

LUCIANA OCHUJUTO TEIXEIRA DE RESENDE¹

ROSANA MARIA DOS REIS²

RUI ALBERTO FERRIAN³

ALESSANDRA APARECIDA VIREQUE¹

LAURA FERREIRA SANTANA⁴

ANA CAROLINA JAPUR DE SÁ ROSA E SILVA⁵

WELLINGTON DE PAULA MARTINS⁶

Concentração dos hormônios esteroides no fluido folicular de folículos ovarianos maduros e imaturos de pacientes com síndrome dos ovários policísticos submetidas à fertilização *in vitro*

Concentration of steroid hormones in the follicular fluid of mature and immature ovarian follicles of patients with polycystic ovary syndrome submitted to in vitro fertilization

Artigo original

Palavras-chave

Síndrome dos ovários policísticos
Fertilização *in vitro*
Fluido folicular
Hiperandrogenismo
Esteroides

Keywords

Polycystic Ovary Syndrome
In vitro fertilization
Follicular fluid
Hyperandrogenism
Steroids

Resumo

OBJETIVO: avaliar a concentração dos hormônios esteroides no fluido folicular (FF) de folículos pequenos (10-14 mm) e grandes (>18 mm) de mulheres com síndrome dos ovários policísticos (SOP) submetidas à hiperestimulação ovariana controlada (HOC) e ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). **MÉTODOS:** estudo caso-controlado foi conduzido em 13 mulheres inférteis com SOP (17 ciclos) e 31 mulheres inférteis por fator masculino – Grupo Controle (31 ciclos). Os FF foram aspirados individualmente e divididos em 4 grupos: G1 (FF pequeno do Grupo Controle), G2 (FF pequeno do grupo SOP), G3 (FF grande do Grupo Controle) e G4 (FF grande do grupo SOP). A metodologia utilizada para as dosagens de estradiol, progesterona e β -hCG foi a quimioluminescência, e de testosterona e androstenediona o radioimunoensaio. Para a análise das dosagens hormonais no FF entre os grupos SOP e Controle utilizou-se o teste *t* não-pareado, e para a comparação entre os quatro grupos, o ANOVA. Para a taxa de gravidez, foi utilizado o teste exato de Fisher. **RESULTADOS:** os folículos pequenos dos dois grupos tiveram valores menores de progesterona (8.435 \pm 3.305 ng/ml) comparados aos grandes (10.280 \pm 3.475 ng/ml), com valor de $p < 0,01$. Os níveis de progesterona de todos os folículos do grupo SOP (8.095 \pm 4.151 ng/ml) foram inferiores ao Controle (9.824 \pm 3.128 ng/ml), com valor de $p = 0,03$. Os níveis de testosterona diferiram entre G1 (326,6 \pm 124,4 ng/dl) e G3 (205,8 \pm 98,91 ng/dl), com valor de $p < 0,001$, e entre G3 (205,8 \pm 98,91 ng/dl) e G4 (351,10 \pm 122,1 ng/dl), com valor de $p < 0,001$. Os folículos pequenos (508,9 \pm 266 ng/dl) apresentaram valores superiores de testosterona comparados aos grandes (245,10 \pm 123 ng/dl), com valor de $p < 0,0001$. As taxas de gravidez não diferiram entre os grupos SOP (5/13, 38,5%) e Controle (9/31, 40,9%), com valor de $p = 0,72$. **CONCLUSÕES:** mulheres com SOP apresentam altas concentrações de testosterona no FF, independentemente do estágio de desenvolvimento folicular, e níveis de progesterona diminuídos, sugerindo que fatores parácrinos podem inibir sua secreção pelas células foliculares. As taxas de gravidez mostraram que o tratamento de HOC e FIV é uma boa opção para mulheres com infertilidade secundária à SOP.

Abstract

PURPOSE: to evaluate the concentration of steroid hormones in follicular fluid (FF) of small (10-14 mm) and large (>18 mm) follicles of women with polycystic ovary syndrome (PCOS) submitted to controlled ovarian hyperstimulation (COH) and *in vitro* fertilization (IVF) cycles. **METHODS:** a case-control study was conducted on 13 infertile women with PCOS (17 cycles) and 31 infertile women due to male factor – Control Group (31 cycles). FF was aspirated individually and divided into four groups: G1 (FF of small follicles of the Control Group), G2 (FF of small follicles of the PCOS group), G3 (FF of large follicles of the Control Group) and G4 (FF of large follicles of the PCOS group). Estrogen, progesterone and β -hCG were determined by chemiluminescence, and testosterone and androstenedione by radioimmunoassay. The unpaired *t* test was used to compare the hormone determinations in the FF of the PCOS and Control Groups, and the four groups were compared by ANOVA. Fisher's exact test was used to compare the pregnancy rates. **RESULTS:** the small follicles of the two groups had lower progesterone levels (8,435 \pm 3,305 ng/ml) than large follicles (10,280 \pm 3,475 ng/ml), p -value < 0.01 . The progesterone levels of all follicles of group PCOS (8,095 \pm 4,151 ng/ml) were lower than Control (9,824 \pm 3,128 ng/ml), p -value = 0.03. Testosterone differed between G1 (326.6 \pm 124.4 ng/dl) and G3 (205.8 \pm 98.91 ng/dl), p -value < 0.001 , and between G3 (205.8 \pm 98.91 ng/dl) and G4 (351.10 \pm 122.1 ng/dl), p -value < 0.001 . Small follicles had higher testosterone levels

Correspondência:

Rosana Maria dos Reis
Departamento de Ginecologia e Obstetria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
Avenida dos Bandeirantes 3.800, 8º andar, campus da USP
CEP 14049-900 – Ribeirão Preto (SP), Brasil
E-mail: romareis@fmp.usp.br

Recebido

27/1/10

Aceito com modificações

20/8/10

Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

¹ Pós-graduanda do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

² Professor Livre-docente do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

³ Professor Titular do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

⁴ Médica Assistente do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

⁵ Professor Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

⁶ Professor da Escola de Ultrassonografia de Ribeirão Preto – EURP – Ribeirão Preto (SP), Brasil; Médico Assistente do Departamento de Ginecologia e Obstetria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

(508.9±266 ng/dl) than large follicles (245.10±123 ng/dl), p-value <0.0001. The pregnancy rates did not differ between the PCOS (5/13, 38.5%) and the Control groups (9/31, 40.9%), p-value =0.72. **CONCLUSIONS:** women with PCOS had high testosterone concentrations in the FF, regardless of the stage of follicle development, and reduced progesterone levels, suggesting that paracrine factors may inhibit the secretion of the latter by follicular cells. The pregnancy rates showed that treatment with COH and IVF is a good option for women with infertility secondary to PCOS.

Introdução

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é uma complexa alteração endocrinológica comum entre as mulheres em idade reprodutiva¹. É caracterizada pelo hiperandrogenismo, anovulação crônica, ovários policísticos, hiperinsulinemia, hipersecreção do hormônio luteinizante (LH), disfunções menstruais, hirsutismo, infertilidade e complicações durante a gestação^{1,2}.

Sendo o excesso de andrógenos a principal característica da SOP, é de grande importância conhecer como esses hormônios são produzidos. O colesterol é o precursor de todos os hormônios esteroides, e são os complexos enzimáticos específicos expressos na glândula adrenal e nas células ovarianas determinantes da produção hormonal por esses tecidos. Os ovários, particularmente as células da teca, possuem a enzima P450c17, que contém atividades da 17-hidroxilase e da 17,20-liase, necessárias para a secreção de androstenediona, deidroepiandrosterona (DHEA) e testosterona. Dessa maneira, a enzima P450c17 atua na esteroidogênese determinando a classe de esteroides que será produzida a partir do seu precursor³. Nas células da granulosa (CG) atua a enzima P450 aromatase, responsável pela conversão de andrógenos em estrógenos⁴. Alterações na atividade dessas enzimas estão diretamente relacionadas à etiologia da SOP⁵.

A origem do hiperandrogenismo é multifatorial, sendo principalmente atribuída aos ovários com uma contribuição substancial das glândulas adrenais e, em menor amplitude, do tecido adiposo⁶. Como a maioria das mulheres com SOP apresenta resistência à insulina, possivelmente a hiperinsulinemia, compensatória à resistência insulínica, contribui para o hiperandrogenismo⁷. A insulina potencializa a produção de andrógenos pelas adrenais, mediada pelo ACTH, e acentua a esteroidogênese ovariana estimulada pelo LH⁸. O excesso de andrógenos pelas adrenais representa 20 a 36% das mulheres com SOP e pode ser resultante do aumento da massa reticular zonal. As alterações na atividade da enzima P450c17α ou o aumento do metabolismo periférico do cortisol levam à diminuição do retrocontrole negativo do ACTH⁹.

A foliculogênese ovariana é regulada por fatores extra e intraovarianos, sendo necessário haver um equilíbrio entre eles¹⁰. A oogênese é extremamente dependente dos fatores intraovarianos, em particular dos presentes no fluido folicular (FF)¹¹. Qualquer desequilíbrio entre

os fatores extra e intraovarianos pode resultar em uma foliculogênese anormal¹². A maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário comprometidos na SOP estão possivelmente associados às anormalidades dos fatores endócrinos/parácrinos, das disfunções metabólicas e das alterações intrafoliculares durante a foliculogênese e a maturação folicular^{13,14}.

O FF tem um papel importante na fisiologia do crescimento folicular, na maturação oocitária e na ovulação. Sua composição pode influenciar e/ou determinar a qualidade oocitária. Estudos anteriores demonstraram que a concentração dos hormônios esteroides, hormônios pituitários, citocinas e fatores de crescimento no FF está relacionada ao desenvolvimento oocitário, à taxa de fertilização e ao desenvolvimento embrionário precoce^{15,16}. Como os níveis de progesterona, estradiol e testosterona no FF são significativamente modificados durante o período pré-ovulatório, especialmente depois do pico do LH, a análise de suas concentrações no FF de ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) foram correlacionadas com a maturação oocitária. Demonstrou-se que os níveis de estradiol e testosterona podem ser utilizados como parâmetros preditivos para a maturação oocitária¹⁷.

Nas técnicas de reprodução assistida, a qualidade dos oócitos obtidos com a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) varia consideravelmente. Apenas metade desses oócitos fertilizados completa o desenvolvimento pré-implantacional. Análises da maturação oocitária descreveram alguns genes envolvidos nesse processo e o ponto específico da regulação necessária para a ovulação e fertilização. Alguns estudos demonstraram que mudanças na expressão de genes como o GDF9 e o BMP15 nos oócitos, ou pentraxina 3 nas células do cumulus, podem ser monitoradas para uma seleção apropriada do oócito a ser fertilizado¹⁸. Frente à alta incidência de folículos de tamanho reduzido com a HOC em mulheres com SOP, questiona-se a influência dos altos níveis dos esteroides sexuais presentes no FF no desenvolvimento folicular e na qualidade oocitária. Diante desses dados, este estudo teve como objetivos: avaliar a concentração dos hormônios esteroides no FF de folículos pequenos (10 a 14 mm) e grandes (>18 mm), de mulheres portadoras de SOP, submetidas a ciclos de HOC para FIV; avaliar a diferença entre as concentrações dos esteroides nos FF pequenos e grandes das pacientes com SOP, comparado com o Grupo Controle; e analisar a taxa de gravidez entre os grupos.

Métodos

Um estudo caso-controle foi conduzido em 13 mulheres inférteis com ciclos anovulatórios portadoras de SOP e em 31 mulheres inférteis por fator masculino com ciclos ovulatórios. As pacientes incluídas neste estudo foram recrutadas no Serviço de Fertilização Assistida do Setor de Reprodução Humana do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Todas as pacientes foram submetidas às técnicas de FIV. No grupo de estudo composto por 13 mulheres com SOP foi analisado um total de 17 ciclos de FIV, em que 4 pacientes realizaram 2 ciclos por paciente. No Grupo Controle, composto por 31 mulheres, foram analisados 31 ciclos.

Para o diagnóstico de SOP foram utilizados os critérios de Rotterdam, definidos pelas sociedades americana e europeia¹⁹, com a presença de pelo menos dois dos três seguintes critérios: (a) oligomenorreia (intervalo intermenstrual de 45 dias ou menos que oito meses por ano) ou amenorreia (intervalo maior que três meses); (b) sinais clínicos de hiperandrogenismo (score de Ferriman e Gallwey²⁰ ≥ 8) ou bioquímicos; e (c) achados ultrassonográficos de ovários policísticos (presença de mais de 12 folículos em cada ovário medindo 2-9 mm de diâmetro, e/ou aumento de volume ovariano > 10 mL).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição, processo HCRP n° 8835/2007. Todas as pacientes assinaram o TCLE para participar do estudo.

Os dois grupos foram semelhantes em relação a várias características, como idade, peso, IMC, níveis plasmáticos de FSH, TSH e prolactina (Tabela 1).

As pacientes receberam anticoncepcional oral de baixa dosagem (etinilestradiol 20 mg + gestodene 75) ou progestogênio (acetato de medroxiprogesterona 10 mg/dia) para programação da menstruação. O bloqueio hipofisário foi feito com análogo do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRHa) (Acetato de Nafarelina – Synarel® - Pfizer) por via nasal, com uma borrifada a cada 12 horas com início na metade da fase lútea do

ciclo anterior e mantida até o dia da administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG).

No dia programado para o início da indução da ovulação, a paciente foi submetida a exame de ultrassonografia (ATL – Advanced Technology Laboratory – Modelo HDI 3500) com transdutor transvaginal de 5 a 9 MHz com a finalidade de avaliar os ovários para afastar a presença de cistos ovarianos que pudessem interferir na monitoração da indução da ovulação e também para observar o útero: topografia, padrão endometrial/miometrial e espessura do endométrio. Para a indução da ovulação foi administrado FSH recombinante (Gonal 75 UI – Laboratório Serono ou Puregon – 50 UI – Laboratório Organon) na dose de 100 a 200 mg/dia por via subcutânea (sc) nos primeiros cinco dias, sendo essa dose determinada de acordo com características próprias de cada paciente. A partir do sexto dia, a dose de FSH foi ajustada em função do crescimento folicular observado por meio de ultrassonografia transvaginal e pelos níveis de estradiol observados com intervalos de um a dois dias. Na presença de pelo menos dois folículos com diâmetro superior a 17 mm, foi administrado hCG recombinante (Ovidrel) na dose de 250µg sc. Após um intervalo de 34 a 36 horas, foi realizada a captação dos oócitos (CO).

A CO foi realizada com anestesia geral endovenosa com Propofol (Diprivam – Zeneca) na dose de 10 mg/mL, sendo a ampola de 20 mL diluída em 250 mL de solução salina a 0,9%, via endovenosa. Os folículos foram puncionados com agulha própria para aspiração de oócitos (CCD, França), de lúmen simples, com diâmetro externo de 19 G e duplo bisel cortante, tendo um comprimento de 30 cm, guiada por transdutor vaginal. A aspiração dos folículos foi obtida por uma pressão aspirativa artificial constante de 100 mm de mercúrio (mmHg), por meio de uma bomba da aspiração de folículos, com controle eletrônico (Labotect GmbH, modelo 3014). O líquido aspirado foi coletado em tubos de ensaio estéreis de polipropileno (tubos Falcon – Costar) previamente aquecidos e mantidos à temperatura de 37° C. A transferência de embriões foi realizada com catéter de transferência de Sidney®, após 48 a 72 horas sob visualização ultrassonográfica.

Tabela 1 - Distribuição da casuística das mulheres do Grupo Controle e do grupo SOP quanto à idade, peso, índice de massa corporal (IMC), hormônio foliculo estimulante (FSH), hormônio tireotrófico estimulante (TSH) e prolactina

	Idade (anos)	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)	FSH (µU/mL)	TSH (µU/mL)	PRL (ng/mL)
Controles						
Mediana	33	62,3	24,03	6	1,97	11,5
Média	32,30	65,5	24,83	5,67	3,54	13,38
DP	4,25	11,13	4,92	2,21	6,88	7,84
SOP						
Mediana	33	67	26	4,59	1,90	13,42
Média	32,54	67,63	23,7	5,39	2,13	17,09
DP	3,31	10,20	7,42	5,37	0,85	14,83

DP: desvio padrão.

Para a realização deste estudo, o FF de um folículo com diâmetro entre 10 e 14 mm e o FF de um folículo maior que 18 mm foram puncionados e aspirados individualmente. Após coleta e identificação, os fluidos foram centrifugados a 2500 rpm em centrífuga refrigerada a 4°C por 10 minutos e armazenados em freezer-80 a °C até o momento da dosagem hormonal. Os FFs foram divididos em quatro grupos de estudo: G1 (FF pequeno Grupo Controle), G2 (FF pequeno grupo SOP), G3 (FF grande Grupo Controle) e G4 (FF grande grupo SOP).

Para dosagem dos esteroides foi necessária uma diluição prévia do FF na proporção de 1:500 para o estradiol e 1:1000 para a progesterona. A diluição foi realizada com diluente fornecido pelo fabricante do kit para dosagem dos esteroides em questão. Os ensaios para dosagem de estradiol e progesterona no FF foram realizados pelo método de quimioluminescência em um aparelho Immulite 2000 – Diagnostic Products Corporation (DPC), no Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP). Para o estradiol, o erro intraensaio foi de 81,8, e o coeficiente de variação (CV), de 3,78%. Para a progesterona, o erro intraensaio foi de 2,95, e o CV, de 4,30%.

As dosagens no FF de testosterona e androstenediona foram realizadas pelo método de radioimunoensaio (RIE). Para a testosterona, foi necessário diluir o FF na proporção de 1:5 para os folículos grandes e 1:10 para os folículos pequenos. Para a dosagem de androstenediona foi necessária uma diluição do fluido na proporção de 1:5 para todas as mostras. Para essa diluição foi utilizado o tampão fosfato gel 0,02 M. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. A sensibilidade do teste para androstenediona foi menor que 10 ng/dL, e o CV, de 9,6%. Para a dosagem de testosterona, a sensibilidade foi menor que 10 ng/dL, e o CV, de 1,58%.

Para confirmar gravidez foi realizada a dosagem de β -hCG no soro de todas as pacientes 14 dias após a transferência embrionária. O método utilizado foi a quimioluminescência, em aparelho Immulite 2000 (DPC), utilizando kit e recomendações fornecidos pelo fabricante. Essas dosagens foram realizadas no Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP.

Análise estatística

Para verificar a normalidade ou não da distribuição dos valores amostrais, foi utilizado o teste não-paramétrico

de Kolmogorov-Smirnov, pelo qual todos os parâmetros foram considerados normais. A comparação entre idade, peso, IMC, FSH, TSH, prolactina e dosagens no FF de estradiol, progesterona, testosterona e androstenediona entre os grupos SOP e Controle foi realizada com teste *t* não-pareado, assim como a comparação entre as concentrações nos FF de estradiol, progesterona, testosterona e androstenediona entre os folículos pequenos e grandes. Para a comparação das dosagens no FF entre os quatro grupos, ou seja, G1 (FF pequeno do Grupo Controle), G2 (FF pequeno do grupo SOP), G3 (FF grande do Grupo Controle) e G4 (FF grande do grupo SOP) foi utilizado o ANOVA, com pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls. Para a análise da taxa de gravidez, utilizou-se o teste exato de Fisher. O nível de significância adotado neste estudo foi de 5%, com o resultado das variáveis expresso em média e desvio padrão. Os procedimentos estatísticos foram realizados com a utilização dos seguintes programas estatísticos: software GraphPad Prism version 3.00 for Windows.

Resultados

Dosagem de estradiol no FF

Com relação às dosagens de estradiol no FF não houve diferença significativa entre os grupos estudo e Controle. Os níveis de estradiol também não foram diferentes entre os folículos pequenos e grandes dos respectivos grupos G1 (393.640,15±211.418,36 pg/mL), G2 (427.771,79±197.817,94 pg/mL), G3 (406.582,06±223.111,99 pg/mL) e G4 (503.091,43±161.769,48 pg/mL), com valor de $p=0,5737$.

Dosagem de progesterona no FF

Na análise de progesterona no FF, entre os quatro grupos estudados houve diferença significativa entre os grupos G2 (7.596,29±3.519,94 ng/mL) e G3 (10.571,18±2.684,54 ng/mL), com valor de $p=0,004$. Ao fazer a comparação de todos os folículos pequenos, entre 10 e 14 mm, e todos os folículos maiores que 18 mm, foi possível constatar que os pequenos (8.435±3.305 ng/mL) apresentam valores menores de progesterona do que os grandes (10.280±3.475 ng/mL), com valor de $p<0,01$. A análise de todos os folículos do grupo SOP comparados com todos do Grupo Controle revelou que a concentração de progesterona no FF é inferior no grupo SOP (8.095±4151 ng/mL) se comparado com o Grupo Controle (9.824±3128 ng/mL), com valor de $p=0,03$ (Figura 1).

Dosagem de testosterona no FF

Nas dosagens de testosterona no FF, entre os quatro grupos analisados encontrou-se diferença significativa entre

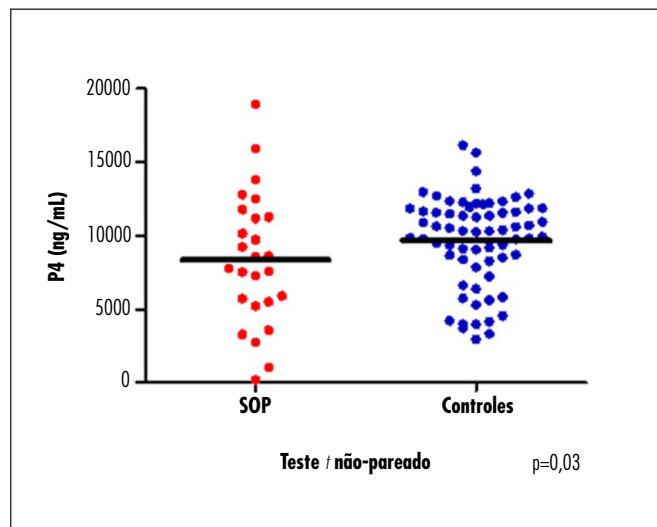


Figura 1 - Comparação entre as dosagens de progesterona no fluido folicular entre os grupos SOP e Controle. A linha que cruza o meio de cada quadro representa a média ($p=0,03$).

o G1 ($326,6 \pm 124,4$ ng/dL) e o G3 ($205,8 \pm 98,91$ ng/dL), com valor de $p < 0,001$, e entre o G3 ($205,8 \pm 98,91$ ng/dL) e o G4 ($351,10 \pm 122,1$ ng/dL), com valor de $p < 0,001$. Ao comparar todos os folículos entre 10 e 14 mm e todos os folículos maiores que 18 mm foi possível constatar que os folículos pequenos ($508,9 \pm 266$ ng/dL) apresentaram valores superiores de testosterona se comparados aos folículos grandes ($245,10 \pm 123$ ng/dL), com $p < 0,0001$. Ao analisar todos os folículos do Grupo Controle com todos do grupo SOP não foram observadas diferenças significativas nos valores de testosterona (SOP = $386,4 \pm 125,2$ ng/dL) (Controle = $373,5 \pm 277,5$ ng/dL), com valor de $p = 0,82$ (Figura 2).

Dosagem de androstenediona no FF

As dosagens de androstenediona no FF não apresentaram diferença significativa entre os grupos SOP e Controle. Os níveis de androstenediona também não foram diferentes entre os folículos pequenos e grandes dos respectivos grupos: G1 ($547,44 \pm 291,38$ ng/dL), G2 ($485,209 \pm 261,23$ ng/dL), G3 ($454,97 \pm 206,44$ ng/dL) e G4 ($512,36 \pm 299,45$ ng/dL), com valor de $p = 0,56$.

Taxa de gravidez

A taxa de gravidez entre os grupos foi avaliada pela dosagem do β -hCG no soro. As taxas não foram diferentes entre os grupos SOP (5/13 – 38,5%) e Controle (9/13 – 40,9%), com valor de $p = 0,72$.

Discussão

No presente estudo foram comparados os níveis dos esteroides sexuais nos FF grande e pequeno de pacientes com SOP submetidas à HOC e FIV, com pacientes

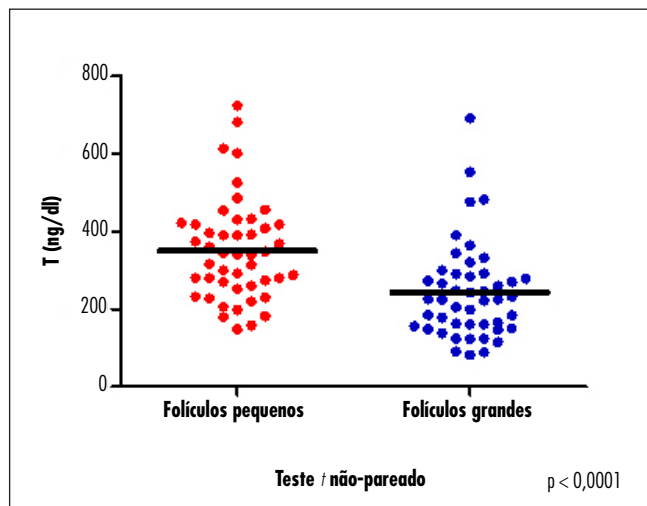


Figura 2 - Comparação entre as dosagens de testosterona no fluido folicular entre folículos de 10 a 14 mm e folículos maiores que 18 mm de mulheres do Grupo Controle e com Síndrome dos Ovários Policísticos. A linha que cruza o meio de cada quadro representa a média ($p < 0,0001$).

controles cujo único fator de infertilidade era a presença de um fator masculino leve.

Os níveis de testosterona de todas as pacientes analisadas neste estudo, independentemente do subgrupo, mostraram-se superiores nos folículos pequenos (folículos imaturos). Esse dado reflete a baixa conversão de testosterona em estradiol pelas células da granulosa nos folículos imaturos, proporcionando acúmulo de testosterona no FF, compatível com o desenvolvimento folicular ineficiente. Os níveis de testosterona no FF, independentemente do tamanho do folículo, mostraram-se superiores nas pacientes com SOP quando comparados com o Grupo Controle, dado que demonstra a presença de hiperandrogenismo também na composição do FF de mulheres portadoras dessa síndrome. Esse achado corrobora resultados anteriores, que mostraram altas concentrações de andrógenos no FF de mulheres com SOP²¹. Tem sido aventado que o hiperandrogenismo presente no FF pode influenciar a qualidade oocitária e o processo de fertilização de mulheres com SOP²². Essa diferença não foi observada nas concentrações de androstenediona no FF. De fato, as concentrações de androstenediona tanto no plasma como no FF podem apresentar variações consideráveis devido à sua produção pela adrenal e tecido periférico (50% de sua produção é originária da glândula adrenal e ovários e os 50% restantes originam de conversão em tecido periférico), não sendo o melhor marcador biológico do hiperandrogenismo ovariano²³.

Os níveis de progesterona foram superiores nos folículos maduros (folículos grandes) de todas as mulheres analisadas (SOP e controles) quando comparados aos folículos imaturos. Esse aumento da progesterona é compatível com o estágio de maturação folicular. No entanto, a progesterona no FF de pacientes com SOP apresentou-se diminuída em

comparação com as mulheres do Grupo Controle. Esse achado sugere que fatores parácrinos podem inibir sua produção pelas células foliculares. O GDF9 presente nas células foliculares pode inibir a produção de progesterona nas células da granulosa e da teca humanas²⁴, assim como BMP15, que inibe a produção de progesterona induzida pelo 8-bromo-AMPC nas células foliculares²⁵. Estudos recentes mostraram que a expressão do GDF9 e do BMP15 tende a ser superior nas pacientes com SOP quando comparada a um Grupo Controle, quando estas são submetidas à HOC para tratamento de FIV²⁶.

As concentrações de estradiol não foram diferentes entre os grupos SOP e Controle e também não diferiram em relação ao diâmetro folicular. Na SOP não associada à HOC, frequentemente as concentrações de estradiol no FF são baixas quando comparadas com mulheres normais, devido ao fato de essas mulheres apresentarem anovulação crônica²⁷. Contudo, nas pacientes com SOP submetidas à HOC, o FSH recombinante utilizado na indução da ovulação para ciclo de FIV estimula a atividade de aromatase nas CG, elevando a produção de estradiol no FF. É importante considerar a possibilidade da participação do GDF9 e BMP15 no processo de aromatização em associação com o FSH nas concentrações de estradiol. Na fase antral, o BMP15 atua na esteroidogênese ovariana, estimulando a secreção de estradiol pelas CGs e inibindo a luteinização precoce das CGs e células da teca pela inibição da secreção de progesterona²⁸.

Tem sido bastante questionado o papel da SOP nos resultados de FIV. A evolução do tratamento com HOC e FIV nessas mulheres parece ser similar a mulheres normais no que diz respeito às taxas de gravidez²⁹. Em estudo prévio, evidenciou-se que o resultado de FIV em

mulheres com SOP está comprometido por apresentar no recrutamento folicular um maior número de folículos imaturos, taxa reduzida de fertilização e elevada taxa de síndrome de hiperestimulação ovariana³⁰. No presente estudo, as taxas de gravidez foram semelhantes entre os grupos SOP e Controle, mostrando que o tratamento com HOC corrigiu as disfunções ovarianas presente na SOP, proporcionando resultados positivos no tratamento de FIV para as portadoras dessa síndrome.

Diante desses dados, pode-se concluir que pacientes com SOP apresentam altas concentrações de testosterona no FF quando comparadas a um Grupo Controle, independentemente do estágio de desenvolvimento folicular. A progesterona no FF das pacientes com SOP mostrou-se diminuída, sugerindo que fatores parácrinos podem inibir sua secreção pelas células foliculares. As taxas de gravidez foram semelhantes entre os grupos, mostrando que o tratamento de HOC e FIV é uma boa opção para pacientes com infertilidade secundária à SOP.

Agradecimentos

À equipe do Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, pela dosagem de estradiol e progesterona no FF, e à equipe do Laboratório de Neuroendocrinologia do Departamento de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, pela dosagem dos hormônios androtenediona e testosterona no FF.

Esta pesquisa recebeu recursos financeiros do Conselho Nacional de Desenvolvimento à Pesquisa e Tecnologia (CNPq), Edital Universal, processo 478912/2007.

Referências

1. Toulis KA, Goulis DG, Farmakiotis D, Georgopoulos NA, Katsikis I, Tarlatzis BC, et al. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2009;15(3):297-307.
2. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update*. 2009;15(4):477-88.
3. Miller WL. Androgen biosynthesis from cholesterol to DHEA. *Mol Cell Endocrinol*. 2002;198(1-2):7-14.
4. Kraemer FB. Adrenal cholesterol utilization. *Mol Cell Endocrinol*. 2007;265-266:42-5.
5. Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovarian syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med*. 2008;10:e3.
6. Miller WL. STAR search: what we know about how the steroidogenic acute regulatory protein mediates mitochondrial cholesterol import. *Mol Endocrinol*. 2007;21(3):589-601.
7. Fruzzetti F, Perini D, Lazzarini V, Parrini D, Genazzani AR. Adolescent girls with polycystic ovary syndrome showing different phenotypes have a different metabolic profile associated with increasing androgen levels. *Fertil Steril*. 2009;92(2):626-34.
8. Bremer AA, Miller WL. The serine phosphorylation hypothesis of polycystic ovary syndrome: a unifying mechanism for hyperandrogenemia and insulin resistance. *Fertil Steril*. 2008;89(5):1039-48.
9. Carmina E, Lobo RA. Prevalence and metabolic characteristics of adrenal androgen excess in hyperandrogenic women with different phenotypes. *J Endocrinol Invest*. 2007;30(2):111-6.
10. Artini PG, Monteleone P, Toldin MRP, Matteucci C, Ruggiero M, Cela V, et al. Growth factors and folliculogenesis in polycystic ovary patients. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2007;2(2):215-23.
11. Padhy N, Latha M, Sathya B, Varma TR. Antral follicle size in the downregulated cycle and its relation to in vitro fertilization outcome. *J Hum Reprod Sci*. 2009;2(2):68-71.

12. Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update*. 2008;14(4):367-78.
13. Wood JR, Dumesic DA, Abbott DH, Strauss JF 3rd. Molecular abnormalities in oocytes from women with polycystic ovary syndrome revealed by microarray analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):705-13.
14. Dumesic DA, Abbott DH. Implications of polycystic ovary syndrome on oocyte development. *Semin Reprod Med*. 2008;26(1):53-61.
15. Chang CL, Wang TH, Horng SG, Wu HM, Wang HS, Soong YK. The concentration of inhibin B in follicular fluid: relation to oocyte maturation and embryo development. *Hum Reprod*. 2002;17(7):1724-8.
16. Salmassi A, Schmutzler AG, Schaefer S, Koch K, Hedderich J, Jonat W, et al. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? *Hum Reprod*. 2005;20(9):2434-40.
17. Costa LO, Mendes MC, Ferriani RA, Moura MD, Reis RM, Silva de Sá MF. Estradiol and testosterone concentrations in follicular fluid as criteria to discriminate between mature and immature oocytes. *Braz J Med Biol Res*. 2004;37(11):1747-55.
18. Zhang X, Jafari N, Barnes RB, Confino E, Milad M, Kazer RR. Studies of gene expression in human cumulus cells indicate pentraxin 3 as a possible marker for oocyte quality. *Fertil Steril*. 2005;83 Suppl 1:1169-79.
19. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81(1):19-25.
20. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1961;21:1440-7.
21. Naessen T, Kushnir MM, Chaika A, Nosenko J, Mogilevkina I, Rockwood AL, et al. Steroid profiles in ovarian follicular fluid in women with and without polycystic ovary syndrome, analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Fertil Steril*. In press 2010.
22. Boomsma CM, Fauser BC, Macklon NS. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med*. 2008;26(1):72-84.
23. Azziz R, Fox LM, Zacur HA, Parker CR Jr, Boots LR. Adrenocortical secretion of dehydroepiandrosterone in healthy women: highly variable response to adrenocorticotropin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(6):2513-7.
24. Yamamoto N, Christenson LK, McAllister JM, Strauss JF 3rd. Growth differentiation factor-9 inhibits 3'-5'-adenosine monophosphate-stimulated steroidogenesis in human granulosa and theca cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6):2849-56.
25. Otsuka F, Yao Z, Lee T, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem*. 2000;275(50):39523-8.
26. Zhao SY, Qiao J, Chen YJ, Liu P, Li J, Yan J. Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2010;94(1):261-7.
27. Eden JA, Jones J, Carter GD, Alagband-Zadeh J. Follicular fluid concentrations of insulin-like growth factor 1, epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha and sex-steroids in volume matched normal and polycystic human follicles. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;32(4):395-405.
28. Latham KE, Wigglesworth K, NcMenamin M, Eppig JJ. Stage-dependent effects of oocytes and growth differentiation factor 9 on mouse granulosa cell development: advantage programming and subsequent control of the transition from preantral secondary follicles to early antral tertiary follicles. *Biol Reprod*. 2004;70(5):1253-62.
29. Franks S, Roberts LR, Hardy K. Gonadotrophin regimens and oocyte quality in women with polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online*. 2003;6(2):181-4.
30. Reis RM, Ângelo AG, Romão GS, Santana LF, Moura MD, Ferriani RA. A síndrome dos ovários policísticos pode interferir nos resultados da fertilização in vitro? *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2004;26(9):727-33.