



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ELIANE GOUVEIA DE MORAIS SANCHEZ

**Influência dos mecanismos fisiopatológicos da
hiperprolactinemia moderada na ovulação de mulheres inférteis**

**Goiânia
2015**

ELIANE GOUVEIA DE MORAIS SANCHEZ

**Influência dos mecanismos fisiopatológicos da
hiperprolactinemia moderada na ovulação de mulheres inférteis**

Defesa de Tese de Doutorado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás
para obtenção do Título de Doutora
em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr Mário Silva
Approbato

**Goiânia
2015**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluna: Eliane Gouveia de Moraes Sanchez

Orientador: Prof. Dr. Mário Silva Approbato

Membros:

1. Dr. Mário Silva Approbato – Membro interno MED/UFG

2. Dra. Maria Alves Barbosa – Membro interno FEN/UFG

**3. Dra. Patrícia Leão da Silva Agostinho – Membro externo
Fisioterapia/UFG**

4. Dra. Patrícia de Sá Barros – Membro externo Fisioterapia/UFG

5. Dra. Liliane da Rocha Siriano – Membro externo Biomedicina

6. Dr. Celmo Celeno Porto (Suplente) – Membro interno MED/UFG

**7. Dr. Rodrigo Paschoal Prado (Suplente) – Membro externo
Fisioterapia/UFG**

Data: 29-10-15

Dedico este trabalho

Aos meus amados pais, Valdivino e Nilda, que mesmo na dificuldade privaram-se de muita coisa na vida em prol dos filhos, servindo como exemplo de vida, honestidade, dedicação, amor e pela oportunidade da vida. E ao meu esposo, Hugo, por toda compreensão, paciência, tolerância, apoio e amor, minha eterna gratidão por me acompanharem nesse caminho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o meu muito obrigado pelas oportunidades concedidas, por ser meu alimento, por ouvir minhas orações, fortalecer-me na fé, na perseverança, e, sobretudo por me carregar no colo nos momentos em que eu achava que não conseguiria completar essa jornada.

Ao Prof. Dr Mário S. Approbato, pela oportunidade de crescimento profissional, simplicidade e presteza nas orientações, por me permitir compartilhar da sua sabedoria e experiência, pelo grande exemplo de ser-humano e profissional.

A Profa. Dra. Maria Alves Barbosa, pela bondade infinita, pela amizade, pelo carinho, paciência e amor no ensinar, obrigada pelos momentos compartilhados, foram para mim, aprendizado para uma vida.

À minha parceira e amiga Christiane Ricaldoni pela paciência, amizade, disponibilidade e auxílio na minha pesquisa.

Às minhas amigas Patrícia Leão e Patrícia Barros, pela colaboração prestada durante a realização deste trabalho e pela grande amizade.

Aos meus amigos e colegas do curso de Fisioterapia da UFG, em especial Allison Braz, Fabiana Franco, Rodrigo Prado e Virginia Chagas, pelo apoio, pela presteza, pela amizade e pela força para a concretização deste trabalho.

As Profas. Helemi e Vanessa Molinero pela colaboração e solicitude para que eu conseguisse finalizar esta tese.

Ao excepcional corpo docente da Universidade de Rio Verde – UniRV por todo apoio a mim prestado.

Aos funcionários da reprodução humana pela disponibilidade e atenção.

Às minhas colegas e amigas, Mônica e Eliamar, por todo apoio nesse momento.

À família do meu esposo (sogra, sogro, cunhados e cunhadas) por todo o incentivo.

E, a toda minha família (em especial meus pais, irmãos, cunhadas e sobrinhos) por todo amor, carinho, apoio e por compreender e entender os motivos da minha ausência. Obrigada por acreditarem em mim!

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS	x
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Ovulação	2
1.1.1 Ciclo menstrual	2
1.1.2 Regulação neuroendócrina do ciclo menstrual	3
1.2 Disfunções ovulatórias.....	7
1.2.1 Hipotireoidismo	7
1.2.2 Síndrome do ovário policístico	7
1.2.3 Insuficiência da fase lútea	8
1.2.4 Hiperprolactinemia	8
1.2.4.1 Prolactina	8
1.2.4.1.1 Funções	9
1.2.4.1.2 Controle e secreção da prolactina	10
1.2.4.1.3 Prolactina na função reprodutiva	11
1.2.4.2 Mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia	12
1.2.4.3 Diagnóstico da hiperprolactinemia	15
1.2.4.4 Tratamento da hiperprolactinemia.....	17
1.3 Diagnóstico da ovulação	17
1.3.1 Diagnóstico de ovulação pela progesterona	18
1.3.2 Diagnóstico de ovulação pela ultrassonografia	19
1.3.3 Classificação do perfil ovulatório	20
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 Geral.....	21
2.2 Específicos	21
3 MÉTODO	22
3.1 Tipo de estudo.....	22
3.2 Local da pesquisa.....	22
3.3 Amostra	22

3.3.1 Critérios de Inclusão das participantes	22
3.3.2 Critérios de Exclusão das participantes	22
3.4 Aspectos éticos	23
3.5 Materiais	22
3.6 Métodos	23
3.6.1 Classificação dos grupos	23
3.7 Análise estatística dos dados	25
4 PUBLICAÇÕES	26
Artigo 1	27
Artigo 2	38
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
6 REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	60

FIGURAS, TABELAS E ANEXOS

Figura 1.....	4
Figura 2.....	9
Figura 3.....	24
Figura 4.....	25
Figura 1 referente ao Artigo 1	33
Tabelas 1 e 2 referentes ao Artigo 1.....	39
Figura 1 referente ao Artigo 2	47
Tabelas 1 e 2 referentes ao Artigo 2.....	52
Anexo 1 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	60
Anexo 2 Normas para publicação do RAMB.....	63
Anexo 3 Normas para publicação do JBRA.....	68

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ASRM	American Society for Reproductive Medicine
bFGF	Fator de crescimento de fibroblasto - Fibroblast Growth Factor
CL	Corpo Lúteo
CEP/HC-UFG	Comitê de Ética em Pesquisa - Hospital das Clínicas
E2	Estradiol
EGF	Fator de crescimento da epiderme - Epidermal growth factor
FSH	Hormônio Folículo Estimulante – Follicle Stimulating Hormone
GHRH	Hormônio liberador de hormônio do crescimento - Growth hormone-releasing hormone
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina - Gonadotropin-releasing hormone
IL-6	Interleucina 6 - Interleukin-6
IMC	Índice de Massa Corporal
LH	Hormônio Luteinizante – Luteinizing Hormone
LabRep	Laboratório de Reprodução Humana
NPY	Neuropeptídeo Y - Neuropeptide Y
OMS	Organização Mundial de Saúde
pg/mL	Picogramas por mililitro
PRL	Prolactina
PRFs	Fator estimulador de prolactina - Prolactin-releasing factors
P4	Progesterona
SisFert	Prontuário eletrônico utilizado pelo LabRep
TGFβ	Fator de crescimento transformador beta- <i>Transforming growth factor beta</i>
TRH	Hormônio liberador de tiotropina - Thyrotropin-releasing hormone
TSH	Hormônio Tireotrófico - Thyroid Stimulating Hormone
US	Ultrassom
VIP	Peptídeo intestinal vasoativo - Vasoactive intestinal peptide
χ^2	Qui-quadrado
WHO	World Health Organization

RESUMO

Morais Sanchez, EG. Influência dos mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia na ovulação de mulheres inférteis [Tese]. Goiânia: Faculdade de Medicina/UFG; 2015. 87p.

A infertilidade reflete a incapacidade de um casal conseguir gravidez após um ano de relações sexuais sem contracepção. Causas mais comuns estão relacionadas a disfunções ovulatórias como a hiperprolactinemia, síndrome de ovário policístico, disfunções da tireóide, deficiência de corpo lúteo, entre outras, e que podem ser identificadas, principalmente, por dosagem hormonal e ultrassonografia. O objetivo geral desse estudo foi avaliar a influência dos níveis de prolactina na ovulação de mulheres inférteis portadoras de ciclos regulares. Trata-se de estudo caso-controle, cuja amostra foi composta por 343 mulheres com faixa etária compreendida de 20 a 40 anos, atendidas no período de 2000 a 2014 no LabRep-HC/UFG e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia, Goiás, Brasil. A coleta de dados foi feita pela análise dos prontuários físicos armazenados no Serviço de Arquivo Médico e Informações em Saúde (SAMIS) e eletrônicos disponibilizados pelo banco de dados (Sisfert) (©Approbato, 2013). As pacientes foram classificadas de acordo com o estado ovulatório avaliado pela dosagem de progesterona ($\geq 5,65$ ng/ml e de $5,65 - 9,9$ ng/ml) e monitorização da ovulação pelo ultrassom sendo divididas em quatro grupos: (I) provável ovulação, (II) provável anovulação. Nos grupos I e II foram comparadas as porcentagens de pacientes que não ovulavam com prolactina normal (3 a 20 ng/ml) versus prolactina moderadamente elevada (21 a 29 ng/ml). No grupo III foram avaliados os níveis de progesterona normal (≥ 10 ng/ml) versus progesterona baixa (Grupo IV) ($5,65 - 9,9$ ng/ml) considerada como LUF (Folículo Luteinizado não-roto). Os grupos foram pareados para a comparabilidade quanto a idade, índice de massa corporal (IMC), duração da infertilidade, FSH (ng/ml), TSH (mUI/l), LH (UI/l) e estradiol (ng/dl). Os programas *SPSS Statistics 20.0* e *Bioestat (versão 5.3)* foram utilizados para a análise dos dados e o teste Qui quadrado (X^2) para avaliar as diferenças entre proporções. Onde não coube análise estatística foram calculadas média e desvio padrão das variáveis em estudo. Os resultados demonstraram que a elevação moderada da prolactina ($21-29$ ng/ml) provocou a redução significativa ($p=0,03$) na porcentagem de ovulação das pacientes inférteis portadoras de ciclos regulares considerando como critério de ovulação níveis de progesterona $\geq 5,65$ ng/ml. Quando avaliada a influência da progesterona baixa sobre a ovulação monitorada pelo ultrassom foi observado que esses níveis podem reduzir de forma significativa a porcentagem de ovulação. Conclui-se que a hiperprolactinemia moderada e a progesterona baixa podem influenciar negativamente na regulação da ovulação de mulheres inférteis com ciclos regulares.

Palavras-chave: Infertilidade, Hiperprolactinemia moderada, progesterona baixa, anovulação.

ABSTRACT

Morais Sanchez, EG. Influence of the pathophysiological mechanisms of hyperprolactinemia ovulation in infertile women [Thesis]. Goiania: Medical School / UFG; 2015. 87p.

Infertility reflects the inability of a couple to achieve pregnancy after one year of sexual intercourse without contraception. Most common causes are related to ovulatory disorders such as hyperprolactinaemia, polycystic ovary syndrome, thyroid dysfunction, corpus luteum deficiency, among others, and can be identified mainly by ultrasound and hormonal dosage. The overall objective of this study was to evaluate the influence of prolactin ovulation in infertile women suffering from regular cycles. It is case-control study, whose sample consisted of 343 women with age range 20-40 years old, attended from 2000 to 2014 in LabRep-HC / UFG and an office of Obstetrics and Gynecology, private network in Goiânia, Goiás, Brazil. Data collection was performed by analyzing the physical records stored in Medical Records and Health Information Service (SAMIS) and electronics made available by the database (Sisfert) (© Approbato, 2013). The patients were classified according to the ovulation state measured by progesterone dosage (≥ 5.65 ng / ml and 5.65 - 9.9 ng / ml) and ovulation by monitoring the ultrasound being divided into four groups: (I) probable ovulation, (II) likely anovulation. In Groups I and II were compared with the percentages of patients who do not ovulate with normal prolactin (3 to 20 ng / ml) versus moderately elevated prolactin (21 to 29 ng / ml). In group III were evaluated Normal progesterone levels (≥ 10 ng / mL) versus low progesterone (Group IV) (5.65 - 9.9 ng / ml) was considered as LUF (non-luteinized ruptured follicle). The groups were comparable for comparable as to age, body mass index (BMI), duration of infertility, FSH (ng / ml) TSH (mIU / l), LH (IU / l) and oestradiol (ng / dL) . SPSS Statistics 20.0 software and Bioestat (version 5.3) were used to for data analysis and chi-square test (X^2) to assess differences between proportions. Where it is not for statistical analysis were calculated mean and standard deviation of the variables under study. The results demonstrated that moderate elevation of prolactin (21-29 ng / ml) caused a significant reduction ($p = 0.03$) in the ovulation rate of infertile patients with regular cycles considering as a criterion for ovulation progesterone levels $\geq 5, 65$ ng / ml. When evaluated the influence of low progesterone on ovulation monitored by ultrasound was observed that these levels can significantly reduce the percentage of ovulation. It is concluded that a moderate hyperprolactinaemia and low progesterone can negatively influence the regulation of ovulation in infertile women with regular menstrual cycles.

Keywords: infertility, Mild hyperprolactinemia, low progesterone, anovulation.

INTRODUÇÃO

A infertilidade é definida como uma doença do sistema reprodutor caracterizada pela incapacidade de conseguir uma gravidez clínica após 12 meses ou mais de relações sexuais, em casal sexualmente ativo e sem proteção (COOPER-HILBERT, 2001; DANILUK, 2001; PETERSON et al., 2003; WHO, 2003; LARSEN, 2005).

Boivin et al. (2007) investigaram a prevalência de infertilidade em 172.413 mulheres em alguns países desenvolvidos (Austrália, Estados Unidos, Rússia, Europa) e identificaram uma taxa entre 3,5% a 16,7%, e em países em desenvolvimento (África, China, Índia) com uma taxa de 6,9% a 9,3%. Neste contexto, estima-se que 72,4 milhões de mulheres são inférteis, das quais 40,5 milhões procuram atendimento médico para tratar a infertilidade.

Estima-se que, em todo o mundo, existam de 50 a 80 milhões de casais inférteis, ocorrendo cerca de dois milhões de novos casos por ano (GONÇALVES, 2005). Esse evento é vivido por 8 a 15% dos casais em geral. No Brasil, mais de 278 mil casais têm dificuldade de gerar um filho em algum momento de sua idade fértil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

A infertilidade pode ser classificada como primária, quando existe dificuldade na concepção, sem gravidez prévia, e secundária quando a falha na capacidade reprodutiva se estabeleceu após uma ou mais gestações (BRAIDE et al., 2011; OLOOTO et al. 2012). Ela é diretamente proporcional a idade da mulher, sendo que o pico de fertilidade ocorre entre 18 e 24 anos, diminui após os 27, e declina consideravelmente após os 35 anos (FADDY et al., 1992; AGBOOLA, 2004), atingindo a valores mínimos por volta dos 45 anos de idade (ARMSTRONG & AKANDE, 2013).

As causas de infertilidade na mulher podem ser decorrentes de fatores anatômicos, relacionados ao útero ou às tubas uterinas; causas hormonais que interferem no eixo hipotálamo-hipofisário-ovariano; e esterilidade sem causa aparente (ESCA) (OLOOTO et al. 2012). Acredita-se que esses fatores correspondem a 35% das causas de infertilidade na mulher, 35 % no homem, 20% estão associadas a causas femininas e

masculinas, e, 10 % a Esterilidade sem causa aparente (ESCA) (ROUSSEV & COULAN, 2007; GOSWAMI, 2009; AL-MOUSHALY, 2013).

As desordens hormonais levam à infertilidade por causarem disfunções ovulatórias e são responsáveis por até 40% da infertilidade feminina (ASRM, 2012).

1.1 Ovulação

1.1.1 Ciclo menstrual

O processo reprodutivo nas mulheres é complexo e depende da interação sincronizada da produção hormonal no sistema nervoso central, na hipófise e no ovário que contribuem para um ciclo menstrual normal (OLIVE & PALTER, 2014).

A duração de um ciclo regular compreende o início de uma menstruação até o início da próxima e dura aproximadamente 28 dias, com uma variação de 21 a 35 dias (ASRM, 2012; BECKMAN, 2012; OLIVE & PALTER, 2014). Segundo a *World Healthy Organization* (WHO, 1993) um ciclo regular apresenta variação entre 25 a 35 dias.

O ciclo menstrual normal pode ser dividido em dois segmentos: o ciclo ovariano e o ciclo uterino. O ovariano pode ser ainda dividido em fases folicular e lútea, enquanto o ciclo uterino é dividido em fases proliferativa e secretora (MACÉA et al., 1999; BEREK, 2014).

A fase folicular se inicia com a menstruação (primeiro dia do ciclo menstrual) e é caracterizada pelo início do crescimento de folículos ovarianos devido ao estímulo do hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), os quais determinam a maturação folicular. Essa fase corresponde aos primeiros 14 dias do ciclo ovariano, iniciando com o desenvolvimento folicular e terminando com a ovulação, a qual ocorre dentro de 30-36 horas do pico de LH (MOREIRA, 2014).

Durante os primeiros três dias após a ruptura folicular e expulsão do ovócito, as células foliculares, sob maior influência do LH, aumentam de tamanho e adquirem um aspecto vacuolizado, em decorrência ao acúmulo de lipídeos, e então se transformam em corpo lúteo (CL), caracterizando a

fase lútea (MACÉA et al. 1999). Esta fase corresponde ao período da ovulação até o início da menstruação e dura, em média, 14 dias (OLIVE & PALTER, 2014).

A fase proliferativa do ciclo uterino ocorre entre os dias 1 e 14, considerando-se dia 1 o primeiro dia da menstruação que coincide com a fase folicular do ciclo ovariano (MOREIRA, 2014). Inicialmente as células foliculares (da teca e granulosa) aumentam a produção de estrógeno que irão atuar no crescimento das células endometriais, além do crescimento das glândulas do estroma, alongamentos das artérias espiraladas que suprem o endométrio e o aumento de receptores para progesterona (P4), preparando o endométrio para próxima fase, denominada como secretora (BECKMANN et al. 2012).

Em um ciclo típico de 28 dias, a fase secretora do ciclo uterino ocorre nos últimos 14 dias, termina com a menstruação e coincide com a fase lútea do ciclo ovariano. Durante essa etapa, as glândulas uterinas formam vacúolos contendo glicogênio e no sexto ou no sétimo dia pós-ovulação o endométrio já está preparado para a implantação do blastocisto, caso ocorra a fertilização (OLIVE & PALTER, 2014).

1.1.2 Regulação neuroendócrina do ciclo menstrual ovulatório

O processo ovulatório (Figura1) é um fenômeno biológico que começa quando hormônios gonadotrópicos estimulam folículos maduros e termina quando os folículos se rompem e liberam os óvulos para o oviduto (ESPEY & RICHARDS, 2006).

No início de cada ciclo, aproximadamente 5 a 20 folículos primários são estimulados e iniciam seu desenvolvimento, que dura de 10 a 14 dias. Ao longo do ciclo, entretanto, a maioria irá sofrer atresia e apenas um deles completará seu desenvolvimento por ação de estímulos gonadotróficos chegando a maturidade e tornando-se o folículo dominante, que ao se romper expulsa um ovócito, caracterizando a ovulação (BUSSO et al. 2008; MOREIRA, 2014).

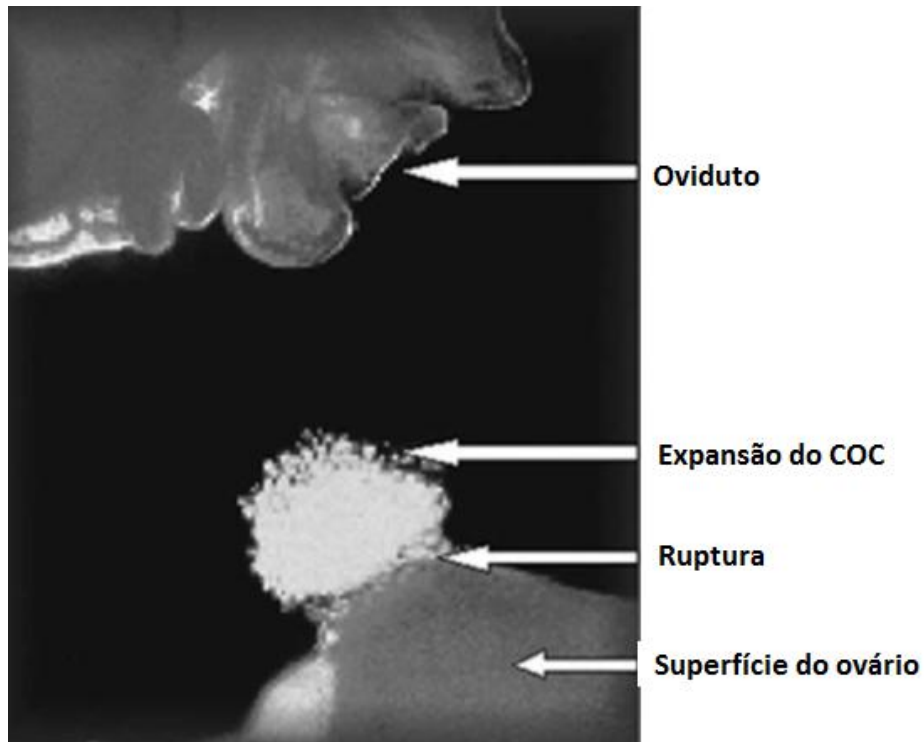


Figura 1. Momento da ruptura de um folículo de coelho. A ovulação de um oócito fertilizável envolve a ruptura da superfície do ovário e liberação do expandido complexo cumulus-oócito (COC), seguido por recuperação do COC pelas células ciliadas do oviduto e o seu transporte para baixo o oviduto.
Fonte: (ESPEY; RICHARDS, 2006)

Esse processo depende essencialmente de complexas interações entre o sistema nervoso central (sobretudo o hipotálamo), a glândula pituitária (hipófise), os ovários e o útero (endométrio) (FERRIANI, 1999; ROSEN & CEDARS, 2006; CIECHANOWSKA et al. 2010).

O hipotálamo libera de forma pulsátil o GnRH (Hormônio liberador de gonadotrofina) a cada 1-1,5 h na fase folicular e a cada 2-4 h na fase lútea. A secreção pulsátil de GnRH estimula a hipófise a secretar LH e FSH que estimulam o crescimento dos folículos ovarianos (ASRM, 2013; KE, 2014).

O crescimento folicular proporciona o recrutamento mensal de uma coorte de folículos e a liberação de um único folículo dominante e maduro durante a ovulação (OLIVE & PALTER, 2014).

O folículo dominante antes da ovulação, em uma fase chamada pré-ovulatória, é composto por três células principais: células da teca, células granulosas e o ovócito. As células da teca serão estimuladas pelo LH a produzir androstenediona (androgênio) e as células granulosas serão estimuladas pelo FSH a sintetizar aromatase, a qual catalisa a conversão de

androstenediona em estradiol, o qual cria um microambiente favorável ao crescimento e a nutrição do folículo (ESPEY & RICHARDS, 2006).

A medida que o nível de estradiol periférico se eleva ocorre uma retroalimentação negativa sobre a hipófise e o hipotálamo para diminuir os níveis de FSH circulantes (BARBIERI, 2014). Já o LH sofre regulação bifásica pelo estradiol. Em concentrações mais baixas, o estrogênio inibe a liberação de LH, enquanto em níveis mais altos ele intensifica sua liberação (BERGA & NAFTOLIN, 2012).

A queda no nível de FSH gera um ambiente desfavorável para os folículos. Sendo assim, somente os folículos que apresentarem um maior número de receptores de FSH se tornarão dominantes (BULUN & ADASHI, 2010; OLIVE & PALTER, 2014).

O aumento no nível de LH na metade do ciclo é responsável pela elevação nas concentrações locais de prostaglandinas e proteases que atuam sobre a parede folicular resultando em ruptura e consequente liberação do ovócito (ESPEY; RICHARDS, 2006). Em seguida ovócito é capturado pelas fímbrias e encaminhado para as tubas uterinas para possível fertilização (MESENG & YOUNG, 2015). Após ovulação o folículo é esvaziado e o resto das células foliculares darão origem a uma estrutura denominada corpo lúteo (CL) (FRITZ & SPEROFF, 2012).

O CL produz esteróides, estradiol e P4, que promovem retroalimentação negativa central e causam diminuição na secreção de FSH e LH (ROSEN & CEDARS, 2004; OLIVE & PALTER, 2014).

O estradiol é um hormônio produzido pelo folículo ovariano, responsável pelo desenvolvimento de diversas características femininas e essencial para o controle do ciclo ovulatório. Dentre as diversas funções destaca-se o estímulo para proliferação das células endometriais espessando o endométrio para favorecer implantação, se caso houver fertilização do óvulo, e estimula um pico de LH para desencadear a ovulação (AUBUCHON et al., 2014).

A P4, hormônio regulador das funções reprodutivas femininas, tem as seguintes ações fisiológicas: no útero atua facilitando a implantação e manutenção de gravidez precoce; na glândula mamária, auxilia no desenvolvimento das estruturas mamárias para a secreção de leite; no

cérebro, está relacionada a expressão da resposta neuro-comportamental associado a parte sexual; e no osso, atua na prevenção de perda óssea (AL-ASMAKH, 2007).

A secreção continuada destes esteroides diminuirá os estímulos para o recrutamento folicular subsequente (ROSEN & CEDARS, 2004; OLIVE & PALTER, 2014) e serão essenciais para o desenvolvimento endometrial adequado para a implantação do embrião (BECKMANN et al., 2012).

A função do CL depende da produção contínua de LH. Na ausência desta estimulação, o mesmo regredirá após um período de 12 a 16 dias e formará o corpo *albicans* (do latim, corpo branco), constituído principalmente de estroma fibroso, semelhante a uma cicatriz (OLIVE & PALTER, 2014; MESENG & YOUNG, 2015).

Na ausência de gravidez o CL permanece ativo por aproximadamente 14 dias. Após essa fase ele regride, e os níveis de P4 e estrógeno diminuem, o que por sua vez, elimina a inibição central sobre a secreção de gonadotrofinas que resultará em menstruação (ASRM, 2012; KE, 2014).

Ao contrário, quando ocorre a implantação, o CL continua a produzir P4, devido ao estímulo da gonadotrofina coriônica humana (hCG) produzida pelo trofoblasto. Nesse período, a P4 é fundamental para a manutenção da gestação (AL-ASMAKH, 2007; LYNCH et al., 2014; MESENG & YOUNG, 2015).

A importância do CL foi evidenciada por Csapo e colaboradores (1972) após luteotomia em macacas grávidas. Neste estudo, foi observado que se a retirada do CL fosse realizada antes de 7 semanas, as grávidas abortavam, se feita entre 7 e 9 semanas de gestação o número de abortos diminuía e 9 semanas resultava em manutenção da gravidez, em função da produção de P4 pela placenta.

Para uma função ovulatória regular é necessária integridade anatômica dos elementos do eixo reprodutivo e sincronia entre suas ações (FERRANI, 1999). Tal processo pode ser perturbado com facilidade e resultar em disfunções ovulatórias e incapacidade de engravidar (GOSWAMI, 2009).

1.2 Disfunções ovulatórias neuroendócrinas

Os fatores mais comuns relacionados às disfunções ovulatórias incluem: disfunções da tireóide como hipotireoidismo, Síndrome do Ovário Policístico (SOP), hiperprolactinemia, entre outras endocrinopatias (CAVALHEIRO et al., 1990; ASRM, 2012).

1.2.1 Hipotireoidismo

Alguns autores (TAYLOR & LEBOVIC, 2006; POPE et al., 2007; GOSWAMI, 2009) destacam a associação de hipotireoidismo com distúrbio menstrual, ciclos anovulatórios, diminuição da fecundidade e aumento da morbidade durante a gravidez. Apesar disso, mulheres com tal disfunção podem engravidar normalmente. O que foi observado por Abalovich et al., (2002) em 114 mulheres portadoras de hipotireoidismo primário onde 34% engravidaram sem tratamento.

O hipotireoidismo é caracterizado por aumento dos níveis de TSH superiores a 5 mIU/L. A principal razão para o uso do TSH como dosagem para determinação da função tireoidiana é a relação inversa loglinear entre concentrações no soro de TSH e T4 livre. Pequenas diminuições lineares da concentração de hormônios tireoidianos estão associadas com um aumento exponencial do TSH (SPENCER et al., 1990).

Os níveis de TSH podem declinar no início da gravidez, entretanto, valores devem ser mantidos entre 0,4 e 5 mIU/L (ARON et al., 2006; LARSEN et al., 2010; GROOT et al., 2012)

1.2.2 Síndrome dos Ovários Policísticos

Uma outra endocrinopatia que pode resultar em infertilidade é a Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP). Os critérios de diagnóstico para esta doença foram definidos somente em 2003 pela ESHRE/ASRM que propôs o diagnóstico por pelo menos duas das três seguintes alterações: sinais clínicos e/ou laboratoriais de hiperandrogenismo, alteração menstrual

(amenorreia) e aspecto ultrassonográfico de ovários policísticos (ROTTERDAM ESHRE/ASRM, 2003).

A infertilidade relacionada a SOP está frequentemente associada a altos níveis de LH (acima da normalidade, 1,7–15 mIU/ml) aumentando a relação LH/FSH. Estes altos níveis estão fisiopatologicamente relacionados a altas taxas de abortos (OUT, 1999).

A mensuração dos níveis de FSH é comumente utilizada para prever reserva ovariana de folículos (ASRM, 2012). Valores elevados de FSH acima dos limites de normalidade (1,4 – 9,9 mIU/ml) nas fases folicular e lútea, estão associados tanto a baixa estimulação do ovário quanto a incapacidade de concepção por deficiência na ovulação (ROBERTS et al., 2008).

1.2.3 Insuficiência da fase lútea

As disfunções ovulatórias responsáveis por infertilidade também podem estar associadas a insuficiência da fase lútea (IFL) que é caracterizada por uma fase lútea inferior a 9 dias, baixo crescimento folicular, baixa ovulação, função do CL inadequada, ou diminuição da resposta endometrial à P4, o que impede a implantação e crescimento do embrião de forma normal (LUDWIG, 2012; BOUTZIOS et al. 2013; SONNTAG; SCHLIEP et al., 2014).

A Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (ASRM) enfatiza que a IFL ainda não foi comprovada como causa de infertilidade (ASRM, 2012) e argumenta que a grande flutuação dos níveis de P4 durante a fase lútea média dificulta a padronização dos valores de P4 condizentes com ovulação. A falta de clareza em relação a IFL pode ser um fator responsável por diagnósticos inconsistentes e duvidosos (MESENG & YOUNG, 2015).

1.2.4 Hiperprolactinemia

1.2.4.1 Prolactina

A Prolactina (PRL) é um hormônio polipeptídico (Figura 1) composto por 199 aminoácidos, sintetizado e liberado, sobretudo por células

especializadas, os lactótrofos, localizados na hipófise anterior. Age tanto em processos reprodutivos como não reprodutivos (AMAR & WEISS, 2003; GOFFIN et al., 2005; PARIJATHAM & SAIKUMAR, 2014; GRATTAN & TISSIER, 2015).

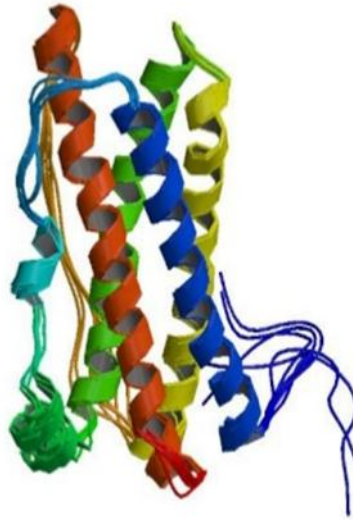


Figura 2: Molécula de prolactina (Keeler et al., 2003)

A PRL encontra-se em circulação sob três formas principais, monômero, dímero e formas de alto peso molecular. A forma monomérica (*little prolactin*), apresenta peso molecular de 23 kDa e corresponde a cerca de 80% a 95% da PRL circulante. O dímero, também conhecido como *big prolactin* tem peso de 45 a 60 kDa. Já a forma de alto peso molecular, usualmente denominada como macroprolactina (*big-big prolactin*) apresenta peso de 100 a 170 kDa. Estas duas últimas encontram-se em circulação na maioria dos indivíduos, mas em concentrações pouco expressivas, em geral inferiores a 10% da prolactina total circulante (SINHA, 1995; VIEIRA, 2002; VILAR, 2003; SADIDEEN & SWAMINATHAN, 2006; MELMED & KLEINBERG, 2010).

1.2.4.1.1 Funções

A PRL é um hormônio neuroendócrino multifuncional que age no equilíbrio hídrico, no crescimento e diferenciação celular, na regulação da síntese de proteínas e de repostas imunológicas, na ativação dos neurônios dopaminérgicos do hipotálamo. Atua também na fisiologia endócrina da mama, na estimulação do comportamento materno, na supressão da

resposta ao estresse, na estimulação da mielinização no sistema nervoso central, na criação de novos neurônios no bulbo olfativo (GRATTAN; KOKAY, 2008) e na reprodução humana (GROSDÉMOUGE et al., 2003; KHODR et al., 2008).

1.2.4.1.2 Controle e secreção da prolactina

A PRL é um hormônio liberado pela hipófise cuja secreção é mantida sob o controle inibitório hipotalâmico mediado pela liberação de dopamina (DA) (MELMED & KLEINBERG, 2010). A DA é o principal fator de inibição da prolactina (PIF – *prolactin inhibiting factor*) e é secretada na circulação porta-hipofisária pelo Sistema Tuberoinfundibular Dopaminérgico (TIDA), cujos corpos celulares estão localizados no núcleo arqueado. A DA atinge os lactotrófos e acopla-se a receptores específicos presentes na membrana (MELMED et al., 2011). Portanto, doenças caracterizadas por diminuição da secreção de DA ou qualquer distúrbio que interrompa o seu transporte pelo pedículo infundibular até a hipófise resultarão em aumento da síntese de prolactina, podendo levar a hiperprolactinemia (BEREK & NOVAK, 2008).

Um segundo fator hipotalâmico inibidor da liberação da PRL é a somatostatina, que inibe a secreção de hormônio tireo-estimulante (TSH) e do hormônio de crescimento (GH) (MELMED et al., 2011).

Outro fator inibidor da PRL é o ácido gama-aminobutírico (GABA), que é secretado no sistema porta-hipofisário e atinge receptores presentes nos lactotrófos. Sua concentração na circulação porta-hipofisária é inversamente proporcional à secreção de PRL. Entretanto, sua capacidade de inibir a secreção de PRL é muito menor do que a DA (YEN & JAFFE, 1991). Entre outros fatores, Duvilanski et al. (1995) observaram que o óxido nítrico (NO) pode influenciar na inibição da secreção de PRL.

Embora o controle da secreção hipotalâmica de PRL seja dominado basicamente pelos fatores de inibição (principalmente a DA), a ação de fatores de liberação parece ser necessária. Isso é evidenciado em certas condições em que se observa aumento da secreção de PRL sem que ocorra diminuição da concentração de DA no sistema porta hipofisário (FREEMAN et al., 2000; MELMED & KLEINBERG, 2010).

Assim, apesar de haver predomínio do efeito inibitório da dopamina sobre a secreção da PRL, existem vários estímulos que causam aumento da PRL por meio da inibição dos PIFs ou da liberação de PRFs (*prolactin-releasing factors*). Os mais importantes PRFs são TRH (*thyrotropin-releasing hormone*), ocitocina e VIP (*vasoactive intestinal peptide*). Os neurônios que produzem os PRFs são ativados pela serotonina (5-HT). Além disso, GHRH (*Growthhormone-Releasing Hormone*), GnRH (*Gonadotropin-Releasing Hormone*), vasopressina, angiotensina II, NPY (*Neuropeptide Y*), galanina e substância P também podem aumentar os níveis de PRL (ASA et al., 1999; MAJUNDAR, 2013).

A PRL é liberada de forma pulsátil com concentrações máximas durante o sono noturno e mais baixas durante o dia (CROSIGNANI, 2012). Sua secreção começa a aumentar gradativamente após o início do sono (10 a 60 minutos) e envolve uma série de picos (3 a 8 durante a noite). Na primeira hora após o despertar, a concentração reduz rapidamente atingindo sua concentração mínima no final da manhã, entre 9 e 11 horas (FREEMAN et al., 2000). Crosignani (2012) menciona que independente do sono, sua liberação depende de um regulador hipotalâmico e da secreção de melatonina pela hipófise.

O processo de regulação da PRL não está totalmente esclarecido. Porém, sabe-se que é multifatorial, estando sob um complexo sistema regulador duplo, que envolve tanto um controle inibidor quanto estimulador pelo sistema hipotalâmico-hipofisário, por via neuroendócrina, autócrina ou parácrina (KAISER, 2012). Sendo assim, a interação dos efeitos da PRL sobre a hipófise ou hipotálamo determina o perfil fisiológico da sua secreção (AMAR e WEISS, 2003).

1.2.4.1.3 Prolactina na função reprodutiva

Embora não haja elucidações completas da função da PRL no processo reprodutivo, foi observado que níveis menores estimulam o ovário enquanto altos níveis inibem a produção de P4, fundamental para manutenção da gestação (CUNHA-FILHO et al., 2003).

A PRL exerce papel importante na modulação do crescimento folicular nos ovários e parece ainda ter ação sobre a manutenção do CL (TOGNOTTI & HAYASHIDA, 1999).

É mais conhecida por seus múltiplos efeitos relacionados à glândula mamária, porém exerce também um efeito regulatório significativo sobre a função gonadal. Ela é essencial durante a gestação e lactação (LACASSE et al., 2011). A lactação ativa é devida, em parte, à queda de estrogênio e da P4 e à elevação dos níveis de PRL após o parto (MELMED & KLEINBERG, 2010). Nesse período, os níveis de PRL aumentam cerca de 10 a 20 vezes acima dos níveis basais (MELMED, 2003).

Estudos *in vitro* têm fornecido evidências de que a PRL auxilia na manutenção do estado de diferenciação e na sobrevivência das células epiteliais da mama, sugerindo que a resposta a prolactina também é modulada ao nível da glândula mamária (LACASSE et al., 2012).

O efeito da PRL foi demonstrado após bloqueio de receptores ovarianos em camundongos. Observou-se a redução da ovulação e do número de folículos primários. Esses achados ressaltam a função luteotrófica da PRL, mas não explicam a supressão da função gonadal observada em pacientes com hiperprolactinemia (MELMED & KLEINBERG, 2010).

Existem evidências de que a PRL exerça um efeito inibitório sobre a expressão dos receptores LH e FSH nas gônadas, influenciando o processo de ovulação e causando infertilidade (BERGA & NAFTOLIN, 2012).

1.2.4.2 Mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia

A hiperprolactinemia é definida como a elevação persistente dos níveis séricos de PRL na ausência de situações fisiológicas tais como, lactação e gestação (BUSSO, et al., 2008).

Consiste na alteração endócrina mais comum do eixo hipotalâmico-hipofisário predominante no sexo feminino (VILAR & CASTELLAR, 1999). Pelo fato de alterarem a função do eixo hipotalâmico produtor do GnRH e, conseqüentemente a função gonadal, produzem anovulação crônica e insuficiência lútea, levando a distúrbios menstruais, amenorréias com ou

sem galactorréia e infertilidade (FERREIRA & WEHBA, 2001). Porém, também pode ser assintomática (SBRH, 2000).

Na maioria dos casos a hiperprolactinemia, é ocasionada por níveis elevados de PRL monomérica (KOSTRZAK & MECZEKALSKI, 2010). Sua prevalência é de 0,4% em uma população não selecionada de adultos normais e de 9-17% em mulheres com desordens reprodutivas (MAH & WEBSTER, 2002; BUSSO, et al., 2008).

As causas da hiperprolactinemia se enquadram em três principais categorias: fisiológicas, farmacológicas e patológicas (VILAR & NAVES, 2013).

As causas mais importantes de hiperprolactinemia fisiológica são a gravidez e a amamentação. Além disso, durante o estresse, exercício, coito, manipulação da mama e sono ocorre a secreção de fatores liberadores de PRL resultando em sua elevação (VILAR & NAVES, 2013; GLEZER et al., 2014).

As causas farmacológicas podem ser divididas em três grandes grupos: drogas bloqueadoras dos receptores de dopamina (benzidaminas, fenotiazidas e butirofenonas), drogas depletoras de dopamina (alfa-metilDOPA e reserpina) e drogas que atuam por mecanismos não dopaminérgicos (estrogênios, TRH, antagonistas dos receptores H₂ de histamina, antidepressivos tricíclicos entre outras) (TOGNOTTI & HAYASHIDA, 1999; VILAR & NAVES, 2013; BAKER et al., 2014).

As etiologias patológicas estão associadas às alterações do Sistema Nervoso Central (neoplasias cerebrais ou metástases, cirurgias, traumas e encefalites); doenças hipofisárias (micro e macroprolactinomas, acromegalia, doença de Cushing) e as doenças endócrino-metabólicas (hipotireoidismo, SOP entre outras) (TOGNOTTI & HAYASHIDA, 1999; KOSTRZAK & MECZEKALSKI, 2010; MALMED et al., 2011; GLEZER et al., 2014).

A hiperprolactinemia ainda pode ser classificada como idiopática, quando não é possível identificar uma causa provável (QUARESMA et al., 2015). Neste caso, a mulher pode apresentar a função ovariana preservada e ciclos menstruais regulares (SBRH, 2000).

Além disso, a hiperprolactinemia pode surgir quando houver predomínio de macroprolactina no soro, caracterizando a

macroprolactinemia (VILAR & NAVES, 2013). A macroprolactinemia não está associada com quadros patológicos e pode ser suspeitada quando a história clínica do paciente e/ou dados radiológicos são incompatíveis com os valores PRL (KOSTRZAK & MECZEKALSKI, 2010).

Os mecanismos pelos quais a hiperprolactinemia interfere na fertilidade não são totalmente esclarecidos. Entretanto, sabe-se que receptores de PRL foram identificados nos neurônios que secretam GnRH (ROSEN & CEDARS, 2006; GOSWAMI et al., 2009). Este fato pode estar relacionado com a elevação da concentração de dopamina em resposta a hiperprolactinemia, a qual, atua suprimindo a síntese e a liberação deste hormônio pelos núcleos hipotalâmicos (GOSWAMI et al., 2009).

Outros pesquisadores sugeriram que altos níveis de PRL inibem indiretamente a frequência dos pulsos de GnRH (MATSUZAKI et al., 1994; MELMED & KLEINBERG, 2003; CROSIGNANI, 2012) que pode interferir na ovulação por alterar a liberação de FSH e LH, influenciando o desenvolvimento e maturação folicular levando a anovulação (McNEILLY & LAND, 1979; HAYASHIDA & TOGNOTTI, 1999; CROSIGNANI, 2012).

Efeitos equivalentes causados pelo aumento nos níveis de PRL foram estudados em dois grupos de mulheres: um com hiperprolactinemia patológica e o outro no período pós-parto. Nos dois grupos houve inibição da liberação de GnRH e a subsequente inibição do LH e do FSH, ocasionando a não estimulação de um folículo ovariano, com consequente supressão da função gonadal (BACHELOT & BINART, 2007), fato que justifica a ocorrência de ciclos anovulatórios em mulheres no período pós-parto em fase de amamentação (GUNIN, 1996).

Existem evidências de que a PRL exerça um efeito inibitório sobre a expressão dos receptores de LH e FSH nas gônadas. O excesso de PRL diminui a sensibilidade desses tecidos às gonadotropinas, causando com frequência anovulação e infertilidade (BERGA & NAFTOLIN, 2012). A ação inibitória da PRL também pode ser responsável pela diminuição da secreção de estradiol e P4 na circulação. A diminuição de P4 pode ocorrer por atraso na reativação do CL devido à liberação insuficiente de LH (YEN & JAFFE, 1991).

Em um estudo sobre infertilidade anovulatória Grosdemouge et al., (2003) demonstraram que a interrupção do gene do receptor de prolactina causa infertilidade devido a uma falha de implantação do feto. A ação da prolactina é intermediada por um único receptor localizado no CL no início da gestação e no útero no final da gravidez. Desta forma, o receptor de prolactina torna-se um elemento chave na regulação da função ovariana e na secreção de P4 por manutenção do CL.

Enquanto níveis normais de PRL são responsáveis pela regulação da reprodução, implantação e manutenção da gestação, níveis anormais estão ligados à possibilidade de abortos espontâneos por provável insuficiência do CL (LI, 2012).

É evidente que a elevação dos níveis séricos de PRL pode causar anovulação e o grau de hipogonadismo é frequentemente proporcional ao aumento nos níveis de prolactina. Em casos de hiperprolactinemia clássicos tem sido observadas disfunções menstruais e ovulatórias com amenorreia e galactorréia (HAYASHIDA & TOGNOTTI, 1999; VILAR et al., 2003; CROSIGNANI, 2012; FAHIE-WILSON & SMITH, 2013), enquanto que na hiperprolactinemia moderada pode estar associado a uma fase lútea menor e infertilidade anovulatória (BACHELOT; BINART, 2007).

1.2.4.3 Diagnóstico de hiperprolactinemia

O diagnóstico de hiperprolactinemia é realizado por meio da dosagem sérica da PRL por ensaios de quimioluminescência e imunorradiométrico. Sendo este último mais frequentemente utilizado pela maioria dos laboratórios (HAYASHIDA & TOGNOTTI, 1999).

Como os níveis de PRL sofrem elevação em condições de estresse, é aconselhável que a coleta de sangue seja realizada pela manhã em jejum, após um período de repouso de 20 a 30 minutos de repouso (HAYASHIDA & TOGNOTTI, 1999; FERREIRA & WEHBA, 2001). Pode ser coletada na fase folicular ou lútea e de preferência no início do ciclo menstrual. Sempre que possível no segundo, terceiro ou quarto dia do ciclo (HAYASHIDA & TOGNOTTI, 1999).

A *World Healthy Organization* considera que os valores séricos normais de prolactina estão na faixa entre 3 e 20 ng/ml e que em níveis superiores a 30 ng/ml podem causar anovulação (WHO, 1993). Porém, na literatura não existe consenso dos níveis limítrofes de normalidade da PRL.

Hayashida & Tognotti (1999) consideraram que os níveis de normalidade da PRL encontram-se entre 15 - 25 ng/ml. Hauache (2002), apontam níveis menos elevados como normalidade (3 - 16 ng/ml). Bachelot & Binart (2007) sugerem como normalidade níveis de 10 - 28 ng/ml. Para Busso et al. (2008) os valores normais de prolactina variam entre 5 - 25 ng/ml. Crosignani (2012) descrevem níveis mais elevados como normais (10-35 ng/ml). Auriemma et al. (2013) ressaltam somente o limite superior de normalidade, sendo de 20 a 25 ng/ml. Já Roberts et al. (2008) e Glezer et al. (2014) consideram valores próximos ao recomendado pela WHO (3,8 - 23 ng/ml).

Para Mah & Webster (2002), o diagnóstico clínico da hiperprolactinemia é estabelecido quando os níveis de prolactina no sangue encontram-se acima do padrão normal, de 20 a 25 ng/ml.

Da mesma forma que encontra-se divergências quanto aos valores séricos normais de prolactina, existem também dificuldades para determinar os níveis de prolactina indicativos de hiperprolactinemia. Usualmente os níveis da hiperprolactinemia têm relação com sua etiologia: níveis até 100 ng/ml estão associados a causa idiopática, microprolactinomas, medicamentos psicoativos e estrógenos; níveis acima de 200 ng/ml estão associados aos prolactinomas, sendo que os macroprolactinomas na maioria das vezes apresentam valores acima de 250 ng/ml (CASANUEVA et al., 2006).

Para os ensaios mais comumente utilizados, os limites superiores da PRL podem variar entre 15 e 30 ng/mL acima desses valores configura-se hiperprolactinemia (HAUACHE et al., 2002; CASANUEVA et al., 2006; GOSWAMI, 2009; MELMED et al., 2011; VILAR & NAVES, 2014).

São poucos os trabalhos que avaliam a interferência da hiperprolactinemia moderada (21 e 29 ng/ml) no estado ovulatório de mulheres inférteis. Bachelot & Binart (2007) e Smith (2013) mostraram que a hiperprolactinemia moderada pode estar associada a uma fase lútea curta e

infertilidade anovulatória. Entretanto, eles não relatam as faixas limites de PRL para que se possa analisar de forma precisa sua influência na ovulação.

1.2.4.4 Tratamento da hiperprolactinemia

Atualmente, a farmacoterapia com Agonistas Dopaminérgicos (DA) está indicada para tratamento de primeira linha para hiperprolactinemia. Entre os diversos DA, a bromocriptina e a carbegolina são os mais amplamente utilizados. Em alguns países, quinagolida também tem sido empregado. A carbegolina pela melhor eficácia e tolerabilidade tem sido a opção de escolha (AURIEMMA et al, 2013).

1.3 Diagnóstico da ovulação

Os métodos mais comuns utilizados para avaliar a ovulação incluem: temperatura corporal basal (TCB), alteração do muco cervical, pico de LH e ultrassom seriado (LASS, 2005).

A temperatura corporal basal (TCB) aumenta pelo menos 0,2° C cerca de 2 dias após a ovulação, podendo predizer ovulação; a biópsia de endométrio, que faz uma avaliação qualitativa da ovulação, pois a duração da exposição à progesterona resulta em um quadro histológico previsível no endométrio; o pico de LH pode determinar a ovulação após 34-36 horas depois do início desse pico (RASEN & CEDARS, 2004).

Outros importantes métodos de diagnóstico de ovulação são determinações da concentração sérica de P4 no meio da fase lútea. E por fim, o exame ultrassonográfico demonstrando redução das dimensões do folículo ou desaparecimento completo de um folículo desenvolvido previamente (ASRM, 2012).

A disponibilidade de métodos laboratoriais precisos para determinar níveis hormonais periféricos tem melhorado significativamente a previsão e detecção de ovulação. Os métodos tradicionais utilizados para monitorar a ovulação, como observações de muco cervical e medições de estradiol no plasma refletem indiretamente o desenvolvimento e maturação folicular,

entretanto o uso do ultrassom para a medição do crescimento do folículo é considerado padrão-ouro para detecção de ovulação (VARMA, 1988).

1.3.1 Diagnóstico de ovulação pela Progesterona

O nível sérico de P4 pode ser utilizado para monitorar a ovulação. Usualmente é recomendado que a P4 seja dosada de 7 a 9 dias após a suspeita de ovulação. Alguns autores consideram que esse evento possa acontecer com níveis de P4 a partir de 3 ng/ml (GUTTMACHER et al. 1956; AUGÉ & BUSSO, 1999; GARZIA et al. 2004; ASRM, 2012; MCLAREN, 2012). Jordan et al. (1994) e Augé & Busso, (1999) consideram valores ovulatórios níveis de P4 >10 ng/ml.

Apesar de existirem divergências em relação aos níveis de P4 sugestivos de ovulação, a *World Healthy Organization* (WHO) em 1993, apontou que valores de P4 $\geq 5,65$ ng/ml são sugestivos de ovulação.

Os níveis de P4 podem sofrer aumentos discretos e pressupor a ausência de rotura de um folículo luteinizado (LUF). Nesse caso, o folículo se desenvolve normalmente, cresce e amadurece, mas não rompe para liberar o óvulo, porém ocorre secreção de P4, tal como um folículo que se rompeu dando origem ao CL (SCHMILLEVITCH et al., 1999). Dessa forma, não há ovulação propriamente dita, mas o folículo secreta P4 fazendo os níveis séricos aumentarem discretamente. Nesse caso, os valores não chegam a 10 ng/ml determinando um baixo nível de P4 (ZONEVELD et al., 1994) um baixo nível de P4 e pode pressupor anovulação.

Apesar da proximidade dos valores de P4 indicativos de LUF, ainda não existe um consenso para determinação de seus níveis limítrofes. Alguns autores sugerem que diagnosticado pode ser feito por níveis de P4 < 10 ng/ml (VAN ZONNEVELD et al. 1994), outros apontam que o diagnóstico pode ser feito por valores <8 ng/ml (LITWACK, 2001), e Arce et al. (2011) sugere que valores entre 7,9 – 10 ng/ml podem ser indicativos de LUF.

A Associação Mundial de Medicina Reprodutiva (ASRM, 2012) ressalta que valores mais elevados de P4 tem sido utilizados para prever qualidade da função lútea e considera que a ovulação ocorre quando os

valores atingem níveis ≥ 10 ng/ml. E para a confiabilidade dos resultados, a ASRM (2008) aponta que as medidas de P4 devem ser realizadas uma semana do início previsto da próxima menstruação.

1.3.2 Diagnóstico de ovulação pela Ultrassonografia

A intervenção com ultrassom (US) pode ser definida como qualquer processo de diagnóstico ou terapêutico realizado em qualquer tecido ou órgão para visualização ou tratamento de estruturas (WHO, 2011).

O aparelho de ultrassom desempenha um papel cada vez maior na avaliação, monitoramento e tratamento da infertilidade, pois é um procedimento indolor que pode ser feito usando uma sonda vaginal ou um dispositivo de exploração abdominal, sendo considerado um excelente recurso para o monitoramento de folículos durante a terapia da infertilidade (PUSCHECK, 2008).

A ultrassonografia transvaginal tem sido considerada padrão-ouro para avaliar a ovulação. Na ausência de métodos padrão-ouro, medidas das concentrações de hormônios reprodutivos são comumente usados para identificar o perfil ovulatório em mulheres (LYNCH et al. 2014). Esse método avalia o desenvolvimento folicular (tamanho e número) e a provável ocorrência de ovulação por colapso súbito do folículo (WHO, 1993; ASRM, 2012).

Por meio do US pode-se visualizar a coorte folicular que estará em condições de recrutamento no final da fase lútea do ciclo anterior e no começo da fase folicular do ciclo em estudo e ainda permite identificar folículos a partir de 2 mm (SCHMILLEVITCH, 1999). Em ciclos espontâneos, com intervalos de 28 dias, a monitorização ultrassonográfica deve ser iniciada entre o 8º e 10º dia do ciclo, período em que será possível a visualização de folículos medindo entre 8 e 10 mm e posteriormente seleção do folículo dominante (BUSSO et al. 2008).

A partir do 10º dia do ciclo, a monitorização ultrassonográfica deve ser diária, pois a velocidade de crescimento do folículo dominante é de 2 a 3 mm/dia, até alcançar um diâmetro médio pré-ovulatório de aproximadamente 20,2 a 22,6 mm (NITSCHKE-DABELSTEIN, 1981).

Após a ovulação haverá diminuição da parte cística do folículo conduzindo a diminuição no diâmetro folicular de pelo menos 60% ou colapso folicular total e posteriormente aparecimento do CL, com aspecto de cisto pequeno, irregular e paredes enrugadas (ZONNEVELD et. al., 1994; GOSWAMY, 2005).

O acompanhamento ultrassonográfico da ovulação prevê facilmente o dia mais fértil da mulher em determinado período do mês, porém, em função do custo, o método geralmente deve ser reservado para mulheres nas quais métodos mais simples não fornecem as informações necessárias para as mulheres que passaram por estimulação para induzir ovulação (ASRM, 2012).

1.3.3 Classificação do perfil ovulatório

O perfil ovulatório de mulheres inférteis pode ser classificado por critérios bioquímicos (P4) e ultrassonográficos. Dessa forma, a WHO (1993) utiliza a seguinte classificação: 1) ovulação consistente, quando os valores de P4 e US (Ultrassom) confirmam a ovulação; 2) ovulação inconsistente, quando os valores de P4 e US são conflitantes; e 3) anovulação quando os valores de P4 e US confirmam a anovulação.

Dessa forma, o foco principal desse trabalho foi avaliar se a hiperprolactinemia moderada altera o perfil ovulatório de mulheres inférteis com ciclos regulares avaliadas por meio da dosagem dos níveis de P4 e/ou monitorização pelo ultrassom, e ainda avaliar a associação de P4 ovulatória, porém baixa, e anovulação em mulheres inférteis com ciclo regulares.

Esta pesquisa se justifica pela carência de literatura que comprovem a influência de níveis moderados de prolactina e progesterona baixa na ovulação de mulheres inférteis com ciclos regulares.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar a influência dos níveis de PRL na ovulação de mulheres inférteis com ciclos regulares.

2.2 Específicos:

- Estabelecer comparações entre anovulação e vários níveis de PRL através da análise dos níveis de progesterona e ultrassom;
- Comparar o perfil ovulatório (aferido pelo US e P4) entre pacientes com PRL >30 ng/ml, de 21- 29 ng/ml e <20 ng/ml.
- Avaliar a associação entre os níveis baixos de progesterona (5,65 a 9,9 ng/ml) e ovulação ao ultrassom em pacientes com ciclos regulares.

3 MÉTODO

3.1 Tipo estudo

Trata-se de um estudo do tipo caso-controle, onde o fator de exposição foi a elevação moderada da prolactina e o desfecho foi a anovulação.

3.2 Local da pesquisa

A coleta de dados foi realizada no Laboratório de Reprodução Humana (LabRep) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG) e em um consultório particular de Ginecologia e Obstetrícia (Mater Clínica), Goiânia-GO.

3.3 Amostra

Inicialmente foram acessados 7.200 prontuários eletrônicos do banco de dados Sisfert 1.2 (Approbato, 2004) e Sisfert 2.0 (Approbato, 2013) e físicos de mulheres atendidas no serviço de reprodução humana. 343 prontuários de mulheres em idade reprodutiva com faixa etária compreendida entre 20 e 40 anos atendidas no período de 2000 a 2014 atenderam os critérios de inclusão.

3.3.1 Critérios de inclusão das participantes

Os critérios de inclusão utilizados foram apresentar:

- Dosagem do nível sérico de PRL e P4;
- Avaliação feita por US;
- Ciclos menstruais regulares;
- Idade entre 20 e 40 anos.

3.3.2 Critérios de Exclusão das participantes

Os critérios de exclusão foram apresentar:

- Níveis de FSH > 9,9 nUI/ml;
- Portadoras da Síndrome do Ovário Policístico com oligomenorreia ou amenorreia;
- Usuárias de medicamentos que interferem na ovulação;
- Uso de medicamentos dopaminérgicos.

3.4 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da UFG (CEP/HC-UFG), parecer 782.199 (Anexo A). A pesquisadora cumpriu com as determinações da Resolução 466/2012 e suas normas complementares, resguardando o sigilo quanto a informações pessoais das pacientes evitando danos às dimensões físicas, psíquica, moral, intelectual, social, cultura e/ou espiritual das mesmas.

3.5 Materiais

Realizou-se análise dos prontuários físicos armazenados no Serviço de Arquivo Médico e Informações em Saúde (SAMIS) e eletrônicos disponibilizados pelo banco de dados (Sisfert) (© Approbato, 2013) do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (LabRep/HC-UFG) e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia.

3.6 Procedimentos

3.6.1 Classificação dos grupos

As participantes foram classificadas de acordo com o seu estado ovulatório diagnosticado por critérios bioquímicos progesterona (P4) e

ultrassonográficos (US). Para comparabilidade dos grupos, foram pareadas as seguintes variáveis: Idade, IMC, duração da infertilidade, FSH, TSH, LH e estradiol.

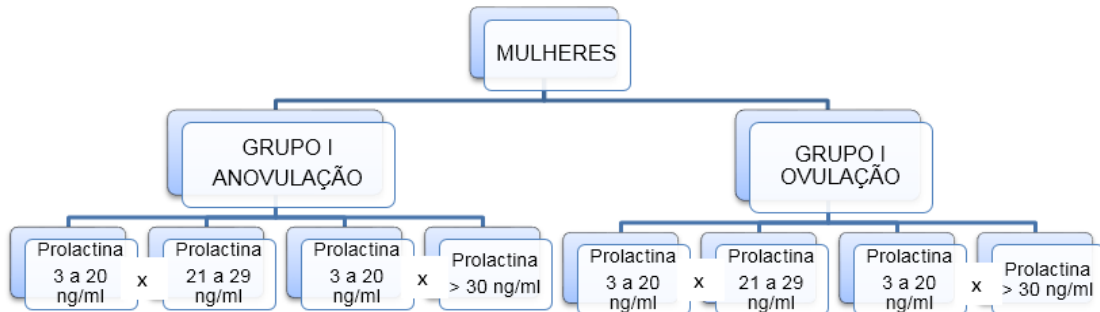


Figura 3 – Fluxograma das análises realizadas com pacientes anovulatórias e ovulatórias.

A Figura 3 ilustra o desenho desse trabalho e as distribuições dos grupos do estudo: Grupo I (Anovulação) e o Grupo II (Ovulação).

As seguintes comparações foram realizadas em ambos os grupos baseadas no Manual da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1993):

- 1) PRL normal (3 a 20 ng/ml) (Controle) comparada com PRL >20 e < 30 ng/ml, considerada no estudo como moderadamente elevada.
- 2) PRL normal (3 a 20 ng/ml) (Controle) comparada com PRL elevada (>30 ng/ml) (WHO, 1993).

A ovulação foi avaliada pela dosagem de P4 e US e classificada em:

- 1) Ovulação consistente: ovulação confirmada pelo P4 e US;
- 2) Ovulação inconsistente: ovulação confirmada com valores de P4 e US conflitantes;
- 3) Anovulação: anovulação confirmada pelo P4 e US.

Outra avaliação foi feita em dois grupos segundo o estado ovulatório ao US. Grupo III (pacientes anovulatórias, n=57) e Grupo IV (pacientes ovulatórias, n=284). Nesses grupos foram avaliadas as porcentagens de pacientes com progesterona normal (≥ 10 ng/ml) e a porcentagem de pacientes com progesterona baixa (5,65 – 9,9 ng/ml) aqui considerada com LUF (Figura 4):

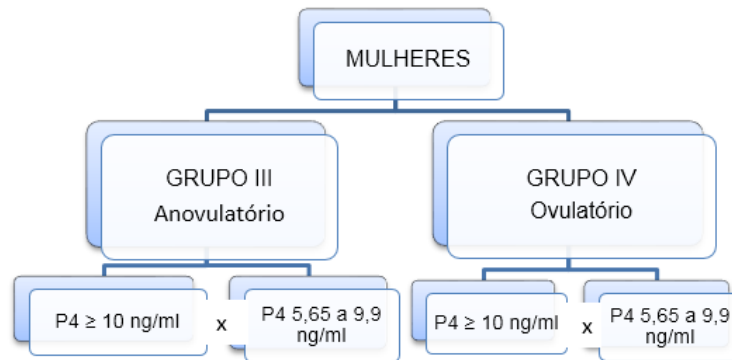


Figura 4 – Fluxograma das análises realizadas com pacientes de progesterona normal e baixa.

3.7 Análise estatística dos dados

A análise estatística foi realizada por meio do *SPSS Statistics 20.0®*. Para verificar as diferenças de proporções (efeito da PRL e da progesterona baixa na ovulação) foi utilizado o teste X^2 (Qui-quadrado). Onde não coube análise estatística foram calculadas média e desvio padrão das variáveis em estudo. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$)

4 PUBLICAÇÕES

Artigo 1 – Influência dos mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia moderada na ovulação de mulheres inférteis

Autores:

Eliane Gouveia de Moraes Sanchez; Christiane Ricaldoni Giviziez; Hugo Machado Sanchez; Mônica Canêdo Silva Maia, Maria Alves Barbosa, Mário Silva Approbato

Revista da Associação Médica Brasileira (RAMB)

Artigo 2 – Níveis baixos de progesterona e ovulação ao ultrassom em pacientes inférteis

Autores:

Eliane Gouveia de Moraes Sanchez; Christiane Ricaldoni Giviziez; Hugo Machado Sanchez, Patrícia Leão da Silva Agostinho, Patrícia de Sá Barros, Mário Silva Approbato

JBRA Assisted Reproduction

Artigo 1

Submetido à Revista da Associação Médica Brasileira (RAMB)

Influência dos mecanismos fisiopatológicos da hiperprolactinemia moderada na ovulação de mulheres inférteis

Eliane Gouveia de Moraes Sanchez¹; Christiane Ricaldoni Giviziez¹; Hugo Machado Sanchez¹; Mônica Canêdo Silva Maia¹, Maria Alves Barbosa², Mário Silva Approbato³

- 1- Doutoranda (o) em Ciências da Saúde – UFG - Universidade Federal de Goiás.
- 2- Professora titular do Departamento de Enfermagem – UFG - Universidade Federal de Goiás.
- 3- Professor titular do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina e orientador no Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Diretor do Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás.

Trabalho realizado no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

Não há conflitos de interesse.

Email: egmfisio@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivo: Avaliar a influência dos níveis moderados de prolactina (21-29 ng / ml) na ovulação de mulheres inférteis com ciclos regulares por meio dosagem de progesterona. **Métodos:** Estudo caso-controle. A amostra foi composta por 343 mulheres com idade entre 20-40 anos, atendidas no período de 2000-2014 no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e no consultório de Ginecologia e Obstetrícia em Goiânia, Goiás. A coleta de dados foi realizada por análise de registros físicos (Registros Médicos e Serviços de Informação em Saúde) e eletrônicos (Sisfert ©, 2004) após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos do HC/UFG. As pacientes foram classificadas de acordo com o estado ovulatório avaliado pelo Ultrassom (US) e dosagem de Progesterona ($\geq 5,65$ ng/ml) e foram divididas em: Grupo I (provável anovulação, n=59) e Grupo II (provável ovulação, n=284). Nos dois grupos foram comparadas as porcentagens de pacientes com PRL normal (3 a 20 ng/ml) versus PRL moderadamente elevada (21 a 29 ng/ml). Os grupos foram pareados para comparabilidade quanto a idade, índice de massa corporal, duração da infertilidade, FSH, TSH, LH e E₂. **Resultados:** A elevação moderada da prolactina provocou uma redução significativa ($p = 0,03$) na taxa de ovulação em pacientes com infertilidade com ciclos regulares como critério baseado na ovulação pelos níveis de progesterona $\geq 5,65$ ng/ml. **Conclusão:** A prolactina tem efeito na regulação da reprodução e seu aumento moderado pode influenciar negativamente na ovulação de mulheres inférteis com ciclos regulares.

Palavras-chave: hiperprolactinemia moderada; infertilidade; ovulação; ciclos regulares.

SUMMARY

Background: Objective: To evaluate the influence of moderate levels of prolactin (21-29 ng / ml) in ovulation infertile women with regular cycles evaluated by progesterone levels and ultrasound. **Methods:** Case-control study. The sample consisted of 302 women aged 20-40 years, attended the 2000-2014 period in the Laboratory of Human Reproduction of the Hospital das Clinicas, Federal University of Goiás and the office of Gynecology and Obstetrics in Goiânia, Goiás. The collection Data analysis was performed by physical records (Medical Records and Information Services in Health) and electronics (Sisfert © 2004) after approval by the Ethics Committee human research at HC / UFG. The patients were classified according to ovulation status as assessed by ultrasound (US) and dosing P4 (≥ 5.65 ng / ml) and were divided into: Group I (probable anovulation, n = 59) and Group II (likely ovulation , n = 284). In the two groups were compared the percentage of patients with normal PRL (3 to 20 ng / ml) versus moderately elevated PRL (21 to 29 ng / ml). The groups were matched for comparison as age, body mass index, duration of infertility, FSH, TSH, LH and E₂. **Results:** moderate elevation of prolactin caused a significant reduction ($p=0.03$) in ovulation rate in patients with infertility with regular ovulation cycles as a criterion based on progesterone levels $\geq 5,65$ ng / ml. **Conclusion:** Prolactin is effective in regulating reproduction and moderate increase may negatively influence ovulation in infertile women with regular cycles.

Keywords: mild hyperprolactinemia; infertility; ovulation; regular cycles.

INTRODUÇÃO

As disfunções ovulatórias são identificadas em aproximadamente 15% de todos os casais inférteis e são responsáveis por até 40% da infertilidade feminina. Os fatores mais comuns relacionados a essas disfunções incluem: Síndrome do ovário policístico, obesidade, exercício extenuante, disfunção da tireóide e aumento dos níveis de prolactina (PRL) ¹.

A PRL é um hormônio polipeptídico composto por 199 aminoácidos, sintetizado e liberado sobretudo por células especializadas, os lactótrofos, localizadas na hipófise anterior e age tanto em processos reprodutivos como não reprodutivos ²⁻⁵.

Pode ser encontrada na circulação sob três formas principais: monômero, 23 kDa de peso molecular, corresponde cerca de 80% a 95% da PRL; dímero (45 a 60 kDa); e a macroprolactina que apresenta peso de 100 a 170 kDa. Estas duas últimas encontram-se em circulação na maioria dos indivíduos, mas em concentrações pouco expressivas, em geral inferiores a 10% da prolactina total circulante ⁶⁻⁹.

A PRL, hormônio neuroendócrino multifuncional, age no equilíbrio hídrico, no crescimento e diferenciação celular, na regulação da síntese de proteínas e de repostas imunológicas, na ativação dos neurônios dopaminérgicos do hipotálamo ¹⁰. Atua também na fisiologia endócrina da mama ^{11,12} na estimulação do comportamento materno, na supressão da resposta ao estresse, na estimulação da mielinização no sistema nervoso central, na criação de novos neurônios no bulbo olfativo ¹³ e na reprodução humana ^{8,14}.

A secreção de PRL é regulada pelo hipotálamo, que exerce influência inibitória por meio da liberação de dopamina ⁹. O aumento na sua secreção pode ser resultante da diminuição de dopamina pelos neurônios do hipotálamo, fato que irá resultar em um quadro patológico conhecido como hiperprolactinemia ¹⁵.

A hiperprolactinemia é comumente resultado de níveis elevados de PRL monomérica, geralmente superiores a 20 ng/ml ¹⁶. Sua prevalência é de 0,4% em uma população não selecionada de adultos normais e de 9-17% em mulheres com distúrbios reprodutivos ^{17,18}.

Em alguns indivíduos, a macroprolactinemia pode ser uma das causas de hiperprolactinemia, sem associação com quadros patológicos e suspeitada quando a história clínica do paciente e/ou dados radiológicos são incompatíveis com os valores PRL ^{8,19,20}.

As causas da hiperprolactinemia se enquadram em três principais categorias: fisiológicas, que incluem gravidez e amamentação; farmacológicas, como drogas bloqueadoras e depletoras e dopamina, e patológicas que envolvem alterações sistema nervoso central, doenças hipofisárias e as doenças endócrino-metabólicas ^{9,18,20,21}.

A elevação da PRL atua na inibição do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano. Em consequência acarreta redução na liberação de hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) influenciando o desenvolvimento e maturação folicular ^{18,22,23}.

Existem evidências de que a PRL exerça um efeito inibitório sobre a expressão dos receptores de LH e FSH nas gônadas. Dessa forma, o excesso de PRL diminui a sensibilidade desses tecidos às gonadotropinas, causando com frequência anovulação e infertilidade ^{24,25}.

Em um estudo sobre infertilidade anovulatória realizado por Grosdemouge et al.¹⁰ foi demonstrado que a interrupção do gene do receptor de prolactina causa infertilidade devido a uma falha de implantação do feto. A ação da prolactina é intermediada por um único receptor localizado no Corpo Lúteo (CL) no início da gestação e no útero no final da gravidez. Desta forma, o receptor de prolactina torna-se um elemento chave na regulação da função ovariana e na secreção de P4 por manutenção do CL.

Alguns autores associam a elevação da PRL com maior possibilidade de irregularidades menstruais ^{23,26} e de abortos espontâneos ²⁷, que pode ser explicado pela inibição na produção de estradiol e P4 pelas gônadas ^{28,29}.

É evidente que a elevação dos níveis séricos de PRL pode causar anovulação e o grau de hipogonadismo é frequentemente proporcional ao aumento em seus níveis. Em casos de hiperprolactinemia clássicos tem sido observadas disfunções menstruais e ovulatórias com amenorreia e galactorrêia ^{18,23,30,31} enquanto que na hiperprolactinemia moderada pode estar associado a uma fase lútea menor e infertilidade anovulatória ³².

Os níveis séricos de PRL sugestivos de hiperprolactinemia moderada não são bem estabelecidos na literatura. A *World Health Organization* considera que os valores séricos normais de prolactina estão na faixa entre 3 e 20 ng/ml e que em níveis superiores a 30 ng/ml podem causar anovulação ¹⁶. Porém, na literatura não existe consenso sobre níveis limítrofes de normalidade da PRL.

Tognotti, Hayashida ¹⁸ consideraram que os níveis de normalidade da PRL encontram-se entre 15-25 ng/ml. Hauache et al. ³³ apontam níveis menos elevados como normalidade (2-16 ng/ml). Bachelot, Binart ³² sugerem como normalidade níveis de 10-28 ng/ml. Crosignani ²³ descrevem níveis mais elevados como normais (10-35 ng/ml). Vilar & Naves ³⁴ ressaltam somente o limite superior de normalidade, sendo de 20 a 25 ng/ml. Já Roberts et al. ³⁵ e Glezer et al. ²¹ consideram valores próximos ao recomendado pela WHO (3,8-23 ng/ml).

Da mesma forma que encontra-se divergências quanto aos valores séricos normais de prolactina, existem também dificuldades para determinar os níveis de prolactina indicativos de hiperprolactinemia. Usualmente os níveis da hiperprolactinemia têm relação com sua etiologia: níveis até 100 ng/ml estão associados a causa idiopática, microprolactinomas, medicamentos psicoativos e estrógenos; níveis acima de 200 ng/ml estão associados aos prolactinomas, sendo que os macroprolactinomas na maioria das vezes apresentam valores acima de 250 ng/ml ³⁶.

Para os ensaios mais comumente utilizados, os limites superiores da PRL podem variar entre 25 ng/ml ^{24,36} e 30 ng/mL ^{26,34} acima desses valores considera-se hiperprolactinemia.

São poucos os trabalhos que avaliam a interferência de aumentos moderados de PRL (21 e 29 ng/ml) no estado ovulatório de mulheres inférteis. Bachelot, Binart ³² e Aguirre ³⁷ mostraram que a hiperprolactinemia moderada pode estar associada a uma fase lútea curta e infertilidade anovulatória. Entretanto, eles não relatam as faixas limites de PRL para que se possa analisar de forma precisa sua influência na ovulação.

Para avaliar a ovulação podem ser utilizados diversos métodos, tais como: temperatura corporal basal (TCB), alteração do muco cervical, pico de LH, ultrassom (US) e a concentração sérica de P4 no meio da fase lútea ³⁸. Para constatar a ovulação, os níveis de P4 devem ser $\geq 5,65$ ng/ml ¹⁶ e o US pode ser utilizado avaliar se realmente houve colapso folicular ^{1,38}.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da elevação moderada de PRL (21 a 29 ng/ml) na ovulação de mulheres inférteis segundo níveis de P4 ($> 5,65$ ng/ml).

MÉTODOS

Trata-se de estudo do tipo caso-controle. O fator de exposição foi a elevação moderada da PRL e o desfecho foi a anovulação.

A amostra foi composta inicialmente por 7.200 mulheres. 343 mulheres com faixa etária compreendida de 20 a 40 anos atendidas no período de 2000 a 2014 no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG) e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia – Goiás, preencheram os critérios de inclusão e foram selecionadas para a pesquisa.

A coleta de dados foi feita realizada em prontuários físicos armazenados no Serviço de Arquivo Médico e Informações em Saúde (SAMIS) e eletrônicos (banco de dados Sisfert ©) ³⁹ após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos do HC/UFG, parecer N° 782.199.

Foram incluídas mulheres que apresentavam avaliação por ultrassom, dosagem de prolactina e de progesterona e ciclos ovulatórios regulares; foram excluídas as mulheres com níveis de FSH superiores a 9,9 nUI/ml ³⁵; TSH superiores a 4,7 ^{35,40}, portadoras da Síndrome do Ovário Policístico com oligomenorreia ou amenorreia e usuárias de medicamentos que interferiam na ovulação.

As pacientes foram classificadas de acordo com o estado ovulatório avaliado pelo Ultrassom (US) e dosagem de P4 ($\geq 5,65$ ng/ml) e divididas em: Grupo I (provável anovulação, n=59) e Grupo II (provável ovulação, n=284). Nos dois grupos foram comparadas as porcentagens de pacientes com PRL normal (3 a 20 ng/ml) versus PRL moderadamente elevada (21 a 29 ng/ml). Conforme a figura 1, os grupos exposto (hiperprolactina moderada) e não exposto (PRL normal) foram pareados para comparabilidade quanto a idade, índice de massa corporal, peso, altura, duração da infertilidade, FSH (ng/ml), TSH (mUI/l), LH (UI/l) e Estrógeno (E₂) (ng/dl) entre os grupos ¹⁶.

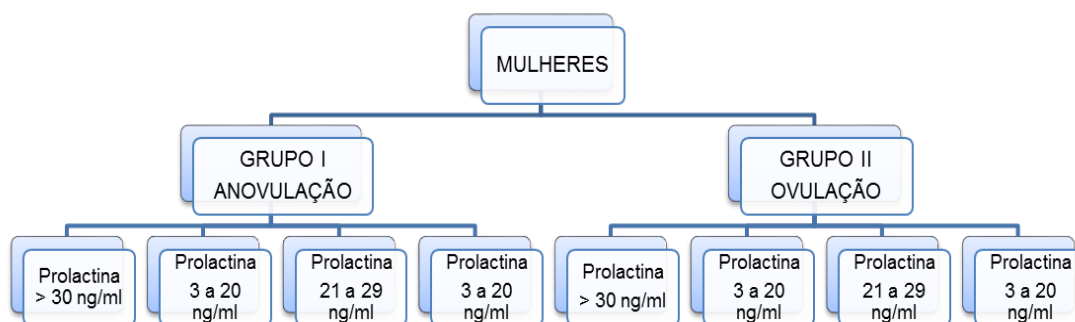


Figura 1 – Fluxograma do desenho do trabalho

A análise estatística foi realizada por meio do *SPSS Statistics 20.0®*. Para verificar as diferenças de proporções (efeito da PRL na ovulação) foi utilizado o teste X^2 (Qui-quadrado). Onde não coube análise estatística foram calculadas média e desvio padrão das variáveis em estudo. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$)

RESULTADOS

A tabela 1 apresenta a comparabilidade das duas populações estudadas. Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) nas variáveis antropométricas e endócrino ovulatórias entre os grupos.

Considerando como critério de ovulação $P4 \geq 5,65$ ng/ml, foi observado que a elevação moderada da PRL (21-29 ng/ml) provocou uma redução significativa ($p = 0,03$) na porcentagem de ovulação das pacientes inférteis portadoras de ciclos regulares (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Os resultados evidenciam que níveis de PRL moderadamente aumentados (21-29 ng/ml) podem influenciar de forma negativa a ovulação de mulheres inférteis portadoras de ciclos regulares avaliados por critérios bioquímicos $P4 > 5,65$ ng/ml.

A elevação moderada da PRL pode causar disfunção ovulatória e reduzir a fecundidade em mulheres²³. Este fato pode ser explicado porque a PRL parece interferir no desenvolvimento folicular e do oócito e ainda inibir a produção de $P4$ pelo corpo lúteo⁴¹.

Molitch ⁴² ressalta que níveis mais baixos de PRL (<20 ng / ml) são necessários para a produção de P4 por células da granulosa, mas concentrações mais elevadas, correlacionadas a hiperprolactinemia em mulheres, inibem a produção de progesterona causando infertilidade.

Crawford et al. ⁴³ avaliaram a influência da PRL na função reprodutiva em que foi utilizado PRL recombinante biologicamente ativa em gambás. Observou que a elevação sanguínea de PRL não causou mudanças importantes na ovulação e na produção de P4 pelo corpo lúteo, no entanto o aumento da PRL foi acompanhado da diminuição na liberação de FSH pela hipófise, demonstrando um papel da prolactina na modulação do hipotálamo-hipofisário e dessa forma sua influência nos processos reprodutivos.

Tawfiq ⁴⁴ estudou a influência de diferentes níveis de PRL na ovulação de 149 mulheres com faixa etária entre 16-38 anos. Entre essas, 93 eram inférteis e apresentavam hiperprolactinemia (PRL \geq 21) e 56 apresentavam prolactina normal (PRL 1,5–20 ng/ml). As mulheres consideradas hiperprolactinêmicas foram divididas em 4 grupos a saber: (1) PRL 21-30 ng/ml, (2) PRL 31-40 ng/ml, (3) PRL 41-50 ng/ml, (4) PRL 51-60 ng/ml. Observou-se que em todos os grupos a elevação da PRL não estava associada com aumento significativo nos níveis de LH e FSH. Por outro lado, Berlanga ⁴⁵ ressalta que altos níveis de PRL podem causar um declínio na secreção de GnRH e gonodotrofinas (LH e FSH) com consequente diminuição de P4 e estradiol ocasionando infertilidade.

A hiperprolactinemia exerce papel importante na infertilidade feminina conforme relato de Kalsum, Jalali ⁴⁶, cujo estudo avaliou 100 mulheres com hiperprolactinemia com faixa etária entre 16 e 40 anos. Destas, 18 eram normoprolactinêmicas (controle), 25 (30,49%) hiperprolactinêmicas férteis e 57 (69,51%) eram hiperprolactinêmicas inférteis. Os resultados mostraram que as mulheres hiperprolactinêmicas férteis apresentaram diminuição significativa dos níveis de LH e estradiol durante a fase folicular quando comparadas ao grupo controle. Na fase ovulatória, o aumento significativo nos níveis de PRL foi acompanhado de diminuição nos níveis de FSH e P4 e na fase lútea houve diminuição de LH, FSH e estrógeno. Já no grupo das mulheres hiperprolactinêmicas inférteis na fase folicular houve diminuição de LH e estradiol, na fase ovulatória diminuiu níveis de LH, FSH e P4 e na fase lútea houve diminuição nas faixas de LH e P4.

Fator este que evidencia a influência da PRL no ciclo ovulatório tanto no grupo das mulheres férteis quanto das inférteis em função do declínio dos hormônios na fase folicular. Estes achados podem ser explicados devido a diminuição na secreção pulsátil de GnRH pelo hipotálamo, em mulheres portadoras de hiperprolactinemia, afetando o potencial de fertilidade por interferir na ovulação ^{4,45}.

Elbashir et al. ⁴⁷ em um estudo retrospectivo, avaliaram a prevalência de hiperprolactinemia em 14.129 mulheres inférteis. Dessa população, 10.033 (71%) apresentavam PRL normal (PRL 2-19 ng/ml) e 4.096 (29%) hiperprolactinemia. Do grupo com hiperprolactinemia, 2.333 (57%) apresentavam ciclos regulares e 491 (12%) ciclos irregulares. O estudo descrito demonstra a ocorrência de hiperprolactinemia em mulheres inférteis com ciclos regulares, achados que corroboram com o presente estudo que analisou especificamente esse grupo de mulheres.

O fato de se encontrar hiperprolactinemia em ciclos regulares pode ser explicado por um aumento transitório na concentração de PRL sanguínea na fase folicular tardia ⁴⁸. Berlanga ⁴⁵ ressalta que por ser um hormônio de grande pulsatilidade, a PRL apresenta em torno de 14 picos durante o dia. Portanto, em uma dosagem basal única poderia coincidir com um desses valores de pico, o que pode explicar a presença de hiperprolactinemia em ciclos regulares.

CONCLUSÃO

A PRL moderadamente elevada é capaz de alterar a porcentagem de pacientes ovulatórias segundo a avaliação pelos níveis de P4 plasmáticas. A infertilidade feminina é um problema silencioso e de grande impacto na função reprodutiva das mulheres que apresentam aumento dos níveis de PRL, desde moderados a elevados. A adequação dos níveis de PRL ao normal ou próximo do normal, pode ser uma forma de resolver esta alteração.

REFERÊNCIAS

- 1- ASRM - American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012; 98 (2): 302-7.
- 2- Amar AP, Weiss MH. Pituitary anatomy and physiology. *Neurosurgery Clinics of North America* 2003; 14 (1): 11-23.

- 3- Goffin V, Bernichtein S, Touraine P, Kelly PA. Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr Rev.* 2013; 26(3): 400–22.
- 4- Parijatham S, Saikumar P. Prolactin in Primary Female Infertility in Rural Population. *RJPBCS* 2014; 5(4): 947-50.
- 5- Grattan DR, Tissier PL. Hypothalamic Control of Prolactin Secretion, and the Multiple Reproductive Functions of Prolactin. In: Plant TM, Zeleznik AJ. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Chapter 12. Fourth Edition. 2015. p. 469–526.
- 6- Vieira, JGH. Macroprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2002; 46:45-50.
- 7- Vilar L, Naves LA, Gadelha, M. Armadilhas no Diagnóstico da Hiperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2003; 47(4): 347-357.
- 8- Sadideen H, Swaminathan R. Macroprolactin: what is it and what is its importance? *Int J Clin Pract* 2006; 60(4): 457–61.
- 9- Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, Kleinberg DL, Montori VM, Schlechte JA et al. Diagnosis & Treatment of Hyperprolactinemia: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 96(2): 273–88.
- 10- Grosdemouge I, Bachelot A, Lucas A, Baran NA, Kelly PA, Binart N. Effects of deletion of the prolactin receptor on ovarian gene Expression. *Reproduct Biol and Endocrinol* 2003; 1: 12.
- 11- Lacasse P, Lollivier V, Bruckmaier RM, Boisclair YR, Wagner GF, Boutinaud M. Effect of the prolactin-release inhibitor quinagolide on lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2011; 94(3); 1302-9.
- 12- Lacasse P, Lollivier V, Dessauge F, Bruckmaier RM, Ollier S, Boutinaud M. New developments on the galactopoietic role of prolactin in dairy ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2012; 43(2): 154-60.
- 13- Grattan DR, Kokay IC. Prolactin: A Pleiotropic Neuroendocrine Hormone. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(6): 752–763.
- 14- Khodr CE, Clark SM, Hurley DL. Phelps, C.J. Long-term, homologous prolactina, administered through ectopic pituitary grafts, induces hypothalamic dopamine neuron differentiation in adult snell dwarf mice. *Endocrinology* 2008; 149(4):2010-18.
- 15- Olive DL, Palter SF. Fisiologia Reprodutiva. In: BEREK, J.S. Berek e Novak: Tratado de Ginecologia. 15 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- 16- WHO – World Health Organization. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellouws HJ. WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of them infertile couple. New York. USA. 1993.
- 17- Mah PM, Webster J. Hyperprolactinemia: Etiology, Diagnosis, and Management. *Semin Reprod Med* 2002; 20(4) 365-74.
- 18- Tognotti E, Hayashida SAY. Hiperprolactinemias e Hirsutismo. In: Busso NE, Acosta AA, Remohi J. Indução de Ovulação. São Paulo: Atheneu; 1999.
- 19- Vaishya R, Gupta R, Arora S. Macroprolactina; A Frequent Cause of Misdiagnosed Hyperprolactinemia in Clinical Practice. *J Reprod Infertil* 2010; 11(3):161-67.
- 20- Kostrzak A, Meczekalski B. Macroprolactinaemia. *Pol Merkur Lekarski* 2010 29(169):47-9.
- 21- Glezer A, Duarte FHG, Machado MC, Guzzo MF, Jallad RR, Bonstein MD. Adeno-Hipófise. In: Wajchenberg BL, Larario AC, Betti RTB. Tratado de Endocrinologia Clínica. 2.ed. São Paulo: AC Farnacêutica, 2014.

- 22- McNeilly AS, Land RB. Effect of suppression of plasma prolactin on ovulation, plasma gonadotrophins and corpus luteum function in LH-RH-treated anoestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 1979; 56: 601-09.
- 23- Crosignani PG. Management of hyperprolactinemic infertility. *Middle East Fertil Soc J* 2012; 17: 63–9.
- 24- Goswami B, Patel S, Chatterjee M, Koner BC, Saxena A. Correlation of Prolactin and Thyroid Hormone Concentration with Menstrual Patterns in Infertile Women. *J Reprod Infertil* 2009; 10(3): 207-12.
- 25- Berga S, Naftolin F. Neuroendocrine control of ovulation. *Gynecol Endocrinol* 2012; 1: 9-13.
- 26- Melmed S, Kleinberg D. Anterior Pituitary. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed, S, Polonsky KS. *Williams Textbook of Endocrinology*. 10th Ed. Saunders. 2010. 177-279.
- 27- Li RHW, Yu-Ng EH. Management of anovulatory infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2012; 26: 757-68.
- 28- Yen SSC, Jaffe RR. *Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management*. Ed WB Saunders Company. 1991.
- 29- Cunha-Filho JS, Gross JL, Souza CAB, Lemos NA, Giugliani C, Freitas F et al. Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20(3): 117-21.
- 30- Vilar L, Naves LA, Gadelha, M. Armadilhas no Diagnóstico da Hiperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2003. 47(4): 347-357.
- 31- Fahie-Wilson M, Smith TP. Determination of prolactin: The macroprolactin Problem. *Best Prac Res Clin Endocrinol Metabol* 2013; 27: 725–742.
- 32- Bachelot A, Binart N. Reproductive role of prolactin. *Reproduction* 2007; 133: 361-9.
- 33- Hauache O M, Rocha A J, Maia ACJ, Maciel RM, Vieira JG. Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. *Clinical Endocrinology* 2002; 57(3): 327-331.
- 34- Vilar L, Naves LA. Avaliação diagnóstica da hiperprolactinemia. In: Vilar L et.al. *Endocrinologia Clínica*. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- 35- Roberts WL, Mcmillin GA, Burtis CA, Bruns DE. Reference information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. *Tietz Fundamentals Clinical Chemistry*. 6 ed. Philadelphia, PA. Elsevier, 2008.
- 36- Casanueva FF, Molitch ME, Schlechte JA, Abs R, Bonert V, Bronstein MD, et al. Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas. *Clinical Endocrinology*. 2006; 65(2): 265-73.
- 37- Aguirre, Ma, Luna M, Reyes Y, Zerpa Y, Vielma M. Diagnóstico y manejo de la hiperprolactinemia. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2013; 11(1): 26-38.
- 38- Lass A. Patient selection and management. In: Brinsden PR. *Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction: The bourn hall guide to clinical and laboratory practice*. 3 ed. Taylor & Francis, 2005.
- 39- Approbato MS. Software SISFERT versão 2.0, 2013.
- 40- Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein, I, Mechanick JI. *Clinical Practice Guidelines for Hypothyroidism in Adults: Cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association*. *Endocr Pract*. 2012;18(6):1-45.

- 41- Nawroth F. Hyperprolactinaemia and the regular menstrual cycle in asymptomatic women: should it be treated during therapy for infertility? *Reprod BioMed online* 2005; 11(5): 581–88.
- 42- Molitch ME. Prolactinoma in pregnancy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol.* 2011; 25: 885–96.
- 43- Crawford JL, Mester B, Thomson B, Lawrence SB, Eckery DC. Prolactin acts on the hypothalamic–pituitary axis to modulate follicle-stimulating hormone gene expression in the female brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Gen Comp Endocrinol* 2011; 171: 39-45.
- 44- Tawfiq IN. Correlation between Levels of Serum Prolactin and Total Sialic Acids Concentrations in Fertile and Infertile Women. *J Al-Nahrain University* 2013; 16 (2): 145-50.
- 45- Berlanga E. Diagnóstico bioquímico del exceso de secreción de prolactina. *Endocrinol Nutr* 2006; 53(10): 607-11.
- 46- Kalsum A, Jalali S. Role of hiperprolactinemia in fertility. *Pak J Med Res* 2002; 41(3): 94-100.
- 47- Elbashir HE, Garais AAM, Hamaza KM. A retrospective study to determine infertile sudanese women with hyperprolactinemia. *JNMS* 2014; 15 (2): 1-8.
- 48- Fujimoto VY, Clifton DK, Cohen NL, Soules MR. Variability of serum prolactin and progesterone levels in normal women: the relevance of single hormone measurements in the clinical setting. *Obstet Gynecol* 1990; 76(1): 71-8.

Tabela 1: Distribuição das pacientes segundo a comparabilidade (variáveis confundidoras) dos grupos de PRL normal e de 21 a 29 ng/ml. LabRep HC-UFG/Mater Clínica, Goiânia 2000-2014.

Características Gerais	PRL		Valor de p
	3-20 (ng/ml) (n=284)	21-29 (ng/ml) (n=59)	
Idade (anos)	31,43 ±4,46	32,18 ±4,28	0,41
IMC (Kilogramas/altura ²)	24,35 ±4,29	23,94 ±3,83	0,59
Duração da infertilidade (meses)	69,13 ±49,33	66,88 ±33,33	0,92
FSH (ng/ml)	6,02 ±1,52	6,05 ±1,72	0,52
TSH (mUI/l)	2,30 ±0,94	2,16 ±1,11	0,72
LH (UI/l)	4,30 ±2,73	5,54 ±7,46	0,68
Estradiol (ng/dl)	55,81 ±65,76	65,87 ±86,94	0,84

PRL (Prolactina); IMC (Índice de Massa Corporal); FSH (Hormônio Folículo Estimulante); TSH (Hormônio Tiroestimulante); LH (Hormônio Luteinizante); p: Nível de significância; Dados apresentados em média ± DP (Desvio Padrão).

Tabela 2: Distribuição das pacientes segundo os níveis de prolactina normal e moderadamente aumentada (21-29 ng/ml) e ovulação presumida pela P4 ≥ 5,65. LabRep HC – UFG / Mater Clínica. Goiânia, 2000-2014.

Ovulação segundo P4 ≥5,65 (ng/ml)	Ovulação	Anovulação	Total	X ²	Valor de p
PRL 3-20 (ng/ml)	236 (83,09%)	48 (16,90%)	284	4,51	0,03*
PRL 21-29 (ng/ml)	42 (71,18%)	17 (28,81%)	59		
Total	278	65	343		

P4 (Progesterona); PRL (Prolactina); X² (Qui-quadrado); *: significância estatística (p<0,05).

Artigo 2

JBRA Assisted Reproduction

Low progesterone levels and ovulation by ultrasound in infertile patients

Eliane G. M. Sanchez¹; Christiane R. Giviziez¹; Hugo M. Sanchez¹; Patrícia L. S. Agostinho², Patrícia S. Barros², Mário S. Approbato³

1 Federal University of the State of Goiás (UFG) – Goiânia-GO/ Brazil

2 Department of Physiotherapy - Federal University of the state of Goiás - UFG - Jataí / GO, Brazil

3 Department of Obstetrics and Gynecology, Director of the Laboratory Human Reproduction, Hospital das Clinicas, Federal University of the State of Goiás (UFG)

Work performed at the Human Reproduction Laboratory of Clinical Hospital of the Federal University of Goiás.

No conflicts of interest.

Abstract

Objective: Evaluating the correlation between low levels of progesterone and ovulation by ultrasound monitoring in infertile patients with regular menstrual cycles. **Methods:** Case-control study. The sample consisted of 302 women aged 20-40 years, treated from 2000 to 2014 in the Human Reproduction Laboratory of the Clinical Hospital of the Federal University of Goiás and in the office of Gynecology and Obstetrics in Goiânia, Goiás. Data collection was performed by analysis of physical records (Medical Records and Health Information Services) and electronic ones (Sisfert ©, 2004) after approval by a Human Research Ethics Committee. Patients were classified according to the ovulatory status evaluated by progesterone levels and ultrasound monitoring and divided into two groups: Group I (anovulatory cycle patients, n=74) and Group II (ovulatory patients, n=228). In both groups associations were made between the percentage of patients with normal progesterone (≥ 10 ng/ml) and percentage of patients with low progesterone (5.65 - 9.9 ng/ml). The groups were paired for comparison in what relates to age, body mass index, duration of infertility, follicle stimulating hormone (FSH), thyroid stimulating hormone (TSH), luteinizing hormone (LH) and estradiol (E_2). **Result:** There was a significant association between the percentage of ovulation by ultrasound monitoring and the percentages of patients who presented low levels of progesterone. **Conclusion:** The study suggests that low serum levels of progesterone are associated with low percentage of ovulation in infertile women with regular menstrual cycles and women with unexplained infertility.

Keywords: Infertility, ovulation, regular cycles, low progesterone.

INTRODUCTION

The infertility is defined by the World Health Organization (WHO) as the absence of pregnancy after one year or more of sexual relations with any use of contraceptives (WHO, 1993).

Globally, it is estimated that there are from 50 to 80 million infertile couples, occurring about two million new cases per year (Goncalves, 2005). This event is experienced by 8-15% of couples in general. In Brazil, more than 278,000 couples have some difficulty in conceiving a child at some point in their childbearing age (Ministry of Health, 2009).

The causes of infertility in women could be due to anatomical factors related to the uterus or the fallopian tubes; hormonal causes that affect the hypothalamic-pituitary-ovarian axis; and sterility without apparent cause (ESCA) (Olooto et al. 2012). It is believed that these factors correspond to 35% of infertility causes in women, 35% in men, 20% are associated with female and male issues, and 10% with ESCA (Roussev & Coulan, 2007; Goswami, 2009; Al- Moushaly, 2013).

Ovulatory dysfunctions consist of the main causes of female infertility, accounting for up to 40% of them (ASRM, 2012). Among the causes, hormonal changes are the most important especially for infertility. Among them, we can highlight the Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS), hypothyroidism, hyperprolactinemia, low levels of progesterone (P4), among others (McLaren, 2012).

Progesterone (P4) is a hormone produced after puberty, by the corpus luteum (CL) and by the placenta during the pregnancy (Olive & Palter, 2014) and it acts in the regulation of normal female reproductive functions. In the womb the endometrium is prepared, facilitating deployment and maintenance of early pregnancy (Al-Asmakh, 2007). For this reason the P4 has a vital role in female fertility and low levels can significantly decrease the chances of pregnancy due the probable influence on the endometrial development (ASRM, 2015).

The P4 was first associated with the corpus luteum by the huge production of this steroid after ovulation. Currently, it is known that the secretion is started from the moment a mature ovarian follicle is stimulated by the release of LH (Ke, 2014; Moreira, 2014).

According ASRM (2012), ovulatory function can be evaluated by determination of P4 levels in bloodstream, but they should be obtained at appropriate times of the menstrual cycle.

It is usually recommended that P4 be dosed from 7 to 9 days after the suspected ovulation. Some authors consider this event to happen with P4 levels from 3 ng/ml (Guttmacher et al., 1956; Auge & Busso, 1999; Garzia et al., 2004; ASRM, 2012; McLaren, 2012). Since World Health Organization (WHO, 1993) points out how ovulatory P4 levels \geq 5.65 ng/ml measured between the 20th and 24th days of a cycle of 28 days. Jordan et al. (1994) and Auge & Busso, (1999) suggested that serum levels higher than 10 ng/ml are suggestive of ovulation and proper luteal function. These same amounts are also used as a measure parameter of the ovulatory function by the ASRM (2012).

P4 levels may suffer discrete increases and assume the non-rupture of a luteinized follicle (LUF). In this event, the follicle develops itself normally, grows and matures, but does not break to release the ovum; however there is a P4 secretion, such as a follicle that broke itself originating CL (Schmillevitch et al., 1999). Thus, there is no ovulation itself, but the follicle secretes P4, making serum levels increase slightly. In this case, values don't reach the 10 ng/ml and it determines a low level of P4 (Van Zoneveld et al., 1994) assuming anovulation.

Low P4 is one of the causes of anovulation and a subtle cause of female infertility (Yong, 2010), which can be characterized by insufficient P4 secretion to maintain endometrium preventing implantation and normal embryo growth (Sonntag & Ludwig 2012; Schliep, 2014). It can be identified by a P4 dosage and through invasive procedures or sophisticated equipment of ovulation evaluation (Mardesik, 1990).

There's no a standard characterization yet to evaluate the progesterone secretion during the luteal phase in normal fertile women and is not given a minimum value of P4 to determine an adequate luteal function. Furthermore, it is known that the corpus luteum function varies from cycle to cycle, but if properly collected, serum progesterone levels can be useful in clinical diagnosis to assess the adequacy of the luteal phase (ASRM, 2015).

Some authors suggest that the diagnostic of decreased P4 can be done by levels <10 ng/ml (Van Zonneveld et al., 1994), others indicate that the diagnosis can be done by values <8 ng/ml (Litwack, 2001); and Arce et al. (2011) suggests that values between 7.9 - 10 ng/ml may indicate LUF. Although there is closeness between the values of P4 indicative of LUF, there is no consensus yet to determine the threshold levels of low P4.

The identification of anovulatory cycles is presented as a challenge for health professionals. The prediction or the confirmation of ovulation may also be obtained by serial monitoring through transvaginal ultrasound, to measure the growth of the follicles and allow the evaluation of follicular rupture (ASRM, 2012).

The transvaginal US consists of a gold standard for ovulation diagnosis during the menstrual cycle, but difficult to be used in epidemiological studies. In the absence of this method, measurements of concentrations of reproductive hormones are commonly used to identify the ovulatory status in research environments, among them the measure of P4 levels stands out (Lynch et al., 2014).

The combination of methods for measuring ovulation has been recommended in order to obtain a more accurate diagnosis. The labrep (Human Reproduction Laboratory) HC/UFG (Clinical Hospital of the Federal University of Goiás) associates monitoring of ovarian follicles through ultrasound and the dosage of serum levels of P4 to diagnose ovulation, although women with low P4 not necessarily undergo ultrasound check, which may be responsible for inconsistent ovulatory diagnostics. This research is justified by the lack of literature demonstrating the low progesterone influence in the ovulation of infertile women with regular cycles. Thus, the aim of this research was to evaluate the association between low levels of P4 and US ovulation in infertile patients with regular cycles suffering from unexplained infertility.

METHOD

It is a study case-control. 302 patients were selected, aged between 20 and 40 years, assisted in the period from 2000 to 2014 in Human Reproduction Laboratory of the Clinical Hospital of the Federal University of Goiás/UFG and in an office of Gynecology and Obstetrics of the private health network in Goiania – Goiás.

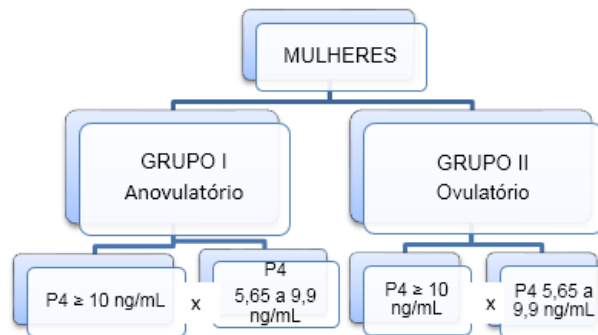
Data collection was held in physical records stored in the Medical Office Management System (SAMIS) and electronic ones from the database Sisfert© (Approbató, 2004) started after approval by the Human Research Ethics Committee HC/UFG.

Women who had been evaluated by ultrasound and had presented both regular progesterone dosing and ovulatory cycles were included; women with FSH levels above 9.9 mIU/mL (basal FSH = 1.4 to 9.9 mIU/mL) were excluded (Roberts et al., 2008) TSH higher than 4.7 (basal = 0, 4 and 5 mIU/L) (Roberts et al, 2008; Garber et al, 2012), with the Polycystic Ovarian Syndrome with oligomenorrhea or amenorrhea, users of some medicine that would interfere with ovulation and women under 20 and over 40.

The patients were divided into two groups according to the ovulatory state determined by transvaginal ultrasound monitoring: Group I (n=74) anovulatory, comprising women who had P4 5.65 - 9.9 ng/ml and lack of follicular collapse evaluated by monitoring with intravaginal US. Group II (n=228) ovulatory, consisted of women with levels of P4 \geq 10 ng/mL and follicular collapse evaluated by monitoring through US (ASRM, 2012). In those groups, two groups were evaluated to obtain the percentage of patients with normal ovulatory progesterone (\geq 10 ng/mL) and the percentage of patients with low progesterone (5.65 to 9.9 ng/mL) considered in the research as LUF. Those groups were paired for comparison in what related to age, body mass index, duration of infertility, Follicle

Stimulating Hormone - FSH (ng/mL), Thyroid-stimulating Hormone - TSH (mIU/mL), Luteinizing Hormone - LH (mIU/mL) Estradiol (E₂) (pg/mL), according to Table 1.

The statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 20.0 (Statistical Packages for Social Sciences, USA) and the Bioestat (version 5.3). We used the Chi-square test with a confidence interval (95%) and $p=0.05$ for significance level (Approbato, 2010). Where the statistical analysis weren't performed, we calculated the mean value and the standard deviation of the variables under study.



The flow diagram (Figure 1) shows the design of this study.

RESULTS

The results obtained are presented as follows, in tables. The comparability of the two populations studied is shown in Table 1. Comparability tests did not show statistically significant differences ($p>0.05$).

It is observed in Table 2 there was a significant association between the percentage of ovulation through ultrasound and the percentage of patients who had low progesterone levels (OR=0.353); IC (95%): 0.191 – 0.649. $P=0.001$.

DISCUSSION

This research has shown that low P4 levels are associated with significant decrease in ovulation in infertile women with regular cycles, women with unexplained infertility. This fact can be explained by Mesen (2015) when reporting that a defected luteal phase may decrease P4 levels and the fertility in women.

It's interesting to highlight that, despite the pulsatile release of P4, their low levels due a single dosage may not always indicate ovulatory disorders (Mohan, 2005; ASRM, 2008; ASRM, 2012). On the other hand, this present study observed ovulatory changes confirmed by monitoring through ultrasound in 42.1% of women who presented low P4.

Researches which evaluate P4 values in women with regular cycles are unusual (Fatemi, 2009; Yong, 2010). This research evaluated P4 levels in this group of women. While normal P4 values are related to regular cycles and ovulation, lower values may reflect the presence of unruptured luteinized follicle (LUF) (Schliep, 2014).

In a study by Litwack (2001) the ovulatory status was evaluated considering the P4 levels for three menstrual cycles in 543 patients with infertility history longer than two years. From the population studied so far, 461 (90.2%) had normal ovulatory cycles confirmed by ultrasound monitoring, 50 (9.8%) had anovulatory cycles. In this study, values considered suggestive of ovulation were the ones with levels of $P4 > 8\text{ng/ml}$, and P4 levels $< 8\text{ng/mL}$ were considered low values. Out of the population being studied, 292 women (63.9%) had normal P4 and 165 (36.1%) low P4. From the group with P4 apparently normal, 7.2% of women got pregnant when compared to 3.6% of women with low P4. The research showed significant reduction ($p < 0.001$) in the fertility of patients with low progesterone. It also corroborates this research.

Hamilton et al. (1987), in order to study ovulation disorders, evaluated 201 ovulatory cycles in 170 infertile women by measurement of ovarian follicles through ultrasound and P4 levels. In the study was observed the presence of LUF in 71% of the cycles in which the P4 levels were lower than 10ng/ml, and in 7.9% of cycles in which P4 levels were higher than 10ng/ml. These data corroborate the results of the present study which also found LUF in cycles (20.4%) wherein P4 levels were over 10ng/ml.

Essia et al (1987) studied ovulatory cycles in 45 subfertile women and they found LUF in 19% of cycles, but neither reported P4 values that were used to determine LUF nor highlighted the monitoring of the ovulatory follicle through US.

The sensitivity and specificity of diagnostic methods of ovulation were evaluated by Jordan et al. (1994) and Mesen (2015), wherein it was observed that P4 levels stand out among other evaluating methods, including the endometrial biopsy.

This study showed an association between anovulation through ultrasound and low levels of P4.

CONCLUSION

The study suggests that low progesterone levels are associated with the reduction in the percentage of ovulation in infertile women with regular menstrual cycles and women with unexplained infertility. The number (n) of women used in the research favors greater emphasis on results found.

REFERÊNCIAS

Al-Asmakh M. Reproductive function of progesterone. Middle East Fertility Society J. 2007; 12(3):147-152.

AL-MOUSHALY A. Recent acquisitions in the medical treatment of infertility caused by Chlamydia Trachomatis. J Medicine and Life, 2013; 6(2): 168-170.

Approbato MS. Software Sisfert. 2013.v 2.0.

Arce JC, Balen A, Platteau P, Pettersson G, Andersen AN. Mid-luteal progesterone concentrations are associated with live birth rates during ovulation induction. Reproduct BioMedicine Online. 2011; 22(5): 449–456.

ASRM - American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. Fertil Steril. 2012; 98 (2): 302-7.

ASRM - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. Fertility and Sterility. 2015; 103 (4): 27–32.

Eissa MK, Sawers RS, Docker MF. Characteristics and incidence of dysfunctional ovulation patterns detected by ultrasound. Fertil. Steril. 1987; 4(7): 603-612.

Fatemi HM. Assessment of the luteal phase in stimulated and substituted cycles. F, V & V in ObGyn. 2009; 1(1): 30-46.

Guttmacher AF. Factors affecting normal expectancy of conception. J Am Med Assoc. 1956; 16: 855–864.

Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein, I, Mechanick JI, Pessah-Pollack R, Singer PA, Woeber KA. Clinical Practice Guidelines for Hypothyroidism in Adults: Cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract.* 2012;18(6):1-45.

Garzia E, Borgato S, Cozzi V, Doi P, Bulfamante G, Persani L. And Cetin, I. Lack of expression of endometrial prolactin in early implantation failure: a pilot study. *Human Reproduction.* 2004; 19(8): 1911–1916.

Gonçalves J. Avaliação do casal infértil. *Rev Port Clin Geral.* 2005; 21:493-503.

Goswami B, Patel S, Chatterjee M, Koner BC, Saxena A. Correlation of Prolactin and Thyroid Hormone Concentration with Menstrual Patterns in Infertile Women. *Journal of Reproduction & Infertility.* 2009; 10(3): 207-12.

Hamilton CJCM, Evers JLH, Haan J. Ovulatory disturbances in patients with luteal insufficiency. *Clin. Endocrinol.* 1987; 26: 129–136.

Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR, Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertility and Sterility.* 1994; 62(1):54-6.

Ke RW. Endocrine Basis for Recurrent Pregnancy Loss. *Obstetrics & Gynecology Clinics of North America.* 2014; 41: 103–112.

Litwack, G. Vitamins and hormones. San Diego: Elsevier, 2001.

Lynch KE, Mumford SL, Schliep KC, Whitcomb BW, Zarek SM, Pollack A Z, Bertone-Johnson ER, Danaher M, Wactawski-Wende J, Gaskins AJ, Schisterman EF. Assessment of anovulation in eumenorrheic women: comparison of ovulation detection algorithms. *Fertility and Sterility.* 2014. 102(2): 511-8.

Mardesic T. Unruptured luteinized follicle syndrome. *Zentralbl Gynakol.* 1990; 112 (18):1133-41.

McLaren JF. Infertility Evaluation. *Obstet Gynecol Clin N Am.* 2012; 39: 453–63.

Mesen TB, Young SL. Progesterone and the Luteal Phase: A Requisite to Reproduction. *Obstetrics & Gynecology Clinics of North America.* 2015; 42:135–151.

Mohan BS. Mid-luteal phase plasma progesterone levels in spontaneous and clomiphene citrate induced conception cycles. *J Obstet Gynecol India.* 2005;55(4): 350-52.

Moreira RO. Fisiologia do Sistema reprodutor feminino. In: Wajchenberg BL, Larario, AC, Betti RTB. *Tratado de Endocrinologia Clínica.* 2.ed. São Paulo: AC Farnacêutica, 2014. p.636-654.

Ministério da Saúde (BR). Média e alta complexidade: média complexidade reprodução humana assistida [Internet]. Brasília (DF), 2009. [citado 2015 Ago 25]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/sas/mac/area.cfm?id_area=832.

Olive DL, Palter SF. Fisiologia Reprodutiva. In: BEREK, J.S. Berek e Novak: Tratado de Ginecologia. 2014. 15 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan.

Olooto WE, Amballi AA, Banjo TA. A review of Female Infertility; important etiological factors and management. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 2012; 2(3): 379-385.

Rajrovic A, Pangas SA., Matzuk, M.M. Follicular development: Mouse, Sheep, and Human Models In:Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Chapter 10. (Third Edition).2006.1: 383-424.

Roberts WL, Mcmillin GA, Burtis CA, Bruns DE. Reference information for the clinical laboratory. In: In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Sawyer BG. Tietz Fundamentals Clinical Chemistry. 6 ed. Philadelphia, PA. Elsevier, 2008.

Roussev RG, Coulam BC. HLA-G and its role in implantation (review). *J Assist Reprod Genet.* 2007; (24): 288 – 295.

Schliep KC, Mumford SL, Hammoud AO Luteal phase deficiency in regularly menstruating women: prevalence and overlap in identification based on clinical and biochemical diagnostic criteria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(6): 1007–14.

Sonntag B, Ludwig M. An integrated view on the luteal phase: diagnosis and treatment in subfertility. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012; 77(4):500–7.

Van Zonneveld P, Te Velde ER, Koppeschaar HPF. Low luteal phase serum progesterone levels in regularly cycling women are predictive of subtle ovulation disorders. *Gynecological Endocrinology.*1994; (8): 169-174.

Young SL, Lessey BA. Progesterone function in human endometrium: clinical perspectives. *Semin Reprod Med.* 2010; 28:5–16.

WHO – world healthy organization. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellouws HJ. WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of them infertile couple. New York. USA. 1993.

Table 1: Distribution of patients according to comparability (confounding variables) of LUF and Non-LUF groups. LabRep HC-UFG / Mater Clinic, Goiania 2000-2014.

General features	LUF (n=74)	Não-LUF (n=228)	p
Age	31,54±4,71	31,85±4,21	0,32
BIM	24,83±3,85	23,88±3,93	0,07
LH	4,56±6,51	4,61±2,74	0,06
FSH	6,26±1,45	5,98±1,68	0,07
TSH	2,50±0,93	2,16±1,19	0,75
Estradiol (E ₂)	51,84±35,82	54,34±51,09	0,12
Duration of infertility	67,61±47,81	64,17±46,95	0,28

BIM (Body Mass Index); LH (luteinizing hormone) FSH (Follicle Stimulating Hormone); TSH (thyroid-stimulating hormone)

Table 2: Distribution of the second ovulation for patients P4 levels (normal and 5.65 -9.9 ng/ml) of LabRep HC - UFG / Mater Clinic. Goiania, 2000-2014.

LUF (P4)	Ovulation (US)	Anovulation (US)	Total	X ²	p
Group I (LUF)	50 (20,4%)	24 (42,1%)	74	11,76	0,001
Group II (No LUF)	195 (79,6%)	33 (57,9%)	228		
Total	245	57	302		

P4 (progesterone); X² (chi-square value). Group I - LUF (P4 5.65 - 9.9 ng / ml); Group II - No LUF (P4 ≥ 10 ng / ml). IC 95% (0.191 - 0.649). OR (odds ratio) = 0.353

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que:

- A prolactina moderadamente elevada é capaz de alterar a porcentagem de pacientes ovulatórias segundo a avaliação pelos níveis de P4 plasmáticas.
- Ao avaliarmos a associação entre níveis baixos de progesterona e anovulação observamos diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados.

Para tanto, novos estudos, principalmente ensaios clínicos randomizados, deverão ser realizados para estabelecer pontos de corte dos níveis de prolactina e progesterona que interfiram na função ovulatória e causam da infertilidade.

O estabelecimento dos pontos de corte pode possibilitar aumento na expectativa de gravidez através do tratamento precoce da hiperprolactinemia moderada e da progesterona baixa das mulheres atendidas no serviço de reprodução humana da UFG e em outros serviços.

6 REFERÊNCIAS

ABALOVICH, M. et al. Overt and subclinical hypothyroidism complicating pregnancy. **Thyroid**, v. 12, n. 1, p.12:63–8, 2002.

DE GROOT, L. et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and post partum: an Endocrine Society Clinical Practice guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 8, p.41–47, 2007.

AGBOOLA. A. Textbook of Obstetrics and Gynaecology, Heinman Educational Books, Ibadan, v.1, p.174- 176, 2004.

AIUREMMA, R.S.; PERONE, Y.; COLAO, A. Tratamento dos prolactinomas. In: VILAR, et.al. **Endocrinologia Clínica**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

ALAN, F.; GUTTMACHER, M.D. Factors affecting normal expectancy of conception **JAMA**, v. 161, n. 9, p. 855-860,1956.

AL-ASMAKH, M. Reproductive function of progesterone. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 12, n. 3, p. 147-152, 2007.

AL-MOUSHALY, A. Recent acquisitions in the medical treatment of infertility caused by Chlamydia Trachomatis. **J Medicine and Life**, v. 6, n. 2, p. 168-170, 2013.

AMAR, A.P.; WEISS, M.H. Pituitary anatomy and physiology. **Neurosurgery Clinics of North America**, v. 14, n. 1, p.11-23, 2003.

APPROBATO, M.S. **Software SISFERT ver. 2.0**, 2013.

ARCE, J. C. et al. Mid-luteal progesterone concentrations are associated with live birth rates during ovulation induction. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 22, n. 5, p.449–456, 2011.

ARMSTRONG S, AKANDE V. What the best treatment option for infertility women aged 40 and over? **J Assist Repro Genet**. v. 30, p. 667-671, 2013.

ARON, Q.C.; FINDLING, J.W; TIRRELL, J.B. Hipotálamo e hipófise. In: GREENSPAN, F.S.; GARDNER, D.G. **Endocrinologia Básica e Clínica**. 7ed. Artmed. São Paulo, 2006.

ASA, S. L. et al. Pituitary lactotroph adenomas develop after prolonged lactotroph hyperplasia in dopamine D2 receptor- deficient mice. **Endocrinology**, v. 140, n. 11, p. 5348-55, 1999.

ASRM - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical relevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 5, p. 1112–7, 2012.

ASRM - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Infertility: An Overview. A Guide for Patients Revised, 2012.

ASRM - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Progesterone supplementation during the luteal phase and in early pregnancy in the treatment of infertility: an educational bulletin. **Fertility and Sterility**, v. 89, n. 4. p. 789-92, 2008.

ASRM - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. **Fertility and Sterility**, 2015. v.103, n.4, p. 27–32.

ASRM - American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 98, n. 2, p. 302-7, 2012.

AUBUCHON, J. et al. Infertilidade e técnicas de reprodução assistida. In: BEREK, J.S. **Berek e Novak: Tratado de Ginecologia**. 15 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2014.

AURIEMMA, R. S.; PERONE, Y; COLAO, A. Tratamento dos prolactinomas. In: VILAR, et.al. Endocrinologia Clínica. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

BACHELOT, A; BINART, N. Reproductive role of prolactin. **Reproduction**. v. 133, n. 2, p. 361–9, 2007.

BACKMAN, C.R.B. et al. **Ginecologia e Obstetrícia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2012.

BAKER, V.L; SCHILLINGS, W.J.; MCCLAMROCK, H.D. Amenorreia. In: BEREK, J.S. **Berek e Novak: Tratado de Ginecologia**. 15 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2014.

BARBIERI, R.L. The endocrinology of the menstrual cycle. **Methods in Molecular Biology**, v. 1154, p.145–69, 2014.

BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. **Theriogenology** , v. 52, n. 1, p. 115-130, p. 1999.

BERGA, S.; NAFTOLIN, F. Neuroendocrine control of ovulation. **Gynecological Endocrinology**. v. 28, p. 9-13, 2012.

BRAIDE, A. S. et. al. Gonadotrophic Hormones, Progesterone and Prolactin Levels among Infertile Women Attending University of Port Harcourt

Teaching Hospital. **European Journal of Scientific Research**. v.57, n.2, p.366-372, 2011.

BOIVIN, J.; BUTING, L.; COLLINS, J.A. and NYGREN, K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. **Human Reproduction**. v. 22, n. 6, p. 1506-1512, 2007.

BOUTZIOS, G.; KARALAKI, M.; ZAPANTI, E. Common pathophysiological mechanisms involved in luteal phase deficiency and polycystic ovary syndrome: Impact on fertility. **Endocrine** v. 43, n. 2, p. 314–7, 2013.

BULUN, S.E.; ADASHI, E.Y. Fisiologia e patologia do eixo reprodutivo feminino. In: KRONENBERG, H.M.; MELMED, S.; POLONSKY, K.S.; LARSEN, P.R. **Williams Tratado de Endocrinologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

CASANUEVA, F. F. et. al. Guidelines of the Pituitary Society for the diagnosis and management of prolactinomas. **Clinical Endocrinology**, v. 65, n. 2, p. 265-73, 2006.

CIECHANOWSKA, M. et al. Neuroendocrine regulation of GnRH release and expression of GnRH and GnRH receptor genes in the hypothalamus-pituitary unit different physiological states. **Reproduction biology**. v. 10, n. 2, p. 85-124, 2010.

COOPER-HILBERT, B. Helping couples through the crisis of infertility. **Clinical update: The American Association for Marriage and Family Therapy**. v. 3. p. 1-6, 2001.

CRAWFORD, J. L. et al. Prolactin acts on the hypothalamic–pituitary axis to modulate follicle-stimulating hormone gene expression in the female brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 171, p. 39–45, 2011.

CREUS, M. et al. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. **Human Reproduction**, v. 18, n. 4, p. 683-93, 2003.

CROSIGNANI, P. G. Management of hyperprolactinemic infertility. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 17, p. 63–69, 2012.

CSAPO, A.I. et al. The significance of the human corpus luteum in pregnancy maintenance. **Am J Obstet Gynecol** 1972;112(8):1061–7.

CUNHA-FILHO, J. S. et al. Physiopathological Aspects of Corpus Luteum Defect in Infertile Patients with Mild/Minimal Endometriosis. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. ,20 n. 3, p. 117-121, 2003.

DANILUK, J. Reconstructing their lives: A longitudinal, qualitative analysis of the transition to biological childlessness for infertile couples. **Journal of Counseling & Development**, v. 79, p. 439-449, 2001.

DAY, R. N. et al. Selective inhibition of prolactin gene transcription by the ETS-2 repressor factor. **Journal of Biology Chemical**, v. 273, n. 48, p.3109-15, 1998.

DE GROOT, L. et al. Management of Thyroid Dysfunction during Pregnancy and Postpartum: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v.97, n.8, p.2543–2565, 2012.

DUVILANSKI, B. H. et al. Role of nitric oxide in control of prolactin release by the adenohypophysis. **Physiology**, v.92, p.170-174, 1995.

ESPEY, L. L.; RICHARDS, A. S. Ovulation. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3ª ed. New York: Elsevier. 2006.

FADDY, M. J. et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. **Hum Reprod**, v. 7, p. 1342-6, 1992.

FAHIE-WILSON, M.; SMITH, T. P. Determination of prolactin: The macroprolactin Problem. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 27, p.725–742, 2013.

FERREIRA, J. A. S.; WEHBA, S. Avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-ovário (HT-HP-OV). In: CARVALHO et al. **Tratado de Ginecologia da Febrasgo**. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001.

FERRIANI, R. A. Neuriendocrinologia do ciclo menstrual. In: BUSSO, N.E.; ACOSTA, A.A.; REMOHI, J. **Indução de Ovulação**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

FREEMAN, M. E.; KANYICKSKA, B.; LERANT, A. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. **Physiological Reviews**, v. 80, p.1523-631, 2000.

FRITZ, M. A.; SPEROFF, L. **Clinical gynecologic endocrinology and infertility**. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins. 2012.

GARBER, J.R.; COBIN, R.H; GHARIB, H.; HENNESSEY, J.V.; KLEIN, I.; MECHANICK, J.I.; PESSAH-POLLACK, R.; SINGER, P.A.; WOEBER, K.A.; Clinical Practice Guidelines for Hypothyroidism in Adults: Cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. **Endocr Pract**. 2012;18(6):1-45.

GARZIA, E. et al. Lack of expression of endometrial prolactin in early implantation failure: a pilot study. **Human Reproduction**. v. 19, n. 8, p. 1911–1916, 2004.

GLEZER, A. et al. Adeno-hipófise. In: WAJCHENBERG, B.L.; LARARIO, A.C., BETTI, R.T.B. Tratado de Endocrinologia Clínica. 2.ed. São Paulo: AC Farmacêutica, 2014.

GOFFIN, V. et al. Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. **Endocrine Reviews**, v. 26, p.400–422, 2005.

GOSWAMI, B. et al. Correlation of Prolactin and Thyroid Hormone Concentration with Menstrual Patterns in Infertile Women. **Journal of Reproduction & Infertility**, v. 10, n. 3, p. 207-12, 2009.

GOSWAMY, R. Ultrasound in assisted conception. In: BRINSDEN P. R. **Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction**. 3 ed., 688p. 2005.

GRATTAN, D. R.; KOKAY, I. C. Prolactin: A Pleiotropic Neuroendocrine Hormone. **Journal of Neuroendocrinology**. v. 20, p. 752–763, 2008.

GRATTAN, D. R.; TISSIER, P. L. Hypothalamic Control of Prolactin Secretion, and the Multiple Reproductive Functions of Prolactin. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. Chapter 12. 4^a ed., vol 1, p.469–526 2015.

GRONOWSKY, A. M. Reproductive disorders. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D.E.; SAWYER, B.G. **Tietz Fundamentals Clinical Chemistry**. 6 ed. Philadelphia, PA. Elsevier, 2008.

GROSDÉMOUGE, I. et al. Effects of deletion of the prolactin receptor on ovarian gene Expression. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 1, p. 12, 2003.

GUNIN, A. G. The role of prolactin in realization of estradiol action in the uterus of ovariectomized rats. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v.64, p. 119-127, 1996.

HAUACHE, O. M. et al. Screening for macroprolactinaemia and pituitary imaging studies. **Clinical Endocrinology**, v. 57, n. 3, p. 327–331, 2002.

HILL, M. J. et al. Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: a systematic review and meta-analysis. **Fertility and Sterility**, v. 100, n. 5, p. 1373-80, 2013.

JORDAN, J. et al. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. **Fertility and Sterility**, v. 62, n. 1, p. 54-6, 1994.

KALSUM, A.; JALALI, S. Role of hiperprolactinemia in fertility. **Pakistan Journal of Medical Research**, v. 41, n. 3, p. 94-100, 2002.

KE, R. W. Endocrine Basis for Recurrent Pregnancy Loss. **Obstetrics & Gynecology Clinics of North America**, v. 41, p. 103–112, 2014.

KHODR, C. E. et al. Long-term, homologous prolactina, administered through ectopic pituitary grafts, induces hypothalamic dopamine neuron differentiation in adult snell dwarf mice. **Endocrinology**, v. 149, n. 4, p. 2010-18, 2008.

KOSTRZAK, A.; MECZEKALSKI, B. Macroprolactinaemia. **PoI Merkur Lekarski**, v.29, n. 169, p.47-9, 2010.

KRUGER, T. H. et al. Prolactin secretory rhythm in women: immediate and long-term alterations after sexual contact. **Human Reproduction**, v. 27, n. 4, p. 1139–1143, 2012.

LACASSE, P. et al. Effect of the prolactin-release inhibitor quinagolide on lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1302-9, 2011.

LACASSE, P. et al. New developments on the galactopoietic role of prolactin in dairy ruminants. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 2, p. 154-60, 2012.

LARSEN, U. Research on infertility: which definition should we use? **Fertil Steril**, v. 83, 2005.

LAREN, P. R. et al. Fisiologia da tireoide e avaliação diagnóstica de pacientes com doenças tireoidianas. In: KRONENBERG, H.M.; MELMED, S.; POLONSKY, K.S.; LARSEN, P.R. **Williams Tratado de Endocrinologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

LASS, A. Patient selection and management. In: BRINSDEN, P.R. **Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction: The bourn hall guide to clinical and laboratory practice**. 3 ed. Taylor & Francis, 2005.

LI, R. H. W; YU NG, E. H. Management of anovulatory infertility. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 26, p. 757–768, 2012

LITWACK, G. **Vitamins and hormones**. San Diego: Elsevier, 2001.

LUTZ, H.; BUSCARINI, E. **WHO manual of diagnostic ultrasound**. 2 ed., p.1-175. 2011.

LYNCH, K .E. et al. Assessment of anovulation in eumenorrheic women: comparison of ovulation detection algorithms. **Fertility and Sterility**, v. 102, n. 2, p. 511-8, 2014.

MACÉA, J.R.; MACÉA, M.I.M; BUSSO, N.E. Função ovariana. In: BUSSO, N.E.; ACOSTA, A.A.; REMOHI, J. **Indução de Ovulação**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

MAJUMDAR, A.; MANGAL, N. Hyperprolactinemia. **Journal of Human Reproductive Sciences**, v. 6, n. 3, p. 168-175. 2013.

McNEILLY, A. S.; LAND, R. B. Effect of suppression of plasma prolactin on ovulation, plasma gonadotrophins and corpus luteum function in LH-RH-treated anoestrous ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 56, p. 601-09, 1979.

MANN MAH, P.; WEBSTER, J. Hyperprolactinemia: Etiology, Diagnosis, and Management. **Seminars in Reproductive Medicine**. v. 20, n. 4, p. 365-74, 2002.

MATSUZAKI, T. et al. Mechanism of anovulation in hyperprolactinemic amenorrhea determined by pulsatile gonadotropin-releasing hormone injection combined with human chorionic gonadotropin. **Fertility Sterility**. v.62, p. 1143–1149, 1994.

MELMED, S. et al. Diagnosis & Treatment of Hyperprolactinemia: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline **Journal Clinical Endocrinology Metab.** v. 96, p. 273–288, 2011.

MELMED, S.; KLEINBERG, D.; Anterior Pituitary. In: KRONENBERG, H. M. MELMED, S.; POLONSKY, K.S.; LARSEN, P.R. **Williams Tratado de Endocrinologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MESEN, T.B.; YOUNG, S.L. Progesterone and the Luteal Phase: A Requisite to Reproduction. **Obstetrics & Gynecology Clinics of North America**, v. 42, p.135–151, 2015.

MOHAN, B. S. Mid-luteal phase plasma progesterone levels in spontaneous and clomiphene citrate induced conception cycles. **J Obstet Gynecol India** v. 55, n. 4, 2005.

MOLITCH, M. E. Prolactinoma in pregnancy. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 25, p.885–896, 2011.

MOREIRA, R. O. Fisiologia do Sistema reprodutor feminino. In: WAJCHENBERG, B. L; LARARIO, A. C., BETTI, R. T. B. **Tratado de Endocrinologia Clínica**. 2.ed. São Paulo: AC Farnacêutica, 2014.

MURDOCH, W. J. et al. Mechanisms and pathobiology of ovulation. **Soc Reprod Fertil Suppl.** v. 67, p. 189-201, 2010.

NAWROTH, F. Hyperprolactinaemia and the regular menstrual cycle in asymptomatic women: should it be treated during therapy for infertility? **Reproductive BioMedicine Online**, v. 11, n. 5, p. 581–588, 2005.

NITSCHKE-DABELSTEIN, S.; HACKEIOER, B. J.; STURM, G. Ovulation and corpus luteum formation observed by ultrasonography. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 7, p. 33-39. 1981.

OLIVE, D. L.; PALTER, S. F. Fisiologia Reprodutiva. In: BEREK, J.S. **Berek e Novak: Tratado de Ginecologia**. 15 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2014.

OLOOTO, W. E.; AMBALLI, A. A.; BANJO, T. A. A review of Female Infertility; important etiological factors and management. **J. Microbiol. Biotech. Res.**, 2012, v.2, n. 3, p.379-385, 2012.

OUT, H. J. Uso de gonadotrofinas na anovulação crônica. In: In: BUSSO, N.E.; ACOSTA, A.A.; REMOHI, J. **Indução de Ovulação**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

PARIJATHAM, S.; SAIKUMAR, P. Prolactin in Primary Female Infertility in Rural Population. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 5, n. 4, p. 947-950, 2014.

PETERSON, B.; NEWTON, C.; ROSEN, K. Examining congruence between partners' perceived infertility-related stress and its relationship to marital adjustment and depression in infertile couples. **Family Process**, v. 42, p. 59-70, 2003.

PUSCHECK, E. Ultrasound in Infertility US. **Obstetrics & Gynecology**. v. 3, n. 1, p. 50-52, 2008.

ROBERTS, W. L. et al. Reference information for the clinical laboratory. In: In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D.E.; SAWYER, B.G. **Tietz Fundamentals Clinical Chemistry**. 6 ed. Philadelphia, PA. Elsevier, 2008.

ROTTERDAM ESHRE/ASRM-SPONSORED PCOS CONSENSUS WORKSHOP GROUP. Revised 2003 consensus diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, v. 81, n. 1, p. 19–25 2004.

ROSEN, M.; CEDARS, M. I. Endocrinologia reprodutiva feminina e infertilidade. In: GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Endocrinologia Básica e Clínica**. 7ed. Artmed. São Paulo, 2006.

ROUSSEV, R. G.; COULAM, B. C. HLA-G and its role in implantation (review). **J Assist Reprod Genet**, n. 24, p. 288 – 295, 2007.

ROWE, P. J. et al. **WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of them infertile couple**. New York. USA. 1993.

SADIDEEN, H; SWAMINATHAN, R. Macroprolactin: what is it and what is its importance? **Clinical Practice**, v. 60, n. 4, p.457–461, 2006.

SCHLIEP, K. C. et al. Luteal phase deficiency in regularly menstruating women: prevalence and overlap in identification based on clinical and

biochemical diagnostic criteria. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v. 99, n. 6, p. 1007–14, 2014.

SCHMILLEVITCH, J. et al. Monitorização ultrassonográfica do ciclo ovulatório. In: BUSO, N.E.; ACOSTA, A.A.; REMOHI, J. **Indução de Ovulação**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

SINHA, Y. N. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. **Endocr Rev**, v. 16, p. 354-69. 1995.

SONIGO, C. et al. Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 10, p. 3791-5, 2012.

SONNTAG, B.; LUDWIG. M. An integrated view on the luteal phase: diagnosis and treatment in subfertility. **Clinical Endocrinology**, v. 77, n. 4, p. 500–7, 2012.

SPENCER, C. A. et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. **Jornal Clinic Endocrinology Metabolism**, v.70, p.453-60, 1990.

TAWFIQ, I. N. Correlation between Levels of Serum Prolactin and Total Sialic Acids Concentrations in Fertile and Infertile Women. **Journal of Al-Nahrain University**, v.16, n. 2, p. 145-150, 2013.

TOGNOTTI, E.; HAYASHIDA, S. A. Y. Hiperprolactinemias e Hirsutismo. In: In: BUSO, N. E.; ACOSTA, A. A.; REMOHI, J. **Indução de Ovulação**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

VAN ZONNEVELD, P.; TE VELDE, E. R.; KOPPESCHAAR H. P. F. Low luteal phase serum progesterone levels in regularly cycling women are predictive of subtle ovulation disorders. **Gynecological Endocrinology**. v. 8, p. 169-174, 1994.

VILLANUEVA, L. A.; LARA, E. G. La prolactina y su participación en la regulación de la función ovárica. **Ginec Obst Mex**, v.66, p.512-516, 1998.

VILAR, L.; NAVES, L. A.; GADELHA, M. Armadilhas no Diagnóstico da Hiperprolactinemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, n. 4, p.347-357, 2003.

VILAR, L.; CASTELLAR, E. Hiperprolactinemia: Investigação diagnóstica e Tratamento. In: VILAR, L.; CASTELLAR E.; MOURA, E.; LEAL E., et al. **Endocrinologia clínica**, 1a ed. Rio de Janeiro: Medsi, p.3-20, 1999.

VILAR, L.; NAVES, L.A.; Avaliação diagnóstica da hiperprolactinemia. In: VILAR, L. et.al. **Endocrinologia Clínica**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

VIEIRA, J. G. H. Macroprolactinemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, p.45-50, 2002.

WHO – World Health Organization. ROWE PJ, COMHAIRE, F. H.; HARGREAVE, T. B.; MELLOUWS, H. J. **WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of them infertile couple**. New York. USA. 1993.

YEN, S. S. C.; JAFFE, R. R. **Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management**. Ed WB Saunders Company. 402p. 1991.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F. et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. **Fertility and Sterility**. v. 92, n. 5, p. 1520-4, Nov 2009.

7. ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência da elevação moderada de prolactina na ovulação de mulheres inférteis.

Pesquisador: Eliane Gouveia de Moraes Sanchez

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):
(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão:

CAAE: 34097814.2.0000.5078

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 782.199

Data da Relatoria: 28/08/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto de pós-graduação em Ciências da Saúde-nível doutorado,UFG.Estudo observacional do tipo caso-controle,a ser realizado no Laboratório de Reprodução Humana do HC-UFG e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia.A pesquisadora responsável tece considerações acerca das alterações de ovulação e as formas de as detectar,ressaltando a importância da questão da infertilidade.

Considerando a infertilidade,e seus possíveis fatores causais,o foco principal deste trabalho será mostrar se a elevação moderada da prolactina(hiperprolactinemia moderada)realmente interfere no perfil ovulatório de mulheres inférteis,através da análise dos prontuários físicos armazenados do SAMIS(Serviço de Arquivo Médico e Informações em Saúde) e eletrônicos disponibilizados pelo banco de dados(Sisfert) do Laboratório de Reprodução Humana do HC da UFG(LABREP/UFG)e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia.As pacientes serão classificadas de acordo com seu perfil ovulatório diagnosticados por critérios bioquímicos progesterona(P4) e Ultrassonografia(US).A hipótese é de que o perfil ovulatório de mulheres

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cepcufg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 782.199

inférteis com prolactina normal é igual ao perfil ovulatório de mulheres inférteis com elevações moderadas de prolactina, sendo o desfecho mostrar se a prolactina moderadamente elevada afeta o estado ovulatório das pacientes. Estudo não é multicêntrico. Tamanho da amostra no Brasil=200. Serão incluídas mulheres em estado reprodutivo, 20 a 40 anos, que realizarem consultas entre 2000 a 2012 no HC UFG e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia de rede particular em Goiânia, e que apresentarem dosagem do nível sérico de prolactina e de progesterona, avaliação feita por US, ciclos de menstruação regular. Serão excluídas mulheres com níveis de FSH superiores a 9,9 nUI/ml, portadoras de Síndrome do Ovário Policístico com oligomenorréia ou amenorréia, usuárias de medicamentos que interferem na ovulação e/ou medicamentos dopaminérgicos.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a influência dos níveis de prolactina na ovulação de mulheres inférteis do Laboratório de Reprodução Humana do HC UFG e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia. Secundariamente: estabelecer comparações entre anovulação vários níveis de prolactina através da análise dos níveis de progesterona e US; comparar o perfil ovulatório (aferido pelo US e progesterona) entre pacientes com prolactina maior do que 30 ng/ml, de 21-29 ng/ml e menor do que 20 ng/ml; avaliar a prevalência de prolactina moderadamente elevada em mulheres inférteis no serviço de Reprodução Humana do HC UFG e em um consultório de Ginecologia e Obstetrícia da rede particular em Goiânia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos, tendo em vista que somente serão utilizados os dados contidos nos prontuários das pacientes atendidas pelo Serviço, considerando os princípios de SIGILO E CONFIDENCIALIDADE assumidos pela pesquisadora.

Benefícios se relacionam ao avanço do conhecimento científico, contribuição como fonte bibliográfica para estudos futuros e ainda a possibilidade de intervenção precoce em mulheres que apresentarem níveis de prolactina moderadamente elevada e anovulação,

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pacientes serão classificados de acordo com o seu perfil ovulatório diagnosticado por critérios bioquímico (prolactina e progesterona) e ultrassonográficos, estratificados em grupos de anovulação ou ovulação, com correlação aos critérios bioquímicos e US. Análise retrospectiva, sem caráter intervencionista portanto. Dados serão coletados e posteriormente transferidos para uma planilha EXCEL (Microsoft Office Excel 2007) para realização da estatística-software SPSS (MR) (versão

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8426 E-mail: cepcufg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 782.199

18.0).Proporções serão comparadas pelo teste do Qui-quadrado.Teste de Wilcoxon será utilizado apenas para comparar as medianas da progesterona entre os diversos grupos.Onde não couber análise estatística será utilizado apenas avaliação descritiva.Os resultados serão considerados estatisticamente significativos ao nível de $p0.05$.

Ver demais considerações na apresentação do projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sugerido acolher pedido de dispensa do TCLE(22/05/14)

Termos de apresentação obrigatória adequados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não encontramos no presente estudo nenhum óbice ético que impeça a realização desta pesquisa.

Recomendamos sua aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas/UFG - CEP/HC/UFG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Após início, o pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, via Plataforma Brasil, relatórios trimestrais/semestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusões e publicações. O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 466/12 e suas complementares.

Situação: Protocolo aprovado.

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario CEP: 74.605-020
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 Fax: (62)3269-8426 E-mail: cephcufig@yahoo.com.br

Anexo 2 – Normas de publicação nas revistas

NORMAS DO ARTIGO 1

NORMAS DA REVISTA DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA - RAMB

Objetivo e política editorial

A Revista da Associação Médica Brasileira (RAMB), editada pela Associação Médica Brasileira, desde 1954, tem por objetivo publicar artigos que contribuam para o conhecimento médico. A RAMB é indexada nas bases de dados SciELO, Science Citation Index Expanded (SCIE), Scopus, Web of Science, Institute for Scientific Information (ISI), Index Copernicus, LILACS, MEDLINE e CAPES - QUALIS B2. Atualmente, a revista é produzida em seis edições por ano em versão on-line, de livre acesso na internet (www.ramb.org.br). Os artigos serão publicados na língua original em que foram submetidos (são aceitos manuscritos em português, inglês ou espanhol). O conteúdo integral da revista em língua inglesa é publicado simultaneamente à versão em português.

A RAMB aceita para publicação artigos nas seguintes categorias: Artigos Originais, Artigos de Revisão, Correspondências, Ponto de Vista, Panorama Internacional, À Beira do Leito e Imagem em Medicina. O Conselho Editorial recomenda fortemente que os autores leiam a versão on-line da RAMB e analisem os artigos já publicados como modelo para a elaboração de seus trabalhos.

Informações gerais

Como submeter artigos

Os artigos e correspondências deverão ser enviados somente via internet pelo seguinte endereço eletrônico: www.ramb.org.br. Basta a realização de um cadastro, seguido do envio do manuscrito, obedecendo as normas aqui descritas. Só serão aceitos artigos que, dentre seus autores, contenha, no mínimo, um médico.

Os artigos poderão ser escritos em português, espanhol ou na língua inglesa. Cada artigo, acompanhado de correspondência ao editor, deverá conter título, nome completo do(s) autor(es), instituição na qual o trabalho foi realizado e seção da revista à qual se destina.

O conteúdo do material enviado para publicação na RAMB não pode estar em processo de avaliação, já ter sido publicado, nem ser submetido posteriormente para publicação em outros periódicos. A critério do editor chefe, todos os artigos recebidos são revisados por membros do Conselho Editorial.

Ao preparar o manuscrito, os autores deverão indicar qual ou quais áreas editoriais estão relacionadas ao artigo, para que este possa ser encaminhado para análise editorial específica.

O Conselho Editorial recomenda que os autores façam uma busca por artigos relacionados ao tema e publicados anteriormente na RAMB ou em

outros periódicos indexados no SciELO, utilizando as mesmas palavras-chaves do artigo proposto. Estes artigos devem ser considerados pelos autores na elaboração do manuscrito com o objetivo de estimular o intercâmbio científico entre os periódicos SciELO.

O que acontece depois que o artigo foi submetido

Em virtude do grande número de artigos enviados, o Conselho Editorial adotou critérios de seleção para o processo de revisão por pares. A exemplo do que acontece com outros periódicos, a maior parte dos artigos submetidos não passa para a fase detalhada de avaliação que é a revisão por pares. Os critérios que o Conselho Editorial adotou para essa seleção inicial incluem o perfil editorial da revista e de seus leitores, área de interesse do tema principal do trabalho, título e resumo adequados, redação bem elaborada, metodologia bem definida e correta (incluindo, no caso de estudos clínicos, tamanho amostral, metodologia estatística e aprovação por Comitê de Ética), resultados apresentados de maneira clara e conclusões baseadas nos dados. Esse procedimento tem por objetivo reduzir o tempo de resposta e não prejudicar os autores. A resposta detalhada, elaborada pelos revisores, só ocorre quando o artigo passa dessa primeira fase.

No caso de rejeição, a decisão sobre a primeira fase de avaliação é comunicada aos autores em média duas a três semanas depois do início do processo (que começa logo após a aprovação do formato pelo revisor de forma). O resultado da revisão por pares contendo a aceitação ou a rejeição do artigo para publicação ocorrerá no menor prazo possível.

Embora existam rigorosos limites de tempo para a revisão por pares, a maioria dos periódicos científicos conta com o notável esforço e a colaboração da comunidade científica que, por ter muitas outras atribuições, nem sempre consegue cumprir os prazos. Ao receber o parecer dos revisores, os autores deverão encaminhar, em comunicado à parte, todos os pontos alterados do artigo que foram solicitados pelos revisores. Além disso, o texto contendo as alterações solicitadas pelos revisores deverá ser reencaminhado à RAMB na cor vermelha, devendo ser mantido e sublinhado o texto anterior.

A ordem de publicação dos artigos será cronológica, podendo, no entanto, haver exceções definidas pelo Conselho Editorial. Os trabalhos aceitos para publicação serão enviados aos autores e deverão ser revisados e devolvidos no prazo de dois dias, caso contrário o artigo será publicado em sua forma original. Após a aprovação final pelos autores NÃO será possível modificar o texto.

CORPO EDITORIAL

O Corpo Editorial da RAMB é composto pelo Editor Geral, Editores Associados, Editores Colaboradores e Conselho Editorial nas seguintes áreas: Clínica Médica, Clínica Cirúrgica, Saúde Pública, Pediatria, Ginecologia e Obstetrícia, Bioética, Cancerologia, Emergência e Medicina Intensiva, Medicina Farmacêutica e Medicina Baseada em Evidências. O Corpo Editorial será responsável pela revisão e aceitação ou não dos

artigos enviados à revista para publicação. O editor-chefe tem as prerrogativas que o cargo lhe confere para aceitar ou não qualquer artigo, independentemente da revisão por pares, assim como definir a edição de sua publicação.

Estilo e preparação de originais

O trabalho deverá ser redigido em corpo 12, no máximo em 15 laudas de 30 linhas cada, espaço 1,5 linha, com margem de 3 cm de cada lado, no topo e no pé de cada página. Todas as páginas, excluída a do título, devem ser numeradas.

Página título

Deverá conter:

- a) O título do trabalho, também na versão em inglês, deverá ser conciso e não exceder 75 toques ou uma linha.
- b) Nome, sobrenome do autor e instituição a qual pertence o autor.
- c) Nome e endereço da instituição onde o trabalho foi realizado.
- d) Carta de apresentação, contendo assinatura de todos os autores, responsabilizando-se pelo conteúdo do trabalho, porém apenas um deve ser indicado como responsável pela troca de correspondência. Deve conter telefone, fax, e-mail e endereço para contato.
- e) Aspectos éticos: carta dos autores revelando eventuais conflitos de interesse (profissionais, financeiros e benefícios diretos ou indiretos) que possam influenciar ou ter influenciado os resultados da pesquisa ou o conteúdo do trabalho. Na carta deve constar ainda, quando cabível, a data da aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição à qual estão vinculados os autores. É absolutamente obrigatório o envio, juntamente com o artigo, do termo de copyright, disponível no site da Ramb, devidamente assinado pelos autores, sem o qual o artigo não seguirá o seu fluxo normal de avaliação

Tópicos dos artigos

Os artigos originais deverão conter, obrigatoriamente, Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

Notas de rodapé

Apenas quando estritamente necessárias; devem ser assinaladas no texto e apresentadas em folha separada após a do resumo, com o subtítulo "Nota de rodapé".

AGRADECIMENTOS

Apenas a quem colabore de modo significativo na realização do trabalho. Deve vir antes das referências bibliográficas.

RESUMO/SUMMARY

O resumo, com no máximo 250 palavras, deverá conter objetivo, métodos, resultados e conclusões. Após o resumo deverão ser indicados, no máximo, seis Unitermos (recomenda-se o vocabulário controlado do DeCS – Descritores em Ciências da Saúde, publicação da BIREME – Centro Latino Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde). Para os termos em inglês recomenda-se o MeSH da base Medline. O Summary visa permitir a perfeita compreensão do artigo. Apresentar em folha separada e seguir o mesmo modelo do resumo: background, methods, results, conclusions. Deve ser seguido de keywords.

Artigos escritos em português devem conter, na segunda página, dois resumos: um em português e outro em inglês (Summary). Artigos escritos em espanhol devem apresentar resumos em inglês (Summary) e português. Os escritos em inglês devem conter resumo também em português.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas devem ser dispostas por ordem de entrada no texto e numeradas consecutivamente, sendo obrigatória sua citação. Devem ser citados todos os autores, totalizando seis; acima deste número, citam-se os seis primeiros seguidos de et al. O periódico deverá ter seu nome abreviado de acordo com a LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS do ano corrente, disponível também on-line nos sites: www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html ou www.nlm.nih.gov/citingmedicine ou, se não for possível, a Associação de Normas Técnicas (ABNT). Exemplos:

1. Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996;73:1006-12.
2. Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.
3. The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164-282-4.
4. Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.
5. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995.p.465-78.
6. Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL: www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm.
7. Leite DP. Padrão de prescrição para pacientes pediátricos hospitalizados: uma abordagem farmacoepidemiológica [dissertação]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 1998.

Referências de “resultados não publicados” e “comunicação pessoal” devem aparecer, entre parênteses, seguindo o(s) nome(s) individual (is) no texto. Exemplo: Oliveira AC, Silva PA e Garden LC (resultados não publicados). O autor deve obter permissão para usar “comunicação pessoal”.

CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS

As citações bibliográficas no texto devem ser numeradas com algarismos arábicos sobrescritos, na ordem em que aparecem no texto. Exemplo: Até em situações de normoglicemia⁶.

FIGURAS, TABELAS, GRÁFICOS, ANEXOS

No original deverão estar inseridos tabelas, fotografias, gráficos, figuras ou anexos. Devem ser apresentados apenas quando necessários, para a efetiva compreensão do texto e dos dados, totalizando no MÁXIMO TRÊS.

- a) As figuras, sempre em preto e branco, devem ser originais e de boa qualidade. As letras e símbolos devem estar na legenda.
- b) As legendas das figuras e tabelas devem permitir sua perfeita compreensão, independente do texto.
- c) As tabelas, com título e legenda, deverão estar em arquivos individuais.
- d) É preciso indicar, em cada figura, o nome do primeiro autor e o número da figura. Figuras e tabelas deverão ser numeradas separadamente, usando algarismo arábico, na ordem em que aparecem no texto.

ABREVIATÕES/NOMENCLATURA

O uso de abreviações deve ser mínimo. Quando expressões extensas precisam ser repetidas, recomenda-se que suas iniciais maiúsculas as substituam após a primeira menção. Esta deve ser seguida das iniciais entre parênteses. Todas as abreviações em tabelas e figuras devem ser definidas nas respectivas legendas. Apenas o nome genérico do medicamento utilizado deve ser citado no trabalho.

TERMINOLOGIA

Visando o emprego de termos oficiais dos trabalhos publicados, a RAMB adota a Terminologia Anatômica Oficial Universal, aprovada pela Federação Internacional de Associações de Anatomistas (FIAA). As indicações bibliográficas para consulta são as seguintes: FCAT – IFAA (1998) – International Anatomical Terminology – Stuttgart – Alemanha – Georg Thieme Verlag, Editora Manole.

NORMAS DO ARTIGO 2

Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida – JBRA

Instructions for Authors

GENERAL

INFORMATION

1. JBRA Assisted Reproduction (JBRA Assist Reprod) is the official publication by both the Brazilian Society of Assisted Reproduction (SBRA –www.sbra.com.br), the Latin America Network of Assisted Reproduction (www.redlara.com) and Pronúcleo - Brazilian Association of Embryologists destined to scientific-based and quarterly issued papers. It is designated to specialists and researchers in the health area, in particular to gynecologists, andrologists, biologists, urologists and embryologists. Basic and clinical studies in the areas of assisted reproduction, infertility, reproductive genetics, reproductive immunology, andrology, reproductive microbiology, laboratory in assisted reproduction and gynecological endocrinology will be accepted for evaluation in the form of original articles, reviews, update articles and case reports (as detailed below). Articles must be submitted in English.
2. Papers submitted to JBRA Assisted Reproduction must be original, that is, they cannot have been either published or submitted for analysis by other journals, partially or in the whole. In cases where the illustrations have been published previously, an authorization must be granted and the source cited.
3. The Instructions for Authors by JBRA Assisted Reproduction is comprised of the recommendations given by the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. The complete version of the text is available at www.icmje.org. Manuscripts not in accordance with the instructions presented herein will be returned for modifications to be made before the Editorial Board has evaluated them.
4. Every article published in JBRA Assisted Reproduction undergoes a review process by specialists (peer review). Submitted articles are primarily sent to editors for an initial evaluation as to the scope of the work and the editorial demands of the journal. In case of a positive evaluation, the article is then sent to two reviewers specialized in the appropriate area. Every process is anonymous, that is, reviewers are not aware of author's identity and place of origin and vice versa. After the articles are evaluated by reviewers, they can be accepted without alterations, refused or returned to authors along with suggestions for modifications. Each article may return to its author several times for

clarification and alteration, without necessarily meaning a future acceptance of the article.

5. The co-authorship concept connotes substantial contribution in the creation and planning of the paper, analysis and interpretation of data not to mention the writing and critical revision of the text. Significant contributions given to the study which do not fit these criteria must be cited in the acknowledgements section.
6. Clinical trials articles should be registered in the Clinical Trials Registry validated by the criteria established by the World Health Organization and by the International Committee of Medical Journal Editors (for instance, www.actr.org.au, www.clinicaltrials.gov, www.ISRCTN.org, www.umin.ac.jp/ctr/index/htm and www.trialregister.nl). The study identification number shall be presented at the end of the abstract.
7. For texts accepted for publication, a statement signed by all authors shall be sent to the journal, including the following information: a) the manuscript is original; b) the manuscript has not been previously published nor submitted to any other journal, and will not be published in case it is accepted by JBRA Assisted Reproduction; c) all authors have actively taken part in the preparation of the study and have approved of the final version of the text; d) situations on potential conflict of interests (either financial or of any other nature) are being informed; e) an approval of the study by the Ethics Committee of the institution to which the paper is linked was obtained (for articles reporting experimental research data); f) an informed consent by the patients included in the study was obtained (when applicable). All information on the approval of the study by the Ethics Committee and the possession of an informed consent should also be mentioned in the Methods section of the article.
8. Before the publication of accepted articles, the corresponding authors will receive the published article via e-mail attachment in a PDF archive for approval. At this point, corrections should be limited to typographic mistakes, without altering the content of the study. Authors should return approved papers by e-mail or fax 48 hours after receiving the message.

TYPES OF PUBLISHED ARTICLES

Original articles. Pieces of work resulting from scientific research presenting original data about experimental or observational aspects of medical, biological, biochemical and psychosocial character and including descriptive statistical analysis and/or inferences of own data. These articles have priority for publication. They must be composed of: title page, abstract and

keywords, text (divided in Introduction, Material and Methods, Results, Discussion or equivalent, Conclusion), acknowledgments (if applicable), references, tables (if available), figure legends (if available) and figures (if available).

Reviews. Papers whose aim is to summarize, analyze, evaluate or synthesize investigative papers already published in scientific journals. They must include a synthesis and critical analysis of the researched literature and cannot be confused with update articles. They must be composed of: title page, abstract and keywords, text, references, tables (if available), figure legends (if available) and figures (if available).

Update or opinion articles. Papers reporting usually current information on themes of interest to certain specialties (such as a new technique or method). They have different characteristics from reviews, since they do not display critical analysis of the literature. They must be composed of: title page, abstract and keywords, text, references, tables (if available), figure legends (if available) and figures (if available).

Case reports. Articles representing descriptive data of one or more cases, exploiting a method or problem through example(s). The selected cases should be of great interest, with unusual disease or evolution or submitted to unexpected or alternative treatments. They must involve humans or animals and should present the studied individual's characteristics (gender, age, etc.). They must be composed of: title page, abstract and keywords, text (divided in: Introduction, Case Description and Discussion or equivalent), references, figure legends (if available) and figures (if available).

Letters to the reader. Letters to the editor commenting, discussing or criticizing articles published in JBRA Assisted Reproduction will be welcome and published as long as they are accepted by the Editorial Board. They must be composed of: title, name of author, identification of the publication being commented on and references (if available). It is recommended to include 500 words at the most, references inclusive. Whenever possible, a reply by the authors will be published alongside with the letter.

COVER LETTER

You have to prepared a cover letter for your submission, explaining why we should publish your manuscript and elaborating on any issues relating to our editorial policies detailed in the instructions for authors, and declaring any potential competing interests. This should be provided using the 'cover letter' section of the submission process.

The cover letter have to carry the following information:

- Title

- Authors' names
- Authors' institutional affiliation, showing department/unit, institution and geographic region
- Name of the institution where the work was carried
- Name, mailing address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the corresponding author

PREPARATION OF ORIGINAL PAPERS

Preferably use Microsoft Word® processor. Papers should be typed in Times New Roman font sized 12, single-spaced and aligned to the left. Every section should be started on a new page in the following order: title page, abstract and keywords, text, acknowledgements, references, tables, figure legends and figures. All of the pages should be numbered consecutively.

Abbreviations should be spelled out in the first mention in the text; and after the first appearance, only the abbreviation should be used. In the abstract, the use of abbreviations should be avoided.

Chemicals should be presented by their generic name. If relevant, commercial name of the substance and the manufacturer's name must be informed in parentheses.

The presentation of units of measurements should follow the International System (IS).

Genes of animals should be presented in italics with capital letter initials (example: Sox2); genes of human beings should also be presented in italics; however, with all capital letters (example: SOX2). Proteins should follow the same pattern: capital/small, without italics, though.

Title Page

The title page should carry the following information:

- Concise and comprehensive title, representing the content of the article
- Short running head (no more than 40 characters including letters and spaces)
- Information about support given in the form of loan, equipment or drugs
- Congresses where the study was presented

Abstract

The content of the texts should not exceed 250 words.

For original articles, the abstract should be structured as follows: Objective, Methods, Results and Conclusion. For case reports, reviews and update articles, the abstract should not be structured. The use of abbreviations

should be avoided in the abstract, and references should not be cited. Right after the abstract, three to six keywords should be presented.

Acknowledgements

This part is dedicated to acknowledging the work of those who have helped intellectually, but whose contribution does not justify co-authorship or those people or institutions who have given material support.

References

In the text, the citations will be identified by the author's last name in parentheses followed by the publication year.

Examples: one author (Steptoe, 1978), two authors (Edwards & Steptoe, 1980), and more than two authors (Van Steirteghem et al., 1988).

The references should be presented in alphabetical order (each author's surname followed by his/her first two initials), and should not be numbered. Papers by the same author should be chronologically organized; papers by the same author in the same year should be identified with letters after each year (2000a, 2000b, etc.). The presentation of references will follow the format proposed in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (see examples below). All references cited in the list should be mentioned in the text and vice-versa.

1. Journal Article

Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol.* 1980;87:737-56.

2. Book

Wolf DP, Quigley MM, eds. *Human in vitro fertilization and embryo transfer.* New York: Plenum Press; 1984.

3. Book Chapter

Simpson JL. Gonadal dysgenesis and sex abnormalities: phenotypic-karyotypic correlations. In: Vallet HL, Porter IH, eds. *Genetic mechanisms of sexual development.* New York: Academic Press; 1979. p. 365-77.

4. Electronic Journal Article

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs [electronic journal].* 2002 June [cited 2002 aug 12];102(6):[approximately 3 p.]. Available at: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

5. Article published in the Internet

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-webbased interventions: a

meta-analysis of behavioral change outcomes. J Med Internet Res. 2004;6(4):e40. Available at: <http://www.jmir.org/2004/4/e40/>. Accessed: 29/11/2004.

6. **Site**

OncoLink [site in the Internet]. Philadelphia: University of Pennsylvania; c1994-2006. [updated 2004 Sept 24; cited 2006 March 14]. Available at: <http://cancer.med.upenn.edu/>.

7. **Software**

Smallwaters Corporation. Analysis of moment structures: AMOS [software]. Version 5.0.1. Chicago: Smallwaters; 2003.

Tables And Figures

Tables and figures (graphs, photographs, etc.) should be numbered in Arabic numerals according to the order in which they appear in the text and should have individual legends, presented at the end of the paper.

In the tables, use horizontal lines only, and each piece of information should be in an independent cell. Explanations about items in the tables should be presented in footnotes identified by the following symbols, in this sequence: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Figures must be submitted in electronic formats such as .jpg, .gif or .tif, with a minimum resolution of 300 dpi.

Photographs of patients should not allow their identification.

Figures previously published and included in submitted articles should include the original source in the legend and should be accompanied by a permission letter from the copyright's holder (publisher or journal).

SUBMISSION OF ARTICLES

To facilitate the articles publication, JBRA Assisted Reproduction prefers online submission. Manuscripts must be submitted by one of the authors of the manuscript, and should not be submitted by anyone on their behalf. The submitting author takes responsibility for the article during submission and peer review.

You will be also asked to provide the contact details (including email addresses) of potential peer reviewers for your manuscript. These should be experts in their field, who will be able to provide an objective assessment of the manuscript. Any suggested peer reviewers should not have published with any of the authors of the manuscript within the past five years, should not be current collaborators, and should not be members of the same research institution. Suggested reviewers will be considered alongside potential reviewers recommended by the Editor and/or Editorial Board members.

Shipping / article submission

Articles should be submitted preferably by email (journalsbra@cmb.com.br). Text and pictures should be sent as an attachment to the message. Figures (digital graphs and photographs) may be submitted as .jpg, .gif or .tif, with a minimum resolution of 300 dpi and a maximum size (the set of figures) 3 MB. If submission by email is not possible, two copies of text and pictures should be sent to the following address:

Dra. Maria do Carmo Borges de Souza

Editor of the Brazilian Journal of Assisted Reproduction

Barra Shopping Medical Center. Av. Das Américas, 4666, rooms 312/313

CEP 22649-900 _ Rio de Janeiro, RJ

Phone: (21) 2430.9060

Fax: (21) 2430.9070

<http://www.sbra.com.br>