>[1,4]</sup>

### **3.3.2 Exame físico**

Com o exame físico pretende verificar-se se o indivíduo possui o apropriado desenvolvimento sexual. <sup>[3,61]</sup>

Para além do exame geral (pressão arterial, IMC) a avaliação compreende a observação da presença de caracteres sexuais secundários (barba, pêlos púbicos e axilares, voz grave, pénis e testículos desenvolvidos), a palpação abdominal para despiste de testículos não descendentes, de organomegália ou ascites, a examinação do peito para o despiste de ginecomastia (surge devido ao excesso de estrogénios) e o exame genital. <sup>[3,14,24]</sup>

O exame genital inclui a avaliação da forma e a curvatura do pénis, a localização do meato uretral (afeções anatómicas podem comprometer a deposição do esperma ejaculado na vagina), a determinação do volume, da consistência e da simetria dos testículos (volumes reduzidos associados a distúrbios na espermatogénese) e a palpação dos mesmos, dos epidídimos e dos vasos deferentes de forma a excluir situações como o varicocelo e anomalias congénitas como a Ausência Congénita Bilateral de Canais deferentes. <sup>[24,51,61]</sup> O exame rectal da próstata também pode ser realizado. <sup>[3,14]</sup> Homens com deficiência de androgénios de origem pré-pubertal apresentam uma voz agudizada, testículos e pénis pequenos, poucos pêlos e massa muscular reduzida. <sup>[14]</sup>

### **3.3.3 Exames complementares de diagnóstico**

Após uma história clínica e um exame físico completos, segue-se a realização dos exames complementares de diagnóstico. <sup>[55]</sup> De forma a avaliar o estado de saúde geral do indivíduo devem ser realizadas análises clínicas de rotina, nomeadamente um

hemograma e análises serológicas para despiste das infeções Hepatite B, Hepatite C e HIV e ainda outras infeções de cariz sexual, nomeadamente as provocadas por *Chlamydia trachomattis*.<sup>[1,3]</sup>

### **3.3.3.1 Análise ao sémen**

No que à investigação inicial da infertilidade masculina diz respeito, as análises de rotina ao sémen continuam a ser o principal exame complementar de diagnóstico.<sup>[50,52,62]</sup>

Em 1678, *Antonie Van Leeuwenhoek* descreveu pela primeira vez o espermatozóide, contudo, apenas nos anos 50 do séc. XX surgiram as primeiras associações entre a qualidade do sémen e a conceção.<sup>[61]</sup> Em 1980, de forma a padronizar os parâmetros laboratoriais analíticos relativos ao sémen e com o objetivo de facilitar uma abordagem diagnóstica unânime, a OMS publicou um manual onde estabeleceu critérios e intervalos de referência analíticos para aquelas que se consideram ser as características essenciais de um sémen de qualidade.<sup>[61]</sup> O manual tem sido revisto com frequência desde 1980 de forma a comportar as inúmeras atualizações científicas, sendo que a última edição, a quinta, data do ano de 2011. Os valores de referência padronizados no manual foram obtidos através de dados relativos a 1953 amostras de sémen de indivíduos cujo tempo de conceção foi inferior a 12 meses, tendo por base 5 estudos, em 7 países e em 3 continentes.<sup>[63]</sup>

Para além das diretrizes estabelecidas pela OMS, existem vários outros métodos para a realização de análises ao sémen, no entanto, estas sugerem ser as mais robustas e consistentes.<sup>[64]</sup> Desta forma, todos os procedimentos inerentes à realização das análises laboratoriais ao sémen, desde a colheita das amostras até à interpretação dos resultados descritos nesta monografia obedecem aos critérios descritos na 5ª edição deste manual.<sup>[58,64]</sup>

O sémen produzido durante a ejaculação é o produto composto de uma suspensão concentrada de espermatozóides provenientes dos testículos, misturada e diluída com fluidos das glândulas acessórias sexuais, nomeadamente secreções mucóides

lubrificantes da uretra, secreções ácidas prostáticas e secreções alcalinas das vesículas seminais constituídas por proteínas, frutose e prostaglandinas. <sup>[55,58]</sup>

Desta forma, o sémen tem dois atributos quantificáveis primordiais, o número total de espermatozóides, que reflete a produção de esperma pelos testículos e a desobstrução pós-testicular e o volume total de fluidos que refletem a atividade das glândulas. <sup>[58]</sup>

No entanto, é preciso ressaltar que a vitalidade, a morfologia, a mobilidade dos espermatozóides e a composição do fluido seminal são também parâmetros fundamentais. <sup>[58]</sup>

### 3.3.3.1.1 Colheita da amostra

Os fatores pré-analíticos relativos à colheita da amostra interferem com a validade da mesma, por isso é importante que os indivíduos sejam instruídos para a importância da colheita e quais os critérios fundamentais a que devem obedecer. <sup>[55]</sup> Os espermatozóides apresentam uma enorme heterogeneidade, podendo encontrar-se grande variedade numa mesma amostra, em várias amostras do mesmo indivíduo e até mesmo em amostras de indivíduos férteis. <sup>[25,52]</sup> De forma a comportar essa variabilidade são requeridas no mínimo duas, preferivelmente três análises ao sémen espaçadas em 3 meses antes de tecer uma conclusão diagnóstica. <sup>[14,52,58,65]</sup>

Segundo a OMS, a colheita deve ser feita respeitando um período mínimo de 2 dias e um período máximo de 7 dias de abstinência ejaculatória antes da colheita. <sup>[1,50,58]</sup> A consistência dessa abstinência deve ser mantida antes dos dias das colheitas, de forma a permitir a comparação fiável das várias amostras entre si. Sabe-se que, durante os primeiros quatro dias de abstinência a concentração do sémen pode aumentar até 25% por dia, enquanto o aumento do volume seminal e da contagem total de espermatozóides apenas se verifica ao fim de mais dias de abstinência; a motilidade e a morfologia, por sua vez, mantêm-se inalteradas. <sup>[14,55]</sup>

A colheita deve ser feita preferivelmente no laboratório, numa sala privada, através da masturbação seguida de ejaculação para um recipiente de plástico ou vidro, que esteja limpo mas não necessariamente estéril. <sup>[55,58]</sup> Uma vez feita a colheita, o recipiente deve ser mantido a temperaturas entre os 20 e os 37°C para evitar flutuações térmicas

que comprometam a amostra, podendo colocar-se inclusive numa incubadora enquanto se aguarda que o sémen liquidifique e se possa começar a análise. <sup>[58]</sup>

Em condições excepcionais (incapacidade de masturbação na clínica), a colheita poderá ser efectuada em casa mas nesses casos o indivíduo deve ser provido de todas as instruções para a realização da colheita e do transporte da amostra até ao laboratório. <sup>[58]</sup>

Também no caso dos indivíduos que sejam incapazes de obter uma amostra de sémen através da masturbação, a colheita pode ser feita em casa durante o decurso da relação sexual através da ejaculação para preservativos especiais coletores de sémen desprovidos de agentes espermicidas (os preservativos normais de látex não são aconselhados). <sup>[55]</sup> O coito interrompido não é um método aconselhado para a recolha de sémen uma vez que a primeira fração de sémen, que contém o maior número de espermatozóides, pode ser perdida. Para além disso as probabilidades de contaminação da amostra são muito superiores e o pH do fluido vaginal pode afetar a mobilidade dos espermatozóides. <sup>[58]</sup>

Após a colheita, em ambas as situações, a amostra deve ser transportada para o laboratório no menor tempo possível e a manutenção da temperatura corporal da amostra durante o transporte deve ser assegurada, colocando por exemplo o recipiente junto ao corpo. <sup>[55]</sup> Ao rececionar a amostra, o laboratório deve certificar-se se a colheita foi efetuada no prazo máximo de 1-2h antes (a motilidade do esperma diminui significativamente 3h após a ejaculação) se não houve perdas, se a ejaculação foi completa (a primeira fração após a ejaculação é rica em fluidos prostáticos enquanto a segunda fração é rica em fluidos das vesículas seminais), se esteve sujeita a amplitudes térmicas durante o transporte e registar qual o período de abstinência sexual correspondente. <sup>[55]</sup> Devido a todas as flutuações a que amostra pode estar sujeita recomenda-se que a colheita seja feita, sempre que possível, no laboratório. <sup>[55]</sup> Uma vez no laboratório, e de acordo com o manual da OMS, a análise ao sémen deve ser realizada nos seguintes 30 a 60 minutos e deve compreender a avaliação de parâmetros macroscópicos e de parâmetros microscópicos. <sup>[50,58]</sup>

### 3.3.3.1.2 Avaliação de parâmetros macroscópicos

Os parâmetros macroscópicos a considerar são: o estado de liquefação, o volume ejaculado, a viscosidade e o pH do sémen. <sup>[25,51,55]</sup>

Uma amostra normal de sémen coagula aproximadamente 5 minutos após a ejaculação, convertendo-se num gel semi-sólido devido à ação de proteínas provenientes das vesículas seminais, liquidificando-se nos 15 a 30 minutos seguintes à temperatura ambiente pela ação de protéases prostáticas. Problemas ao nível da coagulação denotam a falta dessas secreções, o que se pode dever a obstrução ou ausência de vesículas seminais. <sup>[50,55]</sup> Antes de se proceder à análise dos restantes parâmetros macroscópicos e posteriormente dos parâmetros microscópicos, deve garantir-se que a amostra está totalmente liquefeita para não haver interferências nos resultados. <sup>[55]</sup>

Para o volume do sémen ejaculado contribuem principalmente os fluidos provenientes das vesículas seminais e da próstata. A determinação precisa do volume é fundamental uma vez que vai permitir determinar a concentração do número de espermatozóides e outras células. <sup>[58]</sup> De acordo com os critérios de qualidade estabelecidos pela OMS, o volume de sémen deve ser igual ou superior a 1,5 ml. A hipoespermia (volume  $\leq$  0,5 ml) pode dever-se a perdas do ejaculado durante a colheita, um período de abstinência reduzido ou a uma ejaculação incompleta. <sup>[55]</sup> No entanto, se a hipoespermia se fizer acompanhar de um pH superior a 7,8 poderá ser indicativo de hipogonadismo, inflamação ou consumo de drogas. <sup>[55]</sup>

A viscosidade do sémen pode ser considerada anormal se o comprimento de um fio de amostra exceder os 2 cm, o que pode revelar problemas de mobilidade do esperma. <sup>[55]</sup> Para se proceder à análise microscópica de amostras de sémen muito viscosas é necessário reduzir essa viscosidade, podendo recorrer-se para isso a enzimas como a bromelaína ou a soluções de pH fisiológico. <sup>[58]</sup>

O pH reflete o balanço entre as secreções alcalinas das vesículas seminais e as secreções ácidas da próstata e deve ser medido até uma hora após a ejaculação, uma vez que é influenciado pela perda de CO<sub>2</sub>. Atualmente há poucos valores de referência

para aquilo que se considera um pH normal, no entanto considera-se que um valor de pH de 7,2 seja baixo. Se a um valor de pH inferior a 7 estiver associado um volume e um número de espermatozóides reduzidos pode suspeitar-se de obstrução no ducto ejaculatório ou da doença congénita da Ausência Bilateral de Canais Deferentes. [58]

Relativamente à aparência do sémen ejaculado, o facto de ter mais ou menos cor, ser translúcido ou opaco, parece não revelar qualquer interferência na qualidade do sémen. Contudo, estes parâmetros podem ser indicadores de algumas condições clínicas associadas, como por exemplo hematospermia (excesso de eritrócitos no sangue, sémen de cor vermelha). [55]

### 3.3.3.1.3 Avaliação de parâmetros microscópicos

Os parâmetros microscópicos fundamentais incluem a mobilidade, a vitalidade, a morfologia, o número total e a concentração dos espermatozóides. [51,55,66]

Para a análise das preparações a fresco de sémen recomenda-se o uso de um microscópio de contraste de fase, com uma ampliação total inicial de 100 x para verificar a agregação/aglutinação de espermatozóides e a presença de outras células como leucócitos, células germinais e de bactérias. [58]

A agregação dos espermatozóides consiste na aderência entre espermatozóides sem mobilidade ou entre espermatozóides com mobilidade e o muco. A aglutinação refere-se especificamente a espermatozóides móveis aderentes entre si através das suas cabeças, caudas ou de forma aleatória. [58] A aglutinação não é suficiente para deduzir uma causa imunológica de infertilidade, mas pode sugerir fortemente a presença de anticorpos anti-espermatozóides. [58]

A presença de bactérias pode indicar infeção se a sua concentração exceder 1000 bactérias/ml, mas pode também estar associada a contaminação durante a colheita. [55]

Os leucócitos, principalmente os neutrófilos, estão presentes na maior parte do sémen humano ejaculado, contudo, uma concentração de leucócitos superior a  $10^6$ /ml é considerada anormal, uma vez que pode estar associado não só a infeção como a uma

qualidade de sémen reduzida. <sup>[55,58]</sup> A excessiva presença de leucócitos (leucoespermia) pode comprometer a integridade do DNA dos espermatozóides e a sua mobilidade, uma vez que produzem espécies reativas de oxigénio e citocinas citotóxicas nocivas para os espermatozóides. <sup>[50,58]</sup> No entanto, o dano provocado pelos leucócitos depende do número total de leucócitos no ejaculado e na sua proporção em relação aos espermatozóides. <sup>[58]</sup>

A avaliação microscópica dos leucócitos dispõe de várias técnicas, para além do tamanho nuclear, que permitem diferenciar os leucócitos dos espermatozóides e das células germinais, como por exemplo: os espermátídeos são facilmente confundidos com os leucócitos, mas em presença de reagentes corados, vão assumir uma cor avermelhada enquanto os espermatozóides vão apresentar tons mais azulados; como os leucócitos no sémen são predominantemente granulócitos peroxidase positivos, a determinação da atividade desta enzima também é útil para fazer a distinção entre estes e os espermatozóides e as células germinais que são ambos peroxidase negativos. <sup>[58]</sup>

Com ampliação microscópica total de 200x e 400x pode avaliar-se a mobilidade dos espermatozóides e determinar qual a diluição necessária para se proceder à sua contagem e determinação da respetiva concentração. <sup>[58]</sup>

### **Mobilidade**

Este parâmetro refere-se à capacidade que os espermatozóides demonstram de se movimentar, característica que é crucial para percorrerem o trato reprodutivo feminino até às trompas de Falópio e promoverem a fertilização. <sup>[50]</sup>

Segundo a OMS, podem caracterizar-se três tipos de mobilidade: a mobilidade progressiva (MP), em que os espermatozóides se movem ativamente, quer de modo linear quer em círculo, independentemente da velocidade; a mobilidade não progressiva (NP) que compreende vários padrões de mobilidade que não a progressiva e a imobilidade (NM) em que não se verifica qualquer capacidade de movimentação por parte dos espermatozóides. <sup>[58]</sup>

O método mais comum para avaliar a mobilidade dos espermatozóides é baseado na estimativa da percentagem de espermatozóides MP, NP, NM, através da observação microscópica de vários campos ópticos (pelo menos 5) de vários replicados e posterior elaboração de uma média. <sup>[50]</sup> Segundo a OMS devem ser contados pelos 200 espermatozóides por campo óptico com dimensões definidas (extensão mínima de 5mm), sendo que uma rede ocular permite o seccionamento do campo óptico e facilita a contagem. <sup>[58]</sup> Em cada secção devem contar-se em primeiro lugar os espermatozóides com mobilidade progressiva, em seguida os com mobilidade não progressiva e por último os sem mobilidade. <sup>[58]</sup> Com base nos vários replicados, é calculada uma percentagem média para cada uma das categorias de mobilidade dos espermatozóides, sendo também calculada a diferença entre duas percentagens para a categoria mais frequente, valor que é depois comparado com valores tabelados, o que permite validar ou não a contagem efetuada. <sup>[58]</sup> Esta é a forma de contornar a completa subjetividade inerente a esta técnica, cuja precisão e exatidão são consideradas pobres, uma vez que dependem fortemente do operador. <sup>[55]</sup> Considera-se que a imobilidade dos espermatozóides está comprometida se a mobilidade total (MP+NP) estiver abaixo dos 40% e se a mobilidade progressiva estiver abaixo dos 32%. <sup>[58]</sup> Clinicamente, a mobilidade reduzida dos espermatozóides denomina-se astenozoospermia. <sup>[50]</sup> Sabe-se que longos períodos de abstinência estão associados a esta condição. <sup>[55]</sup>

### **Vitalidade**

A vitalidade é o parâmetro, que tal como o nome indica, descreve a percentagem de espermatozóides vivos na amostra. <sup>[58]</sup> É um parâmetro analítico de rotina, mas assume especial significado quando na amostra, a mobilidade progressiva dos espermatozóides é inferior a 40%. Uma elevada percentagem de células sem mobilidade e mortas (necrozoospermia), pode ser indicativo de patologias a nível dos epidídimos. <sup>[58]</sup>

A vitalidade pode ser estimada através da integridade da membrana celular dos espermatozóides, recorrendo por exemplo ao uso de soluções coradas como a eosina-nigrosina e de soluções hipotónicas. <sup>[58]</sup> O método da eosina-nigrosina baseia-se no

facto de que membranas celulares danificadas, características de células mortas, vão permitir a entrada do reagente eosina nos espermatozóides danificados, os quais vão corar de vermelho/rosa quando em contacto com a eosina. <sup>[58]</sup> A nigrosina vai corar o fundo de negro, o que permite visualizar as cabeças coradas dos espermatozóides com maior contraste. Em seguida, pelo mesmo método de contagem referido no método anterior, contabilizam-se todos os espermatozóides na amostra, vivos (não corados) e mortos (corados), e calculam-se as respetivas percentagens. <sup>[58]</sup>

Segundo a OMS, o valor mínimo de referência para o parâmetro da vitalidade é 58%, ou seja, abaixo deste valor considera-se que se está na presença de uma amostra de espermatozóides mortos. <sup>[58]</sup>

### **Morfologia**

O exame microscópico da morfologia dos espermatozóides é um bom indicador do estado do epitélio germinal. <sup>[55]</sup> Estruturalmente o espermatozóide é composto por duas regiões: a cabeça, que compreende a cabeça e o pescoço e a cauda que compreende a peça média e peça principal. No entanto, estas estruturas podem assumir várias formas, o que torna a avaliação controversa sobre quais são efetivamente as morfologias consideradas “normais”. <sup>[50]</sup> Com base em observações de espermatozóides recolhidos no trato reprodutivo feminino, especialmente do muco endocervical pós-coital e na superfície da zona pelúcida foi possível ajudar a definir qual a morfologia de espermatozóide mais potencialmente fertilizante, considerando-se essa como a morfologia “normal”. <sup>[58]</sup> Segundo as diretrizes descritas no manual da OMS, as características estruturais que um espermatozóide deve apresentar de um modo geral para ser considerado normal são: a cabeça deve ser fina, em forma oval e a região do acrossoma deve compreender 40-70% da sua área; a peça média deve ser esguia, regular e deve ter o mesmo comprimento da cabeça, estando perfeitamente alinhada com esta; a peça principal deve possuir um calibre uniforme, ser mais fina do que a peça média e ter aproximadamente 45 µm de comprimento. <sup>[58]</sup> Na figura 3.2, estão três exemplos de espermatozóides com morfologia “normal”, uma vez que obedecem aos critérios acima apresentados.

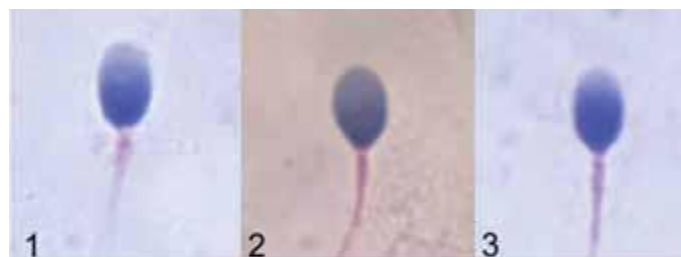


Figura 3.2 - Exemplos de espermatozoides com morfologia normal. <sup>[58]</sup>

Assim, todas as morfologias que não se encaixem nas características acima descritas são consideradas “anormais”, estando apresentados alguns exemplos na figura 3.3. <sup>[58]</sup>

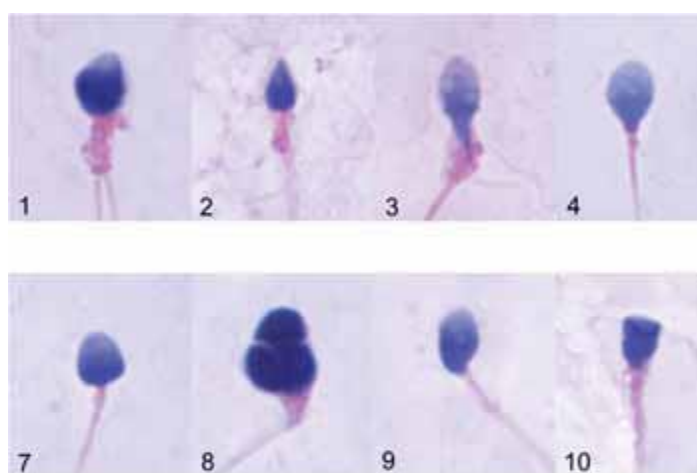


Figura 3.3 - Exemplos de espermatozoides com morfologia “anormal”. <sup>[58]</sup>

O método de referência para a determinação da morfologia dos espermatozoides é a observação microscópica de esfregaços corados de sémen com ampliação de 1000x. <sup>[58]</sup> O exame deve assegurar que todas as áreas da preparação são cuidadosamente analisadas, devendo observar-se pelo menos 200 espermatozoides em cada replicado e com base nas contagens dos vários replicados, é calculada uma percentagem média de espermatozoides “normais”, sendo também calculada a diferença entre duas percentagens obtidas, valor que é depois comparado com valores tabelados, o que permite validar ou não a contagem efectuada. <sup>[58]</sup>

Segundo a OMS, o valor mínimo de referência para a morfologia “normal” é 4%, ou seja, no mínimo 4% dos espermatozoides da amostra têm de ter morfologia normal para que se considere que os espermatozoides de determinado indivíduo não apresentam problemas de forma. <sup>[58]</sup>

Uma percentagem elevada de espermatozoides com formas anormais é normalmente associada a defeitos na espermatogénese, a patologias nos epidídimos, a baixo potencial fertilizante e a defeitos no DNA. <sup>[58]</sup>

### **Concentração**

Este parâmetro refere-se ao número de espermatozoides por unidade de volume de sémen, mais precisamente à unidade de milhão de espermatozóide por mililitro de sémen ( $10^6/\text{ml}$ ). <sup>[50,58]</sup> A contagem microscópica requer a utilização de uma câmara de *Neubauer* ou hemocitómetro, a qual ao ser provida de uma estrutura reticular especificamente dividida em grelhas vai facilitar a contagem dos espermatozoides (Fig.3.4). <sup>[55,58]</sup>

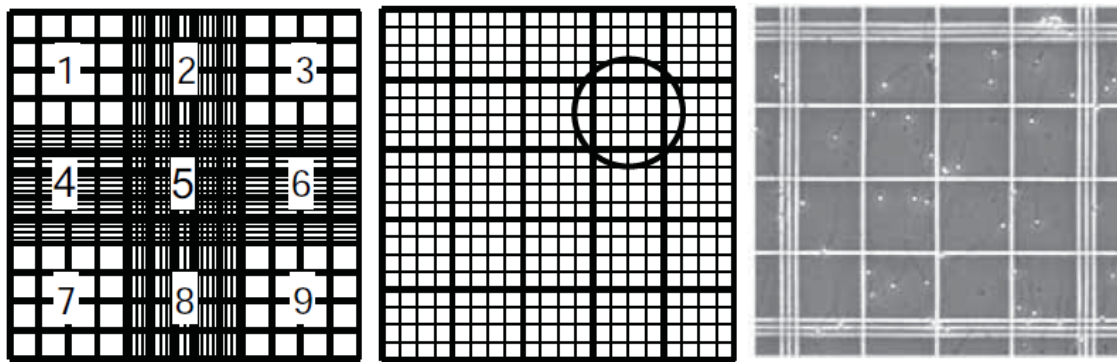


Figura 3.4 - Estrutura reticular da câmara de *Neubauer*. <sup>[58]</sup>

Dependendo da diluição e do número de espermatozoides contados (devem ser no mínimo 400), diferentes áreas da câmara são usadas para determinar a concentração de espermatozoides. Se a diluição utilizada for de 1:20 ou de 1:5 contabilizam-se os espermatozoides da grelha número 5 e quando necessário, das grelhas número 4 e 6, no entanto, se se estiver a trabalhar com uma diluição de 1:2 todas as nove grelhas podem ser examinadas. <sup>[58]</sup> Após a contagem, os replicados devem ser comparados entre si de forma a averiguar a proximidade dos valores das várias contagens e se esta for aceitável, determina-se o valor médio do número de espermatozoides contados e procede-se ao cálculo da concentração do número de espermatozoides por mililitro de sémen. <sup>[58]</sup>

Para este parâmetro, o valor mínimo de referência estabelecido pela OMS são 15 milhões de espermatozóides por mililitro de sémen ( $15 \times 10^6/\text{ml}$ ).<sup>[58]</sup>

### **Contagem total**

A contagem do número total de espermatozóides não deve ser confundida com a concentração de espermatozóides na amostra.<sup>[50]</sup> Este parâmetro refere-se ao número total de espermatozóides em todo o sémen ejaculado, ou seja representa a quantidade efectiva de espermatozóides que se encontram em determinada amostra de sémen.<sup>[60,63]</sup> A sua determinação é facilmente obtida através da multiplicação da concentração de espermatozóides pelo volume de sémen.<sup>[58]</sup>

A OMS determina um valor mínimo de referência de 39 milhões de espermatozóides por sémen ejaculado para este parâmetro.<sup>[58]</sup>

Valores de concentração e de contagem total de espermatozóides inferiores aos valores mínimos de referência são clinicamente denominados por oligospermia.<sup>[60]</sup> No entanto, se em nenhum dos replicados se observarem espermatozóides pode suspeitar-se de azoospermia, ou seja, ausência de espermatozóides no sémen ejaculado.<sup>[58]</sup> O número de espermatozóides e a sua concentração estão directamente relacionados com os tempos e taxas de concepção, sendo também indicadores da existência de concepção.<sup>[58]</sup>

Com o intuito de melhorar as análises ao sémen realizadas de modo manual têm sido desenvolvidos *softwares* computacionais, as chamadas Análises ao Sémen Assistidas por Computador (CASA- *computer-assisted semen analyses*).<sup>[55]</sup> Para além dos parâmetros que podem ser medidos manualmente, estes sistemas permitem a determinação de outros como a hiperactivação e a capacidade de penetração dos espermatozóides. A grande vantagem é a possibilidade da obtenção de dados mais precisos uma vez que as contagens manuais estão sujeitas ao erro humano proveniente do operador.<sup>[55]</sup> No entanto, a falta de procedimentos *standardizados* e o custo elevado destes aparelhos sobrepõem-se às vantagens que daí podem advir, pelo

que estes métodos são mais utilizados como ferramentas de investigação, continuando na prática clínica a ser fundamental a análise microscópica do sémen. <sup>[55]</sup>

As tabelas 1 e 2 abaixo apresentadas pretendem resumir quais os principais parâmetros avaliados no espermograma, os respetivos valores de referência e a nomenclatura das patologias relacionadas com a qualidade do sémen, de acordo com a mais recente atualização do manual da OMS.

Tabela 3.1 - Parâmetros do espermograma e respetivos valores de referência atualizados, segundo a OMS. <sup>[58]</sup>

Características do sémen	Valores de referência (intervalo de confiança de 95%)
Volume (ml)	1,5 (1,4- 1,7)
Concentração de espermatozóides ( $\times 10^6$ /ml)	15 (12-16)
Número total de espermatozóides ( $\times 10^6$ )	39 (33-43)
Mobilidade progressiva dos espermatozóides (%)	32 (31-34)
Mobilidade total dos espermatozóides (%)	40 (38-42)
Vitalidade (% de espermatozóides vivos)	58 (55-63)
Morfologia (% espermatozóides “normais”)	4 (3-4)

Tabela 3.2 - Nomenclatura das patologias relacionadas com a qualidade do sémen de acordo com a OMS. <sup>[50]</sup>

Nomenclatura	Características do sémen
Oligozoospermia	Concentração de espermatozóides $<1,5 \times 10^6$ /ml Número total de espermatozóides $<39 \times 10^6$
Astenozoospermia	Mobilidade progressiva dos espermatozóides $<32\%$
Teratozoospermia	Morfologia de espermatozóides “normais” $<4\%$
Oligo-asteno-teratozoospermia	Os três parâmetros alterados
Azoospermia	Ausência de espermatozóides no ejaculado
Criptozoospermia	Ausência de espermatozóides na preparação a fresco do sémen, mas observados no <i>pellet</i> centrifugado
Aspermia	Ausência de ejaculado
Leucospermia	Concentração de leucócitos $> 1 \times 10^6$ /ml no ejaculado

### 3.3.4 Interpretação dos resultados da análise ao sémen

Apesar das análises de rotina ao sémen serem importantes métodos complementares de diagnóstico, é importante ter presente que não podem ser consideradas medidas diretas de infertilidade, ou seja, a infertilidade não pode ser determinada apenas com base nos resultados destas análises. <sup>[50,55,67]</sup> Com base na construção de uma história clínica detalhada, na realização de um exame físico rigoroso e da realização das análises ao sémen, um diagnóstico diferencial deve ser estabelecido, evidenciando a ou não a necessidade da realização de mais exames adicionais. <sup>[50]</sup> A interpretação dos resultados das análises ao sémen pode ser feita com base em algoritmos de diagnóstico de forma a organizar toda a informação recolhida para obter de um diagnóstico pertinente. <sup>[50]</sup> Utilizando esta abordagem, podemos categorizar os resultados das análises ao sémen da seguinte forma:

#### ***1. Todos os parâmetros estão dentro dos intervalos de referência***

Se todos os parâmetros de um espermograma se encontrarem dentro dos valores considerados “normais”, a causa da infertilidade poderá dever-se fortemente a um fator feminino ou, na ausência deste, ser uma infertilidade inexplicada. <sup>[55]</sup> No entanto, outras situações podem estar na origem desta situação, nomeadamente as relações sexuais serem inadequadas e fora do período fértil, haver problemas de disfunção erétil, defeitos na função dos espermatozóides ou a presença de anticorpos anti-espermatozóides. <sup>[55]</sup> Nestes últimos casos, podem pedir-se testes adicionais para detecção de anticorpos anti-espermatozóides e para verificação da função dos espermatozoides (capítulo 4). <sup>[55]</sup>

#### ***2. Azoospermia***

A azoospermia compreende duas vertentes distintas: a azoospermia não-obstrutiva, que está relacionada com uma produção diminuída de espermatozóides e a azoospermia obstrutiva, em que não é a produção de espermatozóides que está comprometida mas sim a desobstrução do sistema ductal. <sup>[55]</sup> Nesta situação é importante observar alguns dados adquiridos no exame físico, nomeadamente o tamanho dos testículos e a presença/ausência de canais deferentes, devendo ser

pedida também uma análise serológica à hormona FSH. Estes parâmetros vão ajudar a diferenciar entre os dois tipos de azoospermia e a permitir estabelecer um diagnóstico diferencial. <sup>[55]</sup> O algoritmo apresentado na figura 3.5 descreve a abordagem sequencial que deve ser feita tendo em conta os critérios acima mencionados.

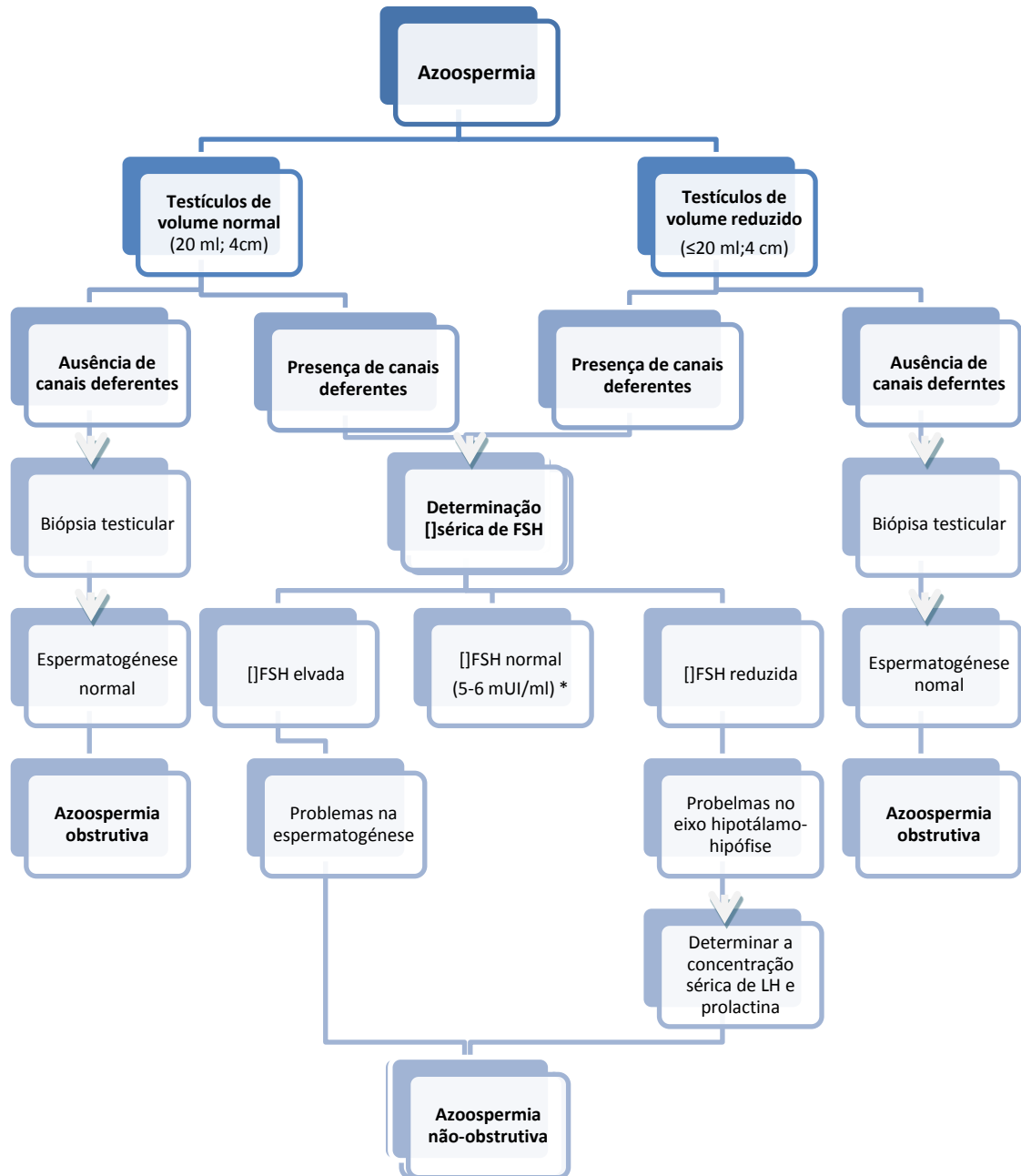


Figura 3.5 - Algoritmo para monitorização da azoospermia. <sup>[55]</sup>

\* Se os testículos apresentarem volume normal, se for identificada a presença de canais deferentes e concentrações séricas de FSH normais, a azoospermia não tem origem anatômica nem hormonal. Sugere-se em seguida a realização de testes genéticos, nomeadamente a determinação do cariótipo e o despiste de microdeleções no cromossoma Y para confirmar a possibilidade de afeções genéticas. [49,55]

### **3. Oligo-asteno-teratozoospermia**

A alteração simultânea da concentração, da morfologia e da mobilidade é sugestiva de varicocele, diagnóstico que é confirmado com a palpação testicular aquando do exame físico. [55] No entanto, febres elevadas também podem estar na origem deste quadro, se tiverem ocorrido nos três meses anteriores à realização das análises. [55] Para além disso, podem considerar-se causas adicionais, nomeadamente a exposição a toxinas e a fármacos, ou ainda a possibilidade de obstrução do ducto ejaculatório, uma vez que este está normalmente associado a defeitos na maioria dos parâmetros do espermatograma. [55]

### **4. Problemas restritos a um parâmetro isolado**

Aproximadamente 30% dos indivíduos apresentam problemas em parâmetros isolados no espermograma. [55]

*Volume seminal* – um volume inferior aos valores de referência pode ter origem em problemas ejaculatórios, nomeadamente ejaculação tardia e aspermia, em que nenhum sémen é ejaculado através do ducto ejaculatório. [55] As principais causas de problemas na ejaculação resultam de anormalidades neurológicas, Diabetes *mellitus*, cirurgias retroperitoneais e o uso de bloqueadores-alfa. Aproximadamente 10% dos pacientes a quem é administrada tansulosina reportam disfunção ejaculatória. [55] Podem considerar-se também as perdas durante a colheita da amostra. [58]

*Oligospermia* – Em pacientes com menos de 10 milhões de espermatozóides/ml de sémen devem determinar-se os níveis séricos de FSH e testosterona e se estes se encontrarem alterados deve ser requerida uma avaliação endócrina completa. Se o número de espermatozóides for inferior a 5 milhões/ml de sémen uma avaliação

genética deve também ser considerada. No entanto, na maior parte dos casos, a oligospermia é idiopática. <sup>[55]</sup>

*Astenozoospermia* – As causas que podem estar na origem destes problemas são: longos períodos de abstinência sexual, infeções do trato genital, obstrução parcial do ducto ejaculatório, varicocele e a presença de anticorpos anti-espermatozóides. <sup>[55]</sup> A ausência completa de mobilidade ou mobilidades na ordem dos 5-10% sugerem fortemente a possibilidade da existência de defeitos estruturais nos espermatozóides. <sup>[55]</sup>

*Teratozoospermia* – A maioria das causas são idiopáticas, podendo no entanto considerar-se que o varicocele e as temperaturas elevadas prejudiquem a espermatogénese e isso se reflecta em morfologias anormais. <sup>[55]</sup>

## Capítulo 4 - Avaliação e monitorização laboratorial do casal infértil – Abordagem adicional

### 4.1 Contextualização

Após uma avaliação inicial pode surgir a necessidade da realização de testes adicionais de forma a confirmar ou a completar um diagnóstico e a otimizar as estratégias terapêuticas. Neste capítulo são abordados os exames adicionais a que um casal em consulta de infertilidade é submetido após a avaliação inicial descrita no capítulo 3.

### 4.2 Avaliação e monitorização laboratorial da mulher infértil – Abordagem adicional

#### 4.2.1 Avaliação da reserva ovárica

Antes de prosseguir, é fundamental perceber a diferença entre os testes de avaliação da função ovulatória e os testes de avaliação da reserva ovárica. Apesar de os primeiros indicarem sobre o estado ovulatório da mulher, permitindo identificar problemas ao nível da ovulação, não permitem apurar a quantidade e a qualidade do *pool* folicular, ou seja, a reserva ovárica, que como já vimos é crucial para a fertilidade feminina. <sup>[4]</sup>

Desta forma, o acesso à reserva ovárica justifica-se nas seguintes situações:

- Em mulheres que possam ter a sua reserva ovárica comprometida por apresentarem fatores de risco para uma falha ovárica prematura, como sejam: idade superior a 35 anos, ser fumadora, história familiar de menopausa precoce, cirurgia ovárica prévia, tratamentos de quimioterapia ou radioterapia, episódios de endometriose severa ou infeção pélvica. <sup>[1,4,41]</sup>

- Nos casos em que a avaliação inicial da infertilidade tenha sido inconclusiva, ou seja, as análises ao sémen e a ovulação são normais e não se reportaram quaisquer problemas anatómicos que possam estar na origem do problema de infertilidade. <sup>[1,4,41]</sup>

Para monitorizar o tratamento por estimulação controlada da ovulação que precede os ciclos de FIV, uma vez que funciona como preditora da resposta a fármacos estimulantes da ovulação. [4,68]

Em suma, uma avaliação ideal da reserva ovárica deve apresentar as seguintes características: predizer as hipóteses de concepção (com ou sem tratamento), indicar por quanto tempo os níveis de atividade ovárica se vão manter, ou seja, estimar qual o tempo restante de vida reprodutiva em determinada mulher (a sua idade biológica) e ajudar a seleccionar a dose ótima e o tipo de protocolo de estimulação controlada da ovulação mais adequado para o sucesso da FIV. [43,44,46,68]

Apesar da idade da mulher estar intimamente relacionada com a sua reserva ovárica, esta não pode, por si só, ser considerada um fator preditivo da fertilidade feminina uma vez que não contempla todos os pressupostos acima mencionados. [6]

Neste âmbito, os testes de avaliação da reserva ovárica vêm permitir uma abordagem muito mais fidedigna, uma vez que se baseiam na quantificação de parâmetros específicos, permitindo definir perfis individuais de reserva ovárica para cada mulher. [6,68] Uma vez que a reserva ovárica não pode ser medida directamente, os biomarcadores hormonais disponíveis actualmente, bem como a utilização de técnicas ultrassonográficas têm-se revelado de extrema utilidade. [48, 69] No entanto, apesar da existência de diversos testes que se propõem a predizer a reserva ovárica, permanece controverso quais deles dispõem de maior capacidade para tal. [70,71]

De acordo com a literatura, os principais métodos de avaliação de reserva ovárica incluem os testes passivos, os testes dinâmicos ou provocativos. [71]

### ***4.2.1.1 Testes passivos de avaliação da reserva ovárica***

Os testes passivos compreendem a determinação de biomarcadores hormonais e funcionais através de análises ao sangue ou de técnicas ultrassonográficas. [6,71]

### 4.2.1.1.1 Biomarcadores hormonais

A determinação sérica de biomarcadores hormonais é o método mais vantajoso para a avaliação da reserva ovárica, uma vez que combina a invasibilidade mínima da colheita sanguínea com uma reflexão direta da função biológica, com a rapidez de resultados e com o custo acessível da análise. <sup>[43,72]</sup>

#### *Hormona folículo-estimulante* (FSH) no 3º dia do ciclo menstrual (basal)

Como descrito no capítulo 2, a FSH é fundamental para o crescimento folicular e para a seleção dos folículos dominantes durante a fase folicular. Consequentemente, à medida que ocorre a depleção folicular, devido ao avançar da idade ou a outras causas que promovam falha ovárica prematura, vai haver diminuição da produção de estradiol, o que atenua o *feed-back* negativo a nível do hipotálamo-hipófise e se vai refletir por conseguinte, numa elevação dos níveis séricos de FSH de forma a compensar a menor resposta do ovário. <sup>[71]</sup>

Desta forma, a quantificação dos níveis séricos de FSH obtida no início da fase folicular, tem sido reconhecida e utilizada desde os anos 80 como o parâmetro bioquímico com maior capacidade de predizer a reserva ovárica. <sup>[68,71,72]</sup> Uma vez que a predição da reserva ovárica através deste método é efetuada com base no funcionamento do eixo endócrino hipotálamo-hipófise-ovários, diz-se que este é um método indireto de avaliação da reserva ovárica. <sup>[43]</sup>

Para que os resultados do teste reflitam precisamente a concentração de FSH na fase folicular, a colheita da amostra sanguínea deve ser realizada de preferência no 3º dia do ciclo menstrual (que é quando os níveis de FSH começam normalmente a aumentar), podendo considerar-se aceitável colher a amostra entre o 2º e o 5º dia do ciclo, uma vez que os níveis séricos de FSH permanecem relativamente estáveis neste período. <sup>[68,71]</sup> Concentrações séricas de FSH superiores a 15 (UI/l) são normalmente associadas a um mau prognóstico de reserva ovárica, quer termos de probabilidades de conceção quer em termos de resposta a fármacos indutores da ovulação. <sup>[68,71]</sup>

É importante considerar que os métodos laboratoriais para a determinação das concentrações séricas de FSH incluem diferentes imunoenaios com utilização de diferentes anticorpos policlonais, o que pode ter influência nos valores obtidos. [71]

Apesar de historicamente, a concentração sérica de FSH basal ser o biomarcador hormonal de escolha para avaliação da reserva ovárica, uma vez que está bem documentado e validado, é relativamente rápido, barato e reprodutível, a sua utilização apresenta algumas limitações, tais como a flutuação fisiológica entre isoformas de FSH ao 3º dia do ciclo entre ciclos menstruais consecutivos, a dificuldade em determinar o *timing* apropriado em mulheres com períodos irregulares e o menor valor preditivo verificado em mulheres com idades inferiores a 40 anos. [44,48,68,71,73]

Uma meta análise recente veio demonstrar que com a determinação de FSH ao 3º dia em mulheres com ciclos menstruais regulares, a exatidão na predição de concepção e de fraca resposta aos fármacos indutores da ovulação apenas se verifica para valores-limite muito elevados de FSH e que este teste apresenta uma taxa de resultados falsos-positivos de 5%. [46] A partir de ensaios *standardizados* demonstrou-se ainda que este teste apresenta elevada especificidade na predição da fraca resposta à estimulação ovárica (83-100%), no entanto, a sensibilidade acaba por variar bastante (entre 10% a 80%). [56] Tendo em conta estes critérios, a determinação sérica de FSH ao 3º dia do ciclo, por si só, não é um método preditor de concepção e não deve ser usada para excluir pacientes para FIV. [72,73]

### **Estradiol** no 3º dia do ciclo menstrual (basal)

Apesar de alguma quantidade de estradiol ser produzida a partir da conversão periférica de testosterona pelos adipócitos e pelas células endoteliais, a maior parte do estradiol feminino tem origem nas células granulosas do ovário podendo ser considerado reflexo da atividade folicular. [71,72] Tal como na determinação sérica de FSH, a predição da reserva ovárica através deste método é efetuada com base no funcionamento do eixo endócrino hipotálamo-hipófise-ovários, pelo que este é também considerado um método indireto de avaliação da reserva ovárica. [72]

Uma concentração sérica elevada de estradiol ao 3º dia do ciclo menstrual (> 60-80 pg/ml) sugere que o desenvolvimento folicular está bastante avançado, o que é inapropriado para essa altura do ciclo. No entanto, isto não indica exclusivamente uma reserva ovárica diminuída, podendo ser simplesmente o resultado de uma rápida foliculogénese.<sup>[70-73]</sup> Desta forma, o estradiol basal nunca é utilizado sozinho como preditor da reserva ovárica, sendo sempre utilizado como método complementar à interpretação dos valores de FSH.<sup>[56,72]</sup> Quando os níveis séricos de FSH são “normais”, mas os níveis séricos de estradiol estão elevados, há uma associação limitada entre a fraca resposta a fármacos indutores da ovulação e as taxas de concepção.<sup>[56]</sup> Contudo, quando ambos os valores de FSH e de estradiol ao 3º dia do ciclo estão elevados, pode considerar-se que há correlação entre estes valores, a fraca resposta a fármacos indutores da ovulação e as taxas de concepção.<sup>[68,71]</sup>

### *Hormona Anti-Mulleriana (HAM)*

A hormona Anti-Mulleriana surge como o mais recente biomarcador hormonal, sendo estudada por vários investigadores como um marcador promissor e inovador para avaliação da reserva ovárica.<sup>[74,75,76]</sup>

Trata-se de uma glicoproteína dimérica, da família de factores de crescimento TGF- $\beta$ , cuja principal função é a diferenciação sexual masculina, sendo produzida pelas células de *Sertoli* fetais no momento da diferenciação testicular e induzindo a degeneração dos ductos de *Muller*.<sup>[74]</sup> Nas mulheres, a ausência de HAM, é responsável pela diferenciação do ductos *Mullerianos nas várias estruturas do trato reprodutivo feminino*, nomeadamente o útero, as Trompas de Falópio e a parte superior da vagina.<sup>[48,69,76]</sup> Se no homem pode ser detetada a partir da 5ª semana de desenvolvimento embrionário, na mulher apenas na 36ª semana de gestação começa a ser produzida exclusivamente pelas gónadas, mais precisamente pelas células granulosas dos folículos pré-antrais e dos pequenos folículos antrais no ovário, sendo secretada para o fluido folicular e para a circulação sanguínea onde só é detectável a partir da puberdade, decrescendo com o avançar da idade da mulher e tornando-se indetetável por altura da menopausa.<sup>[48,74]</sup>

Esta hormona apresenta um papel importante na foliculogénese, nomeadamente ao nível da modulação do recrutamento folicular, sendo expressa nos folículos em desenvolvimento até que estes atinjam uma diferenciação tal que se tornam recetivos à FSH e possam ser recrutados para ser o folículo dominante, sendo que após a maturação dos folículos, a produção de HAM é suprimida, permitindo aos folículos completarem o seu desenvolvimento. <sup>[72,74,76]</sup> Para além disto, a HAM inibe a sensibilidade dos folículos antrais ao recrutamento pela FSH, o que impede o recrutamento excessivo e inibe a actividade da aromatase, reduzindo a biossíntese de estrogénio. <sup>[74]</sup> Sugere-se que a transição dos folículos primordiais em folículos de maior tamanho é promovida na ausência HAM, o que resulta numa exaustão do pool folicular. A determinação dos níveis séricos de HAM permite estimar indiretamente se o número de oócitos disponíveis é inferior, normal ou superior ao valor esperado para determinada idade, o que permite a sua utilização enquanto preditor da longevidade reprodutiva. <sup>[68,74]</sup> Para além de apresentar a capacidade de predizer de forma ímpar a quantidade de folículos, estudos recentes apontam a sua capacidade de predizer a qualidade dos oócitos remanescentes. <sup>[72]</sup> Para além disto e uma vez que a sua secreção é independente de outras hormonas, a sua expressão é constante independentemente do dia do ciclo menstrual e a sua variabilidade inter-cíclica é reduzida, a HAM é um biomarcador da reserva ovariana bastante promissor, razões pela qual se crê ser este o melhor preditor da fraca resposta a fármacos estimulantes ováricos utilizados em TRA, nomeadamente aos agonistas de GnRH. <sup>[74,75,76]</sup>

No entanto, no que diz respeito à sua capacidade preditora de concepção, alguns autores defendem que fica um pouco aquém em relação à sua grande potencialidade em predizer a resposta ovárica. <sup>[70]</sup>

### ***Inibina B***

A inibina B é uma proteína heterodimérica, estruturalmente semelhante à HAM, pertencente à superfamília dos fatores de crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), surgindo também como um dos mais recentes biomarcadores hormonais. <sup>[68,69,71]</sup> É produzida pelas células granulosas dos pequenos folículos antrais a meio da fase folicular e a sua função é a de inibir seletivamente a libertação de FSH pela adeno-hipófise. Assim, há

medida que o *pool* folicular diminui, um decréscimo na concentração de inibina B é verificado, pelo que, a par da HAM a inibina B tem sido considerada como um biomarcador promissor da reserva ovárica. [72,73] Estudos recentes demonstraram essa associação, ao verificar que para concentrações séricas de inibina B inferiores a 45 pg/ml a resposta ao tratamento com gonadotrofinas foi fraca, os cancelamentos dos ciclos de FIV foram elevados, o número de oócitos recolhidos foi reduzido e as taxas de conceção foram significativamente inferiores comparativamente a concentrações séricas superiores a 45 pg/ml. [72,73] Nove estudos publicados sobre a capacidade preditiva da inibina B foram recentemente revistos e verificou-se que a determinação da inibina B tem associada uma taxa elevada de falsos positivos, o que pode causar a exclusão inapropriada de pacientes para os tratamentos de FIV. [71] Apesar da literatura apontar a inibina B como um biomarcador promissor da reserva ovárica, mais estudos são requeridos para que possa ser utilizado na rotina clínica. [72]

### 4.2.1.1.2 Biomarcadores funcionais

#### *Contagem de folículos antrais – CFA*

Apesar de não ser possível medir diretamente o *pool* folicular, vários estudos demonstraram que o decréscimo na reserva ovárica ao longo do tempo está relacionada com o número reduzido de folículos antrais disponíveis para serem recrutados pela FSH com vista à obtenção de um folículo dominante. [71, 77] A obtenção da imagiologia do ovário através de ultrasonografia transvaginal tem sido utilizada de forma a prever quantitativamente a reserva ovárica, o que tem apresentando bastante utilidade como ferramenta prognóstica na determinação do sucesso da resposta à Estimulação Ovárica Controlada em tratamentos de FIV. [6,71] Um estudo realizado recentemente que inclui a análise de 149 ciclos de tratamento de FIV, demonstrou que a CFA diminui com a idade, agrupando também as pacientes em grupos consoante a contagem de folículos antrais (CFA <4, CFA 4-10, CFA > 10), tendo-se concluído que o número médio de oócitos recolhidos foi 2; 6,3; e 14, e que as taxas de conceção foram 0%,13,2% e 26,3%, respectivamente. [6,71]

É importante salientar que as pacientes selecionadas para a contagem dos folículos antrais devem ter ciclos menstruais regulares, sem a existência de condições

patológicas que possam afetar tecnicamente a contagem dos folículos, como a endometriose ou cirurgia ovárica prévia. As contagens devem ser sempre realizadas nos primeiros dois dias do ciclo menstrual de forma a evitar variações inter-cíclicas. <sup>[6]</sup>

### *Volume ovárico*

Com o avançar da idade da mulher, não só o número de folículos como também o volume e a vascularização do ovário diminuem significativamente. No entanto, a determinação do volume ovárico quando usado de forma individual não prediz com exatidão a reserva ovárica, sendo dificilmente utilizado como teste de rotina para avaliação da reserva ovárica. <sup>[71]</sup>

#### **4.2.1.2 Testes provocativos de avaliação da reserva ovárica**

Os testes provocativos de avaliação da reserva ovárica são assim denominados porque provocam a estimulação do ovário através da administração de medicação, com posterior registo da resposta obtida. <sup>[71]</sup>

### *Teste do Citrato de Clomifeno*

O teste do Citrato de Clomifeno é o teste provocativo mais usado para avaliação da reserva ovárica. <sup>[71,72]</sup> A sua realização requer a determinação da concentração basal de FSH no dia 3 do ciclo menstrual, seguida da administração diária de 100 mg de Citrato de Clomifeno entre os dias 5 e 9 do ciclo, com posterior determinação da concentração de FSH no dia 10 do ciclo. <sup>[72]</sup> Se a determinação de FSH no dia 10 do ciclo for superior à concentração basal, o resultado é sugestivo de uma reserva ovárica diminuída. <sup>[71,72]</sup>

### *Teste de reserva ovárica com FSH exógeno (EFORT)*

Este método de avaliação da reserva ovárica baseia-se na determinação dos níveis séricos basais de FSH e estradiol no 3º dia do ciclo menstrual seguida da administração de uma dose intramuscular de 300 UI de FSH purificada, com re-determinação dos valores basais de estradiol 24 horas depois. <sup>[71,72]</sup> Após dois ciclos menstruais realiza-se

a FIV com agonistas da GnRH e gonadotrofina menopáusic humana (HMG). O aumento nos valores de estradiol e os valores basais de FSH são avaliados e comparados com a qualidade da resposta ovárica à estimulação ovárica e a ocorrência de gravidez. <sup>[71]</sup> Este teste é raramente utilizado, uma vez que é moroso e a taxa de resultados falsos positivos é elevada. <sup>[71]</sup>

### *Teste de estimulação com agonista de GnRH (GAST)*

A administração de agonistas da GnRH provoca uma resposta fisiológica que se reflete num aumento inicial de estradiol seguida de uma supressão profunda (capítulo 5). <sup>[71,72,73]</sup> Quando usado em mulheres com ciclos menstruais regulares tem demonstrado uma alta eficácia na predição de reserva ovárica e da fraca resposta à estimulação ovárica. <sup>[71,72]</sup>

#### **4.2.2 Outros testes adicionais**

Para além da reserva ovárica, os principais testes adicionais que podem ser requeridos para avaliação da infertilidade mulher consistem na determinação da concentração sérica das hormonas da tiróide, nomeadamente da hormona tiroestimulante (TSH), para o despiste de desordens tiroideias, a determinação da concentração sérica de prolactina para avaliar a existência de hiperprolactinémia. <sup>[4,55]</sup> Para os casos suspeitos de Síndrome dos Ovários Policísticos, onde o hiperandrogenismo é normalmente uma constante, é recomendada a realização de um perfil androgénico, com medição da testosterona total, SHBG, androsteniona, dehidroepiandrosterona (DHEA) e sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS). <sup>[4,55]</sup>

### 4.3 Avaliação e monitorização laboratorial do homem infértil – Abordagem adicional

#### 4.3.1 Análises complementares ao sémen

A análise de rotina ao sémen, utilizada há mais de 50 anos continua a ser o método de eleição para avaliação preliminar da infertilidade masculina, no entanto a sua utilização como método primordial da avaliação da infertilidade masculina é algo controversa.<sup>[62]</sup>

Os espermatozóides exibem um conjunto de propriedades únicas que permitem a fertilização e o adequado desenvolvimento do embrião. Tendo em atenção esta complexidade, as análises tradicionais ao sémen apresentam grandes limitações, uma vez que apenas fazem uma descrição física do sémen ejaculado, não considerando a fisiologia celular ou as afecções genéticas a que o DNA pode estar sujeito.<sup>[51,56]</sup> Com o objetivo de efetuar uma avaliação diagnóstica e prognóstica mais abrangente da infertilidade masculina, tem sido desenvolvido ao longo das últimas décadas um número considerável de testes *in-vitro* cujo foco são as características funcionais, bioquímicas e moleculares dos espermatozóides.<sup>[52,55]</sup> Os principais testes desenvolvidos têm como pressupostos a avaliação da função dos espermatozóides, a determinação de anticorpos anti-espermatozóides e a avaliação da integridade do DNA.<sup>[52]</sup>

##### 4.3.1.1 Testes para avaliação da função dos espermatozóides

Este tipo de testes visa uma abordagem funcional do espermatozóide, nomeadamente no que diz respeito à interação deste com o oócito durante o processo de fertilização, sendo os principais testes neste âmbito apresentados em seguida:<sup>[52]</sup>

##### *Teste de Penetração de Espermatozóides*

Este teste, desenvolvido em 1976, avalia a capacidade do espermatozóide penetrar em oócitos de hamster cuja zona pelúcida foi completamente removida de forma a permitir a penetração de espermatozóides humanos (a zona pelúcida impede a

fertilização entre espécies). O procedimento consiste na análise de 4 etapas do processo de fertilização: a capacitação do espermatozóide, a reacção acrossómica, a fusão com a membrana do oócito e a descondensação do espermatozóide. <sup>[51,55]</sup>

Como principais aplicações deste teste destaca-se o carácter preditivo da probabilidade de uma gravidez espontânea *in vivo* ou através de Fertilização *in vitro*.

<sup>[63]</sup> As principais limitações da sua utilidade clínica incluem o uso de oócitos de hamster, o custo de todo o processo analítico e toda a exigência técnica que requer e a dificuldade em estabelecer parâmetros *standardizados*. <sup>[51,52,55]</sup>

### *Teste da Reacção Acrossómica*

A reacção acrossómica é um processo que ocorre naturalmente e envolve a fusão da membrana plasmática do espermatozóide com a membrana do acrossoma o que resulta na libertação do conteúdo acrossomal (enzimas proteolíticas). <sup>[48,55]</sup> Em

condições normais, apenas os espermatozoides que sofrem o processo de capacitação (um processo maturacional que envolve uma série de modificações bioquímicas) podem libertar o conteúdo acrossomal, permitindo assim que as enzimas proteolíticas ao degradarem a zona pelúcida do oócito favoreçam a penetração do espermatozóide.

<sup>[53]</sup> Uma limitação deste teste é a prevalência extremamente baixa de espermatozoides humanos com capacidade de reacção acrossomal (5%), o que impede o estabelecimento de correlação directa com a concepção e logo a sua aplicação na rotina clínica. <sup>[52,55]</sup>

### *Teste de Hemizona*

Desenvolvido em 1988, este teste foi introduzido com o intuito de avaliar a ligação do espermatozóide à zona pelúcida do oócito. <sup>[14,51,55]</sup> Este teste apresenta uma técnica

complexa através da utilização da zona pelúcida de oócitos não fertilizáveis, a qual é dividida em duas zonas. Uma metade é incubada com espermatozoides de um dador fértil e a outra metade é incubada com espermatozoides do paciente, sendo depois contabilizado o número de espermatozoides ligado a cada zona e calculado o índice de hemizona ( $n^{\circ}$  de espermatozoides ligados do paciente /  $n^{\circ}$  de espermatozoides ligados do dador fértil). <sup>[52,55]</sup> Em alguns estudos realizados, pacientes com um índice de

hemizona  $\leq 30$  apresentaram uma taxa de concepção significativamente mais baixa comparativamente aos pacientes com um índice superior a esse valor. <sup>[52,55]</sup> Este teste, apesar de complicado é de importância significativa uma vez que prediz a ligação do espermatozóide ao oócito e pode delinear deficiências desta natureza. <sup>[51]</sup> Contudo, o facto de utilizar oócitos humanos, os quais têm disponibilidade limitada confere limitações à sua utilização na prática clínica. <sup>[55]</sup>

Apesar de inovadores, os testes referidos anteriormente não são usados na prática clínica uma vez que a sua complexidade, aliada aos custos elevados, à falta de *standardização* e a fraca correlação com a ocorrência de concepção limitam fortemente a sua utilização. <sup>[51]</sup>

### **4.3.1.2 Testes para a determinação de anticorpos anti-espermatozóides**

A produção de anticorpos anti-espermatozóides pode ter origem no homem ou na mulher, resultando em ambos os casos na destruição dos espermatozóides ou no comprometimento da fertilização. <sup>[55]</sup> A presença de anticorpos anti-espermatozóides reduz a mobilidade dos espermatozóides, a sua capacidade de penetração no muco cervical e compromete a fertilização ao nível da reacção acrossómica e do reconhecimento e da penetração da zona pelúcida. <sup>[7]</sup> A determinação destes anticorpos deve ser requerida sempre que as análises ao sémen demonstrem aglutinação, que se verifique baixa mobilidade dos espermatozóides com história de trauma testicular ou cirurgia, haja uma elevada concentração de leucócitos no sémen, se verifique baixa penetração do muco pelos espermatozóides no teste pós-coital, e se suspeite de infertilidade inexplicada. <sup>[52, 55]</sup>

A nível laboratorial, dispõe-se de vários ensaios para a determinação deste tipo de anticorpos baseados em diferentes metodologias, com diferentes sensibilidades e implicações clínicas. A escolha de um ensaio para a determinação de anticorpos anti-espermatozóides deve considerar: o local do corpo de onde se recolhe a amostra (plasma ou esperma), qual a classe de anticorpos detetada (IgG ou IgA) e a forma de preparação do sémen (fresco ou processado). <sup>[55]</sup>

Atualmente, os testes mais utilizados na detecção destes anticorpos são o IBT (immunobead test) e o MAR (mixed agglutination reaction). No entanto, para cada uma das técnicas não existem valores de referência pelo que a relevância do uso clínico destes ensaios é limitada. <sup>[55]</sup>

### ***4.3.1.3 Testes para avaliação da integridade do DNA***

A integridade do DNA dos espermatozóides tem sido recentemente associada à infertilidade, uma vez que o DNA fragmentado é particularmente frequente nos espermatozóides de homens inférteis. <sup>[55]</sup> Um espermatozóide pode apresentar todos os parâmetros do espermograma normais, mas se tiver o DNA danificado a fertilização e o desenvolvimento do embrião podem estar comprometidos. <sup>[51]</sup> O DNA pode apresentar-se danificado devido a deficiências na recombinação durante a espermatogénese, a uma maturação inadequada dos espermátides, a apoptose e a stress oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigénio. <sup>[51]</sup> Elevados danos no DNA estão associados a um desenvolvimento embrionário mais pobre, a maiores taxas de aborto espontâneo e a potenciais efeitos adversos na descendência. <sup>[67]</sup> Contudo, os oócitos e os embriões apresentam a capacidade de reparar danos no DNA dos espermatozóides, pelo que o efeito biológico dos danos no DNA dependem do grau de cromatina danificada mas também da capacidade de reparação por parte do embrião. <sup>[55]</sup>

Laboratorialmente, vários testes têm sido desenvolvidos para avaliar a integridade do DNA, podendo destacar-se três grupos: os testes para determinação da estrutura da cromatina, os testes para avaliar a fragmentação do DNA e os testes para avaliar a matriz nuclear dos espermatozóides. <sup>[24,52,55]</sup>

Dentro dos testes para a determinação da estrutura da cromatina destaca-se o Teste Estrutural da Cromatina do Espermatozóides, o qual é maioritariamente utilizado uma vez que tem demonstrado correlação clínica com a conceção, quer naturalmente quer através de técnicas de reprodução assistida. <sup>[51]</sup> O método baseia-se na avaliação da suscetibilidade do DNA a uma alteração conformacional na hélix induzida por ácido, utilizando um composto fluorescente (acridina) para visualizar a alteração. <sup>[51]</sup>

As principais vantagens são a sua robustez e as suas pequenas variações entre ensaios, as desvantagens são a complexidade e os elevados custos associados. <sup>[51]</sup>

Os testes de avaliação de fragmentação de DNA têm como objetivo identificar quebras nas cadeias de DNA dos espermatozóides, destacando-se este grupo de testes o TUNEL (*Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP Nickend Labeling*). Este teste, através de citometria de fluxo, deteta com exatidão a maior parte das cadeias de DNA quebradas pela incorporação de nucleótidos nos locais das quebras, sendo essa recção catalisada pela DNA transferase. As principais desvantagens prendem-se com o facto de ter um procedimento trabalhoso e de não estar relacionado de forma clara com a concepção. <sup>[51,52,55]</sup>

Os testes para avaliação da matriz nuclear dos espermatozóides são baseados no grau em que o DNA, desprovido de proteínas é capaz de enrolar à volta da matriz nuclear, podendo referir-se o teste de estabilidade da matriz nuclear e o teste da dispersão de cromatina. <sup>[52,55]</sup> O primeiro, avalia a organização do DNA dentro do núcleo e permite detetar aberrações na capacidade da matriz para enrolar o DNA, o segundo avalia o facto de um DNA fragmentado não produzir um halo quando misturado com agarose após tratamento com ácido salicílico para remoção de proteínas. Ambos os testes estão ainda em fase de desenvolvimento pelo que a sua limitação na verificação da infertilidade masculina é ainda bastante limitada. <sup>[51]</sup>

Esta área é ainda bastante complexa, devido à grande diversidade dos métodos disponíveis para avaliar o DNA e estado embrionário da maior parte deles, gerando controvérsia sobre a sua efetividade enquanto preditores da infertilidade masculina na prática clínica. <sup>[67]</sup> Recentemente, a Sociedade Americana para a Medicina Reprodutiva e a Sociedade Europeia para a Reprodução Humana e Embriologia manifestaram que não apoiam a utilização de testes de DNA como análises de rotina ao sémen. <sup>[51]</sup>

Desta forma e apesar da vasta investigação científica neste âmbito, o espermograma continua a ser a análise de excelência para a avaliação inicial da infertilidade masculina. <sup>[67]</sup>

### 4.3.2 Avaliação endócrina

A avaliação da função endócrina no homem é recomendada para avaliação adicional da infertilidade masculina sempre que a concentração de sémen seja inferior a 10 milhões de espermatozoides/ml (oligospermia); existam problemas de disfunção erétil; o volume de sémen seja inferior a 1 ml (hipoespermia) e se verifiquem sinais e sintomas de endocrinopatias ou hipogonadismo aquando do exame físico (por exemplo ginecomastia).<sup>[49,52]</sup>

A amostra de sangue para avaliação endócrina do homem deve ser colhida de manhã de forma a minimizar a variação diurna nos níveis das hormonas.<sup>[55]</sup> As análises hormonais iniciais consistem na determinação sérica de FSH (um aumento isolado dos níveis séricos desta hormona é indicativo de danos no epitélio germinal) e de testosterona (a sua concentração vai reflectir a funcionalidade das células de *Leydig*).<sup>[49]</sup> Se os níveis séricos de testosterona forem baixos, devem determinar-se em seguida os níveis de testosterona na forma livre (a testosterona circula no sangue ligada maioritariamente à SHBG (*sex-hormone-binding-globulin*), a qual está em equilíbrio com os cerca de 2% de testosterona na forma livre que entra nas células para exercer os efeitos metabólicos) e de LH.<sup>[55]</sup> Concentrações séricas elevadas de FSH e LH, acompanhadas por concentrações séricas normais a baixas de testosterona livre sugerem uma falha testicular severa, a qual pode ter origem congénita (síndrome de *Klinefelter*) ou adquirida. Por outro lado, concentrações séricas de FSH e de LH reduzidas podem indicar Hipogonadismo Hipogonadotófico, o qual pode também ser congénito, ou secundário a um tumor na hipófise. Em indivíduos com azoospermia, uma concentração sérica de FSH normal pode estar relacionada com obstrução ductal.<sup>[49,52,55]</sup>

Nos pacientes que aquando da realização do exame físico apresentaram ginecomastia, massas testiculares ou uma história consistente de exposição exógena a estrogénios deve também ser determinada a concentração sérica de estradiol. Por outro lado, a determinação dos níveis séricos de prolactina deve constituir parte da avaliação do homem infértil em pacientes que apresentem disfunção sexual ou quando há

evidências clínicas de uma doença hipofisária, contudo a hiperprolactinémia é uma causa rara de infertilidade masculina. <sup>[49,55]</sup>

### 4.3.3 Avaliação genética

A infertilidade masculina pode estar associada a vários factores genéticos, nomeadamente a aberrações cromossómicas, a mutações genéticas e a microdelecções no cromossoma Y. Laboratorialmente, as aberrações cromossómicas podem ser despistadas através da determinação do cariótipo e as mutações genéticas e as microdelecções podem ser determinadas através de análises de sangue periférico com amplificação de DNA pela técnica de PCR (polymerase chain reaction). <sup>[49]</sup>

O Síndrome de *Klinefelter* (aneuploidia, 47XXY) é a desordem cromossómica mais frequente em homens inférteis e está geralmente associada a testículos atrofiados, elevadas concentrações séricas de FSH e azoospermia, sendo a mutação genética no gene da fibrose cística, localizado no cromossoma 7, a mutação genética mais comumente encontrada e a qual está associada a hipoplasia da vesícula seminal. As microdelecções no cromossoma Y, por sua vez, são encontradas em 15% dos homens com azoospermia e em 6% dos homens com oligospermia. <sup>[49]</sup>

Desta forma, as principais indicações para a realização de testes genéticos como forma de avaliação adicional do homem infértil são: infertilidade de causa desconhecida e concentrações de espermatozóides inferiores a 10 milhões/ml em candidatos a TRA; azoospermia não obstrutiva em candidatos a TRA; azoospermia ou oligospermia com verificação da ausência de pelo menos um canal deferente durante o exame físico; azoospermia com sinais de espermatogénese normal (azoospermia não obstrutiva) e história familiar de doenças genéticas e abortos recorrentes. <sup>[49,55]</sup>

### 4.3.4 Exames imagiológicos

Em situações de volumes de sémen reduzido (<1,5ml), examinação rectal anormal e desordens na ejaculação deve ser realizada uma ultrassonografia transrectal, escrotal e renal, a qual permite a avaliação dos ductos ejaculatórios e das vesículas seminais. <sup>[49]</sup>

Por sua vez, o uso da ressonância magnética tem-se revelado útil nos em identificar situações como o varicocele e testículos não descendentes. [49,51]

### **4.3.5 Biópsia testicular**

As biópsias testiculares são sugeridas em casos específicos de azoospermia ou oligospermia severa para distinguir entre os casos obstrutivos e não obstrutivos. Esta distinção é necessária para determinar com exatidão a histopatologia dos testículos a qual pode identificar condições ao nível da espermatogénese, nomeadamente uma espermatogénese normal, hipoespermatogénese, aplasia das células germinais ou uma combinação de todas estas situações. [49]

## Capítulo 5 - Tratamento da infertilidade – Terapêutica por Indução da Ovulação e Estimulação Ovárica Controlada

### 5.1 Contextualização

Uma vez estabelecido o diagnóstico preliminar da infertilidade do casal é necessário desenvolver um plano de tratamento direcionado e otimizado com base na avaliação clínica e laboratorial exaustiva previamente realizadas. [4]

O tratamento da infertilidade assenta em três pilares fundamentais, o tratamento médico, o tratamento cirúrgico e as Técnicas de Reprodução Assistida (TRA). [4,14]

De forma simplificada, os objetivos principais são “ obter mais oócitos, obter mais espermatozóides e permitir a maior aproximação entre ambos”. Um maior número de oócitos maduros pode ser obtido através de fármacos para estimulação ovárica, um maior número de espermatozóides de qualidade pode obter-se, por exemplo, através do tratamento de infeções genito-urinárias e do varicocele e maiores taxas de fertilização podem ser melhoradas através de TRA como a Inseminação Intrauterina ou a Fertilização *In Vitro* , incluindo a Injeção Espermática Intra-citoplasmática (IEIC). [27]

O progresso científico na área da Reprodução Humana tem proporcionado o desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento de infertilidade, o qual é bastante visível, em particular, no âmbito da Terapêutica por Indução da Ovulação e Estimulação Ovárica Controlada, razão pela qual esta modalidade de tratamento é abordada de forma ímpar nesta monografia. [6]

### 5.2 Terapia por Indução da Ovulação e Estimulação Ovárica Controlada

A terapia por Indução da Ovulação e Estimulação Ovárica Controlada assume como principais objetivos a indução da ovulação em mulheres com desordens ovulatórias e a estimulação ovárica controlada com vista ao aumento do número de oócitos maduros

em mulheres que requeiram maturação folicular para tratamentos de Reprodução Medicamente Assistida (IUI e FIV) com vista à obtenção de uma gravidez. [68, 78]

Como foi visto no capítulo 2, o desenvolvimento folicular e a libertação de um oócito a partir de um folículo dominante é o culminar de uma sucessão integrada e coordenada de ações hormonais e alterações morfológicas sob o controlo do eixo hipotálamo-hipófise-ovários. [68] Neste sistema, as gonadotrofinas (FSH e LH), a GnRH e os estrogénios assumem papéis de destaque, pelo que é através da manipulação das suas ações que os mecanismos de indução da ovulação e de estimulação ovárica controlada vão exercer o seu propósito em mulheres que assim o necessitem. [68,79]

Desta forma, este tipo de terapia baseia-se na administração de agentes farmacológicos que mimetizam a ação da GnRH e das gonadotrofinas endógenas junto dos recetores específicos estimulando diretamente o desenvolvimento folicular, ou na administração de agentes farmacológicos capazes de modular a ação dos estrogénios, quer através da atuação direta nos seus recetores com efeito na produção de gonadotrofinas endógenas (moduladores seletivos dos recetores de estrogénios, como Citrato de Clomifeno), quer através da inibição da produção de estrogénios (inibidores da atividade ou da síntese da enzima aromatase, como o Letrozol). [35, 68, 78]

### **5.2.1 Terapêutica por Indução da Ovulação**

#### **5.2.1.1 Fármacos de administração oral**

##### ***Citrato de Clomifeno (CC)***

Desde os anos 60, o Citrato de Clomifeno tem sido o fármaco mais utilizado para induzir a ovulação e para promover a estimulação ovárica controlada, altura em que os primeiros resultados da sua administração mostraram sucesso na promoção da ovulação e nas taxas de conceção. [78,80] Para que o tratamento com CC tenha sucesso são requeridos dois pré-requisitos: a presença de níveis de estrogénio razoáveis no organismo e um hipotálamo e hipófise plenos de funções, ou seja, capazes de produzir gonadotrofinas endógenas. [78]

Quimicamente, o Citrato de Clomifeno é um derivado não esteróide do trifenilcloroetileno, composto por uma mistura racémica dos isómeros zuclomifeno (38%) e enclomifeno (62%), possuindo o primeiro propriedades medianamente estrogénicas e o segundo carácter completamente anti-estrogénico. [4,78,80]

A nível estrutural é bastante semelhante aos estrogénios, razão pela qual se liga aos seus recetores no hipotálamo promovendo a depleção destes, o que vai impedir a correta interpretação das concentrações de estrogénio circulantes, ou seja, estas são presumidas como reduzidas devido à ausência de *feed-back* negativo por parte dos estrogénios. [78] Por conseguinte, surge uma desregulação na libertação pulsátil de GnRH pelo hipotálamo, aumentando a sensibilidade da hipófise a esta hormona, o que consequentemente se reflete em concentrações elevadas de FSH durante o tratamento. [35,68,78,80] Assim, um tratamento de sucesso com Citrato de Clomifeno vai originar um ou mais folículos dominantes maduros, gerando uma concentração tal de estrogénios que origina o pico na concentração de LH e consequentemente a ovulação. [35,68,78,80]

O objetivo da administração deste fármaco é o aumento da concentração sérica da hormona FSH na fase folicular do ciclo menstrual. [78] Desta forma, a terapêutica deve ter início entre o 2º e o 5º dia do ciclo menstrual, começando com 50 mg diárias (1 comprimido) durante 5 dias consecutivos, devendo o casal deve ser aconselhado a ter relações sexuais todos os dias após o 10º dia do ciclo. [35,68,78,80] Se a menstruação ocorrer no período esperado, assume-se que a ovulação ocorreu e a mesma dose é repetida por mais dois ciclos de tratamento, no entanto, se a menstruação não ocorrer e não tiver havido quaisquer efeitos secundários, a dose é aumentada em 50 mg (no máximo até 3 comprimidos) nos ciclos subsequentes até a ovulação ser induzida, ou seja, até ser estabelecida a dose efetiva. [35,68,78,80] A maior parte das mulheres irá responder ao tratamento com doses de 50 mg (52%) ou 100 mg (22%). No entanto, as mulheres que falhem a resposta ao tratamento com uma dose de 150 mg deverão ser remetidas para tratamentos alternativos ou combinar a estimulação ovárica com CC com outros métodos. [78]

De acordo com vários estudos, a administração de CC é considerada a terapia de primeira linha no tratamento das desordens ovulatórias, uma vez que é economicamente acessível, a administração é oral e apresenta uma taxa de sucesso de indução da ovulação de 70-80%.<sup>[68,80]</sup> No entanto, a taxa de sucesso de indução da concepção ronda apenas os 30-40%, o que se pode explicar com base nos efeitos anti-estrogénicos do CC a nível periférico, nomeadamente a nível do endométrio e do muco cervical.<sup>[68,80]</sup> Verifica-se também que em 25% dos casos não há qualquer resposta ao tratamento, o que se deve a fenómenos de resistência ao Citrato de Clomifeno, os quais ocorrem principalmente em mulheres obesas, com resistência à insulina e hiperandrogénicas, ou seja, em mulheres com Síndrome dos Ovários Poliquísticos.<sup>[68]</sup> Outras desvantagens associadas ao tratamento prendem-se com o facto de a resposta ao fármaco variar com a idade e com o IMC da mulher e com a possibilidade de risco de desenvolvimento multifolicular (risco de gestão múltipla), consequência da ausência de *feed-back* negativo por parte dos estrogénios.<sup>[32,78 80]</sup> A monitorização do tratamento com CC pode ser acompanhada por uma avaliação ultrassonográfica do crescimento folicular e da espessura do endométrio entre os dias 12 e 14 do ciclo, podendo a ovulação ser confirmada com a determinação da concentração sérica de progesterona a meio da fase luteínica (21º dia do ciclo).<sup>[68]</sup>

Com vista a melhorar as respostas ao tratamento com CC, podem ser adicionados fármacos adjuvantes: uma dose da hormona hCG a meio do ciclo contribui para o aumento as taxas de concepção nas situações em que a ovulação não ocorre devido a um atraso ou a uma ausência do pico da concentração de LH (apesar da presença de um folículo bem desenvolvido); a adição de dexametasona numa dose de 0,5 mg em mulheres cuja causa da anovulação é a hiperplasia adrenal congénita parece suprimir a secreção androgénica adrenal e induzir a responsividade ao CC; a progesterona micronizada é capaz de modelar a libertação pulsátil de LH, o que é importante em mulheres que já possuam níveis elevados de LH e que ao serem tratadas com CC possam atingir níveis desfavoráveis para a indução da ovulação; uma dose de metformina diária de 500 mg aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos alvo em mulheres com resistência aumentada à insulina, o que pode minimizar a resistência ao tratamento com CC.<sup>[68]</sup>

### *Letrozol*

O Letrozol foi originalmente desenvolvido para suprimir a produção de estrogénios em mulheres com cancro da mama, no entanto tem sido usado também na prática da infertilidade desde o ano 2000, ainda que *off-label*, para induzir a ovulação. [80, 81,82] Apesar de algo controverso, é encarado por muitos profissionais como uma opção de 2ª linha no tratamento das desordens ovulatórias, particularmente em mulheres que apresentaram resistência ao tratamento com Citrato de Clomifeno. [80,81]

O seu mecanismo de ação consiste na inibição seletiva da enzima aromatase, a qual é responsável pela conversão de androgénios em estrogénios. [80-,82] Ao inibir a ação desta enzima, a conversão de androgénios em estrogénios não ocorre e os níveis de estrogénios ficam mais reduzidos, diminuindo o *feed-back* negativo ao nível do eixo hipotálamo-hipófise, o que se reflete num aumento da secreção de FSH pela hipófise cujo papel é crucial no desenvolvimento folicular. [80-82]

Comparativamente ao Citrato de Clomifeno, o Letrozol apresenta algumas vantagens, tais como: menor risco de maturação multifolicular (como não provoca a depleção dos recetores estrogénicos o hipotálamo é capaz de responder a um *feed-back* negativo, logo menos hipóteses de ocorrerem gestações múltiplas), não provoca alterações no muco cervical nem no endométrio e apresenta uma semi-vida mais curta (48h) do que o CC (duas semanas) permanecendo por isso menos tempo em circulação no organismo. [68,78,80,81] Para efeitos de estimulação ovárica a posologia adequada de Letrozol são 2,5-5mg/dia durante 5 dias consecutivos, a partir do 3º dia do ciclo menstrual. Alguns estudos indicam que a ovulação ocorre mais cedo com o Letrozol do que com o CC e que este apresenta sucesso em induzir a ovulação em pacientes com SOPQ que não responderam ao tratamento com CC. [68,80]

Apesar das evidências sugerirem este fármaco com um agente efetivo na estimulação da ovulação, comparável ou ainda melhor do que o CC, o Letrozol ainda não ganhou aceitação pela comunidade médica. [68] Em 2005, a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva publicou um estudo que sugere um aumento de malformações congénitas após o tratamento com Letrozol, o que levou os fabricantes do fármaco a assumirem

publicamente que o Letrozol está contra-indicado para outro fim que não o tratamento do cancro da mama.<sup>[80]</sup>

### *5.2.1.2 Fármacos de administração injectável – gonadotrofinas exógenas*

A administração de gonadotrofinas exógenas é o tratamento de referência com vista à indução da ovulação em mulheres que tenham apresentado falha de resposta no tratamento com Citrato de Clomifeno (SOP), ou cujas desordens ovulatórias se devem a disfunções hipotálamo-hipofisárias, as quais levam a baixas concentrações de FSH endógeno que limitam o desenvolvimento e a maturação folicular e consequentemente a ovulação.<sup>[68,78]</sup> Com o objetivo de contornar essa situação são administradas gonadotrofinas exógenas as quais vão mimetizar a ação das gonadotrofinas endógenas junto dos receptores exercendo assim um efeito direto na indução da ovulação, contrariamente ao efeito indireto da libertação de FSH endógeno como consequência do tratamento com CC e Letrozol.<sup>[68]</sup>

Atualmente, as gonadotrofinas de origem exógena podem ter origem urinária- u (extraídas e purificadas a partir da urina de mulheres pós-menopáusicas) ou recombinante -r (sintetizadas em laboratório através da aplicação de técnicas de biologia molecular). Apesar das gonadotrofinas recombinantes serem mais puras e teoricamente mais seguras do que as gonadotrofinas urinárias, não há qualquer evidência clínica que demonstre superioridade de eficácia em qualquer uma delas.<sup>[6,68]</sup>

Nos protocolos de indução da ovulação, a hormona FSH pode ser administrada sozinha (FSHu ou FSHr), ou associada com a hormona LH, a qual pode apresentar-se sob a forma de gonadotrofina menopáusica humana (hMG), LH recombinante (LHr) ou gonadotrofina coriónica humana (hCGr ou hCGu).<sup>[6]</sup> O único grupo de desordens ovulatórias em que a adição da administração de LH ao protocolo parece ser crítica, é o grupo que compreende as disfunções hipotálamo- hipofisárias (grupo1), uma vez que os níveis de LH endógeno estão bastante reduzidos, sendo por isso necessária a administração de LH exógeno de forma a manter uma adequada biossíntese de estradiol.<sup>[68,78]</sup>

As principais complicações deste tipo de tratamento são a possibilidade da ocorrência de gravidezes múltiplas e de um excesso de estimulação ovárica (Síndrome de Hiperestimulação Ovárica), ambas causadas pelo desenvolvimento multifolicular resultante do processo. <sup>[68,78,83]</sup> Este desenvolvimento multifolicular justifica-se com base no procedimento do tratamento convencional com gonadotrofinas, o qual considera o aumento da dose de FSH em 75 UI a cada 5 a 7 dias. Desta forma, facilmente se atingem doses de FSH acima do limite requerido para induzir o crescimento folicular, o que vai resultar na maturação de múltiplos folículos, resgatando-se inclusive, aqueles folículos que se deveriam tornar atrésicos. <sup>[68,78,83]</sup>

A melhor ação farmacológica para prevenir estas complicações é criar condições para promover o crescimento de apenas um folículo dominante, o que pode ser conseguido utilizando os protocolos de indução da ovulação de baixa dose crónica de FSH (*step-up* e *step-down*), sendo estes os protocolos de indução da ovulação atualmente recomendados. <sup>[68,78,83]</sup>

### 5.2.1.2.1 Protocolo de baixa dose crónica (*step-up*)

O princípio deste protocolo baseia-se na determinação da dose-limite de FSH, ou seja, a dose suficiente para que ocorrência de crescimento folicular, mas insuficiente para evitar a excessiva estimulação folicular. <sup>[68,83]</sup>

O procedimento tem início com a administração de uma dose baixa de FSH (50-75 UI/dia) durante pelo menos 14 dias e se não houver resposta, ou seja, se não se verificar crescimento folicular, vai-se aumentando a dose em pequenas quantidades (25-37,5 UI) em intervalos de 7 dias se até um máximo de 225 UI/dia até haver resposta (Fig.5.1). <sup>[32,68]</sup> Uma vez obtida a resposta ao tratamento, a dose-limite é mantida até que um ou dois folículos atinjam o diâmetro médio de 18 mm, sendo administrada hCG para que a ovulação seja promovida. <sup>[32,68]</sup> Nos ciclos subsequentes de tratamento, a dose inicial é a dose identificada como sendo a necessária para se verificar o crescimento folicular e prevenir a excessiva estimulação folicular, ou seja, a dose-limite. <sup>[32,68]</sup>

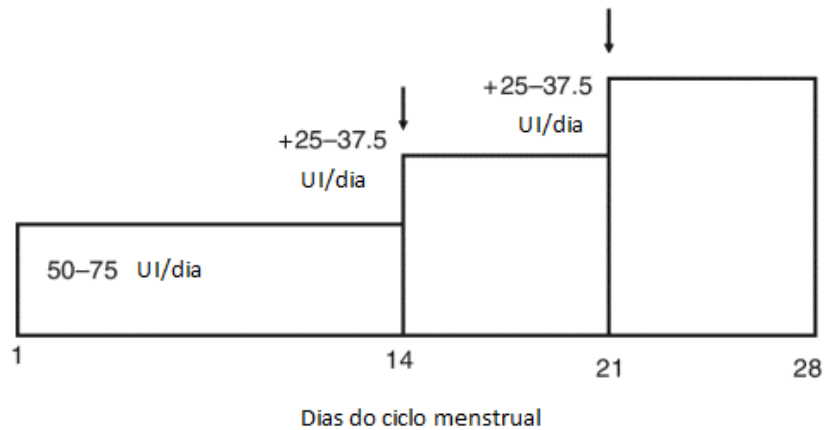


Figura 5.1 Protocolo de indução da ovulação de baixa dose crónica – *step up*. Adaptado de [68]

De acordo com a literatura, 90% das mulheres submetidas a este tratamento desenvolvem um folículo dominante, sendo as taxas de concepção por ciclo de tratamento de 20%, verificando-se também baixa prevalência de gravidezes múltiplas (5,7%) e irrisórias taxas de Síndrome de Hiperestimulação Ovárica (0,14%). [68]

#### 5.2.1.2.2 Protocolo de baixa dose crónica (*step-down*)

Este protocolo é uma variação do anterior, no entanto ao invés de o tratamento ser iniciado com as dosagens mais baixas e ir aumentando gradualmente, a administração começa com dosagens mais elevadas as quais vão sendo diminuídas de forma gradual de forma a ajustar a dose-limite. [32,68]

A administração da FSH começa com uma dose diária de 150 UI a partir do 2º ou 3º dia do ciclo e a resposta ovárica é monitorizada por ultra-som a cada 2 a 3 dias. [32,68] A mesma dose é continuada até que um folículo dominante atinja os 10 mm de diâmetro, altura em que a dose é reduzida para 112,5 UI/dia durante 3 dias e posteriormente para 75 UI/dia até que a hCG seja administrada para despoletar a ovulação. [32,68] Comparativamente ao protocolo *step-up*, este procedimento requer uma monitorização mais intensa e apesar da duração do tratamento ser menor, sugere apresentar maiores taxas de desenvolvimento multifolicular e de Síndrome de hiperestimulação ovárica e taxas de concepção mais reduzidas. [32,68] Tendo isto em

conta, a utilização do protocolo *step-up* para indução da ovulação é preferencial quer em termos de segurança quer em termos de eficácia. [32,68]

### 5.2.1.3 Fármacos de administração injetável – Hormona Libertadora de Gonadotrofinas (GnRH)

Quando as causas da desordem ovulatória são disfunções a nível do hipotálamo e da hipófise, a terapia clássica é a administração de GnRH de forma pulsátil, através de uma bomba de infusão, que permite a administração da hormona quer via subcutânea, quer via intravenosa. [34,68] A bomba permite a descarga de um *bolus* de 15-20 µg ou de 5-10 µg de GnRH a cada 60 a 90 minutos, dependendo se a administração é subcutânea ou intravenosa, respetivamente. A duração do tratamento varia entre duas a três semanas até que a ovulação ocorra. [34,68]

Independentemente da via de administração, este tipo de terapêutica é bastante eficiente a induzir a ovulação em mulheres com disfunções a nível do hipotálamo-hipófise, uma vez que vai mimetizar a acção da GnRH endógena junto dos recetores hipotálamicos estimulando a produção de gonadotrofinas endógenas. [34,68] Os tratamentos com GnRH apresentam taxas de ovulação entre os 50% e os 80% e taxas de conceção entre os 10% e os 30% por ciclo ovulatório. [34,68]

As principais vantagens da indução da ovulação com GnRH são o facto de o procedimento quase não requerer monitorização, de promover uma maturação fortemente mono-folicular, o que se verifica em baixas taxas de gravidezes múltiplas (<5%) e de não provocar o excesso de estimulação ovárica, evitando situações de Síndrome de Hiperestimulação Ovária. [34,68] Como desvantagens, pode reportar-se o facto do incómodo da utilização da bomba e o custo relativamente elevado da terapêutica. [34,68]

Apesar das suas vantagens, esta terapêutica de indução da ovulação por administração de GnRH de forma pulsátil, está praticamente em desuso, tendo sido fortemente substituída pela utilização das gonadotrofinas. [34,68]

#### ***5.2.1.4 Indução da ovulação através de cirurgia***

A laparoscopia é o método cirúrgico de eleição, o qual consiste na realização de punções nos ovários com uma profundidade de 7 a 8 mm através de uma agulha electrónica com uma potência de 30 W por 5/segundos por cada punção. <sup>[34]</sup> O mecanismo pelo qual esta cirurgia promove a recuperação da função ovulatória não está completamente esclarecido, no entanto, sugere-se que envolva a destruição de tecidos produtores de androgénios no ovário, ou seja, a desvitalização do estroma ovárico, o que resulta na diminuição das concentrações de androgénios, verificando-se também uma melhoria da resistência à insulina. <sup>[34]</sup>

Este método não é usado como tratamento de primeira linha para indução da ovulação, mas em estudos em que isso aconteceu, verificaram-se taxas de ovulação de 64% em mulheres com SOP e em mulheres que resistentes ao Citrato de Clomifeno as taxas de conceção obtidas foram de 67%. <sup>[34,68]</sup> Comparativamente ao tratamento com gonadotrofinas, a laparoscopia é menos dispendiosa, oferece a possibilidade de aceder ao trato reprodutivo feminino, o desenvolvimento folicular é mono-folicular, com baixas taxas de gravidezes múltiplas (1%) e não necessita de grande monitorização. As principais desvantagens prendem-se com o facto de ser um método invasivo, logo tem um risco cirúrgico associado e há a possibilidade da formação de adesões pélvicas e dano ovárico. <sup>[34]</sup>

#### ***5.2.1.5 Terapêutica de indução da ovulação para os diferentes grupos de desordens ovulatórias***

Como foi referido no capítulo 2, as desordens ovulatórias são a principal causa de infertilidade feminina e segundo a OMS podem ser agrupadas quanto à sua natureza em três grupos, distinguindo-se ainda um 4º grupo. Tendo em conta os tipos de tratamento por estimulação da ovulação explanados anteriormente, aborda-se em seguida quais deles são mais adequados em cada uma das principais desordens ovulatórias.

### *Disfunções hipotálamo-hipofisárias (Grupo 1)*

As desordens ovulatórias pertencentes a este grupo resultam de disfunções hipotálamo-hipofisárias, que se refletem numa secreção diminuída da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) a partir do hipotálamo ou numa diminuição da resposta da adeno-hipófise a esta hormona com consequente redução da concentração de gonadotrofinas. [34,35,68,78]

Tendo em conta que estas disfunções podem ter origem em perdas de peso consideráveis como acontece na anorexia nervosa, o tratamento de primeira linha é não farmacológico e deve focar-se no restauro do peso normal e no tratamento do *stress* de forma a recuperar as funções hipotálamica-hipofisárias e tentar atingir a ovulação espontaneamente. [34,35,68,78]

Quando o tratamento de primeira linha não surte quaisquer efeitos, é indicada a terapia farmacológica para indução da ovulação, nomeadamente a administração de GnRH exógena de forma pulsátil para mimetizar a acção da GnRH endógena e estimular a secreção das gonadotrofinas endógenas, ou a administração das próprias gonadotrofinas exógenas (FSH e LH). [68]

### *Disfunções hipotálamo-hipófise-ovários (Grupo 2)*

As desordens ovulatórias incluídas neste grupo são caracterizadas por disfunções hipotálamo-hipofisárias provocadas por patologias ováricas comprometedoras da ovulação, das quais se destaca particularmente o Síndrome dos Ovários Policísticos.

De todos os grupos de desordens ovulatórias descritas pela OMS, o grupo 2 é aquele que dispõe de mais hipóteses terapêuticas. [34,84] Tal como no grupo 1, como tratamento de primeira linha não farmacológico é importante o incentivo à redução de peso, uma vez que a obesidade se encontra associada à resistência á insulina, a qual resulta numa hiperinsulinémia compensatória que tem a capacidade de estimular a secreção de androgénios pelos ovários e pelas glândulas adrenais o que vai interferir com a maturação folicular e com a ovulação. Desta forma, a perda de peso, por si só, pode contribuir para a ocorrência espontânea da ovulação ou então melhorar a resposta aos tratamentos farmacológicos para indução da ovulação. [34,84]

Em termos de terapia farmacológica, o Citrato de Clomifeno surge como opção de 1ª linha, sendo que as mulheres que não respondam ao tratamento individual com CC podem combiná-lo com um inibidor da aromatase, um glucocorticóide (reduz os níveis de androgénios, actua sinergisticamente com a FSH no crescimento folicular) ou com a metformina. No caso das mulheres que não respondam a qualquer tipo de terapêutica oral podem recorrer à laparoscopia cirúrgica ou em última instância à terapia por indução da ovulação com gonadotrofinas exógenas. [68,84]

### *Falha ovárica (Grupo 3)*

As desordens ovulatórias deste grupo caracterizam-se pela incapacidade dos ovários responderem ao aumento dos níveis de LH e FSH, ainda que o hipotálamo e a hipófise estejam plenamente funcionais. [68] Nesta situação de falha ovárica, não está aconselhado nenhum tratamento para indução da ovulação, sendo a única opção disponível a reprodução assistida através de óvulos doados. [32,34,68]

### *Hiperprolactinémia (Grupo 4)*

A terapêutica de 1ª linha para mulheres com desordens ovulatórias cuja causa é a hiperprolactinémia compreende os agonistas da dopamina (bromocriptina, carbegolina), os quais vão inibir a secreção de prolactina a nível da hipófise, reduzindo a sua concentração e promover uma diminuição do prolactinoma se este estiver presente. [34,68]

A bromocriptina é administrada oralmente, numa dose diária de 2,5-20 mg duas a três vezes ao dia, sendo a carbegolina administrada uma ou duas vezes por semana e a resposta ao tratamento pode ser monitorizada pela determinação da concentração sérica de prolactina. [34] Os efeitos secundários comuns da bromocriptina são as náuseas, os vómitos, os espasmos abdominais, as vertigens, a hipotensão postural e as tonturas, razões pelas quais 12% das mulheres descontinuam o tratamento. No entanto, estes podem ser minimizados se houver uma progressão gradual da dose administrada, se essa administração for feita antes de dormir (de forma a suprimir o aumento nocturno da secreção de prolactina) ou se a via de administração for vaginal. [34]

A carbegolina apresenta maior afinidade pelos receptores de dopamina e uma maior duração de acção do que a bromocriptina, inibindo a secreção de prolactina até 7 dias, no entanto, só é prescrita a mulheres que apresentaram resistência prévia ou intolerância à bromocriptina. <sup>[34,68]</sup> A Agência Europeia do Medicamento reportou sobre o risco do desenvolvimento de fibrose valvular cardíaca associada à carbegolina em doses elevadas e por longos períodos de tempo. <sup>[34]</sup>

Estima-se que os agonistas da dopamina restaurem a ovulação em 70-90% das mulheres com hiperprolactinémia. <sup>[68]</sup>

### ***5.2.1.6 Riscos associados à terapia de indução da ovulação***

Alguns autores têm revelado o risco do desenvolvimento de cancro do ovário após terapia por indução da ovulação: um estudo indicou um risco relativo de 11,1% aquando do uso de CC por um período superior a 12 meses, outras meta-análises indicaram um risco acrescido de cancro do ovário em mulheres inférteis a quem tenham sido administrados fármacos para promover a fertilidade. <sup>[34]</sup> No entanto, segundo outros autores não é o uso deste tipo de fármacos que faz aumentar o risco de vir a sofrer desta patologia, mas sim a própria infertilidade da mulher. <sup>[34]</sup> Desta forma e tendo em conta a literatura, o risco de desenvolver cancro ovárico e a terapia por indução da ovulação parecem ter alguma conexão, no entanto mais estudos são requeridos. <sup>[34]</sup>

### 5.2.2 Terapêutica por Estimulação Ovárica Controlada

Na terapêutica por Indução da Ovulação abordada anteriormente, o objetivo final é a obtenção de ovulação em mulheres com desordens ovulatórias, estimulando-se o ovário com o intuito de obter apenas um folículo dominante, utilizando-se para isso doses de fármacos suficientemente potentes para permitir atingir esse objetivo mas insuficientes promover um desenvolvimento multifolicular, evitando consequentemente gravidezes múltiplas e o Síndrome de Hiperestimulação Ovárica. [68,78,83]

No entanto, na Terapêutica por Estimulação Ovárica Controlada o objetivo pretendido é obter exatamente o desenvolvimento e a maturação multifolicular com vista a obter um número significativo de oócitos com vista a aumentar o sucesso das Técnicas de Reprodução Medicamente Assistida, nomeadamente a Inseminação Intra-Uterina e a Fertilização *in Vitro* e Injecção Espermática Intra-citoplasmática. [68,78]

Logicamente este desenvolvimento multifolicular só é conseguido se a estimulação ovárica tiver muito maior intensidade do que a indução da ovulação, utilizando-se para isso gonadotrofinas exógenas (FSH) em doses muito superiores às doses-limite. [68,78,83,85] No entanto, a existência de múltiplos folículos a produzir estradiol pode induzir a um pico prematuro da concentração de LH antes dos folículos atingirem o tamanho ideal, o que pode condicionar o sucesso das técnicas reprodutivas, cujo objetivo é recolher o maior número de oócitos. [68,85] Com o intuito de prevenir o pico prematuro na concentração de LH e de promover um maior rendimento são incorporados nos protocolos de estimulação ovárica com gonadotrofinas fármacos contendo análogos de GnRH na forma nativa, ou análogos da GnRH que funcionam como agonistas ou antagonistas da sua acção. [68,86] Sem o uso de análogos da GnRH o pico prematuro na concentração de LH ocorre em 20% dos casos. [68, 86]

### 5.2.2.1 Agonistas da GnRH

Os agonistas da GnRH exercem o mesmo efeito na libertação de gonadotrofinas que a GnRH na forma nativa, mimetizando a ação da GnRH endógena junto dos recetores no hipotálamo. <sup>[85,86]</sup> No entanto, contrariamente à GnRH endógena, a sua administração é contínua e não é feita de forma pulsátil, o que suprime a ação da hipófise reversivelmente, causando a sua dessensibilização e não havendo libertação das gonadotrofinas nem conseqüente desenvolvimento de um pico prematuro nas concentrações de LH. <sup>[68,87]</sup>

Na prática clínica, a diferença entre os agonistas da GnRH e a GnRH na forma nativa é a de que a semi-vida e a biodisponibilidade dos agonistas são maiores em relação à hormona nativa, devido a maior lipofilicidade, motivo pelo qual são bastante mais utilizados em protocolos de estimulação ovárica. <sup>[87]</sup>

Ao longo das últimas décadas, foram sido desenvolvidos vários agonistas da GnRH, encontrando-se actualmente disponíveis e aprovados para uso clínico sete análogos agonistas da GnRH: leuprorelina, buserelina, goserelina, histrelina, deslorelina, nafarelina e triptorelina. <sup>[86]</sup> A sua administração é diária e pode ser intranasal ou subcutânea, sendo esta última a via preferencial devido à maior estabilidade atingida, permitindo uma rápida absorção do fármaco cujas concentrações sanguíneas se mantêm elevadas durante horas. <sup>[68, 86, 87]</sup>

Vários protocolos de estimulação ovárica combinando a administração de FSH e agonistas da GnRH têm sido desenvolvidos, cada um deles com diferentes variáveis, nomeadamente ao nível do momento da primeira administração do agonista (fase folicular ou a meio da fase luteínica do ciclo seguinte), da duração da administração e do tipo de ciclo (natural ou artificial, ou seja, sob a administração de progesterona e estrogénios). <sup>[68,86]</sup> Em seguida abordam-se os três principais tipos de protocolos de estimulação ovárica utilizados em FIV com agonistas da GnRH: os protocolos longos, o protocolo curto e o protocolo ultracurto. <sup>[85,86]</sup>

### 5.2.2.1.1 Protocolos longos

Existem duas variantes dos protocolos longos, o de fase luteínica e o de fase folicular.<sup>[86, 88]</sup>

O protocolo longo de fase luteínica começa com a administração do agonista de GnRH a partir do meio da fase luteínica do ciclo menstrual prévio (21º dia do ciclo) seguindo-se a administração de FSH apenas quando se verifica a supressão hipotálamica e ovárica, o que acontece normalmente após duas semanas de tratamento com o agonista de GnRH e se pode confirmar pela determinação dos níveis séricos de estradiol que devem estar reduzidos (<200 pmol/L).<sup>[68,85,86,88]</sup> A administração de FSH e GnRH é depois continuada até se obter um número suficiente de folículos ováricos, sendo a hCG administrada antes da recolha dos oócitos (Fig. 5.2).<sup>[68,85,86,88]</sup>

A única diferença entre o protocolo longo de fase luteínica e o protocolo longo de fase folicular, é que neste último, a administração do agonista de GnRH tem início no primeiro dia do ciclo menstrual, sendo as restantes etapas todas semelhantes (Fig. 5.2).<sup>[68,85,86,88]</sup>

Comparando ambos os protocolos longos, alguns estudos indicam que a supressão hipotálamo-hipofisária e ovárica é mais intensa no protocolo longo de fase luteínica do que no protocolo longo de fase folicular, no entanto não há diferenças significativas entre ambos os protocolos.<sup>[86]</sup>

As principais vantagens do uso de agonistas de GnRH em protocolos longos compreendem a prevenção efetiva do pico prematuro nas concentrações de LH e da luteinização prematura, o elevado número de oócitos recolhidos, a possibilidade de programação do tratamento e a capacidade de melhorar as taxas de conceção.<sup>[86,88]</sup>

Como principais desvantagens citam-se o longo período necessário para a ocorrência da supressão hipotálamica, o risco elevado de síndrome de hiperestimulação ovárica e a ocorrência de efeitos secundários comuns como as dores de cabeça, os afrontamentos, o sangramento, o desenvolvimento de quistos durante o período de dessensibilização.<sup>[86,88]</sup>

O pré-tratamento com contraceptivos orais antes de iniciar os protocolos longos de estimulação ovárica pode ser vantajoso na medida em que previne o aparecimento de quistos, ajuda a prevenir o pico de LH prematuro, aumenta a resposta às gonadotrofinas e permite uma maior programação do ciclo e a prevenção da administração indesejada de agonistas durante uma gravidez espontânea. <sup>[85,88]</sup>

### 5.2.2.1.2 Protocolo curto (*flare up*)

Neste protocolo, a terapia com o agonista de GnRH é iniciada no 2º dia do ciclo, sendo a administração da gonadotrofina iniciada um dia depois, continuando-se a administração concomitante de ambas até ao dia da administração da hCG (Fig. 5.2.). <sup>[86,88]</sup> A ação estimuladora imediata do agonista de GnRH vai servir como estímulo para o desenvolvimento folicular, sendo a maturação folicular atingida em cerca de 12 dias, o que deve permitir tempo suficiente para que a supressão hipotálmica e hipofisária ocorra e previna o pico prematuro de LH. Este protocolo visa assim utilizar as propriedades temporárias libertadoras de FSH do agonista, permitindo o recrutamento folicular durante a menstruação antes que a acção supressora termine. <sup>[86,88]</sup>

### 5.2.2.1.3 Protocolo ultracurto

Esta variante do protocolo curto consiste na administração do agonista de GnRH durante um período de 3 dias consecutivos durante a fase folicular, sendo depois descontinuado. Ao segundo dia de administração do agonista tem início a administração de FSH, a qual se mantém até à administração de hCG (Fig. 5.2). Este protocolo apresenta especial interesse no caso de fracos respondedores à terapia por estimulação ovárica controlada. <sup>[85,86,88]</sup>

Vários estudos têm sido conduzidos com o objetivo de determinar que protocolo de estimulação ovárica com agonistas de GnRH apresenta maior eficácia como adjuvante na terapia com gonadotrofinas em ciclo de reprodução assistida. A evidência científica sugere que o uso de protocolos longos está associado a taxas de concepção por ciclo significativamente superiores e a um maior número de oócitos obtido do que os protocolos curtos. <sup>[85,86,88]</sup> Os protocolos curtos e ultracurtos estão no entanto, mais

direccionados para mulheres que apresentem fraca resposta à estimulação ovárica, para o qual contribui o efeito estimulador inicial do agonista de GnRH. [86,88]

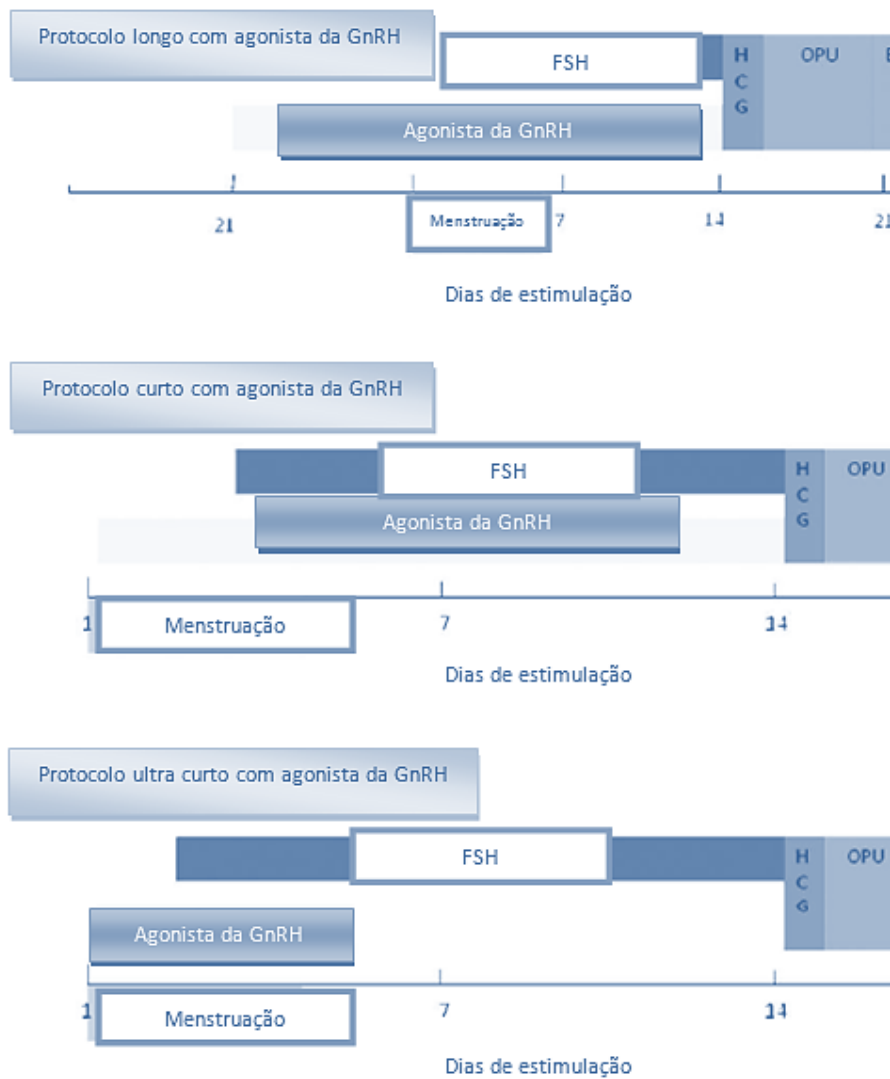


Figura 5.2 - Protocolos de estimulação ovárica controlada utilizando agonistas da GnRH. Adaptado de [90]

### 5.2.2.2 Antagonistas da GnRH

A aplicação de fármacos antagonistas da GnRH nas TRA surgiu recentemente como alternativa aos agonistas na prevenção de picos prematuros de LH, com as vantagens de serem mais potentes e terem menos efeitos secundários associados. <sup>[89]</sup> Ao contrário dos agonistas da GnRH, os antagonistas causam supressão hipotálamica-hipofisária imediata por se ligarem competitiva aos receptores da GnRH, impedindo que a GnRH endógena se ligue e que exerça a estimulação da hipófise com posterior libertação de gonadotrofinas, o que se reflecte na diminuição imediata da concentração de gonadotrofina, podendo ser por isso administrados em qualquer altura da fase folicular. <sup>[88,89,90]</sup> Vários estudos apontam que não possuem tantos efeitos hipo-estrogénicos e que mulheres tratadas com antagonistas da GnRH apresentaram menores taxas de Síndrome de Hiperestimulação ovárica do que mulheres tratadas com agonistas. <sup>[91]</sup>

Atualmente, existem dois antagonistas da GnRH aprovados na prática clínica em tratamentos de FIV, o Cetorelix e o Ganirelix, podendo considerar-se também dois protocolos de estimulação ovárica: o protocolo de dose única e o protocolo de múltiplas doses, sendo que em qualquer um destes protocolos o momento de administração do antagonista da GnRH pode ser fixo ou flexível. <sup>[88,89]</sup>

#### 5.2.2.2.1 Protocolo de dose única fixo e Protocolo de dose única flexível

O protocolo de dose única de administração fixa consiste na administração de uma injeção do antagonista da GnRH (Cetorelix), sob forma de uma dose elevada (3mg) no fim da fase folicular, mais precisamente entre o 7º e o 8º dia do ciclo. <sup>[88,90]</sup>

Com vista a reduzir o número de injeções de antagonistas durante a estimulação, foram desenvolvidos os protocolos flexíveis. Em vez de se administrar o antagonista num dia fixo, o momento de administração vai depender do tamanho folicular, sendo a administração feita apenas quando os folículos atinjam 14 mm ou mais de diâmetro, ou seja, mais ou menos após 5 dias de estimulação com FSH. <sup>[88,90]</sup>

5.2.2.2.2 Protocolos de múltiplas doses com administração fixa e de múltiplas doses com administração flexível

Neste protocolo ambos os antagonistas da GnRH, Cetrorelix e Ganirelix, podem ser administrados subcutaneamente em doses de 0,25 mg a partir do 5º ou 6º dia da estimulação com FSH, até ao dia em que se administra a hCG, inclusivé. [88,90]

Tal como visto para o protocolo de dose única flexível, o momento de administração vai depender do tamanho folicular, sendo a administração começada apenas quando os folículos atinjam 14 mm ou mais de diâmetro e continuada até ao dia da administração da hCG. [88,90]

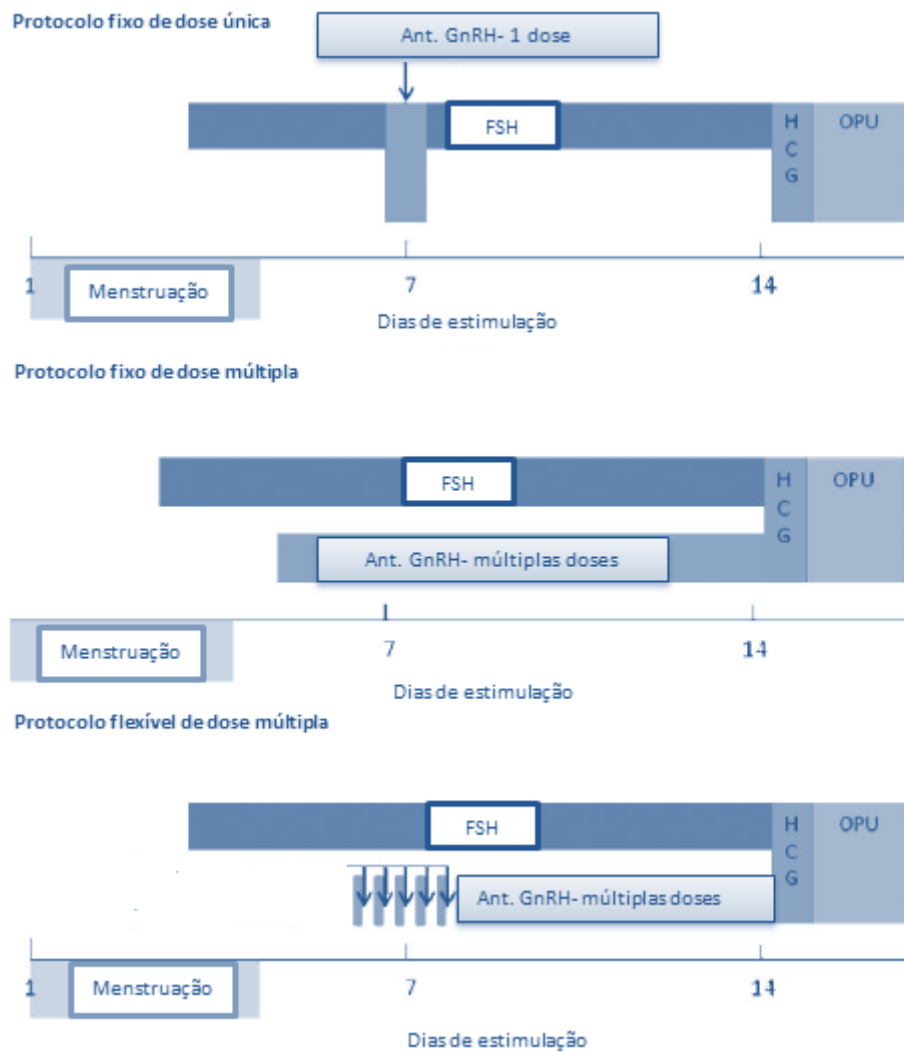


Figura 5.3 - Protocolos de estimulação ovárica controlada utilizando antagonistas da GnRH. Adaptado de [90]

As principais desvantagens que advêm dos protocolos de estimulação ovárica com antagonistas da GnRH em relação aos agonistas são o menor número de ócitos recolhidos e a sua menor flexibilidade em termos de programação de ciclos comparativamente aos agonistas, o que pode ser contornado com o pré-tratamento com contraceptivos orais. <sup>[89,91,92]</sup>

De forma resumida, a tabela 5.1. indica as principais vantagens e desvantagens em cada um dos tipos de protocolos de estimulação ovárica controlada com agonistas/antagonistas da GnRH. <sup>[68]</sup>

Tabela 5.1 - Vantagens e desvantagens da utilização de agonistas e antagonistas de GnRH em protocolo de estimulação ovárica controlada. O sinal de + indica as vantagens. <sup>[68]</sup>

<b>Características</b>	<b>Agonistas da GnRH</b>	<b>Antagonistas da GnRH</b>
<b>Duração da acção</b>		+
<b>Necessidade de FSH</b>		+
<b>Número de oócitos recolhidos</b>	+	
<b>Incidência de SHO</b>		+
<b>Programação dos ciclos</b>	+	
<b>Efeitos secundários</b>		+
<b>Taxas de gravidez</b>		+
<b>Reversibilidade</b>		+
<b>Monitorização</b>		+

## **Conclusão**

A infertilidade é uma desordem clínica de dimensões consideráveis à escala mundial, cujos contornos multifatoriais e as repercussões médicas, psicológicas e socioculturais lhe conferem o estatuto de um dos maiores problemas de Saúde Pública das sociedades modernas. Apesar de por si só não constituir ameaça direta à vida do indivíduo, tem consequências devastadoras para a existência de um estado de saúde pleno, comprometendo a vivência não apenas quem a experiencia como a dinâmica de toda uma população envolvente.

A consistência de dados epidemiológicos e demográficos sobre infertilidade é fundamental para a identificação das necessidades preventivas de cada população, permitindo estabelecer planos efetivos de diagnóstico e direcionar opções terapêuticas mais adequadas aos diversos fatores etiopatogénicos. No entanto, a extensa variabilidade de conceitos e métodos de estudo tornam ambígua a caracterização da infertilidade e crescem dificuldades à determinação exata da sua prevalência, pelo que se crê que é emergente padronizar definições e procedimentos com vista a uma caracterização esclarecedora e a uma intervenção assertiva.

Para além destas questões, a objetividade da avaliação clínica de um casal é dificultada pelo carácter múltiplo das causas de infertilidade, as quais compreendem não apenas os fatores orgânicos femininos e masculinos como também um conjunto de variado de comportamentos e estilos de vida que podem estar associados à dificuldade de conceção. Assim, de forma a aumentar a objetividade, a minimizar o tempo de investigação e a otimizar a terapêutica disponível é essencial que todo o processo clínico e laboratorial ao qual o casal em consulta de infertilidade seja submetido esteja padronizado e seja baseado na evidência clínica.

Contudo, a extensa pesquisa bibliográfica realizada constatou que diversidade de parâmetros disponíveis atualmente para uma abordagem diagnóstica e terapêutica da infertilidade contribui para uma maior divergência do processo avaliativo e consequentemente para uma menor objetividade, no entanto, em contrapartida, revela o interesse crescente por parte da comunidade científica no âmbito da infertilidade.

Os recentes progressos científicos com vista ao tratamento desta desordem clínica, nomeadamente ao nível das Técnicas de Reprodução Assistida vieram trazer novas esperanças no combate à infertilidade, no entanto, este tipo de técnicas é abusivamente utilizado, sendo tido muitas vezes erradamente como a principal ou a única hipótese de tratamento e negligenciando outras abordagens terapêuticas hormonais e cirúrgicas economicamente mais acessíveis. Mais uma vez aqui se realça a importância da avaliação padronizada e baseada na evidência clínica que permita distinguir os indivíduos candidatos a um tratamento tradicional e que só em última instância necessitem de recorrer às TRA daqueles em que apenas este tipo de tratamento pode ser a solução para combater a sua infertilidade.

A título interventivo sugere-se a realização de programas educacionais estruturados junto da população de forma a sensibilizar para a problemática da infertilidade, incentivando e encorajando ações preventivas e mudanças nos estilos de vida de forma a contribuir para a preservação da sua fertilidade e para a desmistificação da infertilidade enquanto condição humana intratável.

Como balanço final desta monografia fica esclarecida a importância da infertilidade enquanto desordem clínica comum e interiorizado que o processo analítico bem estruturado é crucial na determinação das causas de infertilidade, e que é urgente uma revisão da sua padronização com vista à aplicação da terapêutica correta, ao indivíduo correto e no momento adequado. Fica também elucidada a terapêutica da infertilidade por Indução da Ovulação e por Estimulação Ovária Controlada, a qual viu o seu advento nos últimos anos e apresenta carácter promissor enquanto abordagem farmacoterapêutica válida e útil no tratamento da infertilidade.

## Bibliografia

1. Kamel, R. M. (2010). Management of the infertile couple : an evidence- based protocol. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 8:21, 1–7.
2. Balen, A. H. & Rutherford, A. J. (2007). Management of infertility. *BMJ* 335, 608–611.
3. Direcção Geral de Saúde. (2011). Saúde Reprodutiva - Infertilidade Cuidados de Saúde Primários - Normas da Direcção Geral de Saúde.
4. Koroma, L. & Stewart, L. Infertility : Evaluation and Initial Management. *J. Midwifery Women´s Heal.* 57, 614 – 621 (2012).
5. Devroey, P. (2009). Updates in Infertility Treatment. *Reprod. Biomed. Online* 18, S1–S2.
6. Alviggi, C., Humaidan, P. & Ezcurra, D. (2012). Hormonal , functional and genetic biomarkers in controlled ovarian stimulation : tools for matching patients and protocols. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 10, 9.
7. Nieschlag, E. & Lenzi, A. (2013). The conventional management of male infertility. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 123, S31–S35.
8. Sharma, S., Mittal, S. & Aggarwal, P. (2009). Management of infertility in low resource countries. *BJOG* 116 Suppl , 77–83.
9. Carvalho, J. L. S. ; & Santos, A. (2009). Estudo Afrodite - Caracterização da Infertilidade em Portugal. Estudo na Comunidade.
10. Jones, R. & Lopez, K. (2014). *Human Reproductive Biology*. 4ª edição, Academic Press. San Diego.
11. Boivin, J., Bunting, L., Collins, J. A. & Nygren, K. G. (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking : potential need and demand for infertility medical care. *Hum. Reprod.* 22, 1506–1512.
12. Sutter, P. De. (2006). Rational diagnosis and treatment in infertility. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 20, 647–664.
13. Seli, E. (2011). *Infertility*. 1ª edição, Willey-Blackwell. Reino Unido.
14. Balen, A. (2009). *Infertility in Practice*. 3ª edição, Informa Healthcare. Reino Unido

15. Gurunath, S., Pandian, Z., Anderson, R. A. & Bhattacharya, S. (2011). Defining infertility — a systematic review of prevalence studies. *Hum. Reprod. Update* 17, 575–588.
16. Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S. & Stevens, G. A. (2012). National , Regional , and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990 : A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLOS Med.* 9, 1–12.
17. Soares, S., Rodrigues, T. & Barros, H. (2011). Prevalência de Infertilidade na Cidade do Porto. *Acta Médica Port.* 24, 699–706.
18. Ombelet, W., Cooke, I., Dyer, S., Serour, G. & Devroey, P. (2008). Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum. Reprod. Update* 14, 605–621.
19. Petraglia, F., Serour, G. I. & Chapron, C. (2013). The changing prevalence of infertility. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 123, S4–S8.
20. Leridon, H. (2005). Reproduction and demography in Europe. *Int. Congr. Ser.* 1279, 68–74.
21. ASRM. (2013). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss : a committee opinion. *Pract. Comm. Am. Soc. Reprod. Med.* 99, 35216.
22. Nacional Institute of Health and Clinical Excellence. (2013). *Assessment and treatment for people with fertility problems.*
23. Ledger, W. L. (2009). Demographics of infertility. *Reprod. Biomed. Online* 18, S11–S14.
24. Godwin, M. (2004). *Cambridge Guide to Infertility Management and Assisted Reproduction.* 2ª edição, Cambridge University Press. Reino Unido.
25. Saner-amigh, K. J. & Halvorson, L. M. (2011). Andrology and Fertility Assessment. *LabMedicine* 42, 41–50.
26. Gonçalves, J. (2005). Avaliação do casal infértil. *Rev. Port. Clínica Geral* 21, 493–503.
27. Paul-simon, A. (2011). Infertility and Multiples. *Newborn Infant Nurs. Rev.* 11, 180–184.
28. Jungwirth, A. *et al.* (2013). Male Infertility. *Eur. Assoc. Urol.*
29. Strauss, J. & Barbieri, R. (2009) *Yen and Jaffe’s Reproductive Endocrinology.* 6ª edição, Saunders Elsevier. Filadélfia.

30. Tinneberg, H. & Gasbarrini, A. (2013). Infertility today : The management of female medical causes. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 123, S25–S30.
31. Weiss, R. V. & Clapauch, R. (2014). Female infertility of endocrine origin. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 58:2, 144–152.
32. Hang, R. *et al.* (2012). Management of anovulatory infertility. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 26, 757–768.
33. Robin, G., Karouz, W. & Dewailly, D. (2012). Infertilités féminines d ' origine endocrinienne. *EMC - Gynecol.* 7, 1–27.
34. Luciano, A. A., Lanzone, A. & Goverde, A. J. (2013). Management of female infertility from hormonal causes. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 123, S9–S17.
35. Dickey, R., Brinsden, P. & Pyrzak, R. (2009). *Manual of Intrauterine Insemination and Ovulation Induction*. 1ª edição, Cambridge University Press. Reino Unido.
36. Abrao, M. S., Muzii, L. & Marana, R. (2013). Anatomical causes of female infertility and their management. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 123, S18–S24 (2013).
37. Velkeniers, B. (2004). Female infertility and the thyroid. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 18, 153–165 (2004).
38. Unuane, D., Tournaye, H., Velkeniers, B. & Poppe, K. (2011). Endocrine disorders & female infertility. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 25, 861–873.
39. Denson, V. (2006). Diagnosis and Management of Infertility. *J. Nurse Pract.* 380–386.
40. Alviggi, C., Humaidan, P., Howles, C. M., Tredway, D. & Hillier, S. G. (2009). Biological versus chronological ovarian age : implications for assisted reproductive technology. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7, 1–13.
41. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine.(2014). Female Age-Related Fertility Decline. *Am. Coll. Obstet. Gynecol.* 123, 719–721.
42. Maheshwari, A., Hamilton, M. & Bhattacharya, S. (2008). Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum. Reprod.* 23, 538–542.
43. Roudebush, W. E., Kivens, W. J. & Mattke, J. M. (2008). Biomarkers of Ovarian Reserve. *Biomark. Insights* 259–268.
44. Mheshwari, A., Fowler, P. & Bhattacharya, S. (2006). Assessment of ovarian reserve - should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum. Reprod.* 21, 2729–2735.

45. Gleicher, N., Weghofer, A. & Barad, D. H. (2011). Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 9, 23.
46. Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W. & Lambalk, C. B. (2006). A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum. Reprod.* 21, 685–718.
47. Loutradis, D., Drakakis, P., Vomvolaki, E. & Antsaklis, A. (2007). Different ovarian stimulation protocols for women with diminished ovarian reserve. *J Assist. Reprod Genet* 597–611 (2007)
48. Peluso, C. *et al.* (2014). AMH: An ovarian reserve biomarker in assisted reproduction. *Clin. Chim. Acta* 437, 175–182.
49. Esteves, S. C., Miyaoka, I. R. & li, I. A. A. (2011). An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics* 66, 691–700.
50. Krausz, C. & Consultant, S. (2011). Male infertility : Pathogenesis and clinical diagnosis. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 25, 271–285.
51. Stahl, P. J., Stember, D. S. & Goldstein, M. (2012). Contemporary Management of Male Infertility. *Annu. Rev. Med.* 63, 525–540.
52. Sabanegh, E. (2011). *Male Infertility - Problems and Solutions*. 1ª edição, Humana Press. Ohio.
53. Task, E. *et al.* (2010). Lifestyle-related factors and access to medically assisted reproduction. *Hum. Reprod.* 25, 578–583.
54. Carrell, D., Peterson, D. (2010). *Reproductive Endocrinology and Infertility*. Springer.
55. Lipshultz, L., Howards, S. & Niederberger, C. (2009). *Infertility in the male*. 4ª edição, Cambridge University Press. Reino Unido.
56. Practice, T. & Medicine, R. (2012). Diagnostic evaluation of the infertile female : a committee opinion. *Fertil. Steril.* 98, 302–307.
57. Collins, J. A. (2004). Evidence-based infertility : evaluation of the female partner. *Int. Congr. Ser.* 1266, 57–62.
58. Organização Mundial de Saúde. (2010) *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*.
59. Frey, K. A. & Patel, K. S. (2004). Initial Evaluation and Management of Infertility by the Primary Care Physician. *Mayo Clin. Proced.* 85260, 1439–1443.

60. Masoli, D. (2010). Infertility Diagnosis : Basic Workup for the infertile couple. *Rev. Médica Clin Condes* 21, 363–367.
61. Pacey, A. A. (2012). Assessment of male factor. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 26, 739–746.
62. Choy, J. T. & Ellsworth, P. (2012). Overview of Current Approaches Of Male Infertility. *Urol. Nurs.* 32, 286–304.
63. Esteves, S. C., Zini, A., Aziz, N., Alvarez, J. G. & Sabanegh, E. S. (2012). Critical Appraisal of World Health Human Semen Characteristics and Effect. *J. Urol.* 79, 16–22.
64. Devroey, P., Fauser, B. C. J. M. & Diedrich, K. (2009). Approaches to improve the diagnosis and management of infertility. *Hum. Reprod. Update* 15, 391–408.
65. Hwang, K., Walters, R. C. & Lipshultz, L. I. (2011). Contemporary concepts in the evaluation and management of male infertility. *Nat Rev Urol* 8, 86–94.
66. Nallella, K. P., Sharma, R. K., Ph, D. & Aziz, N. (2006). Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil. Steril.* 85, 629–634.
67. McLachlan, R. & Krausz, C. (2012). Clinical evaluation of the infertile male : new options , new challenges. *Asian J. Androl.* 14, 3–5.
68. Homburg, R. (2014). *Ovulation Induction and Controlled Ovarian Stimulation*. 2ªedição, Springer.
69. Kim, J. H. *et al.* (2012). Serum biomarkers for predicting pregnancy outcome in women undergoing IVF : human chorionic gonadotropin , progesterone , and inhibin A level at 11 days post-ET. *Clin. Exp. Reprod. Med.* 39, 28–32.
70. Lukaszuk, K., Kunicki, M., Liss, J., Lukaszuk, M. & Jakiel, G. (2013). Use of ovarian reserve parameters for predicting live births in women undergoing in vitro fertilization. *Eur. J. Obstet. Gynecol.* 168, 173–177.
71. Sills, E., Alper, M. M. & Walsh, A. P. H. (2009). Ovarian reserve screening in infertility : Practical applications and theoretical directions for research. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 146, 30–36.
72. Nelson, S. M. & Ph, D. (2013). Biomarkers of ovarian response : current and future applications. *Fertil. Steril.* 99, 963–969.
73. Cezar, L. & Vilodre, F. (2009). Assessment of ovarian reserve : recent methods. *FEMINA* 37, 149–154.
74. Omabe, M. (2013). Clinical Utilities of Anti-Mullerian Hormone. *Sch. J. Appl. Med. Sci.* 1, 606–618.

75. Machado, F., Kurobe, C., Dzik, A., Cavagna, M. & Drezett, J. (2013). Importância do hormônio anti-Mülleriano na infertilidade. *Reprodução Clim.* 27, 104–108.
76. Patrelli, T. S. *et al.* (2012). Anti-Mullerian Hormone Serum Values and Ovarian Reserve : Can It Predict a Decrease in Fertility after Ovarian Stimulation by ART Cycles ? *PLOS Med.* 7, 1–6.
77. Filardi, C. *et al.* (2013). A contagem dos folículos antrais na predição de resultados em ciclos de fertilização in vitro : uma revisão sistemática. *Reprodução Clim.* 8, 68–73.
78. Aboulghar, M., Rizk, B. (2011). *Ovarian stimulation*. 1ª edição, Cambridge University Press. Reino Unido.
79. Saleh, S. E., Ismail, M. T. & Elshmaa, N. S. (2014). The efficacy of converting high response – Ovulation induction cycles to in vitro fertilization in patients with PCOS. *Middle East Fertil. Soc. J.* 19, 51–56.
80. Kamath, M. S. & George, K. (2011). Letrozole or clomiphene citrate as first line for anovulatory infertility : a debate. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 9, 86.
81. Siddiqui, M., Mahmud, N. & Chowdhury, T. A. (2010). Aromatase Inhibitors : New Drug of Choice Summary : Introduction : *J. Bangladesh Coll. Physicians Surg.* 28.
82. Chi, V., Lee, Y. & Ledger, W. (2011). Aromatase inhibitors for ovulation induction and ovarian stimulation. *Clin. Endocrinol.* 74, 537–546.
83. Bosch, E. & Ezcurra, D. (2011). Individualised controlled ovarian stimulation ( iCOS ): maximising success rates for assisted reproductive technology patients. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 9, 82.
84. Direction, S. & Fanti, V. M. (2012). Health and fertility in World Health Organization group 2 anovulatory women. *Hum. Reprod. Update* 18, 586–599.
85. Hayden, C. (2008). GnRH analogues : applications in assisted reproductive techniques. *Eur. J. Endocrinol.* 159, 17–25.
86. A.F., A. C. D. van L. J. H., Schats, R., Hompes, P. & Lambalk, C. B. (2002) GnRH Agonists, Antagonists, and Assisted Conception. *Semin Reprod Med.* 20, 1–7.
87. Ng, C. & Trew, G. (2012). Endocrinological Insights Into Different in vitro Fertilization Treatment Aspects: IVF Protocols Using Gonadotrophin-releasing Hormone Agonist. *Expert Rev Endocrinol Metab* 7, 1–14.
88. Ryan, A., Wang, S. & Alvero, R. (2014). Prolonged gonadotropin stimulation for assisted reproductive technology cycles is associated with decreased pregnancy rates

for all women except for women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet* 31, 837–842.

89. Copperman, A. B. & Benadiva, C. (2013). Optimal usage of the GnRH antagonists : a review of the literature. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 11, 1.

90. Marci, R. *et al.* (2013). GnRH antagonists in assisted reproductive techniques : a review on the Italian experience. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 17, 853–873.

91. Al-Inany, H. G. *et al.* (2011). GnRH antagonists are safer than agonists : an update of a Cochrane review. *Hum. Reprod. Update* 17.

92. Depalo, R. *et al.* (2012). GnRH agonist versus GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer ( IVF / ET ). *Reprod. Biol. Endocrinol.* 10, 1.