

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS EFEITOS DE UM ANÁLOGO AGONISTA DO
HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS SOBRE A FUNÇÃO REPRODU-
TIVA

Aloisio José Bedone

Orientador: Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti

Este exemplar corresponde
à versão final da tese
apresentada em 18/12/85
pelo médico Aloisio José
Bedone.

José Aristodemo Pinotti
Presidente

Tese apresentada à Faculda-
de de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Título de Doutor.

1985

A

Dalva

Juliana

Rafaela

Renata

Muitas pessoas contribuíram para a realização deste trabalho. Agradeço, especialmente, a:

Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti

Prof. Dr. Aníbal Faúndes

Prof. Dr. Eduardo Lane

Prof. Dr. Hugo Sabatino

Prof. Dr. Jessé de Paula N. Jorge

Dr. Emílio Marussi

Dr. Marcelo Alvarenga

Dr. Marcos Tambascia

Enf. Paula Costa

Enf. Nádia M. Marchi

Secret. Márcia Marini

Secret. Ednéia de Almeida

Secret. Carlos Antonio Dias

Secret. Margarete Amado de Souza

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	40
MATERIAL E MÉTODOS	42
RESULTADOS	52
DISCUSSÃO	60
CONCLUSÕES	77
TABELAS E GRÁFICOS	78
BIBLIOGRAFIA	123

I N T R O D U Ç Ã O

INTRODUÇÃO

- I - O PAPEL DO HIPOTÁLAMO NA FUNÇÃO REPRODUTIVA

- II - INTERAÇÕES ENTRE AS GONADOTROFINAS E OS ESTERÓIDES SEXUAIS

- III - SÍNTESE DO GnRH E ANÁLOGOS

- IV - FARMACOLOGIA DO D-Ser (Tbu)₆ - EA10 - GnRH

- V - EFEITOS DO GnRH E ANÁLOGOS. EXPERIÊNCIAS CLÍNICAS
 - A - Experimentos com Antagonistas

 - B - Experimentos com GnRH e Agonistas

INTRODUÇÃO

I - O Papel do Hipotálamo na Função Reprodutiva

Uma grande parte das ações dos hormônios no organismo humano é regida pela produção das trofinas produzidas na hipófise. Por outro lado, a hipófise é controlada por substâncias denominadas neuro-hormônios, que são polipeptídeos elaborados nas células nervosas do diencéfalo.

Esses neuro-hormônios transitam pelos axônios (neurocrinia): uns se dirigem à neuro-hipófise como a vasopressina e a ocitocina; outros chegam até a adeno-hipófise (pelo sistema porta-hipofisária) por um mecanismo denominado hemocrinia. Esses últimos são conhecidos como "fatores de liberação" (80).

As relações entre o hipotálamo e a hipófise anterior são facilmente demonstráveis em qualquer espécie animal, principalmente em mamíferos inferiores. Por exemplo, nas coelhas e gatas, o coito segue-se reflexamente de ovulação; provavelmente esse reflexo a nível de medula espinal desencadeia impulsos nervosos que chegam até o hipotálamo promovendo a liberação do hormônio de liberação de gonadotrofinas (GnRH) com a conseqüente produção do hormônio luteinizante (LH) pela hipófise.

Em outros animais, o fator importante para se obter pro-

dução de GnRH pelo hipotálamo, é a luz. As ratas, se permanecerem sob escuridão total, não ovulam. Nesse caso, o nervo óptico participa dos estágios nervosos que chegam até o hipotálamo.

Em humanos, esses fatores (coito, luz) não são imprescindíveis à liberação do GnRH. Entretanto, fatores emocionais influem decisivamente no ciclo menstrual feminino, não se conhecendo exatamente as interações entre o córtex cerebral e o hipotálamo.

O hormônio liberador de gonadotrofinas provém de uma região médio-basal do cérebro que se estende da região pré-óptica através do hipotálamo anterior até a região da eminência média e núcleo arqueado.

Embora os estudos levados a efeito até agora não sejam suficientemente claros para se entender perfeitamente o mecanismo de liberação do GnRH, aparentemente ele é sintetizado em neurônios do núcleo arqueado (59) e levado a células chamadas tanicitos, que armazenam o GnRH e o liberam, quando solicitado, ao sistema venoso porta-hipofisário.

O GnRH, chegando à hipófise anterior, liga-se a um receptor de membrana específico (presente somente no gonadotropo) e através de um mecanismo, que envolve transporte de ions de cálcio, estimula a liberação de gonadotrofinas (29).

A produção do GnRH sofre a ação inibidora do sistema hipófise-epifisário e núcleo amigdalóide, ação inibitória que pode ser

anulada pelos estrógenos (80).

O hipotálamo, considerado uma glândula endócrina, responde a impulsos provenientes de centros mais altos do cérebro. Esses impulsos são transmitidos através da mediação de neuro-transmissores, tais como as catecol-aminas (dopamina e norepinefrina), serotonina, melantonina, acetil-colina, histamina e ácido aminobutílico (124). Os mais estudados desses neuro-transmissores são as catecol-aminas.

Entretanto, as relações entre as catecol-aminas e o GnRH ainda não estão perfeitamente estabelecidas. As catecol-aminas existem em vários lugares no cérebro. Sabe-se que há um sistema dopaminérgico de pequenos neurônios localizado no núcleo arqueado com seus axônios projetando-se para a eminência média (43).

Essa interação poderia ser explicada pelo controle de fluxo sanguíneo local; aumentando-se a permeabilidade do sistema portal vascular, ocorreria uma entrada maior de GnRH no mesmo. Recentemente foi proposto um mecanismo de interligação entre o terceiro ventrículo e os vasos portais que seria executado pelos tanicitos que constituem a eminência média. Essas células possuem microvilosidades na extremidade voltada para o terceiro ventrículo e microtúbulos e microfilamentos em suas partes que margeiam os vasos fenestrados do sistema porta. Demonstrou-se que existe uma transmissão através dessas células, pois moléculas do mesmo tamanho que proteínas injetadas no terceiro ventrículo são recolhidas nos vasos portais. Esses achados poderão vir a explicar futuramente a regulação dos mecanismos neuro-

secretores com neurônios comunicando-se com outros através de neurotransmissores. Pelo que se sabe hoje, a norepinefrina aparentemente estimula a liberação de GnRH, enquanto que a dopamina inibe sua secreção (56). Trabalhos experimentais em ratos sugerem que a dopamina possa ter um efeito estimulador sobre a liberação do GnRH, sob a presença dos hormônios esteroidais (88). Segundo outros trabalhos, os neurônios dopaminérgicos estariam inibidos durante a liberação do LH (60).

Além das catecol-aminas, pode ser demonstrada a existência de serotonina no núcleo supraquiasmático e eminência média. Terminais colinérgicos encontram-se distribuídos por todo o hipotálamo e acetilcolina em grande quantidade na eminência média.

Aparentemente serotonina e melantonina inibem a liberação de gonadotrofinas, porém o perfeito conhecimento fisiológico dessas ações não está ainda muito claro. O controle exercido pela acetilcolina também não é conhecido; sabe-se entretanto que altas doses de atropina podem bloquear a liberação de gonadotrofinas.

As prostaglandinas (notadamente a E2) estão envolvidas no processo de liberação de GnRH. Aparentemente elas atuam diretamente nos neurônios que secretam o fator liberador do núcleo arqueado e eminência média, promovendo a liberação do GnRH (49).

A secreção do GnRH sofre também influências dos níveis circulantes dos esteróides gonadais. Esse fato é sugerido pela demons-

tração de que as concentrações do GnRH no plasma de mulheres após a menopausa são significativamente mais elevadas quando comparadas com as de mulheres antes da menopausa (103).

Observa-se entretanto que existem dois modos dos esteróides sexuais (notadamente o estrógeno) influírem na secreção de GnRH pelo hipotálamo: tanto pode haver uma ação inibitória, como uma ação estimuladora. Essa retro-alimentação positiva pode ser vista no meio de um ciclo ovulatório, quando é alta a concentração plasmática de estrógenos.

O conhecimento do exato mecanismo de ação do estrógeno ainda necessita de mais investigações. O estrógeno, sofrendo a ação de uma enzima existente no hipotálamo, a 2-hidroxiase, se transformaria em catecol-estrógeno, de estrutura muito semelhante aos neuro-transmissores (norepinefrina e dopamina) que teria a capacidade de influir na liberação de GnRH (39).

Há evidências atualmente de que a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas sobre influências das endorfinas, pequenos peptídeos provenientes do precursor de ACTH e Beta - lipotropina, as quais exibem atividades semelhantes a morfina. As endorfinas, modulando os mecanismos neuro-transmissores, afetam a secreção de GnRH. Acredita-se que em certos casos de amenorréia hipotalâmica com elevação dos níveis de Prolactina (associados com exercícios violentos e "stress") existe uma atividade maior das endorfinas endógenas (81,114).

A liberação do GnRH pode ser influenciada pelos níveis de prolactina. A hiperprolactinemia inibe a secreção pulsátil do hormônio liberador provavelmente por intervir no sistema dopaminérgico do hipótalamo (47). De acordo com experimentos realizados por McNeilly (1980) em ratos, os níveis de prolactina podem sensibilizar o hipótalamo a retro-alimentação negativa dos esteróides gonadais (72).

A ação do GnRH aparentemente é mediada pela adenil-ciclase. O GnRH liga-se ao seu receptor na membrana da célula-alvo e causa a síntese da adenosina cíclica monofosfato que atua nas proteínas da célula para produzir o seu efeito. As prostaglandinas, aqui, desempenham papel importante, não se sabendo ao certo se no local de ação do GnRH na hipófise ou somente promovendo a secreção do hormônio liberador pelo hipótalamo (119).

O conceito que se tinha de que havia uma especificidade de ação para cada hormônio liberador, parece não ser verdadeiro. Sabe-se hoje, por exemplo, que o hormônio liberador de tireotropina (TRF) estimula a liberação tanto do tireotropina (TSH) como da prolactina; a somatotrofina inibe a liberação tanto do TSH como do hormônio do crescimento, e o GnRH, ao que parece, estimula a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do LH.

A resposta da hipófise ao GnRH durante a maturação sexual apresenta algumas particularidades.

A administração do GnRH a crianças promove a liberação

de quantidades muito pequenas de LH. Na puberdade ocorre um rápido aumento dessa resposta, resposta essa que é ainda maior nos adultos (87,26).

Além disso há algumas diferenças em relação a liberação do FSH de acordo com o sexo; as meninas respondem com uma liberação maior de FSH, tanto na fase pré-puberal como na fase puberal, em relação aos meninos (26).

De um modo geral percebe-se que os adultos liberam mais LH e menos FSH quando comparado com as crianças (87).

Demonstrou-se que as mulheres durante a fase folicular apresentam uma inibição do padrão pulsátil de LH durante o período inicial do sono, fato que não ocorre com os homens (57).

Durante muito tempo foi difícil conhecer o controle hipotalâmico da adeno-hipófise na mulher. O advento do rádio-imuno-ensaio permitiu identificar quantitativamente o ritmo de gonadotrofinas desde o nascimento até a velhice. (120).

Rommler (1978) estudou a resposta da hipófise aos estímulos do GnRH em mulheres normais, com duas aplicações endovenosas do hormônio hipotalâmico com intervalos variando de 30 minutos a 24 horas. A liberação de gonadotrofinas obtida após a primeira aplicação do GnRH representa a quantidade de gonadotrofinas estocada na hipófise. Quando a segunda aplicação foi feita 30 minutos após a primeira, a

resposta foi menor, mostrando que havia ocorrido uma depleção dos estoques da pituitária. Quando a segunda dose do GnRH foi aplicada entre 1 a 3 horas após, houve um aumento na liberação de gonadotrofinas em relação a ocorrida após a primeira dose, provavelmente porque deve ter havido nova síntese de hormônios hipofisários durante esse período. Com intervalos de 4 a 24 horas notou-se que as respostas eram constantes (86).

A liberação de gonadotrofinas, de modo pulsátil pela hipófise, durante o ciclo menstrual é devida a uma descarga intermitente do hormônio liberador hipotalâmico no sistema porta-hipofisário. Esse conceito foi demonstrado claramente por Reid et al. (1981) com administrações endovenosas e subcutâneas do GnRH a mulheres amenorreicas com deficiência de GnRH endógeno. A administração do hormônio liberador de gonadotrofinas em pulsos por via venosa provocou rapidamente aumento do LH e FSH circulantes (com ovulação e gravidez), ao contrário da administração por via subcutânea, quando, por absorção mais lenta, não se obtiveram os pulsos de GnRH. Neste estudo, observou-se que os níveis de FSH obtidos por administração subcutânea do GnRH eram 50% mais baixos que os obtidos após o GnRH endovenoso (84). Os níveis baixos de FSH acarretam diminuição de uma enzima aromatase importante para a conversão do Δ^4 androstenediona ovariano em estradiol (38).

O GnRH é liberado na hipófise em pequenos pulsos que são similares aos pulsos das gonadotrofinas o que demonstra que a característica da produção pulsátil de gonadotrofinas depende dos pulsos do GnRH e a amplitude e frequência dos pulsos de gonadotrofinas são de-

terminados pela amplitude e frequência dos pulsos do GnRH no hipotálamo que ocorrem, provavelmente, a cada 90 minutos. O GnRH pode também estimular a síntese do hormônio gonadotrófico; entretanto, não está muito claro se isso se deve a uma ação direta do GnRH, ou se a produção de gonadotrofinas é secundária à diminuição dos estoques provocada pela liberação induzida pelo GnRH (120).

A ação do GnRH sobre a hipófise acarreta a liberação do FSH e LH em quantidades diferentes de acordo com a época do ciclo.

O estímulo do GnRH provoca uma resposta hipofisária bifásica. Primeiro ela responde com um pico rápido de liberação de quantidade máximas de gonadotrofinas que se define como sensibilidade, e logo, mantém uma liberação a níveis menores, porém de maior duração que representa o que se tem chamado função de reserva da pituitária. Após uma estimulação aguda do GnRH, o primeiro "pool" de gonadotrofinas é liberado e o "pool" que estava estocado é gradualmente convertido para gonadotrofinas prontas a serem liberadas (90).

O conhecimento desses dois tipos de resposta da hipófise é muito importante para se explicar o mecanismo da ovulação. A impressão atual é que a liberação do GnRH em níveis basais se faz de maneira uniforme durante todo o ciclo menstrual, porém a frequência e a intensidade dos pulsos de gonadotrofinas variam de acordo com a época do ciclo, embora alguns autores acreditem que a frequência dos pulsos de GnRH possa variar de acordo com a época do ciclo menstrual (94).

Em estudos de Wang et al. (1976) mostrou-se que ocorrem mudanças nos dois componentes de respostas da hipófise durante o ciclo menstrual (122).

Durante o início da fase folicular, tanto a função de reserva como a de sensibilidade estão baixas; com o aumento dos níveis de estradiol, promove-se um aumento maior da reserva em relação a sensibilidade. No final da fase folicular o GnRH adquire a capacidade de, além de induzir a liberação de gonadotrofinas, ativar o "pool" de reserva. Assim, o próximo pulso de GnRH induz a liberação de gonadotrofinas que estavam estocadas. Essa capacidade do GnRH aparece nessa fase do ciclo, onde estão bastante altos os níveis de estradiol, e obtém-se nesse momento, um aumento de sensibilidade que atinge o seu máximo no dia imediatamente anterior ao meio do ciclo. A maior resposta da hipófise com liberação de LH, que ocorre no meio do ciclo foi demonstrada também por Yen et al. (1972) que utilizaram GnRH sintético durante as várias fase do ciclo menstrual (121). Esses fenômenos são essenciais para que ocorra o pico de gonadotrofinas e a consequente ovulação.

É interessante notar que, segundo alguns trabalhos, não há correlação entre as concentrações de GnRH, LH e FSH na época da ovulação. Aksel (1979) dosando hormônio liberador de gonadotrofinas por radioimunoensaio em mulheres consideradas normais, observou que no meio do ciclo, quando ocorre o pico de LH, os níveis de GnRH não eram diferentes dos níveis obtidos durante a fase folicular ou a fase lútea. Os níveis de hormônio liberador variaram de 10 a 35 pg/ml durante

todo o ciclo menstrual (1).

Este mesmo autor sugeriu que a determinação do GnRH em mulheres normais durante um ciclo menstrual ovulatório não tem nenhum valor clínico, em virtude de não haver um padrão específico de concentrações do GnRH (2).

Através de trabalhos experimentais em ratos, demonstrou-se que a maior resposta da hipófise ao GnRH observada no período ovulatório pode ser devida a uma ação estimuladora do estradiol na hipófise (37).

As funções de reserva e sensibilidade da hipófise continuam altas durante o início da fase lútea, porém começam a diminuir progressivamente até o final do ciclo.

Demonstrou-se também que o LH pode modular a sua própria liberação através de uma retro-alimentação negativa de alça ultra-curta a nível hipofisário. Silverman et al. (1981) em estudos com macacas Rhesus castradas mostraram que a gonadotrofina coriônica humana (que é biologicamente similar ao LH) pode diminuir a liberação de LH. Esses autores sugerem que esta retro-alimentação negativa regula a secreção de LH pela hipófise, sendo responsável pela rápida diminuição dos níveis de LH (do pico pré-ovulatório) para níveis basais (110).

II - Interações Entre as Gonadotrofinas e os Esteróides Sexuais (42)

O início do desenvolvimento de vários folículos em cada ciclo não depende da influência das gonadotrofinas, porém o seu crescimento contínuo, até alcançar o estágio de folículo maduro, depende tanto das gonadotrofinas como do processo de esteroidogênese ovariano.

No estágio de folículo pré-antral as células da granulosa têm a capacidade de sintetizar os três tipos de esteróides sexuais, com predominância da produção de estrógenos sobre os andrógenos e a progesterona. Nesse estágio a ação do FSH através de receptores específicos nas células da granulosa se faz notar ao ativar o sistema enzimático da aromatase, sistema este que atua convertendo andrógenos em estrógenos.

Nesse estágio o FSH, juntamente com o estrógeno, promove um aumento no número de seus próprios receptores.

Essa ação sinérgica do FSH e estrógeno induz também a um aumento na produção do líquido folicular que provoca a formação de uma cavidade, à medida que o folículo progride para atingir o estágio antral.

Paralelamente a essa ação do estrógeno favorecendo a ação do FSH no folículo em maturação, os níveis crescentes de estrógeno circulante promovem uma retro-alimentação negativa no centro hipotálamo-hipofisário.

tálamo-hipófise, levando a uma diminuição da liberação do FSH. (Atualmente, acredita-se que o local de ação dessa retro-alimentação negativa do estrógeno seja na hipófise (59)). A queda do FSH diminui a atividade do sistema aromatase, limitando assim a produção estrogênica, e promovendo uma androgeinização na maioria dos folículos, que se tornam atresícos, com exceção de um que irá atingir o seu desenvolvimento máximo com conseqüente ovulação. Esse folículo não sofre essa influência da queda de FSH por estar mais desenvolvido que os demais e por ter uma produção maior de estrógenos e um número maior de receptores para FSH que mantém a atividade do sistema aromatase.

O FSH induz, no folículo selecionado para a ovulação, o desenvolvimento de receptores para LH nas células da granulosa.

Quando os níveis crescentes de estradiol atingem aproximadamente 200 pg/ml (mantido por 50 horas ou mais), o estrógeno passa a exercer uma retro-alimentação positiva em relação ao LH.

Esse pico de estradiol ocorre aproximadamente 24 a 36 horas antes da ovulação.

O LH liberado através da retro-alimentação com o estrógeno atua através de seu receptor na granulosa, promovendo uma luteinização com produção de progesterona.

O aumento na produção de progesterona pode ser detectado nas veias que saem do folículo pré-ovulatório, 24 a 48 horas antes da

ovulação. De 12 a 24 horas antes da ovulação ocorre um significativo aumento nos níveis de progesterona plasmática. Esse pequeno porém significativo aumento na produção de progesterona, potencializa a retro-alimentação positiva do Estradiol que induz os picos de LH e FSH no meio do ciclo que ocorrem 10 a 12 horas antes da ovulação.

O LH juntamente com a progesterona e provavelmente, com as prostaglandinas (que se encontram em concentrações aumentadas no folículo preovulatório), atua no sentido de facilitar a digestão do colágeno na parede folicular e a sua conseqüente ruptura. O FSH liberado no meio do ciclo tem a função de induzir a formação de mais receptores para o LH que assim pode propiciar a produção de quantidades adequadas de progesterona para a subseqüente fase lútea.

A capacidade funcional do corpo lúteo formado após a ovulação depende da secreção continuada de LH tônico. A progesterona aumenta rapidamente após a ovulação, chegando a um pico aproximadamente 8 dias após o pico de LH, e passa a atuar com uma retro-alimentação negativa em relação às gonadotrofinas que caem a níveis bem baixos.

Dentro do corpó lúteo aumenta a quantidade de um inibidor não esteroideal que se liga aos receptores de LH. Começa a diminuir a produção de progesterona e aumentar a concentração de estradiol, que induz o início da fase luteolítica, provavelmente por diminuir a capacidade de ligação do LH com seu receptor.

No complexo mecanismo fisiológico do ciclo menstrual

ovulatório, fica bastante clara a importância da ação dos esteróides (notadamente o estradiol) no controle da liberação de gonadotrofinas. A produção estrogênica ovariana é a determinante principal do padrão de secreção de gonadotrofinas observado num ciclo normal (58). Knobil (1980) referindo-se a isso, afirmou que a duração do ciclo menstrual é determinada pelo ovário e não pelo cérebro (59) .

III - Síntese do GnRH e Análogos

O hormônio liberador de gonadotrofinas começou a ser melhor conhecido de 20 anos para cá.

Em 1960, McCann et al. demonstraram em extratos de hipotálamo a existência de uma substância que estimulava a secreção de LH (71). Posteriormente, Campbell et al. (1961) e Courrier et al. (1961) descreveram efeitos semelhantes (22,33).

Os primeiros estudos para se chegar a um conhecimento melhor do GnRH iniciaram-se em 1963. Nesse ano, Guillemin et al. conseguiram a primeira purificação parcial do GnRH (48).

Pensou-se no início, que haveria dois hormônios liberadores, um responsável pela liberação do FSH e outro do LH, idéia essa que foi reforçada por estudos de Schally et al. (1968) que afirmavam

que o hormônio liberador do FSH podia ser separado do hormônio liberador do LH (98).

Amoss et al. (1970) purificaram a GnRH ovina, descrevendo-a como um polipeptídeo (5).

Posteriormente em 1971, Schally et al. isolaram o hormônio liberador de gonadotrofinas (LRH) de ovinos e suínos como sendo um nonapeptídeo (97). Amoss et al. (1971) publicaram resultados idênticos (4).

Estudos do grupo de Schally publicados em 1971 demonstraram a estrutura exata do GnRH suíno que resultou ser um decapeptídeo (70) (FIG. 1).

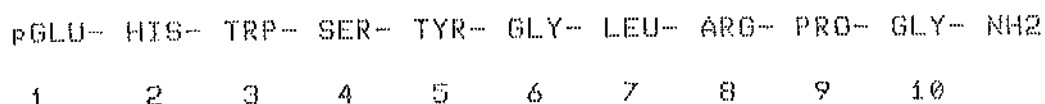


Figura 1 - Hormônio liberador de gonadotrofinas.

Como esse composto isolado estimulava a secreção tanto do FSH como do LH embora a resposta do LH fosse maior em alguns sistemas, Schally (1971) retificou sua opinião anterior entendendo que o GnRH era o responsável pelo controle das duas gonadotrofinas (99).

Entretanto continua-se pensando na possibilidade de haver um liberador específico para o FSH. Bowers et al. (1973) mostraram que alguns extratos de hipotálamo têm a propriedade de liberar mais FSH do que LH (21).

O GnRH tem um período de ação muito curto sendo logo inativado após sua administração exógena. A sua meia vida biológica é aproximadamente 1 1/2 a 2 minutos (101).

Essa característica motivou a procura de modificações na estrutura do GnRH com o intuito de se sintetizar análogos que apresentassem ações mais potentes, com possibilidades de aplicação em funções reprodutoras endócrinas. Esses estudos iniciaram-se na última década.

O conhecimento do modo de ação do GnRH permite afirmar que embora a sequência de aminoácidos de sua estrutura seja importante para sua ação biológica, nenhum desses aminoácidos é absolutamente necessário para que ele possa se ligar ao receptor. Portanto, a substituição de um ou mais aminoácidos permite que o GnRH continue sendo reconhecido pelo seu receptor, enquanto que a retirada de um deles provocaria a perda de sua ação biológica (119).

Várias substituições de aminoácidos foram tentadas. Alterações na posição 6 (GLY) ou na 10 (GLY-NH₂) têm originado análogos com uma atividade biológica maior que o GnRH, por apresentarem uma maior resistência a degradação enzimática e uma maior retenção no tecido hipofisário; esses análogos foram denominados agonistas (34,119).

Alterações nas posições 2 (substituição da histidina) e 3 (substituição do triptofano) induzem o aparecimento de análogos com diminuição da atividade biológica, indicando ser a histidina, principalmente, necessária para que se promova a liberação de gonadotrofinas; esses são conhecidos como antagonistas (119).

IV - Farmacologia do D-Ser (Tbu)6 - EA10 - GnRH

Um dos agonistas sintetizados, denominado D-Ser (Tbu)6 EA10-GnRH, apresenta como diferenças estruturais em relação ao GnRH a substituição da glicina da posição 6 pela T-butil-serina e a glicina-amida da posição 10 por estilamida.

As ações farmacológicas do D-Ser-(Tbu)6-GnRH foram testadas inicialmente em ratos, obtendo-se liberação do FSH dezesséis vezes maior e do LH, dezenove vezes, quando comparados com GnRH (92,89).

Determinou-se também a sua distribuição pelos diversos tecidos, em comparação com o GnRH. Em estudos com ratos, pode-se perceber uma hora após a aplicação, que as concentrações do GnRH-Análogo eram maiores em fígado, rim, pituitária e glândula tireóide em relação ao plasma. Já para o GnRH, as concentrações nos tecidos eram menores que no plasma, com exceção da glândula tireóide (92,91).

1

Em seis ratos machos imunizados contra GnRH conjugado a albumina sérica bovina, aplicou-se 5mcg de GnRH, só se obtendo aumento do FSH e LH em dois deles. Entretanto, todos eles responderam a 100 mcg do GnRH-Análogo, embora as durações das respostas fossem menores quando comparadas a ratos não imunizados (85). As observações a respeito desses aspectos imunológicos devem ser feitas sempre lembrando-se que as interações antígeno-anticorpo variam muito entre os diferentes animais.

A administração da droga a ratos (em comparação a placebo) durante seis meses (em doses de 0,05; 2,50 e 125 mcg/Kg de peso, diariamente, por via subcutânea) não mostrou diferenças quanto ao ganho de peso, bioquímica sanguínea, exame de urina, aparência externa ou apetite; os ovários mostraram-se diminuídos no grupo tratado com 125 mcg/Kg) (85).

Quando administrado a cachorros das raça Beagle, notaram-se severos distúrbios na espermogênese e atrofia das glândulas prostáticas nos machos, associados com níveis de testosterona plasmática reduzidos. Nas fêmeas, os níveis de progesterona plasmática não foram afetados, nem encontraram-se anormalidades no exame histológico dos ovários, em estudos com doses de 0,05; 0,1 ou 0,2 mcg/Kg durante 30 dias. Quando se utilizaram doses 2,5 e 125 mcg/Kg/dia durante seis meses, encontrou-se atrofia dos órgãos reprodutores, com pesos significativamente reduzidos. Nas doses maiores (125/mcg/Kg) encontrou-se também atrofia da pituitária e da glândula tireóide. Essas alterações

mostraram-se reversíveis oito semanas após a interrupção do tratamento (85).

Experimentos com animais não têm revelado outros efeitos além da atividade desse peptídeo em órgãos endócrinos. Mesmo com doses altas, não se observaram alterações cardiovasculares, renais, hematopoiéticas ou no sistema nervoso central. Estudos "in vitro" e "in vivo" com ratos demonstraram uma rápida degradação enzimática periférica deste agonista com formação de pequenos peptídeos inativos (95). A sua meia-vida é muito curta; é calculada como sendo inferior a cinco minutos (93).

V - Efeitos do GnRH e Análogos. Experiências Clínicas

A) Experimentos com Antagonistas

Os análogos antagonistas ainda não têm os reais efeitos de sua potência avaliados em seres humanos (115).

Um dos experimentos com antagonistas foi realizado por Asch et al. (1981). Esses autores administraram um antagonista do GnRH a macacas Rhesus durante dez dias, após a castração. Notaram que não havia aumento dos níveis das gonadotrofinas circulantes enquanto se administrava o antagonista, ao contrário do grupo controle, no qual os

níveis de FSH e LH aumentaram consideravelmente três a quatro dias após a cirurgia. Quando se suspendeu o uso do antagonista, os níveis de gonadotrofinas apresentaram um comportamento igual ao grupo controle. Esses resultados mostraram que os antagonistas do GnRH podem impedir a resposta da hipófise à retro-alimentação negativa que se estabelece com a queda dos níveis de esteróides, abrindo possibilidades de sua utilização em situações onde se deseja uma inibição da secreção de gonadotrofinas, tais como puberdade precoce, endometriose ou menopausa (6).

Zarate et al. (1981), administrando um antagonista do GnRH a dez mulheres normais no 12º dia do ciclo, conseguiram inibir a ovulação em seis delas; duas outras apresentaram corpo lúteo insuficiente (125).

Schally (1983) demonstrou que os antagonistas podem impedir a ovulação em mulheres ao abolir o pico pré-ovulatório de LH, quando administrados nos dias 12 e 14 do ciclo. Sugeriu que pudessem se tornar no futuro uma alternativa aos métodos de controle de fertilidade humana (96).

Gonzales-Barcena et al. (1977) utilizando um antagonista do GnRH em homens normais, mostraram que havia abolição dos picos de LH e FSH induzidos pelo GnRH sintético, porém sem suprimir os níveis basais de gonadotrofinas (45).

Schmidt et al. (1984) descreveram efeitos adversos do

uso de um antagonista do GnRH em ratos e macacos Rhesus sugerindo que a administração do antagonista pode induzir a liberação de histamina (102). Esta possível ação histamínica pode ser uma característica limitante de sua utilização clínica.

B) Experimentos com GnRH e Agonistas

Com a possibilidade de utilização do GnRH para investigação clínica, esperava-se que ao se estimular especificamente a hipófise, muitas questões relativas a participação do hipotálamo e da pituitária em certas patologias endócrinas, pudessem ser aclaradas. Entretanto, o uso do GnRH não tem sido tão espetacular nesse aspecto, e muitas vezes não se obtém muitas informações adicionais (44).

Bohm et al. (1978) realizaram testes com duas aplicações de GnRH endovenoso (25 mcg cada) com um intervalo de duas horas entre elas para estudar diversas pacientes com diferentes enfermidades endócrinas. Concluíram que esse procedimento não oferecia mais informações a respeito da função hipofisária que as obtidas com dosagens repetidas de LH plasmático (19).

Soules et al. (1979) sugeriram que a utilização do GnRH é mais útil em investigações para se estudar a fisiopatologia do sistema hipotálamo-hipófise do que para ser aplicado no diagnóstico de causas de amenorréia, em virtude da grande variabilidade de respostas que encontraram, ao aplicar o teste do GnRH em mulheres amenorreicas (113).

Razdan et al. (1979), entretanto, mostraram que o teste com GnRH pode ser realizado para se fazer diagnóstico diferencial entre indivíduos hipogonadotrópicos e meninos normais com puberdade retardada (83).

Shaw (1979) demonstrou o valor da utilização do GnRH, associado a estrógenos, como sendo um teste útil para prever se pacientes anovulatórias poderiam ou não ser beneficiadas com o tratamento com citrato de clomifene. Seus resultados sugerem que, se não ocorrer aumento da resposta hipofisária sob estímulo do GnRH após tratamento com estrógenos, dificilmente se conseguirá induzir ovulação com o citrato de clomifene (105).

Maia Jr. et al. (1983) indicaram o uso de GnRH associado ao citrato de clomifene para induzir ovulação em mulheres anovulatórias (69).

A resposta da hipófise pode ser detectada tanto pelo aumento dos níveis circulantes de FSH e LH, como pelos efeitos nos órgãos-alvo (estimulação da síntese de progesterona pelo corpo lúteo, estimulação da síntese de testosterona pelo testículo, etc).

Os análogos agonistas mostraram-se capazes de induzir fertilidade em homens e mulheres sub-férteis (115).

Evidentemente, a utilização do agonista do GnRH com uma

1

ação maior que o GnRH poderia representar um potencial terapêutico para as pacientes anovulatórias em tratamento de infertilidade. Phanseý et al. (1980) conseguiram ovulação em cinco de oito mulheres inférteis (três das quais com gravidez) tratadas com GnRH-Análogo e citrato de clomifene associados (79).

As utilizações desses compostos podem estender-se, segundo Corbin (1980), a inúmeras outras situações clínicas além da estimulação da ovulação. Poderiam ser úteis na manutenção de gestações conseguidas ou corrigir amenorréias de etiologia hormonal (pós-pílula, por exemplo). Além disso podem ser usadas na terapêutica dos hipogonadismos, hipoespermia e puberdade retardada (30).

Uma das primeiras utilizações do D-Ser(Tbu)6-EA10-GnRH em seres humanos data de 1977 com Dericks Tan et al. Esses autores, estudando a capacidade de estimular a liberação de gonadotrofinas em mulheres consideradas como normais, encontraram resultados 40 vezes superiores ao GnRH, sendo que as respostas maiores ocorreram no meio do ciclo. Notaram também que os níveis de estradiol aumentaram inicialmente atingindo um "plateau" após a quarta injeção, que se mantinha até a sétima injeção, caindo depois das aplicações seguintes (36).

Nillius & Wide (1977) administrando 10 mcg subcutâneo de D-Ser (Tbu)6-EA10-GnRH a mulheres amenorreicas, encontraram aumento dos níveis circulantes de LH e FSH, da ordem de vinte vezes e cinco vezes, respectivamente. Essas respostas obtinham-se entre quatro e seis horas depois da administração do análogo (76,77).

Hanker et al. (1978) administraram 10 mcg/dia de GnRH-análogo, durante quatorze dias, a seis mulheres amenorreicas. Os níveis plasmáticos de LH e FSH aumentaram consideravelmente nos primeiros dois a quatro dias, para depois caírem a níveis basais até o final do tratamento (51).

Freidrich et al. (1978) obtiveram picos de LH e FSH quatro horas após a administração de GnRH análogo. Os níveis de estradiol atingiram o pico oito horas após (41).

Scheehan et al. (1979) administraram 50 mcg subcutâneo em dose única de um agonista do GnRH a mulheres normais, em diferentes fases do ciclo. Obtiveram liberação de gonadotrofinas semelhante ao pico normal pré-ovulatório, quando a injeção foi realizada na fase folicular precoce e na fase lútea média. A administração do análogo na fase folicular tardia provocou o aparecimento de níveis de gonadotrofinas de uma e meia a duas vezes acima dos valores normais para o pico pré-ovulatório. O pico de gonadotrofinas artificialmente obtido na fase folicular precoce induziu a uma fase folicular prolongada e ausência de ovulação (106).

A ação do análogo em homens tidos como normais foi estudada por Wiegelmann et al. (1976). Utilizando várias doses, observaram resultados (picos de LH) semelhantes aos obtidos com 100 mcg de GnRH, quando administraram 5 mcg do GnRH-análogo, endovenoso (123).

Delemarre-Van de Wall & Schoemaker (1983) induziram o início da puberdade em um paciente de 17 anos (que havia sido tratado com cirurgia e radioterapia por ser portador de um craniofaringeoma) com injeções endovenosas de GnRH, em dezesseis pulsos diários de 20 mcg no início, e 2 mcg posteriormente. Obtiveram aumento do pênis e do volume testicular, desenvolvimento de pelos pubianos e ejaculado normal. Não encontraram evidências de inibição testicular com o tratamento (35).

Entretanto, ao se estimular a hipófise com doses altas e repetidas de hormônio liberador de gonadotrofinas, observa-se um efeito aparentemente paradoxal. Após a liberação inicial de gonadotrofinas, a hipófise apresenta uma diminuição em sua resposta, com consequente diminuição dos níveis séricos dos esteróides sexuais.

Esse fato pode ser devido a alterações provocadas na hipófise ou mudanças na resposta dos órgãos-alvo, como o ovário e o testículo.

A diminuição da resposta da hipófise pode ser devida à depleção do "pool" de gonadotrofinas ou à diminuição do número de receptores para o hormônio liberador (74).

Por outro lado pode haver também uma diminuição da resposta dos órgãos-alvo a gonadotrofinas, seja por diminuição dos receptores a grandes doses de gonadotrofinas, seja por efeito direto do GnRH nos órgãos-alvo.

Baseado nessa hipótese, é possível levar-se a um esgotamento da função de produção do LH e FSH, com estímulos constantes e regulares do GnRH sobre a hipófise, com conseqüente diminuição dos níveis séricos de gonadotrofinas.

Bergquist et al. (1979) administraram um agonista do GnRH em doses de 5 mcg/dia, durante dezessete semanas a quatro homens tidos como normais. Observou-se redução dos níveis basais de FSH, LH e testosterona durante o período de tratamento. Após interrupção do GnRH-análogo, os níveis de gonadotrofinas e testosterona voltaram a valores de pré-tratamento, em aproximadamente uma semana. Os níveis de prolactina e exames de fluido seminal não mostraram diferenças durante o período de estudo. Os autores concluem haver um efeito inibitório do GnRH-análogo, quando utilizado cronicamente, na produção de gonadotrofinas hipofisárias em homens sadios. Acreditam também, que a redução de testosterona é secundária à diminuição da produção de gonadotrofinas (10).

O uso prolongado dos agonistas do GnRH em homens levou a uma diminuição do número de células do esperma, porém com redução na concentração de testosterona plasmática, acompanhada de diminuição da libido e impotência. Na opinião de Fraser (1982) o uso desse medicamento em homens, deve ser acompanhado de reposição de testosterona (40).

Em 1978, Nillius et al. conseguiram inibir a ovulação em

quatro mulheres normais, com doses de 5 mcg/dia, subcutânea, durante um mês. Em todas elas não ocorreu o pico de LH pré-ovulatório provavelmente pela mudança na responsividade da hipófise quando estimulada continuamente pelo fator liberador. Após a interrupção do tratamento, as quatro mulheres voltaram a apresentar ciclos ovulatórios normais (75).

Posteriormente (1979) os mesmos autores utilizaram o análogo do GnRH sob a forma de "spray" para uso nasal. Com doses de 400 a 600 mcg por dia, estudaram 26 mulheres voluntárias tidas como normais. Em duas delas, havia sinais de provável ovulação no primeiro mês do tratamento. Na maioria dos outros ciclos estudados não ocorreu ovulação. Em alguns ciclos pode-se detectar progesterona, porém em quantidades subnormais, sugerindo fase lútea insuficiente. Não se encontrou hemorragia uterina disfuncional ou outros efeitos colaterais. A ovulação retornou rapidamente após a interrupção do tratamento (11).

Bergquist et al. (1979) analisando seus resultados, entendem ser o GnRH-análogo uma alternativa para o uso dos contraceptivos orais por apresentar menos efeitos colaterais. Eles não encontraram evidências de uma ação extra-pituitária em seres humanos (12).

Os resultados do uso prolongado do D-Ser (Tbu)₆-EA10-GnRH sob a forma de spray nasal com o objetivo de suprimir a ovulação foram publicados por Bergquist et al. (1982). As doses administradas foram 400 ou 600 mcg/dia durante três a doze meses. Observaram três ciclos ovulatórios presumivelmente normais dos 283 estudados. Não hou-

ve ocorrência de gravidez. O retorno a ciclos normais ovulatórios ocorreu em média 33 dias após a interrupção do tratamento (17) .

Sharpe (1980) no entanto sugere efeitos extra-pituitários dos GnRH-análogos em animais tais como ação inibitória direta no crescimento folicular e na maturação (104)

Outros estudos em animais realizados por Hsueh (1979), Clayton (1979) e Bourne (1980), mostraram que o GnRH e seus análogos podem, além de seus efeitos na hipófise, inibir diretamente a esteroidogênese no ovário e no testículo (54, 27, 20).

Rabin et al. (1980) tentaram conseguir um aumento dos níveis de estrógenos em mulheres sob o uso de GnRH, com administração de FSH, porém não conseguiram, provavelmente por efeitos inibitórios diretos do GnRH na esteroidogênese ovariana (82).

Acredita-se atualmente que o GnRH e seus análogos possam reduzir a atividade aromatase das células da granulosa e inibir o aumento de receptores de LH normalmente induzido pelo FSH, interferindo assim, no desenvolvimento folicular (46).

Schally et al. (1980) acreditam que os agonistas do GnRH possam ter uma ação direta nas gônadas, ligando-se aos receptores do GnRH (100).

Asch et al. (1981), pesquisaram o possível efeito direto

de GnRH e seus análogos sobre a gônada de primatas. Administrando D-Trp⁶-GnRH a macacas Rhesus previamente hipofisectomizadas, nas quais provocaram ovulação com gonadotrofinas de mulher menopausada (hMG) e gonadotrofinas coriônica humana (hCG), não encontraram diferenças nos níveis séricos de Progesterona e na duração da fase lútea. Esse estudo sugere ser a presença da pituitária essencial para que ocorra um efeito luteolítico em primatas. Os autores colocam em dúvida a teoria de possíveis efeitos do GnRH e seus análogos nas gônadas dos primatas (7).

Numa tentativa de se comprovar tal efeito em mulheres que menstruavam regularmente, Skarin et al. (1981) administraram altas doses de D-Ser (TBU)⁶-EA¹⁰-GnRH durante a fase folicular precoce. Os resultados obtidos mostraram prolongamento da fase folicular (com adiamento da data da ovulação) porém não houve modificações na função do corpo lúteo nem na duração da fase lútea (iii).

Sheelan et al. (1982) administrando um agonista do GnRH 140 vezes mais potente, o-(D-Trp⁶, Pro⁹-NET)-LRF, em doses de 50 mcg subcutâneo por um ou dois dias sucessivos, em mulheres normais, mostraram que pode ocorrer efeitos luteolíticos dependendo da época em que ele é dado. O GnRH análogo administrado até cinco dias após o pico do LH, não consegue induzir luteólise. A administração do quinto ao oitavo dia após o pico do LH provoca efeitos luteolíticos em 96% dos casos. A explicação para se obter luteólise apenas na fase lútea média (quinto ao oitavo dia) não é muito fácil: talvez o maior fluxo sanguíneo do corpo lúteo nessa época favoreça uma maior ação do agonista do

GnRH nas células luteares. Demonstraram também, que nos ciclos imediatamente posteriores, a ovulação e função lútea foram normais, evidenciando a reversibilidade desses efeitos luteolíticos (107).

Balmaceda & Asch (1981), com estudos de agonistas (D-Trp6-GnRH) em macacas Rhesus encontraram encurtamento da fase lútea quando a administração da droga era feita do terceiro ao quinto dia, mas não no sétimo dia pós-ovulação, sugerindo que os agonistas poderiam ter atividade anticonceptiva, se usados no início da fase lútea (8).

Bergquist et al. (1980), não observaram diminuição na produção de progesterona quando administraram 10 mcg do D-Ser-(TBU6-EA10-GnRH) por via subcutânea, diariamente, a partir do quinto dia após a ovulação, em mulheres normais, contrariando a expectativa de se induzir luteólise com o tratamento iniciando-se na fase lútea média (14).

Tan & Biggs (1983), também não obtiveram alterações na produção de progesterona pelo corpo lúteo (em condições basais ou estimulado por gonadotrofinas coriônica humana) quando procederam à incubação de células do corpo lúteo com concentrações variadas de GnRH sintético (116).

Maia et al. (1978), observaram que para se conseguir diminuir a produção de Progesterona pelo corpo lúteo, é necessário administrar GnRH (em doses de 400 a 800 mcg subcutâneo) na época da ovula-

ção. Quando a administração era realizada quatro a cinco dias depois do pico pré-ovulatório de Estradiol, não observaram efeitos na função do corpo lúteo (68).

Lemay et al. (1982) conseguiram demonstrar que uma simples aplicação do D-Ser (TBU)6-DES-GLY-NH2 10 por via nasal pode induzir efeitos luteolíticos quando essa aplicação é realizada na fase lútea média, dependendo da dose utilizada. Até 200 mcg não se obteve luteólise. Doses de 1000 a 1500 mcg levaram a uma diminuição na duração da fase lútea em dois dias e meio, além de uma diminuição importante dos níveis séricos de estradiol e progesterona (62).

Esses achados abriram uma perspectiva interessante para estudos futuros com possibilidade dos agonistas do GnRH atuarem como contraceptivos (ou mesmo impedindo a implantação do ovo) quando administrados após a ovulação.

Entretanto, a possibilidade de se utilizar um análogo do GnRH após o coito, para se obter controle da fertilidade, é desestimulada por estudos que mostram uma anulação dos efeitos luteolíticos induzidos pelo análogo quando se administra simultaneamente gonadotrofina coriônica (24,15), ou mesmo com presença de gonadotrofina coriônica humana endógena existente no início da gestação (24).

Lemay et al. (1983) sugerem que o uso de análogo do GnRH em dose única, ou em duas vezes, uma semana após a ovulação, pode tornar-se um método contraceptivo pós-coital por, em virtude de seus

efeitos luteolíticos, impedir a implantação do ovo ou diminuir a produção de HCG (63).

Guiloff et al. (1982) demonstraram que o transporte do ovo pela trompa de Falópio é insensível às alterações endócrinas que possam ocorrer no período pós-ovulatório. Esses autores recuperaram óvulos fecundados na trompa após a administração de análogo do GnRH, e observaram que o tratamento não acelerou o transporte ovular (50).

A impressão atual é que o GnRH e seus análogos podem induzir luteólise e são sugeridos três possíveis locais de ação para que isso ocorra:

- a) Diminuição da sensibilidade da hipófise com diminuição da liberação de gonadotrofinas (13).
- b) Diminuição dos receptores ovarianos para o LH (65,64).
- c) Inibição direta do GnRH na esteroidogênese ovariana (54).

O uso continuado do D-Ser-(TBU)6-EA10-GnRH motivou o interesse dos diversos autores para o estudo do endométrio, em virtude das alterações hormonais provocadas, especialmente a diminuição dos níveis séricos de progesterona.

Num trabalho publicado em 1981, por Bergquist et al., procurou-se avaliar o risco de se induzir hiperplasia do endométrio

durante longos períodos de inibição de ovulação com GnRH análogo. Nesse estudo, doze mulheres tidas como normais receberam dose de 400 a 600 mcg por dia sob a forma de spray nasal, por períodos que variaram de 13 a 55 semanas. Metade dessas mulheres permaneceram em amenorréia durante o tratamento. Não houve ocorrência de hemorragia uterina funcional. O estudo histológico do endométrio foi obtido através de biópsia endometrial. O aspecto dominante dessas biópsias (obtidas entre 70 e 380 dias de tratamento) foi o de glândulas inativas ou pouco proliferativas com atividade mitótica reduzida e leve atrofia do estroma. Não foram observados sinais de hiperplasia, cistos glandulares ou atípicas do epitélio (18).

Uma possível explicação para esse efeito sobre o endométrio pode ser encontrada a partir de experiências realizadas por Perdosa et al. (1980). Esses autores administrando um análogo do GnRH, o D-TRP6-EA10-GnRH a ratas normais e a ratas que haviam sido ooforectomizadas e hipofisectomizadas, observaram diminuição dos receptores uterinos para estradiol (78).

Comite et al. (1981) mostraram os resultados preliminares com a utilização do análogo do GnRH no tratamento da puberdade precoce idiopática. A droga foi administrada a cinco meninas com esta patologia, na dose de 4 mcg por dia em injeções subcutâneas por dois meses. Obtiveram-se quedas significantes nos níveis de gonadotrofinas basais e nos picos de gonadotrofinas. Os níveis de concentração plasmática de estradiol também caíram. Não ocorreu sangramento vaginal durante o tratamento em nenhuma das cinco pacientes. Dois meses após a

interrupção da droga, os níveis séricos de gonadotrofinas e estradiol voltaram a níveis de pré-tratamento. Os autores entendem ser o GnRH análogo uma opção para o tratamento dessa patologia, porém julgam ser necessário que se façam mais estudos com o uso prolongado de tal medicação para se ter uma idéia clara da relação risco/benefício em tais pacientes (28).

Lemay & Quesnel (1982) utilizaram o D-SER (TBU)6-DES-GLY-NH210-GnRH, 600 mcg/dia por via nasal no tratamento de uma paciente com endometriose pélvica, durante 173 dias. Houve melhora significativa da sintomatologia clínica traduzindo um estado de hipoestrogenismo durante o tratamento. Entretanto, um ano após a interrupção da droga, a paciente foi submetida a laparotomia por um recrudescimento da moléstia e encontrou-se endometriose muito mais severa que a existente antes do tratamento, sendo necessários pois, mais estudos a respeito (66).

Laron et al. (1981) utilizaram o D-Trp6-GnRH em seis homens com hipogonadismo hipotalâmico em doses de 10 mcg intramuscular, em dias alternados durante seis meses. Os seus resultados mostraram um aumento do volume testicular nos três meses iniciais com uma diminuição no sexto mês. Na opinião dos autores as doses utilizadas foram grandes, o que motivou uma inibição da hipófise após os três primeiros meses, além de alterações nos receptores testiculares para o LH (61).

Morel et al. (1982) obtiveram resultados semelhantes. Seis pacientes portadores de deficiência de gonadotrofinas (hipogona-

dismo hipotalâmico) receberam um agonista do GnRH (D-Ser (Tbu)₆-EA10-GnRH) em doses de 348 mcg cada dois dias por via nasal por 90 a 120 dias. Durante os primeiros dois meses houve aumento do volume testicular, depois voltou-se ao tamanho original. Os níveis de testosterona plasmática só aumentaram em um paciente durante os 30 primeiros dias. Os autores mostraram que a refratariedade da hipófise ao GnRh persiste vários meses após o tratamento. Aparentemente não se obtém sucesso com esse tipo de terapêutica porque não se consegue mimetizar a liberação pulsátil do GnRH endógeno (74).

Numa tentativa de aumentar a responsividade da hipófise, Hashimoto (1981) utilizou citrato de clomifene (em doses de 100 mg) associado com GnRH sintético (em doses de 200 mcg) diariamente durante oito semanas em três homens portadores de hipogonadismo hipotalâmico. Obteve aumento dos níveis circulantes de LH e FSH nas primeiras semanas, para depois começarem a decrescer. Esses resultados são semelhantes quando se administra gonadotrofina de urina de mulher menopausada. Não houve resposta em relação aos níveis séricos de testosterona. Aparentemente, a associação de citrato de clomifene ao GnRH ou seus análogos, não dá resultados para esses pacientes (52).

Hoffman & Crowley (1982) conseguiram bons resultados no tratamento de pacientes portadores de hipogonadismo hipogonatrópico idiopático com GnRH. Esses autores administraram pequenas doses (25 ng por kg de peso) por via subcutânea a intervalos de duas horas, baseados em estudos (94) que mostraram que a liberação do hormônio liberador ocorre aproximadamente doze vezes por dia em homens. As respostas,

tanto a curto como a longo prazo (59 semanas), obtidas com esse tratamento, devem-se ao fato de que se conseguiu mimetizar a liberação pulsátil do hormônio liberador endógeno (53).

Vários autores começaram a estudar os efeitos da administração dos agonistas do GnRH na placenta. Em 1978, Siler-Khodr & Khodr demonstraram que a placenta humana continha o fator liberador de gonadotrofinas (108). Esses mesmos autores posteriormente postularam que o citotrofoblasto pode sintetizar GnRH que atua no sinsiciotrofoblasto para estimular a produção de gonadotrofina corionica humana (109).

Vickery et al. (1981) sugerem possível efeito dos análogos do GnRH na placenta. Após experiências realizadas em babuínas grávidas, os autores concluem que pode haver uma redução de gonadotrofina coriônica circulante, resultado que se confirmado em mulheres, poderia levar ao aborto quando a droga fosse administrada no início da gestação (118).

Castracane & Goldzieher (1981) utilizaram um potente agonista do GnRH em babuínas grávidas. Seus resultados mostraram que a droga não era efetiva para induzir abortamentos (25).

Tolis et al. (1981) administraram um análogo do GnRH, o D-Trp6-GnRH a quatro mulheres grávidas (46 a 96 dias de atraso menstrual) em doses de 100 mcg duas vezes ao dia por períodos que variaram de cinco a dez dias: não se observou interrupção de gravidez, san-

gramento ou qualquer outro efeito como também não se obteve diminuição dos níveis séricos de Beta-HCG, progesterona ou prolactina. Os autores sugerem que talvez se consigam tais efeitos se a administração do agonista do GnRH for bem mais precoce (117).

Skarin et al. (1982) tentaram induzir abortamentos precoces em mulheres voluntárias encaminhadas para aborto legal. Com doses de 150 mcg/dia por quatro dias (dose total de 600 mcg) de D-Ser-(TBU)6-EA10-GnRH endovenoso não houve indução de aborto. Os estudos histopatológicos do material obtido por curetagem não evidenciaram alterações regressivas (112).

A experiência que foi se adquirindo com o uso dos agonistas do GnRH sugeria que esses medicamentos pudessem ser úteis para se induzir fertilidade (se utilizados de modo similar à liberação endógena do GnRH) ou para se obter efeitos anti-reprodutivos (se administrados em doses altas e repetidas).

Essa segunda possibilidade de uso clínico (obtenção de efeitos anti-reprodutivos) tem despertado o interesse de muitos pesquisadores. Surgiu, portanto, a necessidade de se fazer uma avaliação crítica da utilização dos agonistas com esse objetivo, no sentido de se comprovar o bloqueio da hipófise e das gônadas com o uso contínuo sob a forma de "spray" nasal, nas doses que estavam sendo recomendadas.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Objetivos gerais:

- 1- Verificar as possibilidades e limitações da via nasal para a administração única e/ou prolongada de um análogo agonista do GnRH, o D-Ser-(TBU)6-Ea10-GnRH.
- 2- Estudar a dose que provoca maior resposta aguda de liberação das gonadotrofinas, LH e FSH.
- 3- Estudar a dose que permite uma maior inibição da liberação de LH e FSH e conseqüentemente dos hormônios ovarianos, quando administrada diariamente pela via nasal, por períodos prolongados (até 1 ano).
- 4- Analisar os efeitos sobre a fisiologia das gonadas femininas e tecidos efetores (vagina, mama, endométrio, colo uterino) da administração prolongada, diária, pela via nasal do análogo do GnRH.

Objetivos Específicos:

- a) Estudo dos efeitos imediatos sobre os níveis de gonadotrofinas medidos em sangue venoso periférico após a administração do agonista pela via nasal.

- b) Estudo dos efeitos mediatos que o uso continuado do agonista por via nasal pode induzir em:
 - b.1) função hipofisária
 - b.2) função ovariana
 - b.3) anatomia ecográfica dos ovários
 - b.4) respostas dos órgãos efetores (útero, mama, vagina) aos esteróides sexuais e ao agonista.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Nesse trabalho, foi utilizado um agonista do GnRH, o D-Ser (Tbu)6 - EA10 - GnRH, que apresenta, como diferenças estruturais em relação ao hormônio liberador de gonadotrofinas, a substituição da glicina da posição 6 pela T-butil-Serina e a glicina-amida da posição 10, pela etilamida. Fig. 2.

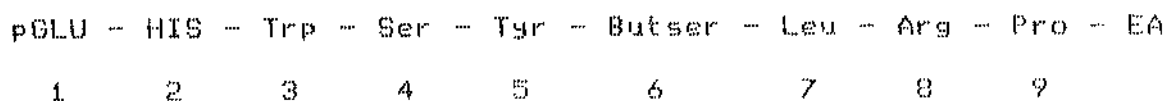


Fig. 2- D - Ser (Tbu)6 EA10 - GnRH

O análogo apresenta-se em solução, em frascos de vidro com um adaptador para aplicação sob a forma de "spray" para uso nasal. Uma aplicação do "spray" libera 200 mcg da solução.

MÉTODO DE SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS PARA O ESTUDO

Foram admitidas ao estudo 16 mulheres e 10 homens voluntá-

rios. Os critérios de seleção incluíram:

a) exame clínico considerado normal;

b) não utilização de medicamentos hormonais por um período de, no mínimo, 3 meses antes do início do estudo e até 3 meses após o término do mesmo;

c) não estarem (as mulheres) expostas à gravidez, ou por esterilização cirúrgica ou por utilização de métodos anticonceptivos que não interferem com a fisiologia reprodutiva (método de barreira).

d) idade entre 22 e 39 anos para as mulheres e 25 e 50 anos para os homens.

e) mulheres com evidências clínicas de ciclos ovulatórios imediatamente anteriores ao estudo (ciclos regulares);

MODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO AGONISTA

a) administração em dose única (200 ou 400 mcg) a 10 mulheres e 10 homens para se estudarem os efeitos na liberação imediata de gonadotrofinas hipofisiárias.

b) administração diária de 200 ou 400 mcg a 16 mulheres para estudo

dos efeitos mediatos sobre a hipófise, gônadas e órgãos efetores, num total de 155 meses de tratamento. Um grupo de 10 mulheres recebeu 200 mcg por dia por períodos de tempo que variaram de 2 a 12 meses, num total de 83 meses de estudo. Um grupo de 6 mulheres recebeu 400 mcg por dia, durante 12 meses, num total de 72 meses de uso. As características gerais das mulheres admitidas a este ensaio clínico, as doses administradas e o tempo de estudo, encontram-se na tabela 1.

MÉTODO DE ESTUDO

a) Estudo dos efeitos imediatos sobre a liberação de gonadotrofinas hipofisiárias:

Administrou-se o D - Ser (Tbu)6 EA10 - GnRH pela via nasal, em dose única a:

10 mulheres: sendo 6 com doses de 200 mcg e 4 com doses de 400 mcg, nos primeiros dois dias após a menstruação.

10 homens: em doses de 400 mcg.

- Foram colhidas amostras de 10 ml de sangue de veia periférica do antebraço imediatamente antes da administração da droga, e 2, 4 e 6 horas após.

- As amostras de sangue foram deixadas coagular a temperatura ambiente e centrifugadas. O soro obtido foi conservado a - 20 Graus C até a realização das dosagens hormonais.

- Completada a coleção de todas as amostras, estas foram encaminhadas para dosagens de FSH e LH pela técnica de radioimunoensaio.

(O mesmo procedimento para dosagem de FSH e LH foi utilizado nos outros estudos descritos mais adiante)

b) Estudos dos efeitos mediatos com uso continuado do análogo GnRH.

b1) FUNÇÃO HIPOFISÁRIA:

- Dosagens de LH e FSH em amostras colhidas de veia periférica do antebraço 2 vezes por semana no ciclo imediatamente anterior ao início do tratamento, no primeiro, terceiro, sexto e décimo segundo mês de tratamento, e de 1 a 3 meses após interrupção da droga, em 13 mulheres; em 7 delas a colheita era feita aproximadamente 12 horas após a administração do "spray" e em 6, aproximadamente 2 horas após.

- Colheita de sangue venoso periférico para dosagens de LH e FSH 2 vezes por semana no ciclo imediatamente anterior ao início do tratamento, durante 2 meses de uso da droga e no 1º mês, imediatamente após a interrupção do tratamento, em 3 mu-

lheres; colheita realizada aproximadamente, 2 horas após o uso do "spray".

b2) FUNÇÃO OVARIANA:

- Dosagens de Progesterona e Estradiol colhidas da veia periférica do antebraço, seguindo-se o mesmo esquema utilizado para o LH e o FSH.
- Para a dosagem de Progesterona e Estradiol também foi utilizado a técnica de radioimunoensaio.

DETALHES DAS DOSAGENS HORMONAIS REALIZADAS PELA TÉCNICA DE RADIOIMUNOENSAIO

O padrão utilizado para as dosagens do LH foi o LER - 907 que expressa o resultado em nanogramas por mililitro. A conversão para a Segunda Referência Internacional (Second IRP) é dada pela forma: 1 ng = 0,27 mUI/ml. O coeficiente de variação intra-ensaio foi de 10% e o inter-ensaio, 14%. A sensibilidade do método foi de 30 ng/ml.

Para a análise do FSH, utilizou-se a Segunda Referência Internacional com o resultado sendo dado em miliunidades internacionais por mililitro. A conversão para o LER - 907 é dada pela forma: 1 mUI/ml = 23 ng/ml. Os coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio fo-

ram 11 e 14% respectivamente, e a sensibilidade, 2,5 mUI/ml.

As dosagens de Progesterona foram realizadas com anticorpo altamente específico para Progesterona, com reação cruzada menor que 0,1% para os demais esteróides. O anticorpo foi obtido a partir do antígeno 11 alfa-hidróxiprogesterona - 11 alfa-M - succinato: BSA. Os resultados foram expressos em ng/ml. Os coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio foram 12 e 15% respectivamente, e a sensibilidade, 30 pg/ml.

Para o Estradiol utilizou-se anticorpo obtido a partir do antígeno 17 - beta-Estradiol - 6 - CMD: BSA, altamente específico (reação cruzada com os demais esteróides inferior a 0,1%). Os coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio foram de 12 e 15% respectivamente, e a sensibilidade, 10 pg/ml. Os resultados foram expressos em picogramas por mililitro.

b3) ANATOMIA ECOGRÁFICA DOS OVÁRIOS:

Os exames foram realizados com equipamento SAC-12-A da Toshiba com sondas de tempo real linear e estático, de 3,5 MHz. A técnica utilizada foi a de Donald e Abdulla (paciente em decúbito dorsal e repleção vesical suficiente para expor o fundo do útero), com múltiplos cortes ecográficos da pélvis: transversais, longitudinais e oblíquos.

Esta técnica foi utilizada em dois esquemas de estudo:

b3a) realização de ecografia pélvica antes do início do uso prolongado (2 a 12 meses) e após o seu término, em 16 mulheres.

b3b) monitorização ecográfica ovariana diária em 3 voluntárias durante 2 meses sob utilização do análogo do GnRH, e no ciclo posterior ao tratamento, para acompanhar o crescimento folicular (folículo de maior diâmetro), utilizando-se o caliper eletrônico próprio do instrumento.

b4) ÓRGÃOS EFETORES:

b4a) Útero

- Colo: colheita de citologia oncótica antes e após o estudo em 13 mulheres tratadas durante 1 ano; os esfregaços foram obtidos da ectocervix e do fundo de saco vaginal durante a primeira fase do ciclo e fixados com Carbowax. A coloração e a interpretação das lâminas seguiram os métodos preconizados por Papanicolau.

- Endométrio: realização de biópsia endometrial antes do

início do tratamento e em até 60 dias após o término do estudo, em 13 mulheres. As biópsias foram colhidas em ambulatório com uma cânula de Novak da parede anterior próxima ao fundo uterino. Os fragmentos foram fixados em formol a 15% e incluídos em parafina. As lâminas sofreram colocação pela hematoxilinaeosina.

- Anotação dos padrões de sangramento menstrual durante todo o estudo, incluindo-se 2 ciclos imediatamente anteriores ao tratamento e 2 ciclos imediatamente posteriores, em 16 mulheres. Essas informações foram registradas em impressos próprios, tipo calendários, distribuídos às voluntárias participantes do estudo.

b4b) Mama

- realização de ecografia mamária antes e após o estudo em 16 mulheres. Os exames foram realizados com equipamento SAC-12-A da Toshiba com sondas de tempo real linear de 3,5 e 5 MHz. A técnica consistiu em deixar as mulheres em decúbito dorsal, untar as mamas com gel próprio e utilizar-se de uma janela acústica (luva cirúrgica com água fervida para retirar o gás de dentro da água). Este recurso é necessário para que se tenha o parênquima da mama dentro do foco da sonda já que a mesma tem o seu foco a aproximadamente 5 cm.

b4c) Vagina

- Colheita de citologia hormonal seriada antes do início do método e após o seu término, em 13 mulheres, nos dias 7, 14, 19 e 23 do ciclo, aproximadamente. O material foi colhido do fundo de saco lateral direito e fixado com Carbowax. Para o estudo cito-hormonal utilizou-se o método de Shorr.

c) Exame clínico e pesquisa de efeitos colaterais:

Durante e após o estudo as mulheres foram submetidas a exame clínico e ginecológico com anamnese dirigida a possíveis efeitos colaterais do análogo de GnRH.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos resultados obtidos foram utilizados os testes T de Student e Qui-quadrado. Quando as variáveis analisadas eram variáveis quantitativas (ou paramétricas) e supostamente provenientes de uma distribuição normal, utilizou-se o teste T de Student de diferença das médias, como por exemplo, valores de FSH ou LH as 2, 4 e 6 horas em relação à hora 0.

O teste do Qui-quadrado foi aplicado quando os dados analisados eram variáveis qualitativas (não paramétricas) como por exemplo, número de ciclos menstruais com níveis de FSH iguais ou superiores a 25 mUI/ml em relação a dose do agonista e ao intervalo entre a administração da droga e a colheita do sangue para análise.

R E S U L T A D O S

RESULTADOS

a) Estudo dos efeitos imediatos sobre a liberação de gonadotrofinas hipofisárias:

As respostas da hipófise após administração de dose única do agonista podem ser vistas nas tabelas 2, 3, 4 e 5 e nos gráficos de 1 a 8.

Pode-se observar que se obteve liberação de FSH em quase todas as mulheres e em todos os homens; já a liberação de LH foi nitidamente mais elevada após a administração do GnRH análogo, em praticamente todos os voluntários; obteve-se nível de LH até 17,5 vezes maior 4 horas após o uso da droga (caso nº 8 - mulheres).

Em apenas um caso (nº 5) entre as mulheres não se observou aumento na liberação de gonadotrofinas.

Os gráficos, com valores absolutos e variação percentual, evidenciam resposta já após 2 horas de administração do agonista.

A análise estatística da tabela 4 revela haver diferenças significativas tanto para o FSH como para o LH, quando se comparam os valores obtidos as 2, 4 e 6 horas em relação à hora 0.

Não há diferenças significativas entre as respostas observadas com doses de 200 e 400 mcg nas mulheres. Não existem diferenças também quando se comparam os resultados obtidos em homens e mulheres (as que receberam 400 mcg ou o total delas). (Tabelas 6,7,8).

b) Estudo dos efeitos mediatos com uso continuado do agonista do GnRH

b.1) Função Hipofisária:

Os efeitos induzidos pelo uso crônico do agonista na liberação de gonadotrofinas pela hipófise podem ser visualizados nas tabelas 9,10, 11 e 12. As tabelas 9 e 11 mostram a incidência de ciclos onde ocorreu pelo menos um pico de gonadotrofinas. A tabela 9 refere-se aos ciclos com pelo menos um pico de LH igual ou superior a 350 ng/ml e a tabela 11, aos ciclos onde ocorrem um ou mais picos de FSH igual ou superior a 25 mUI/ml. Nas pacientes em amenorréia, foi considerado como ciclo o intervalo de 4 semanas durante as quais foram realizadas as colheitas do sangue, para análise.

As tabelas 10 e 12 mostram a incidência de picos de gonadotrofinas ocorridos em todas as amostras de sangue estudadas. A tabela 10 refere-se aos picos de LH iguais ou superiores a 350 ng/ml e a tabela 12, aos picos de FSH iguais ou superiores a 25 mUI/ml.

De todos os ciclos estudados pode-se perceber, na tabela 9, que em 56% deles ocorreu pelo menos um pico de LH maior ou igual a 350

ng/ml. Não há diferenças estatísticas em relação a dose (200 ou 400 mcg) ou ao intervalo entre a administração da droga e a colheita do sangue para análise (2 ou 12 horas).

A tabela 10 mostra que se observaram 16% de picos de LH maior ou igual a 350 ng/ml em amostras colhidas 2 horas após a administração da droga e somente 9% em amostras colhidas 12 horas após. Essas diferenças observadas em 2 e 12 horas após o tratamento são estatisticamente significativas. Em relação a dose (200 e 400 mcg) não há diferenças.

Com relação ao FSH, a tabela 11 mostra que dos ciclos estudados, em 57% deles ocorreu pelo menos um pico de FSH igual ou superior a 25 mUI/ml. Não há diferenças estatísticas em relação à dose. Em relação ao intervalo entre a administração do análogo e a colheita da amostra os picos iguais ou superiores a 25 mUI/ml são estatisticamente mais frequentes nas amostras colhidas 2 horas depois.

A tabela 12 revela que em 15% das amostras examinadas, encontrou-se FSH igual ou superior a 25 mUI/ml, sendo 19% quando se colhia o sangue 2 horas após a administração do medicamento e 10% quando o intervalo foi de 12 horas. Essa diferença é estatisticamente significativa. Não há diferenças em relação à dose.

Foram escolhidos valores de 350 ng/ml para o LH e 25 mUI/ml para o FSH para a realização dessas tabelas por serem esses os limites inferiores das variações observadas por ALVAREZ et. al. (1984) durante

o período periovulatório de mulheres normais. Esses autores confirmaram a ocorrência de ovulação através da recuperação do óvulo na trompa (3).

b.2) Função Ovariana:

Os efeitos da administração crônica do agonista sobre a produção de progesterona e estradiol podem ser visualizados nas tabelas 13, 14 e 15.

Observa-se na tabela 13 que em 14% dos ciclos estudados, obteve-se pelo menos uma dosagem de progesterona igual ou superior a 10 ng/ml; nota-se uma porcentagem maior nas mulheres que receberam 400 mcg em relação às que receberam 200 mcg, e essa diferença é estatisticamente significativa. Não há diferenças quando se comparam os resultados obtidos 2 ou 12 horas após a administração do medicamento.

Na tabela 15 pode-se ver que em 47% dos ciclos estudados obteve-se pelo menos uma amostra com estradiol igual ou superior a 250 pg/ml. Não há diferenças em relação à dose ou ao intervalo entre o uso do análogo e a colheita do sangue.

b.3) Anatomia Ecográfica dos ovários:

b.3.a) As medidas dos ovários realizadas antes e após o uso

do GnRH análogo nas mulheres podem ser visualizadas na tabela 16 que revela não ter ocorrido alteração no tamanho ecográfico dos ovários com o tratamento.

b.3.b) A monitorização ecográfica realizada em 3 mulheres durante 2 ciclos sob uso do GnRH análogo com o intuito de acompanhar o crescimento folicular está representada nos gráficos 9, 10 e 11, onde se registram os maiores diâmetros foliculares em cada ovário.

Nota-se que houve crescimento folicular nos 3 casos. Em 2 deles, esse crescimento iniciou-se na primeira semana de tratamento e no outro, na sexta semana. Os diâmetros máximos atingidos foram: 53, 35 e 50 mm, mantendo-se com características de cistos foliculares por períodos de 2 a 3 semanas.

b.4) Órgãos Efetores:

b.4.a) Útero:

- Colo - Os resultados de citologia oncótica em 13 mulheres, antes e após o tratamento, encontram-se na tabela 17, que mostra não ter havido alterações após o tratamento.

- Endométrio - A tabela 18 mostra os resultados das

biópsias de endométrio realizadas antes do início do tratamento e até 60 dias após o término do estudo, em 13 mulheres.

As biópsias realizadas após o tratamento não revelam indícios de alterações endometriais tipo hiperplasia. A maioria delas é compatível com o endométrio secretor, com exceção dos casos de amenorréia onde muito provavelmente correspondem a endométrio atrófico.

- Perfil

Menstrual - Os gráficos 12 e 13 mostram o perfil menstrual de cada uma das 13 mulheres sob uso prolongado do análogo do GnRH.

A maioria delas apresentou irregularidades menstruais, predominando os períodos de oligoamenorréia.

b.4.b) Mama: O estudo ecográfico mamário realizado antes e após o uso do GnRH análogo em 10 mulheres encontra-se sintetizado na tabela 19. O exame ecográfico mamário procurou evidenciar qual o grau de substituição do tecido glandular por tecido fibroadiposo. O padrão ecográfico "levemente substituído" refere-se a mama com tecido glandular

predominante (geralmente encontrado em mulheres jovens). O padrão "moderadamente substituído" diz respeito à presença de tecido glandular e tecido fibroadiposo em proporções semelhantes. O padrão "grandemente substituído", mais observado em mulheres mais velhas, denota o predomínio de tecido fibroadiposo.

Não se observaram alterações importantes nos nossos casos, com o uso do medicamento.

b.4.c) Vagina: Os resultados das citologias hormonais seriadas colhidas em 13 mulheres antes do uso do GnRH e após o seu término estão resumidos na tabela 20.

c) Exame Clínico e Pesquisa de Efeitos Colaterais

Os exames clínicos realizados durante e após o tratamento não revelaram achados significativos em comparação com os iniciais.

A avaliação do peso corporal durante o tempo de estudo nas 13 mulheres que utilizaram o análogo de 8 a 12 meses, encontra-se na tabela 21.

As médias da pressão arterial nas 13 mulheres que permaneceu-

ram mais tempo em estudo, podem ser vistas na tabela 22. Nenhuma paciente teve alteração superior a 10 mm Hg na sistólica ou na diastólica durante ou após o tratamento.

Os sintomas referidos pelas 16 mulheres durante a utilização do análogo do GnRH encontram-se discriminados na tabela 23.

Pode-se perceber que predominam as queixas sobre os efeitos locais produzidos pelo agonista (sensação de gosto amargo e desconforto nasal).

Os gráficos 14 a 26 representam o perfil hormonal e menstrual de cada uma das 13 mulheres que utilizaram o análogo do GnRH por períodos prolongados (variando de 8 a 12 meses).

D I S C U S S Ã O

DISCUSSÃO

No processo de reprodução humana é necessário um equilíbrio perfeito (tanto qualitativo como quantitativo) entre o hipotálamo, a hipófise e as gônadas, no que se refere as gonadotrofinas e aos esteróides sexuais. Esse equilíbrio é essencial para a maturação folicular, ovulação, implantação, nidacão e manutenção da gravidez. Qualquer interferência exógena nesse delicado processo pode produzir alterações no perfeito funcionamento desses órgãos.

Sabe-se que o GnRH é secretado no hipotálamo em pequenos pulsos, que são similares aos pulsos de gonadotrofinas, o que sugere que a característica da secreção pulsátil de gonadotrofinas depende dos pulsos de GnRH e a amplitude e frequência de gonadotrofinas são determinadas pela amplitude e frequência dos pulsos de GnRH do hipotálamo.

As evidências indicam que as células da hipófise respondem ao estímulo agudo do GnRH com liberação de hormônios (FSH e LH) que estavam estocados.

O GnRH pode também estimular a síntese de hormônios gonadotróficos; entretanto, não está muito claro se isso se deve a uma ação direta do GnRH, ou se a produção de gonadotrofinas é conseqüente de uma diminuição dos estoques (120).

A descoberta de Schally em 1971, quando ele conseguiu isolar o hormônio liberador de gonadotrofinas, trouxe aos pesquisadores interessados no estudo da reprodução humana, um clima de expectativa muito grande. As possíveis aplicações desse novo fármaco poderiam se constituir numa nova alternativa dentro do arsenal propedêutico e terapêutico na ginecologia endócrina, com um campo de ação seguramente muito amplo. Pensou-se também que a sua utilização permitiria compreender melhor a fisiologia reprodutiva em geral, e a fisiopatologia de diversas doenças em particular.

Uma vez realizada a síntese do GnRH, surgiram como limitações para o uso terapêutico, a sua média de vida curta e a necessidade de ser administrada pela via subcutânea ou endovenosa.

Durante a década de 70 e o início dos anos 80, com o aparecimento dos análogos do GnRH de muito maior potência terapêutica, e que poderiam tanto ampliar como bloquear sua ação, as possibilidades de utilização clínica desses análogos deram novo impulso aos experimentos dessa área.

Inicialmente se acreditava que se conseguiria estimular a fertilidade com o GnRH e os análogos agonistas, enquanto que os antagonistas seriam capazes de inibir a fertilidade. Com os novos conhecimentos adquiridos a respeito da resposta hipofisiária percebeu-se que os agonistas e o GnRH induziam respostas diferentes da pituitária, dependendo da dose e da maneira como eram utilizados. Pequenas doses administradas em um padrão pulsátil poderiam ativar a liberação de go-

nadotrofinas; doses altas levariam a um bloqueio da função hipofisiária, se utilizadas cronicamente.

Durante a última década, foram sintetizados aproximadamente 1000 análogos. Os análogos agonistas, mais estudados até agora que os antagonistas, mostraram-se capazes de agir na hipófise, sendo 200 a 500 vezes mais potentes que o GnRH endógeno.

A administração de dose única (ou pequenas doses a intervalos pequenos) do agonista provocou liberação de gonadotrofinas.

O uso contínuo de análogos do GnRH, em doses altas, mostrou-se capaz de bloquear a hipófise com diminuição dos níveis de gonadotrofinas. Isto porque, após uma dose alta do agonista que estimula a liberação de gonadotrofinas, segue-se uma fase de dessensibilização da hipófise com respostas reduzidas a novas doses do análogo. A falta de resposta da hipófise pode ser tanto devida a uma depleção do "pool" de gonadotrofinas a serem liberadas, como também a uma diminuição do número de receptores hipofisiários para o GnRH. Essa diminuição da produção de gonadotrofinas com doses altas e repetidas do agonista foi acompanhada de redução dos níveis de esteróides produzidos pelas gônadas.

Esses achados criaram grandes esperanças no emprego desses agonistas tanto no campo da esterilidade como no tratamento de inúmeras doenças nas quais é desejável um bloqueio da ação da hipófise ou das gônadas.

A utilização dos agonistas para induzir fertilidade não tem dado, até agora, bons resultados. A principal dificuldade é reproduzir o padrão pulsátil da estimulação da hipófise sem induzir uma dessensibilização da pituitária. Para se evitar a dessensibilização hipofisiária foram propostos tratamentos com doses pequenas em dias alternados, porém os resultados não foram satisfatórios tanto para os casos de hipogonadismo hipogonadotrópico como para pacientes com amenorréia secundária (90). As possibilidades de aplicação clínica desses medicamentos para estimulação da hipófise resumem-se em tentativas de indução de ovulação com doses agudas.

O tratamento crônico com agonistas poderia ser útil em muitas situações clínicas onde é desejável uma diminuição da produção de gonadotrofinas e conseqüentemente dos hormônios dos órgãos-alvo.

Pacientes portadores de puberdade precoce idiopática poderiam ter uma supressão das funções da hipófise e das gônadas com altas doses diárias do agonista, o que interromperia o amadurecimento precoce das metáfises e evitaria a baixa estatura desses indivíduos.

Os sintomas da endometriose poderiam ser controlados desde que o uso crônico do agonista pudesse reduzir a produção de estradiol e induzir amenorréia.

A supressão da secreção das gonadotrofinas poderia também ser uma alternativa para o tratamento clínico de tumores hormônio-depen-

dentes. Os agonistas, embora não bloqueiem os receptores para os esteróides, podem alterar os receptores para as gonadotrofinas nas gônadas, podendo pois, afetar a produção de esteróides. Pacientes com câncer de mama, câncer de endométrio e câncer de próstata são alguns exemplos de pacientes candidatos a esse tratamento.

Por outro lado o efeito da abolição do pico de LH no meio do ciclo com doses repetidas do agonista do GnRH poderia ser uma alternativa válida aos métodos anticoncepcionais anovulatórios (hormonais) ora existentes.

Esse possível efeito anticoncepcional do GnRH análogo ofereceria algumas vantagens em relação a inibição da ovulação induzida pelos esteróides normalmente utilizados nas pílulas, pelo fato de não ter o agonista os efeitos secundários desses mesmos esteróides sobre os órgãos-alvo, ou mesmo sobre outros sistemas e aparelhos. São bastante conhecidos, por exemplo, os riscos da utilização de esteróides anticoncepcionais, principalmente durante um tempo superior a cinco anos, no que tange a acidentes cardiovasculares e trombo-embólicos, notadamente em mulheres fumantes e hipertensas. Fraser (1982) entendia ser o uso de agonista do GnRH mais indicado, como contraceptivo, para mulheres com mais de 35 anos de idade ou em lactantes, por provocar menos efeitos colaterais que os demais anticoncepcionais hormonais(40).

Assim, Corbin & Bex. (1981) entendiam que se tratava do maior avanço do desenvolvimento da contracepção em mulheres, desde o advento

da pílula anticoncepcional (31).

Além disso, conseguindo-se diminuir o número de ciclos ovulatórios das mulheres, pode-se estar fazendo uma profilaxia para a neoplasia mamária, uma vez que atualmente, a impressão geral é que quanto mais ciclos ovulatórios a mulher apresenta (menarca mais precoce, menopausa mais tardia, pequeno número de gestações) maior é o risco de nela se desenvolver um câncer de mama.

O mesmo raciocínio aplica-se atualmente ao câncer de ovário. Acredita-se numa "ação protetora" para o câncer ovariano quando ocorre uma diminuição do número de ciclos ovulatórios. Aparentemente, os traumas na superfície ovariana provocados pelas ovulações poderiam contribuir para o desenvolvimento do câncer (73). Casagrande et al. (1979) demonstraram que o risco de câncer de ovário diminui à medida em que a mulher passe mais tempo sem ovular(23).

No primeiro grupo de doenças, é indispensável que o bloqueio da função gonadal seja total e permanente. Não poderia esperar-se um efeito terapêutico na endometriose ou no câncer de mama com receptores de Estradiol positivo, se ocorressem picos de estrógeno durante a terapêutica.

O efeito anticoncepcional é menos exigente, porém seria necessário que o efeito anovulatório fosse persistente já que não contaria com outros efeitos anticoncepcionais observados com a administração de progestágenos.

O efeito inibidor dos agonistas do GnRH sobre a fertilidade pode se manifestar por vários mecanismos diferentes, com ações tanto sobre a hipófise como sobre o ovário.

A administração de análogos agonistas altera o padrão pulsátil do GnRH endógeno provocando, ora uma hipersecreção de LH e FSH, ora uma diminuição dos estoques de gonadotrofinas hipofisiárias. A nível do ovário, ele induz a uma diminuição no número de receptores para o LH, o FSH e a prolactina e inibe a esteroidogênese ovariana. A injeção diária do agonista leva a uma importante redução do número de receptores para o LH nas gônadas (ação sobre o ovário), enquanto que a infusão contínua da mesma quantidade do análogo provoca predominantemente uma inibição da pituitária (ação sobre hipófise) (90).

Consequentemente, a administração de análogos do GnRH pode inibir a ovulação ou induzir efeitos luteolíticos com queda da progesterona plasmática, através dos mecanismos descritos acima e ainda outros não perfeitamente esclarecidos.

Os nossos resultados mostraram que a administração de dose única do GnRH análogo tanto a homens como a mulheres, foi capaz de estimular a hipófise a liberar gonadotrofinas, principalmente o LH.

Esses achados, semelhantes a outras publicações, evidenciam a propriedade desse análogo em induzir a liberação de gonadotrofinas quando administrado sob a forma de "spray" nasal em dose única. Con-

firma também a possibilidade da utilização da via nasal para esse polipeptídeo, assim como já foi demonstrado para a ocitocina.

O perfil das respostas hipofisiárias ao estímulo do análogo do fator liberador analisadas globalmente sugere que a hipófise não distingue doses de 200 ou 400 mcg por dia. A liberação de gonadotrofinas é semelhante com as duas doses, tanto após dose única (homens e mulheres) como sob estímulo continuado, talvez porque a dose máxima que consiga estimular a hipófise esteja ao redor de 200 mcg por dia, e sendo assim, doses maiores não conseguiram ampliar sua resposta. Há também a possibilidade de doses superiores a 200 mcg não serem absorvidas pela mucosa nasal.

Entretanto, o efeito inibitório sobre a produção de gonadotrofinas com o uso crônico do análogo do GnRH por via nasal não é persistente, como ficou demonstrado por alguns dos nossos resultados. Observaram-se picos de LH e FSH durante o tratamento.

Quando se analisa a porcentagem de picos de LH iguais ou superiores a 350 ng/ml nas amostras estudadas (tabela 10), pode-se perceber que eles não são raros e observam-se mais frequentemente quando a colheita de sangue para análise é feita logo após a administração da droga, mostrando que a hipófise não se encontra totalmente esgotada durante o uso prolongado do análogo do GnRH.

Se levarmos em consideração o número de ciclos, onde tivemos pelo menos uma amostra com níveis plasmáticos de LH iguais ou superior-

res a 350 ng/ml (tabela 9), podemos notar uma incidência relativamente alta de 65% e 46% respectivamente em amostras colhidas 2 horas e 12 horas após a administração da droga.

Esta alta porcentagem de ciclos com níveis altos de LH (56% de todos os ciclos estudados) não se acompanha, todavia, de indícios de ovulação nas mesmas proporções. Isso pode ser observado na tabela 13, onde se nota que 14% dos ciclos apresentaram níveis de progesterona iguais ou superiores a 10 ng/ml. Essa discrepância de resultados fica melhor evidenciada quando se separam os dados de acordo com a dose do GnRH-análogo. Com doses de 200 mcg por dia, observaram-se 57% de ciclos com LH maior ou igual a 350 ng/ml, com apenas 6% de ciclos com níveis plasmáticos de progesterona iguais ou superiores a 10 ng/ml. Com doses de 400 mcg, tivemos 54% de ciclos com LH maior ou igual a 350 ng/ml e 25% com progesterona igual ou superior a 10 ng/ml.

Embora a incidência de ciclos com LH maior ou igual a 350 ng/ml fosse parecida com as duas dosagens, paradoxalmente tivemos mais ciclos com progesterona igual ou superior a 10 ng/ml com doses de 400 mcg.

Se, por um lado, a hipófise não responde de maneira diversa se estimulada continuamente com doses de 200 ou 400 mcg por dia, o achado de níveis mais altos de progesterona com doses diárias de 400 mcg corrobora a impressão de que a dose máxima diária, que poderia bloquear a hipófise, está em torno de 200 mcg por dia.

Esses resultados sugerem que os picos de LH em mulheres sob utilização de um análogo do GnRH não são sempre acompanhados de ruptura folicular e a ocorrência de ovulação não depende necessariamente da dose do análogo utilizado. Existe também a possibilidade de ocorrência de luteinização de folículos que não sofreram rupturas. Por outro lado, fica difícil estabelecer-se se nos casos onde ocorreram ovulações, essas ovulações foram seguidas de luteinização normal; a melhor maneira de se correlacionar ovulação com fase lútea adequada seria a gravidez, o que não estava nos planos deste trabalho.

Segundo Hull et al. (1982) e Bergquist et al. (1982) o valor mínimo de progesterona plasmática compatível com ovulação é 9,4 e ao redor de 10 ng/ml, respectivamente (55,16). Essa foi a razão de termos tomado os valores iguais ou superiores a 10 para essa análise feita anteriormente.

Entretanto, o achado de picos de LH e níveis não desprezíveis de progesterona poderiam sugerir que pudesse ocorrer crescimento folicular até níveis de maturação e posterior ruptura com conseqüente produção de progesterona. Nos 3 casos, onde foi feita uma monitorização ecográfica dos ovários observaram-se crescimentos foliculares que alcançaram características de cistos foliculares.

Nesses casos o estradiol subiu até níveis de 150 a 325 pg/ml durante os períodos de maior desenvolvimento folicular, porém não houve indícios de ruptura e ovulação; os níveis de progesterona plasmática não ultrapassaram 1 ng/ml.

Bergquist & Lindgren (1983) mostraram resultados semelhantes utilizando o mesmo análogo do GnRH. Estudando 7 mulheres sob o uso contínuo de D-Ser (Tbu)6-EA10-GnRH em doses de 200 mcg por dia, observaram através da monitorização ecográfica, folículos com diâmetros de até 64 mm. A diferença de nossos casos foi o achado de elevação dos níveis de progesterona até 5 ng/ml aproximadamente. Os autores interpretaram os níveis de progesterona encontrados como evidências de luteinização de folículos não rotos (9).

De acordo com os resultados obtidos por Liukkonen et al. (1984) que realizaram laparoscopia ou laparotomia para confirmar a existência da síndrome do folículo luteinizado não roto, suspeitada através da monitorização ecográfica, 25% dos casos de infertilidade por eles estudados poderiam ser explicados por essa síndrome. Os valores de progesterona plasmática, nos casos com ovulação normal e luteinização de folículo não roto, situaram-se entre 5 e 30 ng/ml aproximadamente (67).

O tratamento contínuo com GnRH análogo não impede portanto o crescimento folicular e, ao contrário, pode associar-se a cistos foliculares e é possível que possa ocorrer produção de progesterona através da luteinização desses cistos.

Essa luteinização pode ser explicada pela estimulação precoce do folículo por picos de LH que são observados com esse tratamento. Segundo Coulam et al. (1982), se houver uma luteinização prematura do

folículo, pode ocorrer uma inibição da ruptura folicular decorrente de alterações na síntese de prostaglandinas (32).

A possibilidade de haver um estímulo irregular aos ovários pode ser sentida quando se observa a resposta das gônadas no que tange à produção de estrógenos. Os resultados das dosagens séricas de estradiol nas 16 mulheres apresentaram-se bastante díspares, com padrões de respostas muito irregulares. Em 47% dos ciclos estudados observaram-se picos de estradiol igual ou superior a 250 pg/ml.

Este valor escolhido por nós (250 pg/ml) nos parece significativo e suficientemente elevado para comprometer o tratamento de algumas patologias, já que valores acima desse nível foram raramente observados nos ciclos controles (pré-tratamento).

O desenvolvimento folicular irregular sob administração continuada do análogo do GnRH pode ser devida a uma irregular estimulação gonadotrófica ou a uma ação direta dessa droga sobre as gônadas.

Além disso deve-se considerar também a possível influência da dose do análogo sobre as gônadas. Foi demonstrado que doses muito pequenas do agonista do GnRH podem aumentar em até 5 vezes o número de receptores para o LH em testículos de rato, enquanto que doses maiores reduzem em 60% o número de receptores que havia antes do tratamento (100).

Esse conceito tem implicações clínicas muito importantes e

sugere que o tratamento crônico com um agonista do GnRH utilizado sob a forma de "spray" pode, dependendo da dose efetivamente absorvida, não induzir os esperados efeitos de inibição das gônadas.

Com a utilização por tempos prolongados do análogo do GnRH não se conseguiu, portanto, induzir a uma castração farmacológica das gônadas. Foram observados níveis relativamente altos de estradiol e de progesterona. Em alguns casos foi possível demonstrar a ocorrência de cistos foliculares. Isso ocorreu muito provavelmente porque não houve supressão da hipófise no sentido de se abolirem os picos de LH durante todo o tempo de estudo, ou porque o análogo não consegue bloquear totalmente a hipófise quando utilizado por tempos prolongados, ou porque a administração pela via nasal não consegue alcançar níveis necessários para se obter esse efeito.

Esses níveis altos de gonadotrofinas e esteróides sexuais foram observados tanto com doses de 200 como de 400 mcg por dia. Aparentemente não é aumentando-se a dose que se atinge o objetivo de se inibir as funções da hipófise e do ovário. A hipófise responde da mesma maneira quando estimulada por uma dose única (200 ou 400) a cada 24 horas. É possível que, se aumentarmos a frequência da administração do análogo de GnRH (com diminuição do intervalo entre as doses), mesmo com doses menores poderíamos reduzir as funções endócrinas desses órgãos a níveis basais.

Sem dúvida nenhuma, inúmeros fatores concorrem para que as respostas sejam bastante variáveis. O intervalo entre as doses utili-

zadas, a hora de aplicação do "spray", os níveis de estrógeno interferindo na resposta hipofisária, a forma como a droga é apresentada são particularidades que tornam o manuseio clínico por tempos prolongados, muito difícil.

Se levarmos em consideração que a atividade secretória normal do sistema hipotálamo-hipófise é regida por pulsos de hormônio liberador a cada 90 minutos aproximadamente, com uma meia vida muito curta, é lógico supor que a administração contínua (a cada 24 horas) de drogas mais potentes provoca alterações fisiológicas com conseqüências bastante variadas. Com uma dose diária do agonista (200 ou 400 mcg) estimulando a hipófise, é praticamente impossível identificar na resposta da mesma as funções de sensibilidade e de reserva.

Essas alterações endócrinas obtidas com o agonista podem induzir liberação irregular de gonadotrofinas pela hipófise com, possivelmente, períodos transitórios de uma verdadeira castração química, porém, é muito difícil inferir se a variabilidade das respostas depende da dose utilizada ou das variações existentes entre os indivíduos.

Levando-se em consideração que o tratamento de certas patologias (ou mesmo a manutenção de efeitos contraceptivos) exige uma inibição continuada da resposta da hipófise ou das gônadas, torna-se de difícil controle a aplicação clínica desses compostos. Os picos de estrógenos observados comprometem o tratamento de algumas moléstias. A possível ocorrência de ovulação em alguns casos não nos permite afirmar que se trata de um anticoncepcional seguro, o que de certa forma

contraria os resultados obtidos por Bergquist et al. (1979) que observaram inibição da ovulação em 87 de 89 ciclos estudados em 27 mulheres com uso diário de 400 ou 600 mcg do mesmo agonista sob a forma de spray nasal (12).

Por outro lado, o temor que as modificações endócrinas provocadas pelos análogos agonistas do GnRH pudessem induzir alterações sobre o endométrio e sobre a mama, não se confirmou. Embora o tempo máximo de uso tenha sido um ano, pode-se afirmar que, pelo menos até esse período não se notaram efeitos danosos sobre esses órgãos.

O exame clínico e ecográfico das mamas e a análise dos padrões menstruais e a biópsia do endométrio não sugerem que o uso prolongado do agonista do GnRH possa provocar alterações que poderiam ser esperadas pela supressão da ovulação.

Não se notaram alterações nos padrões de citologia oncótica cérvico-uterina, citologia hormonal seriada ou no exame clínico geral durante e após o tratamento.

Ficou demonstrado também que as medidas ecográficas dos ovários, realizadas 1 a 2 ciclos após a interrupção da droga, tendem a apresentar-se praticamente iguais as de pré-tratamento.

Pode-se perceber, entretanto, que os efeitos dessa droga são reversíveis. Os ciclos normais, inclusive com a ocorrência de ovulação, retornaram após a interrupção do tratamento. Mesmo nos casos onde

foi possível detectar-se a presença de cistos foliculares, houve regressão desses cistos, ou durante o tratamento, ou logo após o mesmo.

Em síntese, o uso contínuo dos agonistas do GnRH levando a uma inibição da hipófise e das gônadas surgiu como uma alternativa aos meios hoje disponíveis, para se obterem efeitos anti-reprodutivos. Os primeiros experimentos utilizando a via subcutânea mostraram que era possível atingir esse objetivo.

Entretanto a apresentação de um medicamento para ser utilizado diariamente por via subcutânea, evidentemente traria dificuldades para que esse medicamento passasse a ter um lugar de destaque dentro do arsenal terapêutico em ginecologia. Por isso, começou-se a procurar outras formas de apresentação que o tornasse mais prático para o uso clínico diário. Não se conseguiu processá-lo para uso por via oral; a absorção pelo trato gastrointestinal não se mostrou eficaz em virtude da rápida inativação dos peptídeos pelas enzimas gastro-intestinais (101). Chegou-se então, a uma apresentação sob forma de "spray" para ser absorvido pela mucosa nasal. Vários estudos indicaram que a droga era realmente absorvida por via nasal.

Este trabalho procurou verificar a eficiência do agonista apresentado sob a forma de "spray" nasal, quando utilizado por tempos prolongados. Os nossos resultados não foram muito animadores. Aparentemente, a via nasal oferece limitações principalmente em relação à dosagem; não se conseguiu aumentar o bloqueio da hipófise e das gônadas, ao se aumentar a dose. É provável que a mucosa nasal só consiga

absorver o agonista do GnRH até determinada concentração e por isso não se obteve uma inibição continuada da hipófise e dos ovários como havia sido observado com o uso da via subcutânea. Talvez a aplicação do "spray" nasal em doses menores, porém com diminuição do intervalo entre as mesmas, pudesse provocar os efeitos esperados. Porém, é para se discutir se do ponto de vista prático, isto seria interessante.

Não podemos nos esquecer também que existe a possibilidade de terem ocorrido falhas no uso do "spray". O medicamento pode não ter sido aplicado todos os dias, ou a aplicação não ter sido correta em algumas vezes. O grupo de mulheres que participou do experimento era formado por voluntárias e com um grau de motivação suficiente para participar de um ensaio clínico deste tipo. As eventuais falhas do uso correto do "spray" devem ser contabilizadas como limitações da via nasal para drogas bio-ativas a serem utilizadas por tempo prolongado em ginecologia endócrina.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. A administração do agonista do GnRH (D-Ser (Tbu)₆- EA10- GnRH) por via nasal mostrou-se capaz de estimular a liberação de gonadotrofinas pela hipófise.
2. Os efeitos observados (imediatos e mediatos) com esse medicamento não sugerem que haja diferenças entre as doses de 200 e 400 mcg.
3. Não se conseguiu uma castração farmacológica permanente das gônadas com uso continuado do D-Ser (Tbu)₆- EA10- GnRH por via nasal com uma aplicação diária, por períodos de até 1 ano.
4. Não foram observados efeitos secundários importantes sobre os órgãos efetores com o uso prolongado (até 1 ano).
5. Os efeitos sobre a hipófise e as gônadas são reversíveis quando se interrompe o uso do medicamento.

TABELAS E GRÁFICOS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS, DOSES ADMINISTRADAS E DURAÇÃO DO ENSAIO CLÍNICO DAS MULHERES ADMITIDAS AO ESTUDO.

Nº DE ORDEM	IDADE	PARIDADE	MÉT ANT ADOTADO	DOSE mcg/dia	TEMPO-meses (uso droga)
01	37	G3 P3 A0	Laqueadura	400	12
02	37	G2 P2 A0	Laqueadura	400	12
03	34	G4 P3 A1	Laqueadura	200	12
04	39	G6 P6 A0	Laqueadura	400	12
05	35	G5 P5 A0	Laqueadura	200	12
06	34	G4 P3 A1	Laqueadura	200	12
07	38	G4 P4 A0	Laqueadura	200	12
08	33	G7 P6 A1	Laqueadura	400	12
09	28	G4 P4 A0	Laqueadura	200	12
10	37	G5 P5 A0	Laqueadura	400	12
11	30	G4 P4	Laqueadura	200	09
12	34	G2 P2 A0	Barreira	400	12
13	34	G8 P7 A1	Laqueadura	200	08
14	22	G0	Barreira	200	02
15	36	G4 P3 A1	Laqueadura	200	02
16	33	G3 P3 A0	Laqueadura	200	02
TOTAL DE MESES ESTUDADOS					155

TABELA 2 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE 200 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH EM DOSE ÚNICA, SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NA LIBERAÇÃO IMEDIATA DE GONADOTROFINAS HIPOFISÁRIAS, EM MULHERES NORMAIS

Nº	FSH (mUI/ml)				LH (ng/ml)			
	Tempo (horas)				Tempo (horas)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
3	8,0	19,5	25,0	16,0	50	94	240	125
5	20,5	6,6	9,2	13,0	50	56	52	68
7	17,0	23,0	34,0	24,0	60	280	520	290
9	6,4	28,0	-	23,5	54	500	-	260
11	7,8	27,0	33,0	28,5	190	860	880	740
13	28,0	39,0	11,5	22,5	240	390	86	200
\bar{X}	14,6	23,85	22,54	21,25	107,33	363,33	355,6	280,5
	----- N.S.				----- N.S.			
	----- N.S.				----- N.S.			
	----- N.S.				----- N.S.			

Teste "T" Student
 N.S. = NÃO SIGNIFICATIVO

TABELA 3 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE 400 mcg DE D-SER TBU)6-EA10-GnRH EM DOSE ÚNICA, SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NA LIBERAÇÃO IMEDIATA DE GONADOTROFINAS HIPOFISÁRIAS, EM MULHERES NORMAIS

Nº	FSH (mUI/ml) Tempo (horas)				LH (ng/ml) Tempo (horas)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
4	6,0	43,0	50,0	30,0	50	450	350	190
8	2,5	28,0	35,0	39,0	40	320	700	520
10	11,0	9,0	35,0	35,0	165	580	1000	900
12	5,7	4,0	5,0	6,4	71	760	120	115
\bar{x}	6,3	21,0	31,25	27,6	81,5	527,5	542,5	431,25
	<p>N.S.</p> <p>p < 0,05</p> <p>p < 0,05</p>				<p>p < 0,01</p> <p>N.S.</p> <p>N.S.</p>			

Teste "T" Student

N.S. = NÃO SIGNIFICATIVO

TABELA 4 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE 200 mcg OU 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH EM DOSE ÚNICA, SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NA LIBERAÇÃO IMEDIATA DE GONADOTROFINAS, EM MULHERES NORMAIS

Nº	FSH (mUI/ml)				LH (ng/ml)			
	Tempo (horas)				Tempo (horas)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
3	8,0	19,5	25,0	16,0	50	94	240	125
4	6,0	43,0	50,0	30,0	50	450	350	190
5	20,5	6,6	9,2	13,0	50	56	52	68
7	17,0	23,0	34,0	24,0	60	280	520	290
8	2,5	28,0	35,0	39,0	40	320	700	520
9	6,4	28,0	-	23,5	54	500	-	260
10	11,0	9,0	35,0	35,0	165	580	1000	900
11	7,8	27,0	33,0	28,5	190	860	850	740
12	5,7	4,0	5,0	6,4	71	760	120	115
13	28,0	39,0	11,5	22,5	240	390	86	200
\bar{x}	11,29	22,71	26,41	23,79	97,00	429,0	438,66	340,80
	<p> ----- p < 0,05</p> <p> ----- p < 0,02</p> <p> ----- p < 0,01</p>				<p> ----- p < 0,01</p> <p> ----- p < 0,01</p> <p> ----- p < 0,02</p>			

Teste "T" Student

TABELA 5 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH EM DOSE ÚNICA, SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NA LIBERAÇÃO IMEDIATA DE GONADOTROFINAS HIPOFISÁRIAS EM HOMENS NORMAIS

Nº	FSH (mUI/ml)				LH (ng/ml)			
	Tempo (horas)				Tempo (horas)			
	0	2	4	6	0	2	4	6
1	3,8	5,2	4,7	4,5	59	92	92	90
2	3,2	19,5	21,0	13,0	74	350	450	340
3	4,4	6,1	7,4	5,9	71	180	140	115
4	4,2	22,0	20,0	31,0	44	360	410	440
5	5,3	16,0	16,0	8,8	58	220	195	84
6	3,4	6,5	7,0	7,4	69	190	200	165
7	10,5	45,0	45,0	52,0	00	950	950	950
8	2,9	6,2	7,0	4,6	36	170	150	92
9	3,9	10,5	9,0	8,0	34	115	105	100
10	6,9	21,0	23,0	21,0	78	390	390	290
\bar{X}	4,85	15,8	16,01	15,62	62,3	301,7	307,2	259,04

Teste "T" Student

TABELA 6 - ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE AS TABELAS 2 E 3

	<u>Dif. LH entre 0 e 2 horas</u>		<u>Dif. FSH entre 0 e 2 horas</u>	
	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO A	GRUPO B
Nº Casos	6	4	6	4
Média	256,0	446,0	9,2	14,7
Desvio Padrão	233,62	149,73	11,59	17,04
Erro Padrão	95,38	74,87	4,73	8,52
Teste "T" INDEP		1,289 (N.S.)		0,540 (N.S.)

GRUPO A = Mulheres com doses de 200 mcg
 GRUPO B = Mulheres com doses de 400 mcg

N.S. = NÃO SIGNIFICATIVO

TABELA 7 - ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE AS TABELAS 4 E 5

	<u>Dif. LH entre 0 e 2 horas</u>		<u>Dif. FSH entre 0 e 2 horas</u>	
	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO A	GRUPO B
Nº Casos	10	10	10	10
Média	332,0	239,4	11,4	11,0
Desvio Padrão	224,45	223,86	14,28	9,78
Erro Padrão	70,98	70,79	4,52	3,09
Teste "T" INDEP		0,976 (N.S.)		0,091 (N.S.)

GRUPO A = Mulheres com doses de 200 ou 400 mcg
 GRUPO B = Homens com doses de 400 mcg

N.S. = NÃO SIGNIFICATIVO

TABELA 8 - ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE AS TABELAS 3 E 5

	<u>Dif. LH entre 0 e 2 horas</u>		<u>Dif. FSH entre 0 e 2 horas</u>	
	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO A	GRUPO B
Nº Casos	4	10	4	10
Média	446,0	239,4	14,7	11,0
Desvio Padrão	149,73	223,86	17,04	9,78
Erro Padrão	74,87	70,79	8,52	3,09
Teste "T" INDEP	1,574 (N.S.)		0,477 (N.S.)	

GRUPO A = Mulheres com doses de 400 mcg
GRUPO B = Homens com doses de 400 mcg

N.S. = NÃO SIGNIFICATIVO

TABELA 9 - NÚMERO E PORCENTAGEM DOS CICLOS MENSTRUAIS ESTUDADOS DURANTE USO DIÁRIO DE 200 E 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 E 12 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO, QUE APRESENTARAM NÍVEIS DE LH IGUAIS OU SUPERIORES A 350 ng/ml

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº CICLOS	LH \geq 350		Nº CICLOS	LH \geq 350		Nº CICLOS	LH \geq 350	
	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%
2 HS	17	11	64,7	12	9	66,6	29	19	65,5*
12 HS	16	8	50,0	12	5	41,6	28	13	46,4*
TOTAL	33	19	57,5**	24	13	54,1**	57	32	56,1

* Diferença 2hs X 12hs $x^2 = 2,108$ N.S.

** Diferença 200 mcg X 400 mcg $x^2 = 0,066$ N.S.

TABELA 10 - NÚMERO E PORCENTAGEM DE PICOS DE LH IGUAIS OU SUPERIORES A 350 ng/ml EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 E 12 hs APÓS ADMINISTRAÇÃO DIÁRIA DE 200 e 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº	LH \geq 350		Nº	LH \geq 350		Nº	LH \geq 350	
	AMOSTRAS	NÚMERO	%	AMOSTRAS	NÚMERO	%	AMOSTRAS	NÚMERO	%
2 HS	146	28	19,1	91	12	13,1	237	40	16,8*
12 HS	119	13	10,9	93	7	7,5	212	20	9,4*
TOTAL	265	41	15,4**	184	19	10,3**	449	60	13,3

* Diferença 2hs X 12 hs $\chi^2 = 5,356$ $p < 0,25$
 ** Diferença 200 mcg x 400 mcg $\chi^2 = 2,484$ N.S.

TABELA 11 - NÚMERO E PORCENTAGEM DOS CICLOS MENSTRUAIS ESTUDADOS DURANTE USO DIÁRIO DE 200 e 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 E 12 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO, QUE APRESENTARAM NÍVEIS DE FSH IGUAIS OU SUPERIORES A 25 mUI/ml

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº CICLOS ESTUDADOS	FSH \geq 25		Nº CICLOS ESTUDADOS	FSH \geq 25		Nº CICLOS ESTUDADOS	FSH \geq 25	
		CICLOS	%		CICLOS	%		CICLOS	%
2 HS	17	12	70,5	12	10	83,3	29	22	75,8*
12 HS	16	5	31,2	12	6	50,0	28	11	39,2*
TOTAL	33	17	51,5**	24	16	66,6**	57	33	57,8

* Diferença 2 hs x 12 hs

$\chi^2 = 7,918$

$p < 0,1$

** Diferença 200 mcg X 400 mcg

$\chi^2 = 1,309$

N.S.

TABELA 12 - NÚMERO E PORCENTAGEM DE PICOS DE FSH IGUAIS OU SUPERIORES A 25 mUI/ml EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 E 12 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DIÁRIA DE 200 E 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº	FSH \geq 25		Nº	FSH \geq 25		Nº	FSH \geq 25	
	AMOSTRAS	NÚMERO	%	AMOSTRAS	NÚMERO	%	AMOSTRAS	NÚMERO	%
2 HS	146	32	21,9	91	14	15,3	237	46	19,4*
12 HS	119	11	9,2	93	12	12,9	212	23	10,8*
TOTAL	265	43	16,2**	184	26	14,1**	449	69	15,3

* Diferença 2h X 12hs $\chi^2 = 6,305$ $p < 0,25$
 ** Diferença 200 mcg X 400 mcg $\chi^2 = 0,367$ N.S.

TABELA 13 - NÚMERO E PORCENTAGEM DE CICLOS MENSTRUAIS COM DOSAGENS DE PROGESTERONA IGUAL OU SUPERIOR A 10 ng/ml EM 16 MULHERES SOB USO DIÁRIO DE 200 E 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 OU 12 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DA DROGA

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº CICLOS	P ≥ 10		Nº CICLOS	P ≥ 10		Nº CICLOS	P ≥ 10	
	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%
2 HS	17	-	0	12	3	25,0	29	3	10,3*
12 HS	16	2	2,5	12	3	25,0	28	5	17,9*
TOTAL	33	2	6,06**	24	6	25,0**	57	8	14,03

* Diferença 2h X 12 hs x2 = 0,666 N.S.
 ** Diferença 200 mcg x 400 mcg x2 = 4,131 p < 0,5

TABELA 14 - VALOR MÁXIMO DE PROGESTERONA PLASMÁTICA (ng/ml) EM CADA CICLO ESTUDADO EM 16 MULHERES SOB USO DIÁRIO DE 200 E 400 mcg DE D-SER(TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL

C I C L O S									
Nº	CICLO CONTROLE	1	2	3	4	6	12	1º PÓS TRAT	2º PÓS TRAT
01	6,27	4,79		3,6		3,1	2,00	12,5	7,75
02	17,78	12,08		4,4		10,7	12,88	12,5	10,25
03	13,68	0,96		3,2		2,4	1,00	6,25	11,8
04	13,00	8,44		6,9		5,5	4,37	8,5	12,5
05	15,96	2,39		3,8		4,1	3,62	12,5	11,75
06	13,68	1,69		3,6		3,4	0,93	1,62	12,5
07	15,5	18,24		8,4		6,8	7,42	9,00	12,5
08	13,22	1,6		2,4		14,1	10,00	12,5	9,2
09	17,78	3,6		2,9		3,92	1,5	7,25	1,7
10	16,87	2,8		5,2		5,88	14,00	6,4	18,9
11	5,9	5,9			4,4	7,28	-	-	2,18
12	5,6	3,36			2,46	1,62	0,33	0,5	8,8
13	7,28	4,34			4,0	13,00		13,00	18,00
14	8,4	0,42	0,52					6,6	
15	8,2	0,31	0,36					7,4	
16	10,00	2,00	0,9					7,8	

TABELA 15 - NÚMERO E PORCENTAGEM DE CICLOS MENSTRUAIS COM DOSAGENS DE ESTRADIOL PLASMÁTICO IGUAL OU SUPERIOR A 250 pg/ml EM 16 MULHERES SOB USO DIÁRIO DE 200 E 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, EM AMOSTRAS COLHIDAS 2 E 12 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DA DROGA

	200 mcg			400 mcg			TOTAL		
	Nº CICLOS	E2 ≥ 250		Nº CICLOS	E2 ≥ 250		Nº CICLOS	E2 ≥ 250	
	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%	ESTUDADOS	CICLOS	%
2 HS	17	8	47,05	12	5	41,6	29	13	44,8*
12 HS	16	7	43,7	12	7	58,3	28	14	50,0*
TOTAL	33	15	45,4**	24	12	50,0**	57	27	47,3

* Diferença 2 hs X 12 hs

x2 = 0,153

N.S.

**Diferença 200 mcg X 400 mcg

x2 = 0,115

N.S.

FABELA 16 - MEDIDAS ECOGRÁFICAS (EM mm) DOS OVÁRIOS EM MULHERES USUÁRIAS DO D-SER (TBU)6-EA10-GnRH COM DOSES DIÁRIAS DE 200 OU 400 mcg SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, ANTES E APÓS O TRATAMENTO

Nº	PRÉ TRATAMENTO		PÓS TRATAMENTO	
	Ov.D	Ov.E	Ov.D	Ov.E
01	29 X 20	27 X 16	25 X 18	26 X 18
02	23 X 29	25 X 22	33 X 28	29 X 19
03	31 X 22	29 X 18	31 X 22	29 X 24
04	31 X 17	30 X 20	31 X 19	31 X 26
05	31 X 20	Ñ Visual	29 X 22	Ñ Visual
06	27 X 25	28 X 23	29 X 18	25 X 19
07	24 X 18	25 X 17	27 X 19	30 X 21
08	26 X 18	19 X 25	26 X 16	23 X 16
09	27 X 16	32 X 26	25 X 21	24 X 24
10	30 X 21	27 X 24	Ñ Visual	27 X 17
11	26 X 21	26 X 19	29 X 20	27 X 19
12	29 X 19	31 X 25	Não Realiz.	
13	32 X 23	33 X 19	30 X 23	35 X 22
14	34 X 21	36 X 19	36 X 19	36 X 20
16	Ñ Visual	32 X 19	31 X 19	32 X 23

Ov.D = OVÁRIO DIREITO
Ov.E = OVÁRIO ESQUERDO

TABELA 17 - RESULTADOS DA CITOLOGIA CÉRVICO UTERINA EM MULHERES USUÁRIAS DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH COM DOSES DIÁRIAS DE 200 OU 400 mcg SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, ANTES E APÓS O TRATAMENTO

Nº	PRÉ TRATAMENTO	PÓS TRATAMENTO
01	II	II
02	II	II
03	II	II
04	II	II (TV, HV)
05	II	II (HV)
06	II	I
07	II	II (HV)
08	II	II (HV)
09	II (TV)	II
10	II	II
11	II	II (TV)
12	II	II
13	II (HV)	II

T.V. = Tricomonas Vaginalis

H.V. = Hemophilus Vaginalis

TABELA 19 - RESULTADOS DAS BIÓPSIAS DE ENDOMÉTRIO EM USUÁRIAS DE D-SER (TBU)6-FA10-GnRH COM DOSES DIÁRIAS DE 200 OU 400 mcg SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, ANTES E APÓS O TRATAMENTO

Nº	PRÉ TRATAMENTO		PÓS TRATAMENTO	
	DIA DO CICLO	CICLO - CONTROLE	DIA DO CICLO	ATÉ 60 DIAS APÓS INTERRUPTÃO DA DROGA
01	22º	Secretor Inicial (19º - 21º)	24º	Secretor Médio (21º - 23º)
02	26º	Secretor Tardio (gl.dilat.cist.)(24º - 26º)	23º	Secretor Médio (21º - 23º)
03	24º	Secretor Inicial	26º	Secretor Inicial (19º - 21º)
04	22º	Secretor Inicial (20º - 22º)	24º	Secretor Inicial (Mat. Escasso)
05	21º	Secretor Inicial (19º - 21º)	24º	Secretor Inicial (1 frag.sugest. pólipso end) (19º - 21º)
06	-	Não Realizada	amenorréia	H. inadequado p/avaliação
07	21º	Secretor Médio (21º - 23º)	26º	Secretor Médio (21º - 23º)
08	25º	Secretor Inicial (17º - 19º)	23º	Secretor Inicial (19º - 21º)
09	24º	Secretor Inicial (17º - 19º)	amenorréia	Mat. inadequado p/avaliação
10	23º	Secretor Médio (Hemorrag. Estroma) (21º - 23º)	23º	Secretor Inicial (19º - 21º)
11	21º	Secretor Inicial (17º - 19º)	22º	Secretor Inicial (19º - 21º)
12	23º	Secretor Médio (21º - 23º)	amenorréia	Secretor Inicial (efeito estrog. persist.) (15º-17º)
13	22º	Secretor Tardio (23º-25º)	23º	Secretor Médio (21º - 23º)

TABELA 19 - PADRÕES ECOGRÁFICOS MAMÁRIOS EM USUÁRIAS DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH COM DOSES DIÁRIAS DE 200 E 400 mcg SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, ANTES E APÓS O TRATAMENTO

Nº	ANTES DO TRATAMENTO	APÓS O TRATAMENTO
01	Levemente substituído	Levemente substituído
02	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
03	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
04	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
05	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
06	Levemente substituído	Levemente substituído
07	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
08	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
09	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído
11	Moderadamente substituído	Moderadamente substituído

TABELA 20 - RESULTADOS DE CITOLOGIA HORMONAL SERIADA EM USUÁRIAS DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH COM DOSES DIÁRIAS DE 200 OU 400 mcg SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, ANTES E APÓS O TRATAMENTO

Nº	ANTES DO TRATAMENTO	APÓS O TRATAMENTO
01	Bifásica - efeito estrogênico marcado em todas as colheitas	Bifásica - pico estrogênico 3a. colheita; efeito estrogênico ausente na 4a. colheita
02	Bifásica - efeito estrogênico persistente com pico estrogênico entre a 2a. e 3a. colheitas	Efeito máximo estrogênico ao redor da 3a. colheita
03	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 3a. colheita	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 2a. colheita; efeito estrogênico persistente na 3a. e 4a. colheitas
04	Bifásica - pico estrogênico entre a 1a. e 2a. colheitas	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 2a. colheita; efeito estrogênico persistente, acentuado na 3a. e 4a. colheitas
05	Bifásica - pico estrogênico entre a 2a. e 3a. colheitas	Bifásica - pico estrogênico na 2a. colheita; efeito estrogênico persistente na 3a. colheita (acentuado) e 4a. (leve)
06	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 3a. colheita	Bifásica - pico estrogênico na 3a. colheita; efeito estrogênico persistente e acentuado na 4a. colheita (monofásico?)
07	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 2a. colheita	Bifásica - pico na 2a. colheita; efeito estrogênico, persistente e intenso nos 2 últimas colheitas (monofásico?)
08	Bifásica - pico estrogênico entre a 2a. e a 3a. colheitas	Bifásica - pico na 3a. colheita, efeito estrogênico persistente e moderado na 4a. colheita
09	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 3a. colheita; efeito estrogênico em todas as colheitas (marcado efeito estrogênico persistente na 4a. colheita)	Monofásica - marcada ação estrôgenica nas 3 colheitas (má fixação com pseudo-eosinofilia?)
10	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 3a. colheita; efeito estrogênico marcado em todas as colheitas	Bifásica - pico estrogênico na 2a. colheita; efeito estrogênico persistente e acentuado na 3a. e 4a. colheitas
11	Bifásica - pico estrogênico na 3a. colheita; efeito estrogênico marcado em todas as colheitas	Bifásica - pico estrogênico ao redor da 2a. colheita
12	Bifásica - pico estrogênico entre a 2a. e a 3a. colheitas, persistindo na 3a. e ausente na 4a. colheita	Bifásica - efeito estrogênico marcado em todas as colheitas
13	Bifásica - pico estrogênico entre a 1a. e a 2a. colheitas	Bifásica - pico estrogênico na 2a. colheita

TABELA 21 - EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL DURANTE O USO DIÁRIO DE 200 OU 400 mcg DE D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 13 MULHERES

PESO	PRÉ TRATAMENTO	6º MÊS DE TRATAMENTO	PÓS TRATAMENTO
MÉDIO	60,307	60,376	60,892

TABELA 22 - EVOLUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL DURANTE O USO DIÁRIO DE 200 OU 400 mcg E D-SER (TDU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 13 MULHERES

	SISTÓLICA (Média)	DIASTÓLICA (Média)
PRÉ TRATAMENTO	11,46	7,53
6º MÊS DE TRATAMENTO	11,61	7,61
PÓS TRATAMENTO	11,30	7,61

TABELA 23 - SINTOMAS REFERIDOS PELO USO DIÁRIO DO D-SER (TBU)6-EA10-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM DOSES DE 200 E 400 mcg, EM 16 MULHERES

Ondas de Calor	2
Aumento de Peso	2
Cefaleia	2
Oligoamenorréia e Amenorréia	3
Sensação de Gosto Amargo	11
Desconforto Nasal	6
Corrimento Nasal	1
Aumento da Libido	2
Diminuição da Libido	1

GRÁFICO 1: NÍVEIS SANGUÍNEOS DE FSH E LH APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 200 mcg EM DOSE ÚNICA DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰- GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 6 MULHERES.

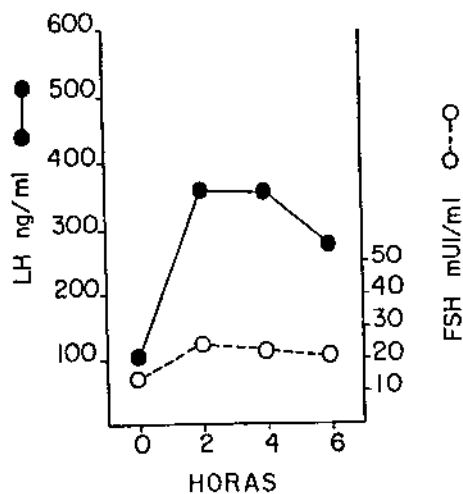


GRÁFICO 2: VARIAÇÃO PORCENTUAL

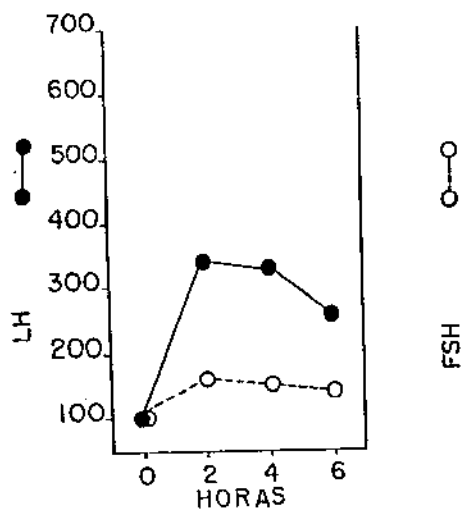


GRÁFICO 3 : NÍVEIS SANGUÍNEOS DE FSH E LH APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 400 mcg EM DOSE ÚNICA DE D-Ser-(Tbu)⁶ - EA¹⁰- GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 4 MULHERES.

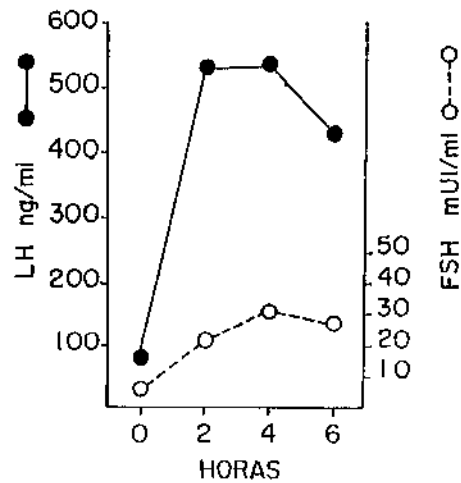


GRÁFICO 4 : VARIAÇÃO PORCENTUAL

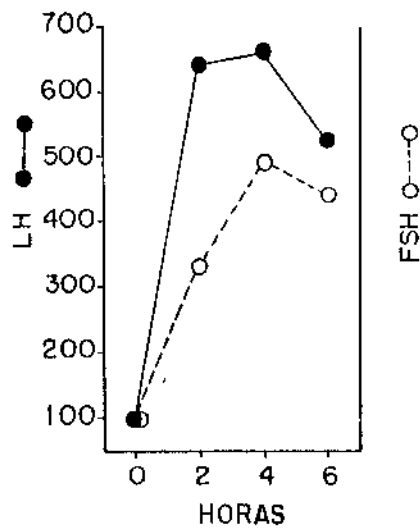


GRÁFICO 5: NÍVEIS SANGUÍNEOS DE FSH E LH APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 200 OU 400 mcg EM DOSE ÚNICA DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 10 MULHERES

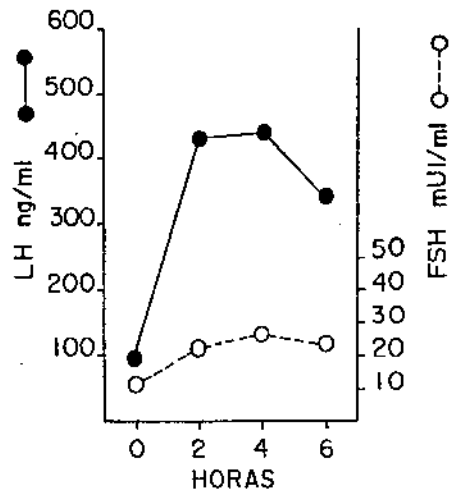


GRÁFICO 6: VARIAÇÃO PORCENTUAL

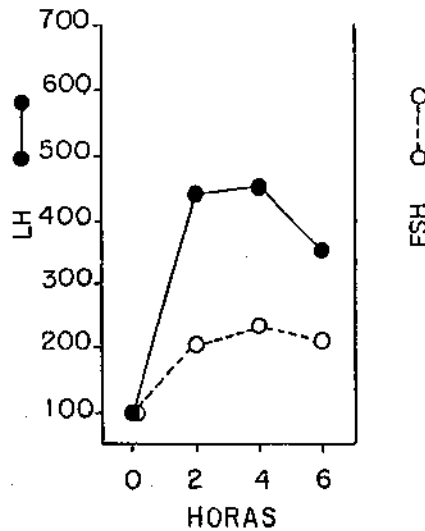


GRÁFICO 7 : NÍVEIS SANGUÍNEOS DE FSH E LH APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 400 mcg EM DOSE ÚNICA DE D-Ser-(Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL EM 10 HOMENS.

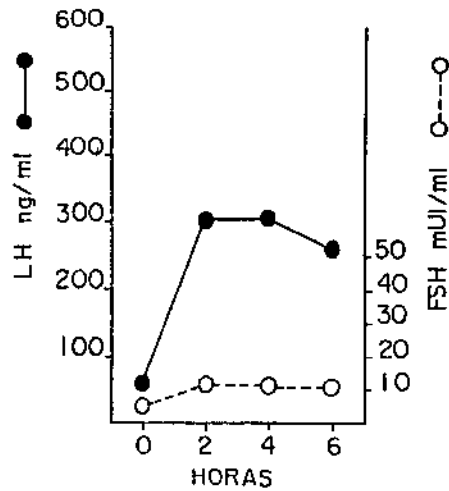


GRÁFICO 8 : VARIAÇÃO PORCENTUAL

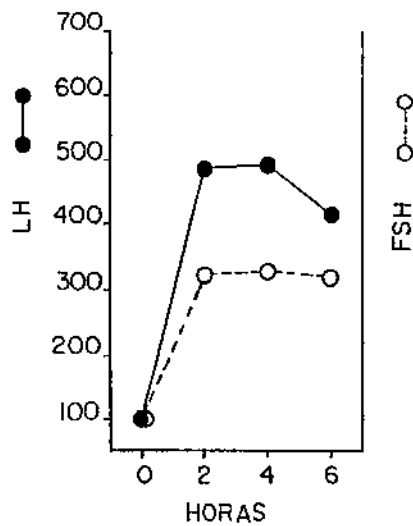


GRÁFICO 9 : MONITORIZAÇÃO ECOGRÁFICA DOS FOLÍCULOS OVARIANOS SOB USO DIÁRIO DE 200 mcg DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰-GnRH ADMINISTRADO SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NÍVEIS SANGUÍNEOS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA, FSH E LH, E PERFIL MENSTRUAL.

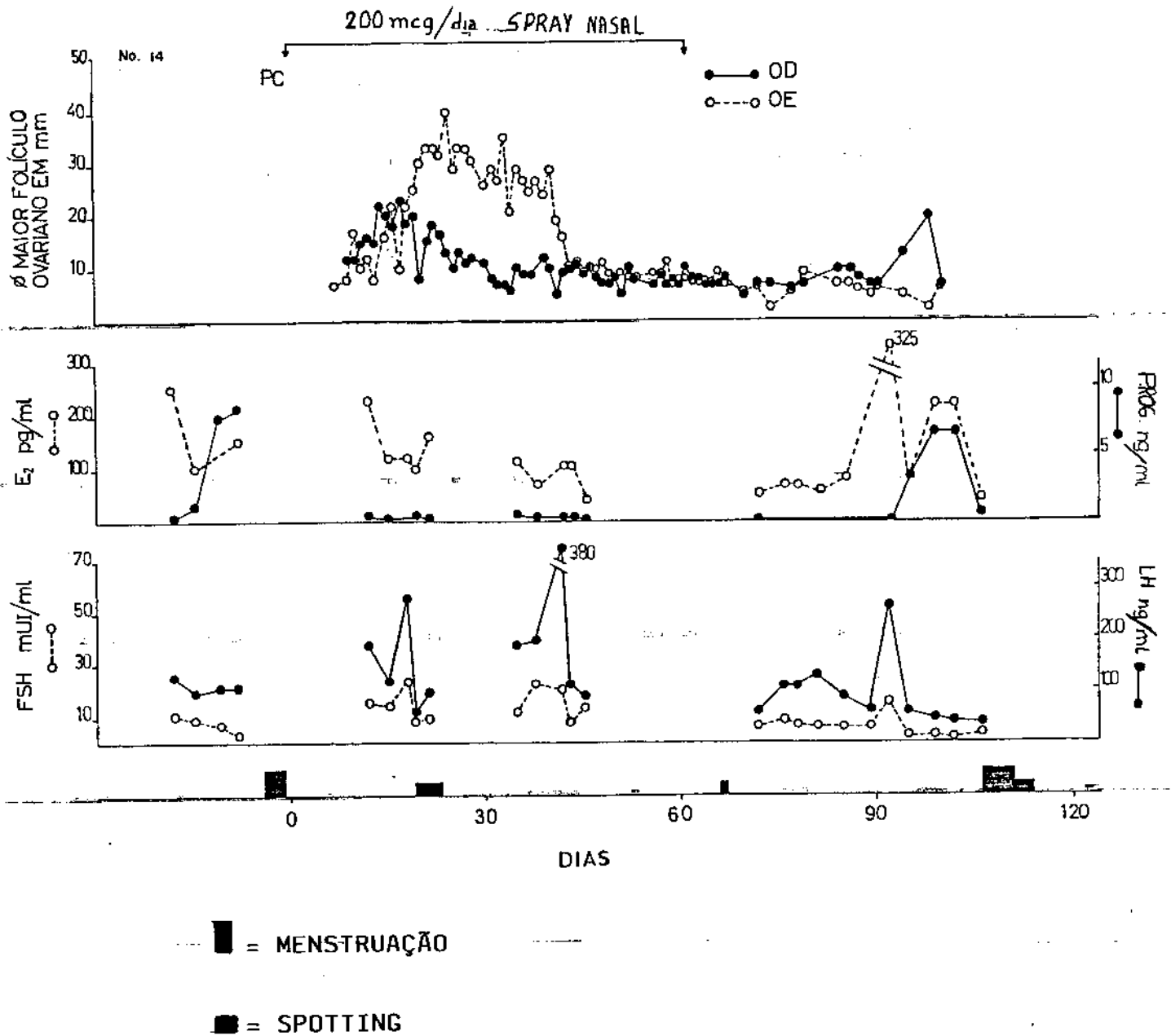


GRÁFICO 10: MONITORIZAÇÃO ECOGRÁFICA DOS FOLÍCULOS OVARIANOS SOB USO DIÁRIO DE 200 mcg de D-Ser-(Tbu)⁶- EA¹⁰- GnRh - ADMINISTRADO SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NÍVEIS SANGÜÍNEOS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA, FSH E LH, E PERFIL MENSTRUAL.

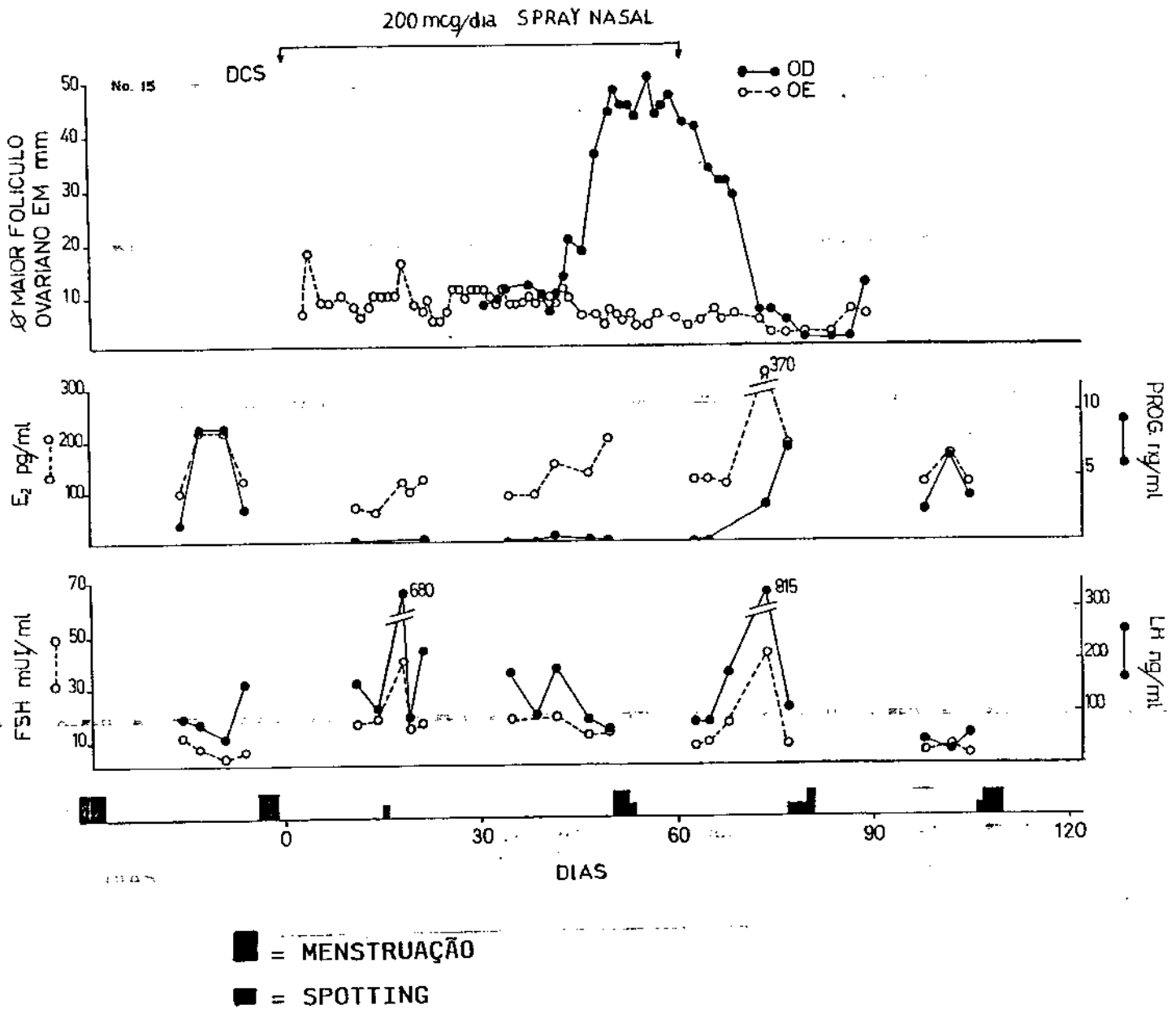


GRÁFICO 11: MONITORIZAÇÃO ECOGRÁFICA DOS FOLÍCULOS OVARIANOS SOB USO DIÁRIO DE 200 mcg DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰-GnRH ADMINISTRADO SOB A FORMA DE SPRAY NASAL, NÍVEIS SANGUÍNEOS DE ESTRADIOL, PROGESTERONA, FSH E LH, E PERFIL MENSTRUAL.

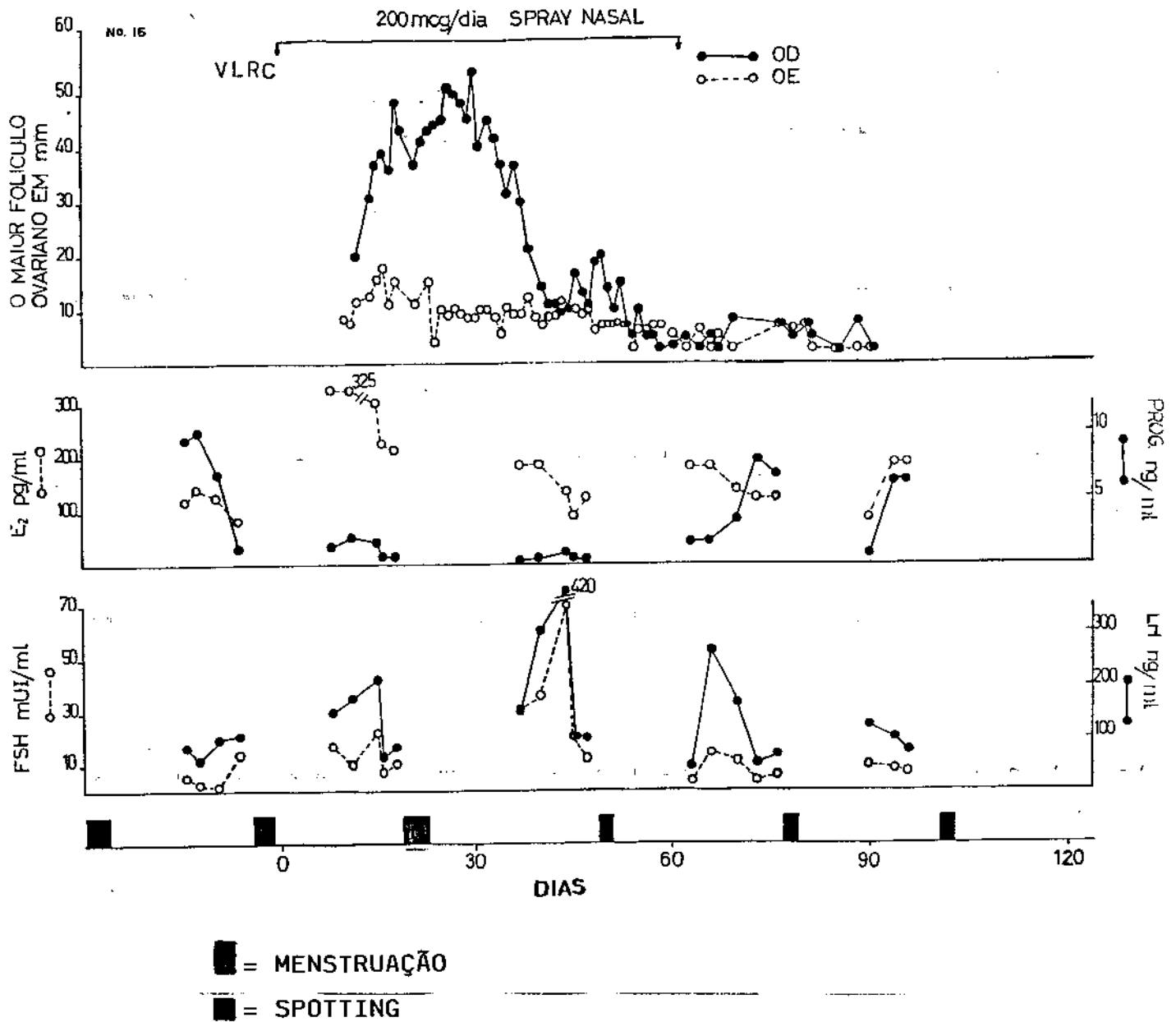


GRÁFICO 12 : PERFIL MENSTRUAL DE MULHERES SOB USO DIÁRIO DE 200 OU 400 mcg DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰-GnRH ADMINISTRADO SOB A FORMA DE SPRAY NASAL POR PERÍODOS PROLONGADOS.

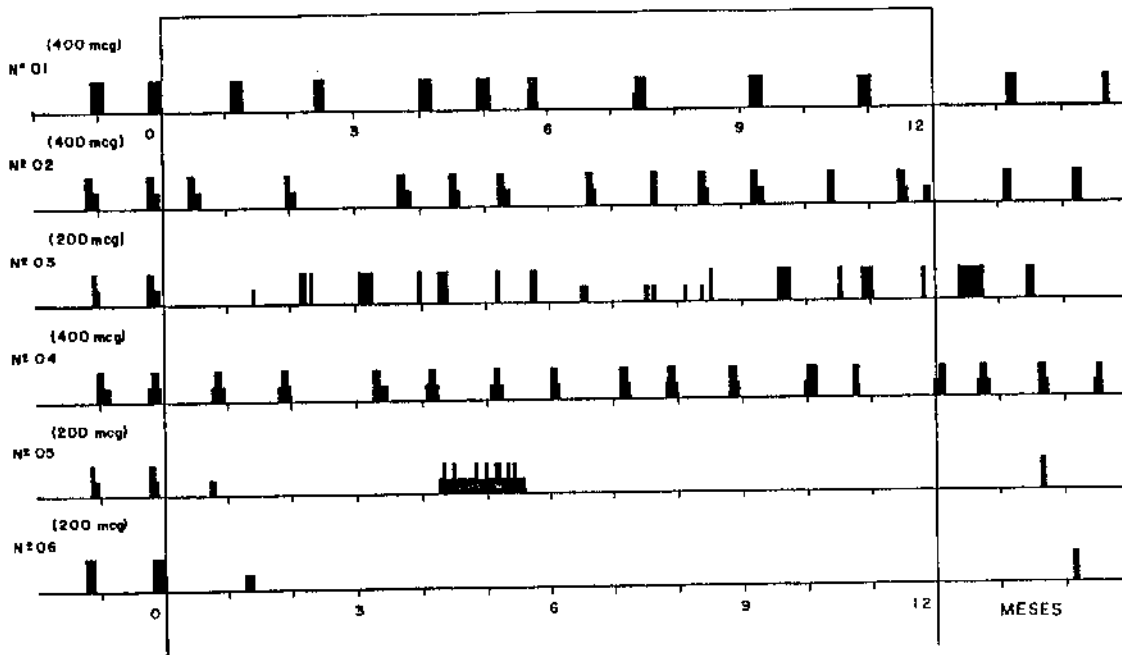


GRÁFICO 13 : PERFIL MENSTRUAL DE MULHERES SOB USO DIÁRIO DE 200 OU 400 mcg DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰-GnRH ADMINISTRADO SOB A FORMA DE SPRAY NASAL POR PERÍODOS PROLONGADOS.

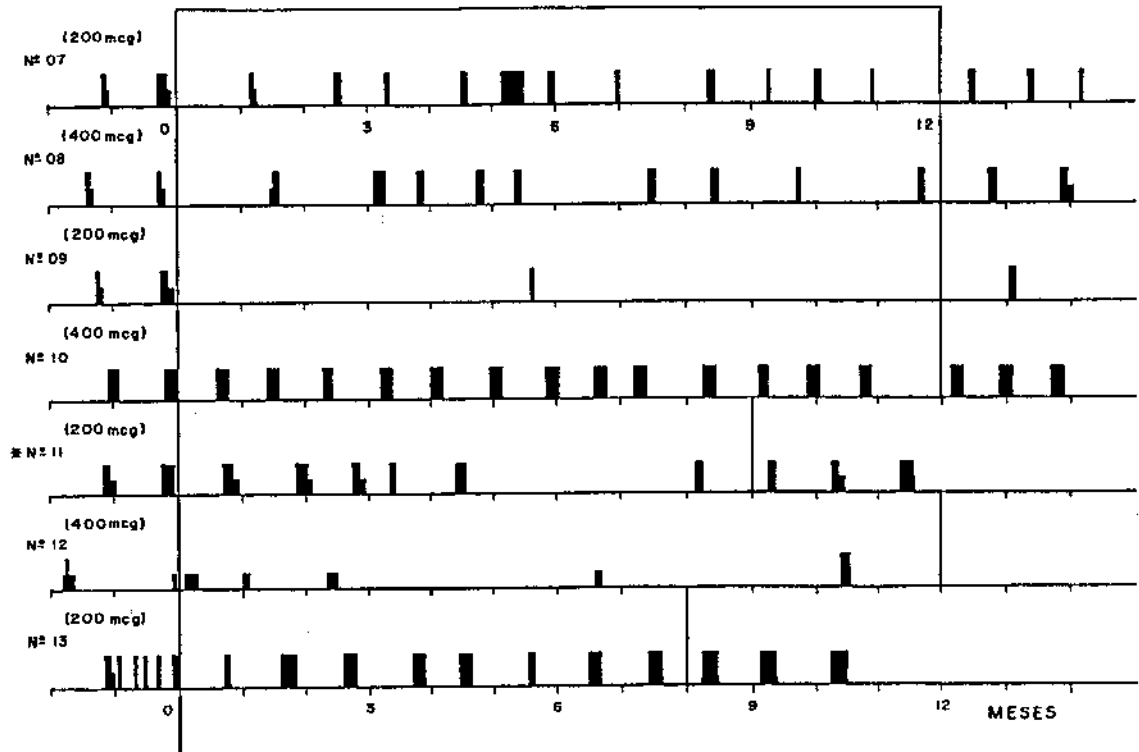


GRÁFICO 14 : PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO, EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser(Tbu)⁶ EA¹⁰-GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

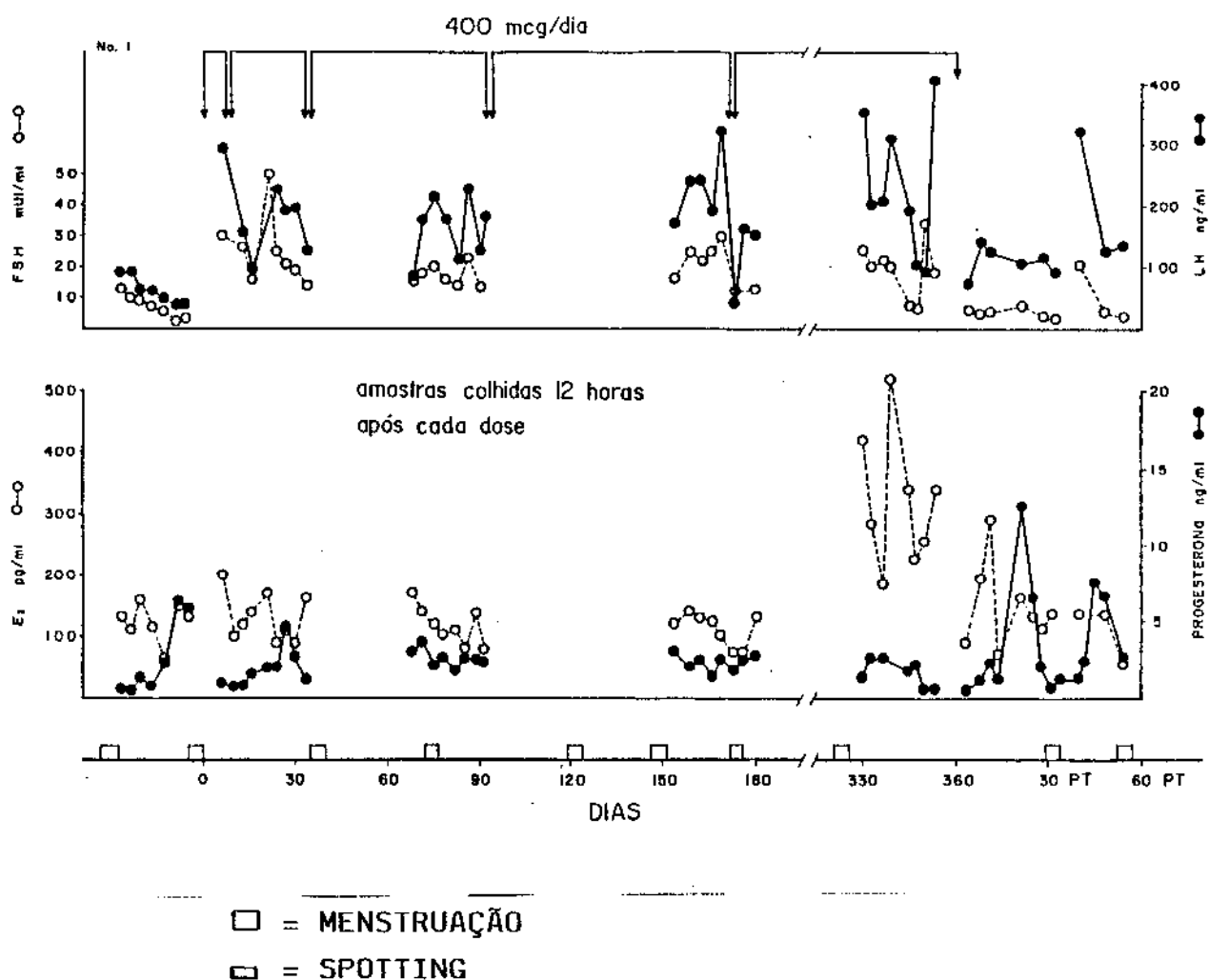


GRÁFICO 15: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA, COM USO DIÁRIO DE D-Ser (Tbu)⁶ EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

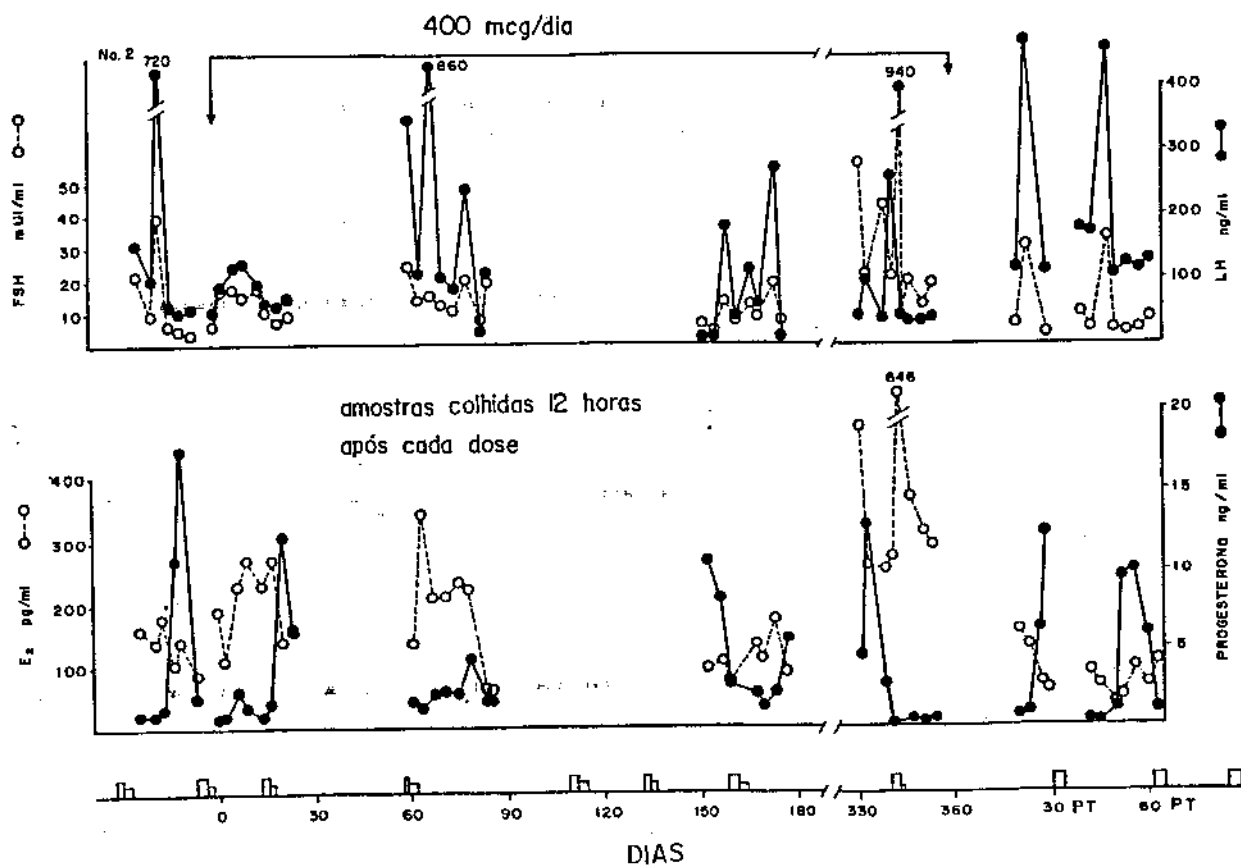


GRÁFICO 16 : PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser - (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

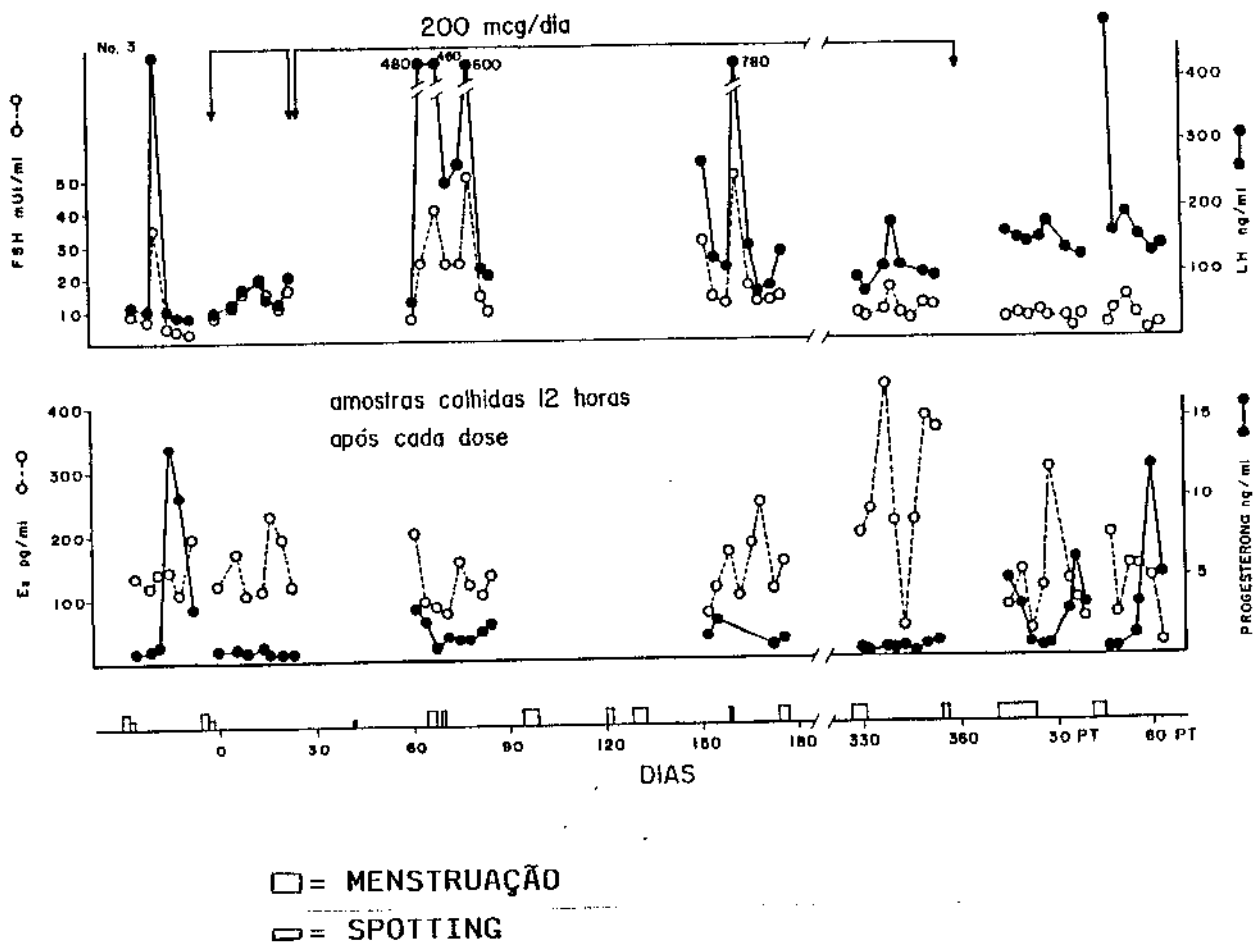


GRÁFICO 17: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser-(Tbu)⁶-EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

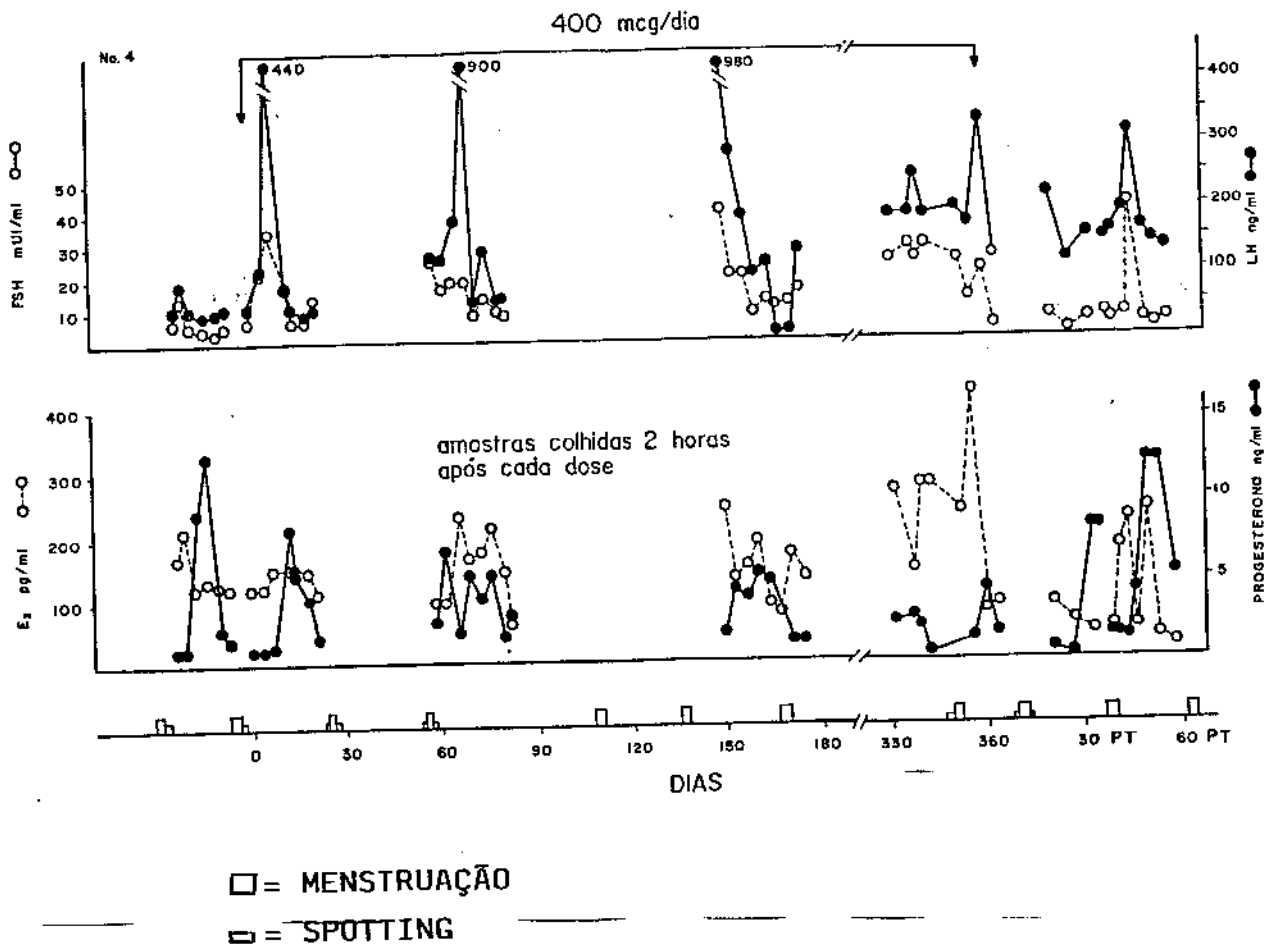


GRÁFICO 18: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser- (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

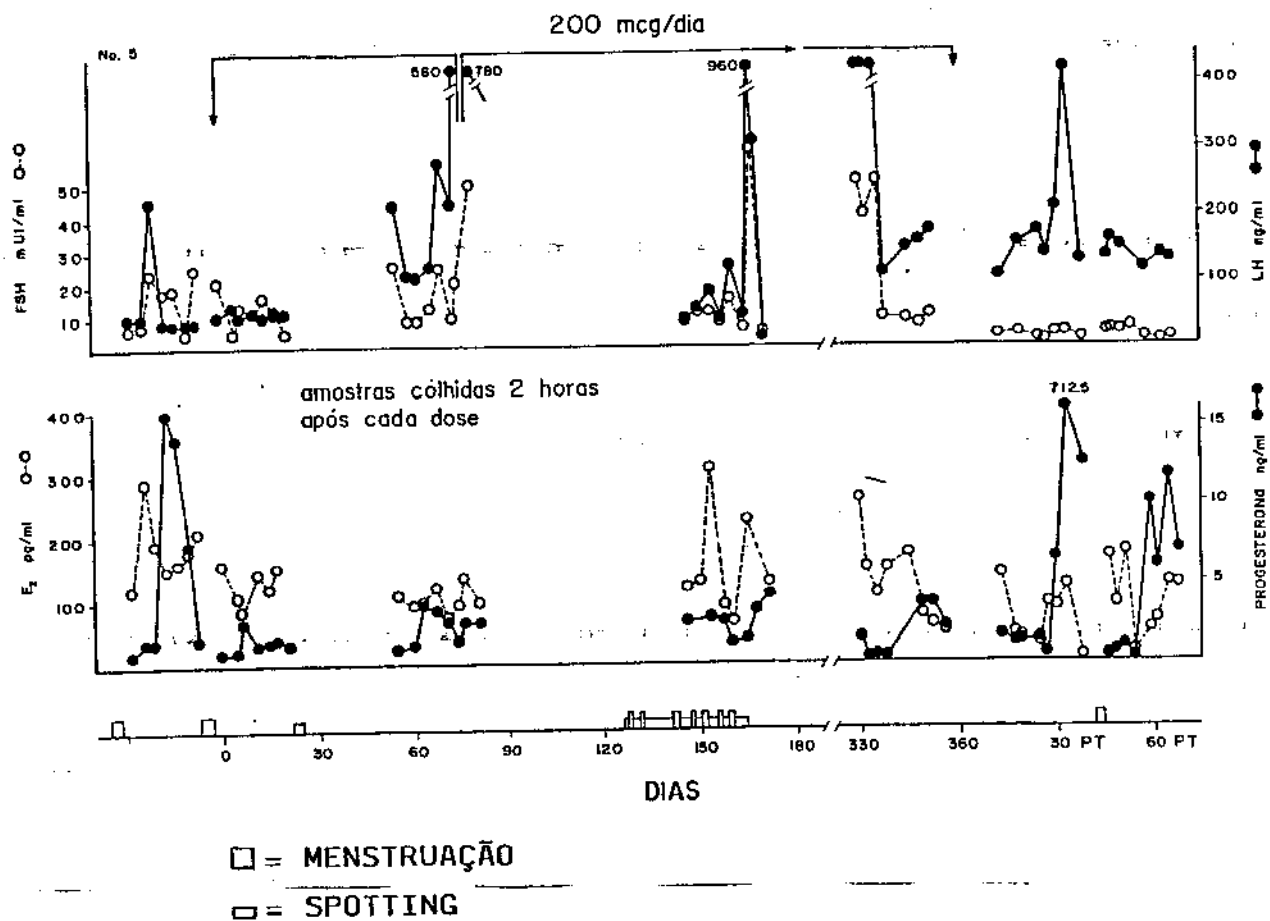


GRÁFICO 19: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL

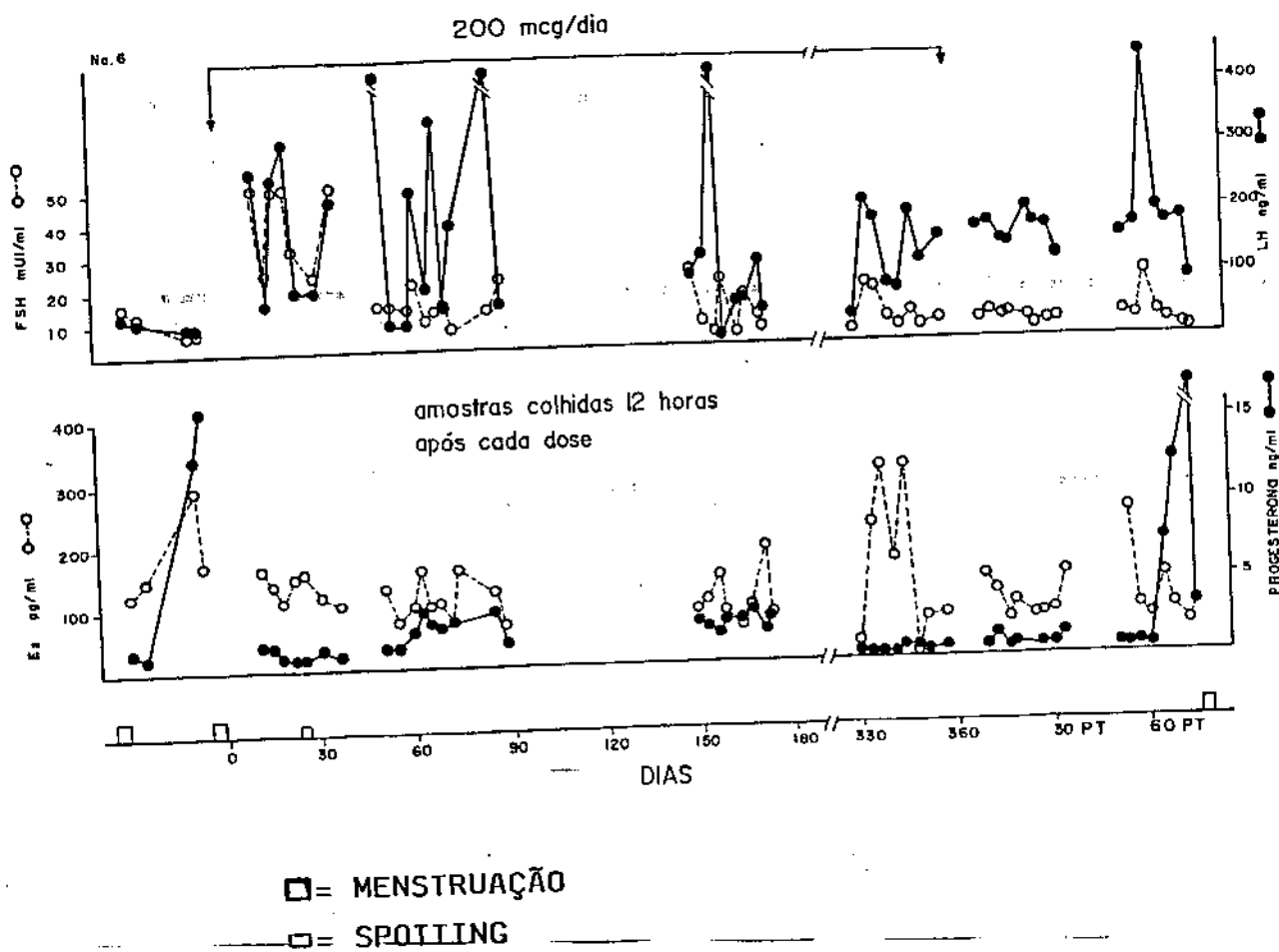


GRÁFICO 20: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

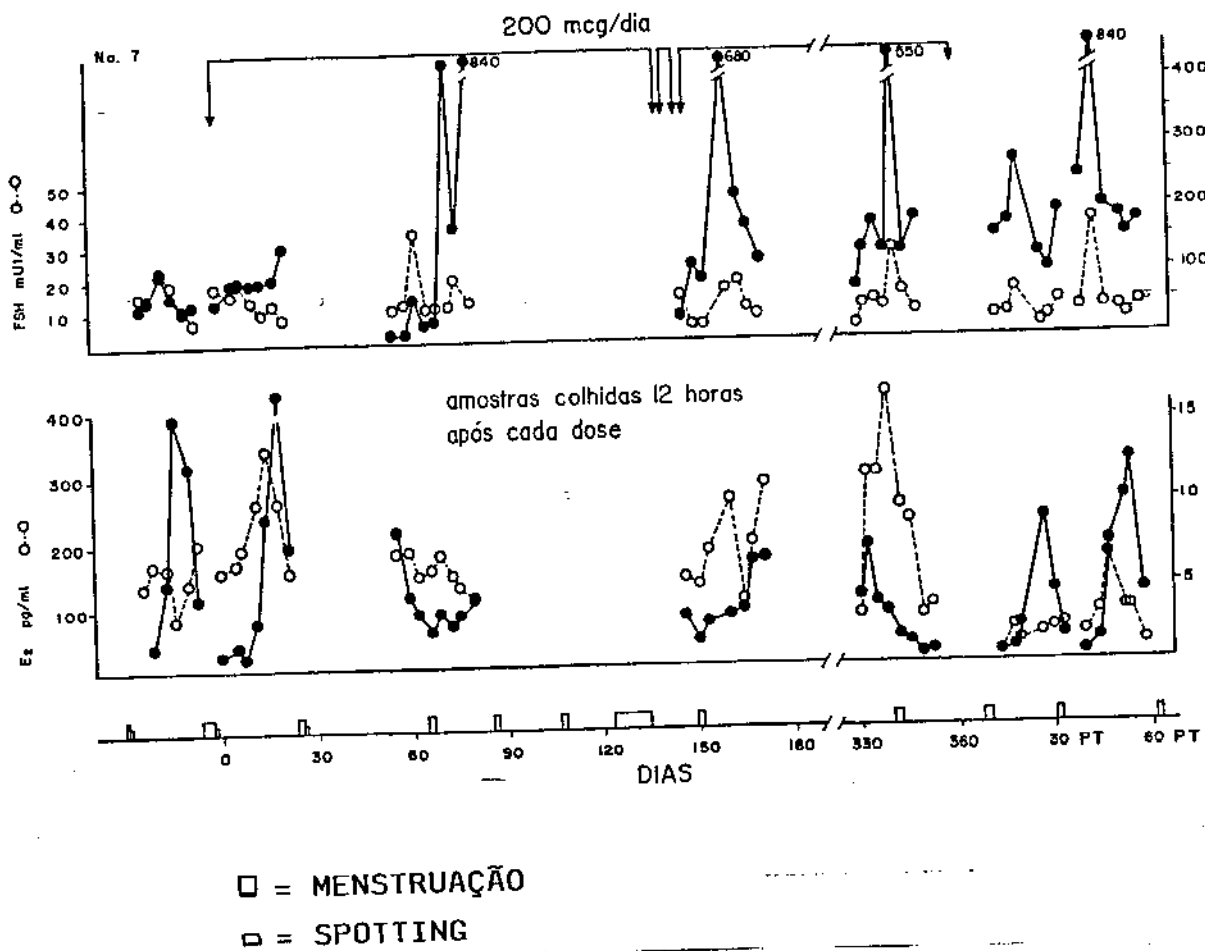


GRÁFICO 21: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser-(Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

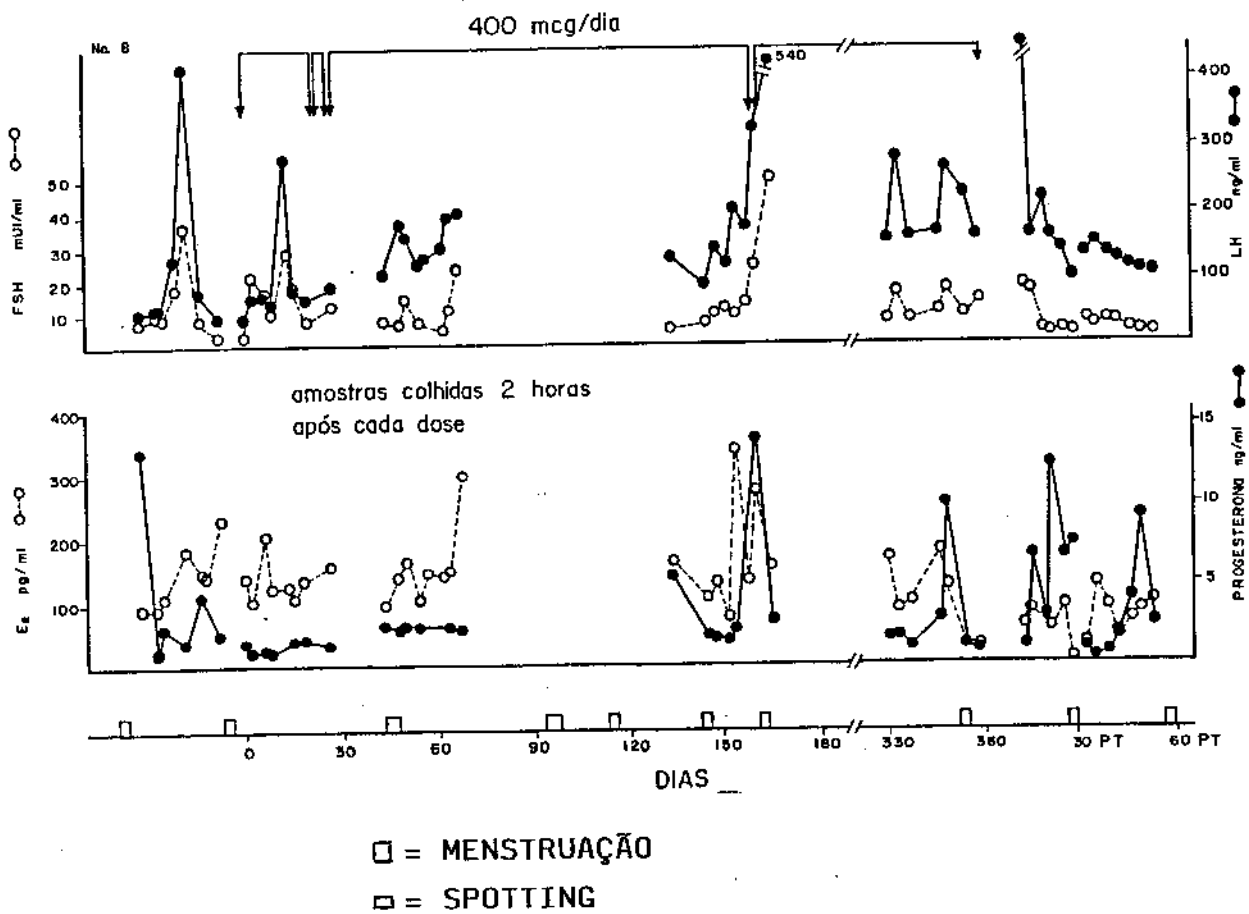


GRÁFICO 22: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser-(Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

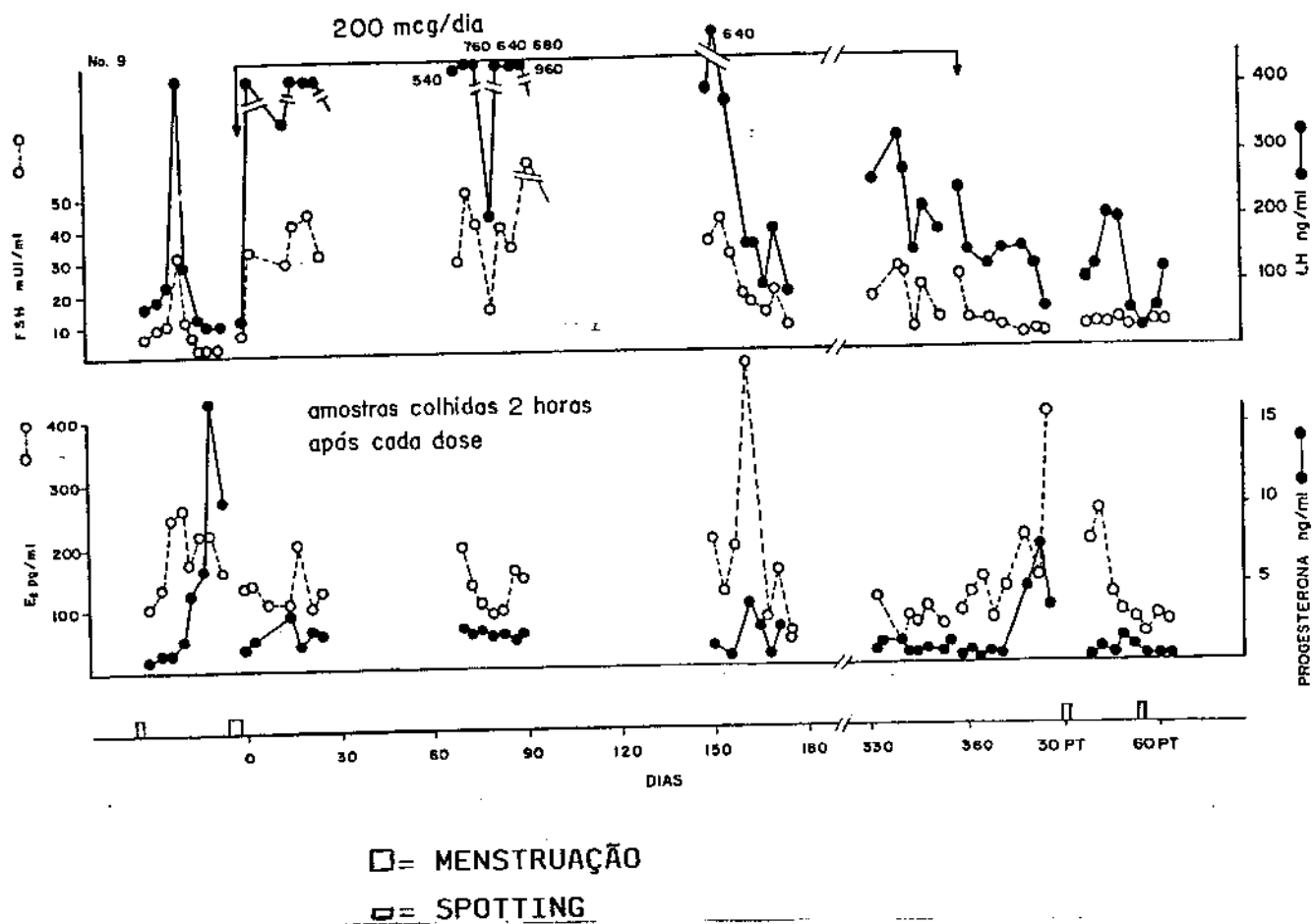


GRÁFICO 23: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser- (Tbu)⁶ - ES¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

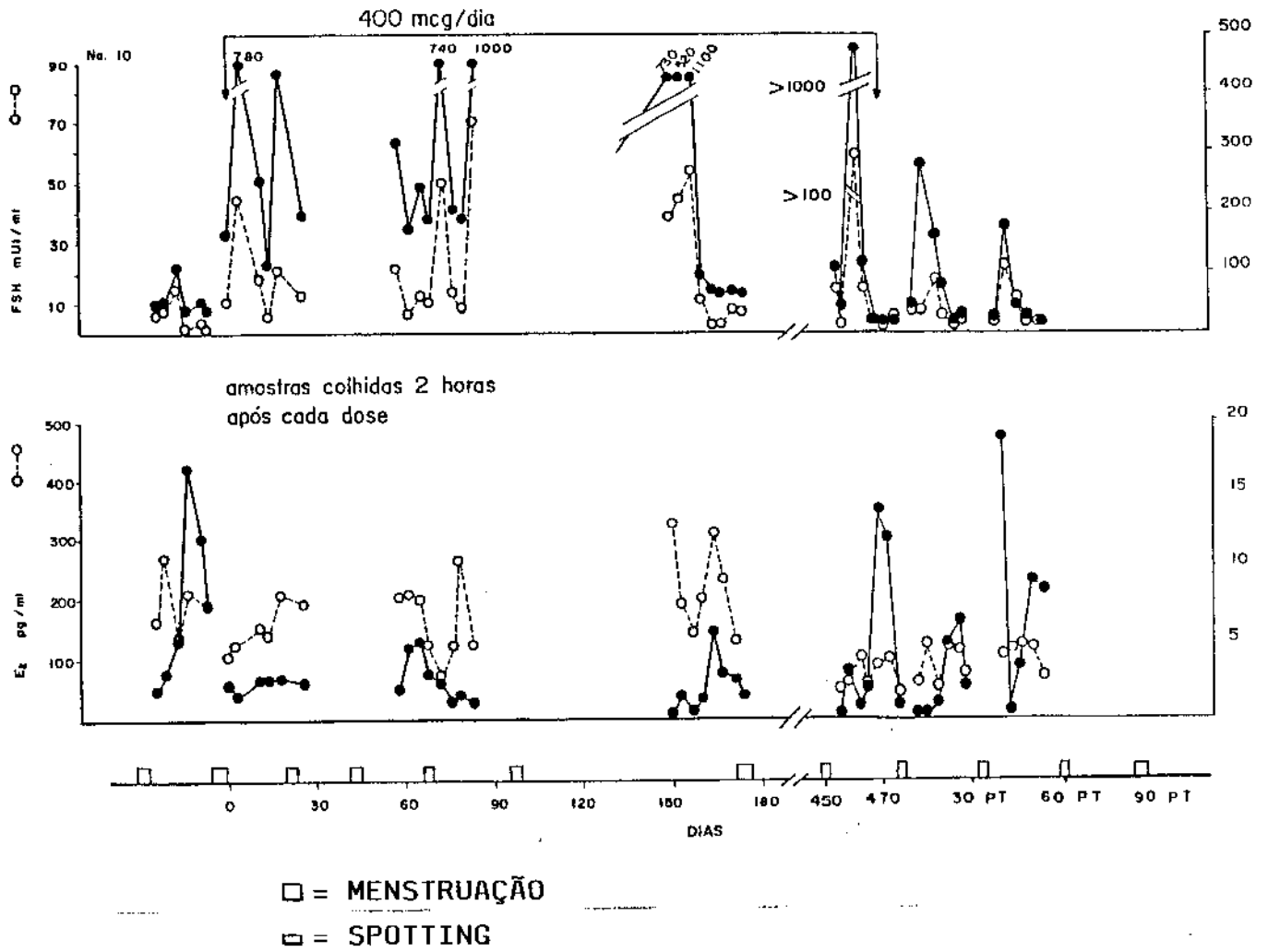


GRÁFICO 24: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser - (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

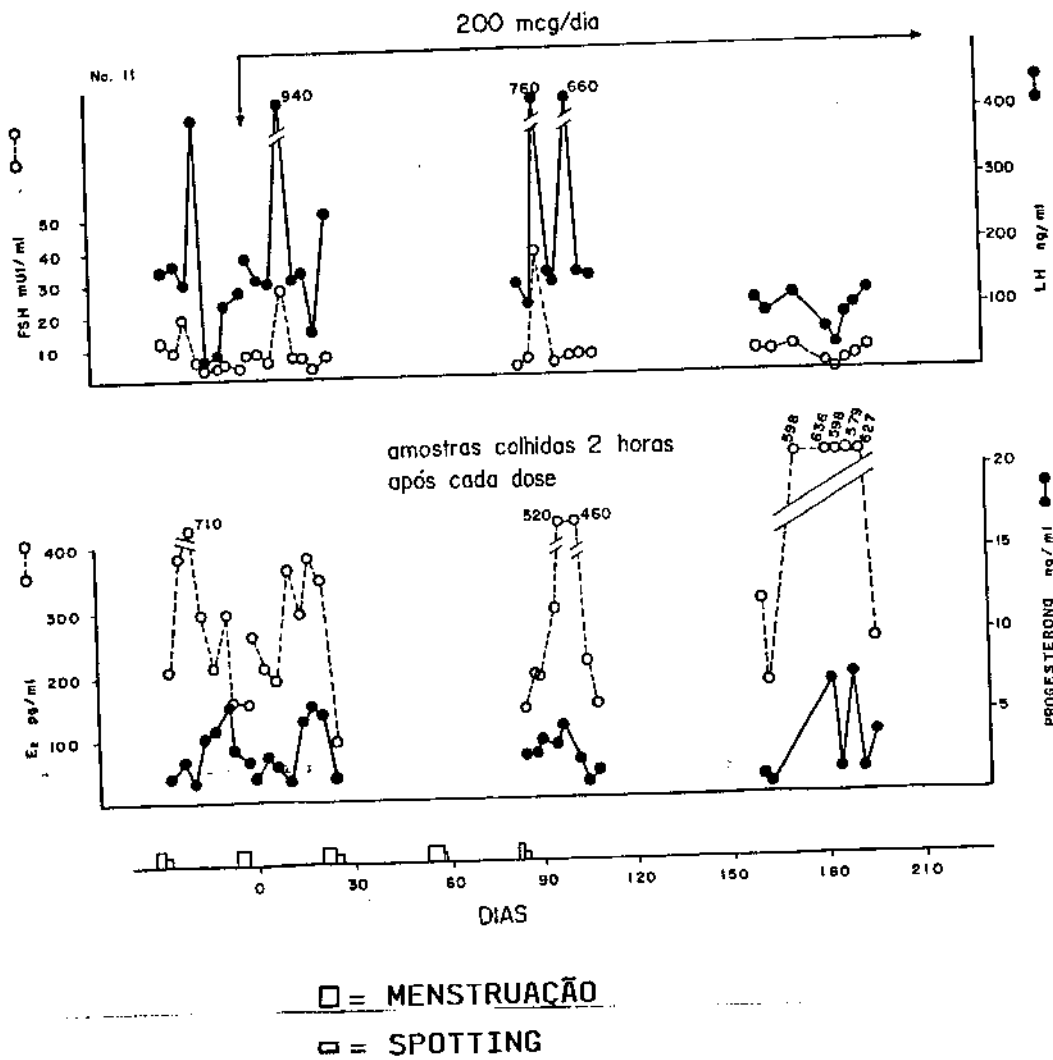


GRÁFICO 25: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS-TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser - (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.

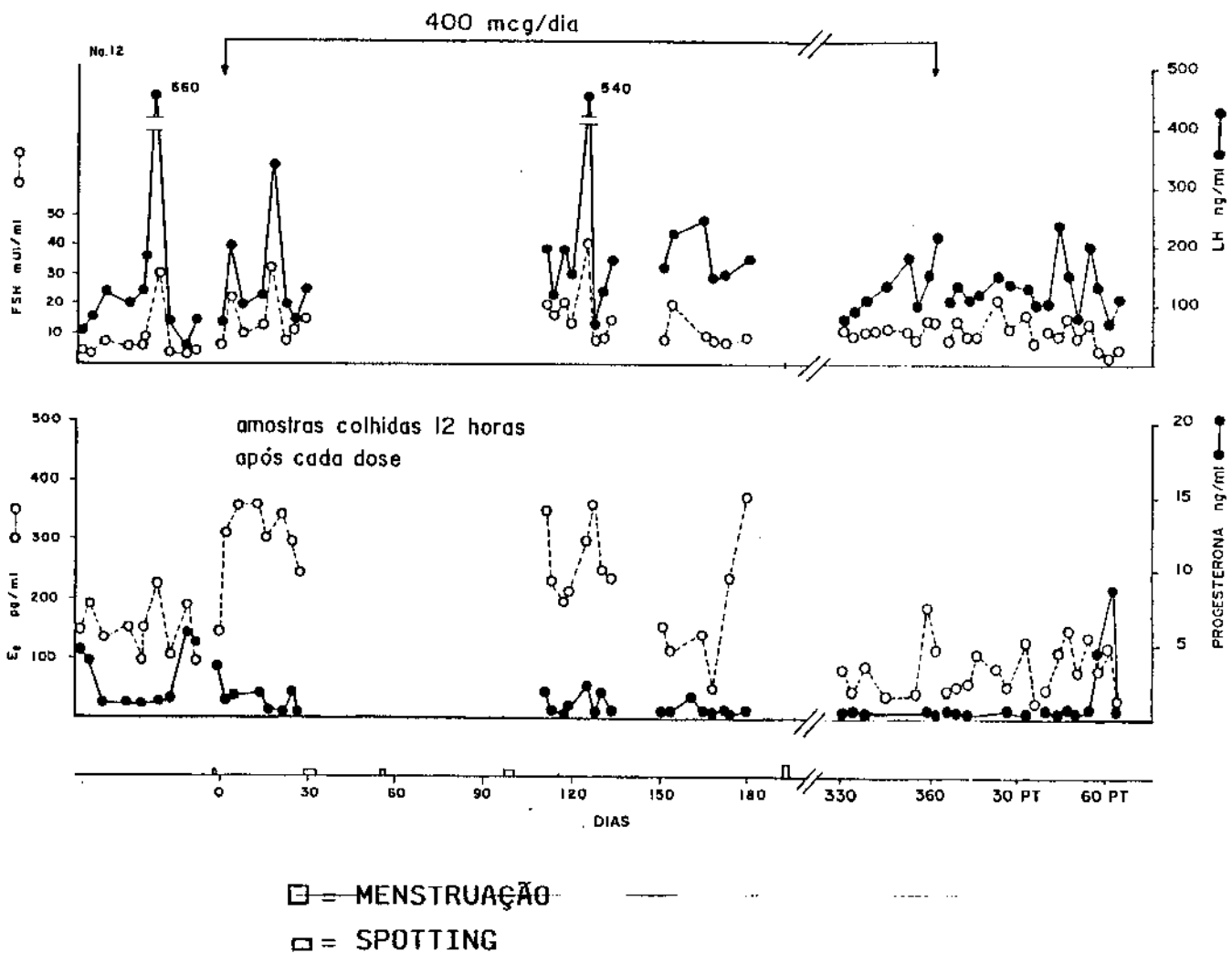
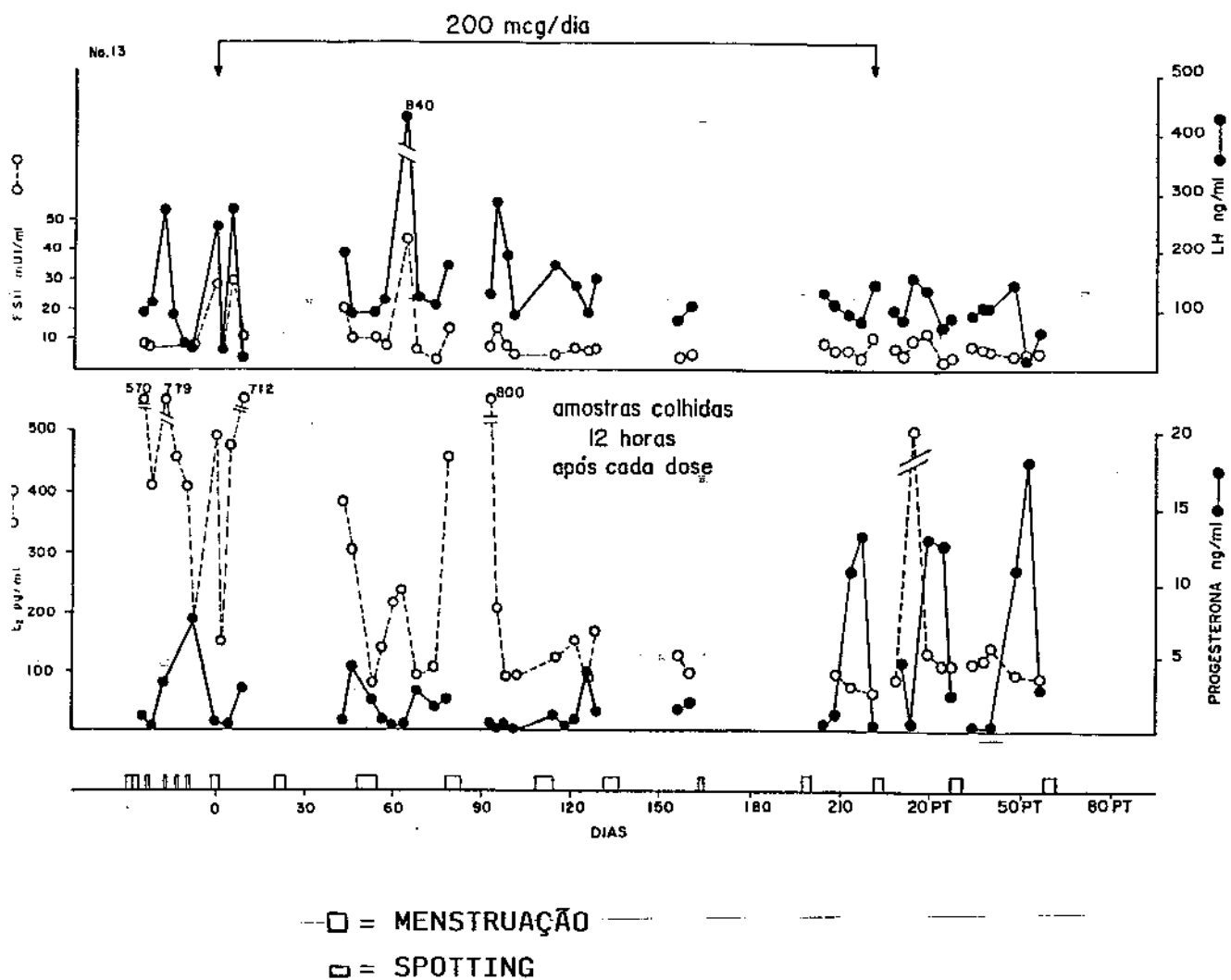


GRÁFICO 26: PERFIL HORMONAL E MENSTRUAL NO CICLO CONTROLE, DURANTE O TRATAMENTO E NOS CICLOS PÓS TRATAMENTO EM VOLUNTÁRIA COM USO DIÁRIO DE D-Ser - (Tbu)⁶ - EA¹⁰ - GnRH SOB A FORMA DE SPRAY NASAL.



B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

- 001 - AKSEL, S. - Luteinizing hormone-releasing hormone and the human menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135(1):96,1979.
- 002 - AKSEL, S. & GLASS, R. - Luteinizing hormone-releasing hormone levels in human plasma: A radioimmunoassay method. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 134(6):619,1979.
- 003 - ALVAREZ, F.; BRACHE, V.; TEJADA, A.S. & FAÚNDES, A. - Gonadotropinas, estradiol y progesterona en el periodo periovulatorio en ciclos con ovulación confirmada por recuperación de ovulos en trompa. Sincronie con cambios del moco cervical. IX Reunião da Associação Latino Americana de Investigações em Reprodução Humana, Campinas, Brasil, 1984.
- 004 - AMOSS, M.; BURGUS, R.; BLACKWELL, R.; VALE, W.; FELLOWS, R.E. & GUILLEMIN, R. - Purification, aminoacid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of the ovine origin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 44:205, 1971.
- 005 - AMOSS, M.; BURGUS, R.; WARD, D.N.; FELLOWS, R.E. & GUILLEMIN, R. - Evidence for a pyroglutamic acid (PCA) N-terminus in ovine hy-

pothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LRF). The Endocrine Society, June, 1970.

- 006 - ASCH, R.H.; BALMACEDA, J.P.; EDDY, C.A.; SILER-KHODR, T.; COY, D.H. & SCHALLY, A.V. - Inhibition of the postcastration rise of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in female Rhesus Monkeys (*macaca mulatta*) by the administration of a luteinizing hormone-releasing hormone inhibitory analog (EN-Ac-D-Trp 1-3, D-p-Cl-phe2 D-phe6, D-Ala 10, L. LHRH) *Fertil. Steril.*, 36(3):388, 1981.
- 007 - ASCH, R.H.; EDDY, C.A. & SCHALLY, A.V. - Lack of luteolytic effect of D-Trp-6-LH-RH in hypophysectomized Rhesus Monkeys (*macaca mulatta*). *Biol. Reprod.*, 25:963, 1981.
- 008 - BALMACEDA, J.P. & ASCH, R.H. - The effects of LHRH agonistic analogues during the luteal phase of the Rhesus Monkey. In: ZATUCHNI GI, SHELTON, J.D., SCIARRA, J.J., ed. - LHRH peptides as female and male contraceptives. Philadelphia, Pennsylvania, Harper and Row, 1981-pp.85-100 (PARFR series on Fertility Regulation).
- 009 - BERGQUIST, C. & LINDGREN, P.G. - Ultrasonic measurement of ovarian follicles during chronic LRH agonist treatment for contraception. *Contraception*, 28(2):125, 1983.
- 010 - BERGQUIST, C.; NILLIUS, S.J.; BERGH, T.; SKARIN, G. & WIDE, L. -

Inhibitory effects on gonadotrophin secretion and gonadal function, in men during chronic treatment with a potent stimulatory luteinizing hormone-releasing hormone analogue. *Acta Endocrinol.*, 91:601, 1979.

011 - BERGGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Inhibition of ovulation in women by intranasal treatment with a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *Contraception*, 19(5):497, 1979.

012 - BERGGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Intranasal gonadotropin-releasing hormone agonist as a contraceptive agent. *Lancet* II: 215, 1979.

013 - BERGGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Reduced gonadotropin secretion in postmenopausal women during treatment with a stimulatory LRF analogue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49(3):472, 1979.

014 - BERGGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Effects of a luteinizing hormone-releasing hormone agonist on luteal function in women. *Contraception* 22(3):287, 1980.

015 - BERGGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Luteolysis induced by a luteinizing gonadotropin-releasing hormone agonist is prevented by human chorionic gonadotropin. *Contraception* 22(4):341, 1980.

- 016 - BERGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - A study of the effects of daily intranasal LHR agonist treatment on ovulation in women. Preliminary report to ICCR, New York, January, 1982.
- 017 - BERGQUIST, C.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Long-term intranasal luteinizing hormone-releasing hormone agonist treatment for contraception in women. *Fertil. Steril.*, 38(2):190, 1982.
- 018 - BERGQUIST, C.; NILLIUS, S.J.; WIDE, L. & LINDGREN, A. - Endometrial patterns in women on chronic luteinizing hormone-releasing hormone agonist treatment for contraception. *Fertil. Steril.*, 36(3):339, 1981.
- 019 - BOHM, P.; FENSKE, M.; HAFEFLE, R. & KONIG, A. - Limited significance of the LRH test in the diagnosis of ovarian dysfunction. *Acta Endocrinol.*, 89:438, 1978.
- 020 - BOURNE G. A.; REGIANI, S.; PAYNE A.H. & MARSHALL, J.C. - Testicular GnRH receptors-characterization and localization in interstitial tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51:407, 1980.
- 021 - BOWERS, C.Y.; CURRIE, B.L.; JOHANSSON K.N.G. & FOLKERS, P.K. - Biological evidence that separate hypothalamic hormones release the follicle stimulating and luteinizing hormones. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 50(1):20, 1973.
- 022 - CAMPBELL, H.T.; Feuer, G.; GARCIA, J. & HARRIS, G.W. - The in-

fusion of brain extracts into the anterior pituitary gland and the secretion of gonadotropic hormone. *J. Physiol.*, 157:30, 1961.

023 - CASAGRANDE, J. T.; PIKE, M.C.; ROSS, R.K.; LONIE, E.W.; ROY, S. & HENDERSON, B.E. - "Incessant ovulation" and ovarian cancer. *Lancet* 2:170, 1979.

024 - CASPER, R.D.; SHEELAN, K.L. & YEN, S.S.C. - Chorionic gonadotropin prevents LRH - agonist-induced luteolysis in the human. *Contraception*, 21(5):471, 1980.

025 - CASTRACANE, V.D. & GOLDZIEHER, I.W. - Antifertility effect of an LHRH agonist (WY 40972) in the baboon. In: ZATUCHNI, G.I., SHELTON, J.D., SCIARRA, J.J., ed. - LHRH peptides as female and male contraceptives. Philadelphia, Pennsylvania, Harper and Row, 1981. pp.101-B (PARFR Series on Fertility Regulation).

026 - CHAUSSAIN, J.L.; GARNIER, P.E.; BINET, E.; VASSAL, J.; SCHODLER, R. & JOB, J.C. - Effect of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) on the release of gonadotropins in hypogonadotropic disorders of children and adolescents: III. Hypopituitarism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38(1):58, 1974.

027 - CLAYTON, R.N.; HARWOOD, J.P. & CATT, K.J. - Gonadotropin-releasing hormone analogue binds to luteal cells and inhibits progesterone production. *Nature*, 282:90, 1979.

- 028 - COMITE F.; CUTLER, G.B.; RIVIER, J.; VALE, W.W.; LORIAUX, D.L. & CROWLEY, Jr, W.F. - Short-term treatment of idiopathic precocious puberty with a long-acting analogue of luteinizing hormone-releasing hormone. *N. Engl. J. Med.*, 305(26):1546, 1981.
- 029 - CONN, P.M.; MARIAN, J.; MCMILLIAN, M.; STERN, J.; ROGERS, D.; HAMB, Y. M.; PENNA A. & GRANT, E. - Gonadotropin-releasing hormone actions in the pituitary: a three-step mechanism. *Endocrin. Rev.*, 2:174, 1981.
- 030 - CORBIN, A. & BEX, F.J. - Luteinizing hormone releasing hormone and analogues, conceptive and contraceptive potential. In: BRIGGS M., CORBIN, A., ed. - *Progress in hormone biochemistry and pharmacology*. Lancaster, England, MTP Press Limited, 1980. vol.1, pp.227-97.
- 031 - CORBIN, A. & BEX, F.J. - Physiology and contraceptive effects of LHRH and agonistic analogs in female animals. In: ZATUCHNI, G.I., SHELDON, J.D., SCIARRA, J.J., ed. - *LHRH peptides as female and male contraceptives*. Philadelphia, Pennsylvania, Harper and Row, 1981. pp.68-84. (PARFR Series on Fertility Regulation).
- 032 - COULAM, C.B.; HILL, L.M. & BRECKLE, R. - Ultrasonic evidence for luteinization of unruptured preovulatory follicles. *Fertil. Steril.*, 37(4):524, 1982.

- 033 - COURRIER, R.; GUILLEMIN, R.; JUTISZ, M.; SAKIZ, E. & ASCHHEIM, P. - Présence dans un extrait de l'hypothalamus d'une substance qui stimule la sécrétion de l'hormone antéhypophysaire de lutéinisation. C.R. Acad. Sci. (Paris), 253:922, 1961.
- 034 - COY, D.H.; VILCHEZ-MARTINEZ, J.A.; COY E.J. & SCHALLY, A.V. - Analogs of luteinizing hormone-releasing hormone with increased biological activity produced by D-amino acid substitutions in position 6. J. Med. Chem., 19:423, 1976.
- 035 - DELAMARRE-VAN DE WALL, H.A. & SCHODEMAKER, J. - Induction of puberty by prolonged pulsatile LRH administration. Acta Endocrinol., 102:603, 1983.
- 036 - DERICKS-TAN, J.S.E.; HAMMER, E. & TAUBERT, H.D. - The effect of D-Ser (Tbu)₆-LHRH-EA-10 upon gonatropin release in normally cyclic women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45:597, 1977.
- 037 - DROUIN, J., LAGACE, L. & LABRIE, F. - Estradiol-induced increase of the LH responsiveness to LH releasing hormone (LHRH) in rat anterior pituitary cells in culture. Endocrinol., 99(6):1477, 1976.
- 038 - ERICKSON, G.F.; HSUEH, A.J.W.; QUIGLEY, M.E.; REBAR, R.W. & YEN, S.S.C. - Functional studies of aromatase activity in human granulosa cells from normal and polycystic ovaries. J. Clin. Endocrinol. Metab., 49(4): 514, 1979.

- 039 - FISHMAN, J. & NORTON, B. - Brain catecholestrogens-formation and possible function. In: RASPE, ed. - Advances in the Biosciences: Schering workshop on Central Actions of Estrogenic Hormones, Berlin, March 4 to 6, 1974. Oxford, Pergamon Press, 1975. p.123.
- 040 - FRASER, H.M. - A new class of contraceptives? Nature, 296 (5856):391, 1982.
- 041 - FREIDRICH, E.; ETZRODT, A.; BAKER, H. & HANKER, J.B. - Dose response study with a new LHRH analog D-Ser (TBU)6 LHRH 1-9 (EA)10 during the follicular phase of the menstrual cycle. Acta Endocrinol., 87:19, 1978.
- 042 - FRITZ, M.A. & SPEROFF, L. - The endocrinology of the menstrual cycle: the interaction of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. Fertil. Steril., 38 (5):509, 1982.
- 043 - FUXE, K. & HOKFELT, T. - Catecholamines in the hypothalamus and the pituitary gland. In: GANOG, W.F. & MARTINI, L., ed. - Frontiers in neuroendocrinology. New York, Oxford University Press, 1969.
- 044 - GOLDZIEHER, J.W. - Polycystic ovarian disease. Fertil. Steril., 35(4):371, 1981.

- 045 - GONZALES-BARCENA, D.; KASTIN, A.J.; COY, D.H.; NIKOLICS, K. & SCHALLY, A.V. - Suppression of gonadotrophin release in man by an inhibitory analogue of LH releasing hormone. *Lancet*:997, 1977.
- 046 - GORE-LANGTON, R.E.; LACROIX, M. & DORRINGTON, J.H. - Differential effects of luteinizing hormone-releasing hormone on follicle-stimulating hormone dependent responses in rat granulosa cells and Sertoli cells in vitro. *Endocrinol.*, 108:812,1981.
- 047 - GUDELSKY, G.A.; SIMPKINS, J.; MUELLER, G.P.; MEITES, J. & MOORE, E. - Selective actions of prolactin on catechoamine turnover in the hypothalamus and on serum LH and FSH. *Neuroendocrinology*, 22: 206, 1976.
- 048 - GUILLEMIN, R.; JUTISZ, M. & SAKIZ, E. - Purification partielle d'un facteur hypothalamique (par LRF) stimulant la sécretion de LH. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 256: 504, 1963.
- 049 - GUILLEMIN, R.; McCANN, S.M.; SAWYER, C.H. & DAVIDSON, J.M. - Secretion of gonadotropins. In: GREEP, R.O., ed. - *Frontiers in Reproduction and Fertility Control (part 2)*. The Mit. Press, Cambridge; Massachusetts and London, 1977. pp.90-102.
- 050 - GUILOFF, E.; SALVATIERRA, A.M.; ORTIZ, M.E. & CROXATTO, H.B. - Endocrine response and ovum transport in women treated with D-Trp 6-luteinizing hormone-releasing hormone in the post ovulatory period. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 142:148, 1982.

- 051 - HANKER, J.P.; BOHMET, H.G.; MAHLENSTEDT, D.; NOWACK, C. & SCHNEIDER, H.P.G. - Gonadotropin release during chronic administration of D-Ser (Tbu)₆ LHRH - EA in functional amenorrhea. *Acta Endocrinol.*, 89:625, 1978.
- 052 - HASHIMOTO, T. - Failure of combined therapy with synthetic luteinizing hormone-releasing hormone and clomiphene citrate in patients with hypothalamic hypogonadism. *Fertil. Steril.*, 35(1):84, 1981.
- 053 - HOFFMAN, A.R. & CROWLEY, W.F. - Induction of puberty in men by long-term pulsatile administration of low-dose gonadotropin-releasing hormone. *N. Engl. J. Med.*, 307(20):1237, 1982.
- 054 - HSUEH, A.J.W. & ERICKSON G.F. - Extrapituitary action of gonadotropin-releasing hormone: Direct inhibition of ovarian steroidogenesis. *Science.*, 204:854, 1979.
- 055 - HULL, M.G.R.; SAVAGE, P.E.; BROMHAM, D.R.; ISMAIL, A.A.A. & MORRIS, A.F. - The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertil. Steril.*, 37(3):355, 1982.
- 056 - HUSEMAN, C.A.; KUGLER, J.A. & SCHNEIDER, I.G. - Mechanism of Dopaminergic suppression of gonadotropin secretion in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51(2): 209, 1980.

- 057 - KAPEN, S.; BAYAR, R.; PERLOW, M.; HELLMAN, L. & WEITZMAN, E.D. - Luteinizing hormone: changes in secretory pattern during sleep in adult women. *Life Sci.*, 13:693, 1973.
- 058 - KNOBIL, E. - On the control of gonadotrophin secretion in the Rhesus Monkey. *Recent Prog. Horm. Res.*, 30:1, 1974.
- 059 - KNOBIL, E. - The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog. Horm. Res.*, 36:53, 1980.
- 060 - KRIEG, R.J. & SAWYER, C.H. - Effects of intraventricular catecholamines on luteinizing hormone release in ovariectomized-steroid-primed rats. *Endocrinol.*, 99(2):411, 1976.
- 061 - LARON, Z.; DICKERMAN, Z.; ZEEV, Z.B.; PRAGER-LEWIN, R.; COMARU-SCHALLY, A.M. & SCHALLY A.V. - Long-term effect of D-Trp6-Luteinizing Hormone-releasing hormone on testicular size and luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and testosterone levels in hypothalamic hypogonadotropic males. *Fertil. Steril.*, 35(3):328, 1981.
- 062 - LEMAY, A.; FAURE, N. & LABRIE, F. - Sensitivity of pituitary and corpus luteum responses to a single intranasal administration of (D-Ser (Tbu)₆ - des-Gly-NH₂ 10) luteinizing hormone-releasing hormone ethylamide (Buserelin) in normal women. *Fertil. Steril.*, 37(2): 193, 1982.

- 063 - LEMAY, A.; FAURE, N.; LABRIE, F. & FASEKAS, A.T.A. - Intra-nasal LHRH agonist (Buserelin) after ovulation: a post-coital contraceptive approach. *Contracept. Deliv. Syst.*, 4:107, 1983.
- 064 - LEMAY, A.; LABRIE, F.; BELANGER, A. & RAYNAND, J.P. - Luteolytic effect of intranasal administration of (d-Ser [Tbu]₆ des-Gly-NH₂ 10) luteinizing hormone-releasing hormone ethylamide in normal women. *Fertil. Steril.*, 32(6):646, 1979.
- 065 - LEMAY, A.; LABRIE, F.; FERLAND, L. & RAYNAND, J.P. - Possible luteolytic effects of luteinizing hormone-releasing hormone in normal women. *Fertil. Steril.*, 31(1):29, 1979.
- 066 - LEMAY, A. & QUESNEL, G. Potential new treatment of endometriosis: reversible inhibition of pituitary-ovarian function by chronic intranasal administration of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) agonist. *Fertil. Steril.*, 38(3):376, 1982.
- 067 - LIUKKONEN, S.; KOSKIMIES, A.J.; TENHUNEN, A. & YLOSTALO, P. - Diagnosis of luteinized unruptured follicle (LUF) syndrome by ultrasound. *Fertil. Steril.*, 41(1):26, 1984.
- 068 - MAIA, H. Jr.; BARBOSA, I.C.; MAIA, H. & COUTINHO, E.M. Mid cycle contraception with LHRH in women. *Reproduction*, 5(4):251, 1981.
- 069 - MAIA, H. Jr.; BARBOSA, I.C.; MAIA, H.; HIRSCH, C.; TIRONI, E. &

- COUTINHO, E.M. - Induction of ovulation with clomiphene citrate followed by LR-Rh in women. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 21:1, 1983.
- 070 - MATSUO, H.; BABA, Y.; NAIR, R.M.G.; ARIMURA, A. & SCHALLY, A.V. - Structure of the porcine LH and FSH releasing hormone: The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43:1334, 1971.
- 071 - McCANN, S.M.; TALEISNICK, S. & FRIEDMAN, H.M. - LH-releasing activity in hypothalamic extracts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 104:432, 1960.
- 072 - McNEILLY, A.S. - Prolactin and the control of gonadotropin secretion in the female. *J. Reprod. Fertil.*, 58(2):537, 1980.
- 073 - MISHELL, D. - Noncontraceptive health benefits of oral steroidal contraceptives. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 142(6):809, 1982.
- 074 - MOREL, Y.; FOURNIER, M.; MAZENOD, B.; TOURNIAIRE T. & MORNEX, R. - Treatment of hypogonadotropic hypogonadal male patients with the luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) analog D-Ser-(Tbu)₆-EA 10 - LRHR: transient disappearance of gonadotropin stimulation. *Fertil. Steril.*, 38(1):85, 1982.
- 075 - NILLIUS, S.J.; BERGQUIST, C. & WIDE, L. - Inhibition of ovulation in women by chronic treatment with stimulatory LRH analog-

- gue. A new approach to birth control? *Contraception*, 17(6): 537, 1978.
- 076 - NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Acute and chronic effects of stimulatory luteinizing hormone-releasing hormone analogue-Ser (TBU)6 EA10 LRH on gonadotropin and gonadal steroid secretion in women with amenorrhea. *Acta Endocrinol. (Suppl. 212)*, 85:138, 1977.
- 077 - NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Acute effects of a new stimulatory luteinizing hormone analogue D-Ser (TBU)6 EA 10 LRH on the gonadotropin and gonadal steroid secretion in women with amenorrhea. *Upsala J. Med. Sci.*, 82:21, 1977.
- 078 - PEDROZA, E.; VILCHEZ-MARTINEZ, J.A.; COY, D.H.; ARIMURA, A. & SCHALLY, A.V. - Reduction of LH-RH pituitary and estradiol uterine binding sites by a superactive analog of luteinizing hormone-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 95(3):1056, 1980.
- 079 - PHANSEY, S.A.; BARNES, M.A.; WILLIAMSON, H.D.; SAGEL, J. & NAIR, R.M. - Combined use of clomiphene and intra-nasal luteinizing hormone releasing hormone for induction of ovulation in chronically anovulatory women. *Fertil. Steril.*, 34(5):448, 1980.
- 080 - PLAISANT, O.M. - Neuro endocrinologia; sistema diencéfalo-hipofisário. In: QUINET, A.A. & RODRIGUES, J., ed. - *Endocrinologic Ginecologic*. Ed. Pesquisa, R.J., 1973, p.27.

- 081 - QUIGLEY, M.C.; SHEELAN, K.L.; CASPER, R.F. & YEN, S.S.C. - Evidence for increased dopaminergic and opioid activity in patients with hypothalamic hypogonadotropic amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50:949, 1980.
- 082 - RABIN, D. & McNEIL, L.W. - Pituitary and gonadal desensitization after continuous luteinizing hormone-releasing hormone infusion in normal females. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51(4): 873, 1980.
- 083 - RAZDAN, A.K.; FANG, U.S.; RICH, B.H.; BRITTON H. & ROSENFELD, R.L. - Gonadotropin-releasing hormone infusion test in the distinction of hypopituitary patients from normal subjects. *Fertil. Steril.*, 31(5):507, 1979.
- 084 - REID, R.L.; LEOPOLD, G.R. & YEN, S.S.C. - Induction of ovulation and pregnancy with pulsatile luteinizing hormone releasing factor: Dosage and mode of delivery. *Fertil. Steril.*, 36(5):553, 1981.
- 085 - REPORT: PHARMACOLOGY OF D-Ser (Tbu)₆ EA 10 - LHRH; prepared by Hoechst, A-G, 1981.
- 086 - ROMMLER, A. - Short-term regulation of gonadotrophin secretion in cyclic women by LH-RH. *Acta Endocrinol.*, 87:248, 1978.
- 087 - ROTH, J.C.; KELCH, R.P.; KAPLAN, S.L. & GRUNBACH, M.M. - FSH and

- LH response to luteinizing hormone-releasing factor in prepubertal and pubertal children, adult males and patients with hypogonadotropic and hypergonadotropic hypogonadism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35:926, 1972.
- 088 - ROTSZLEJN, W.H.; CHARKI, J.L.; PATTOU, E. & KORDON, C. - Stimulation by dopamine of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) release from the mediobasal hypothalamus in male rats. *Endocrinol.*, 101(5):1474, 1977.
- 089 - SANDOW, J. - Hypothalamic Control of Anterior pituitary hormone secretion: Physiological effects. In: - EXCERPTA MEDICAL INTERNATIONAL CONGRESS, Series n° 374. - Basic Application and Clinical Uses of Hypothalamic Hormones, 1975.
- 090 - SANDOW, J. - Clinical applications of LHRH and its analogues. *Clin. Endocrinol.*, 18:571, 1983.
- 091 - SANDOW, J.; ECKERT, A.; STOLL, W. & VON RECHENBERG, W. - The Kinetics and organ distribution of a highly active analogue of luteinizing hormone releasing hormone. *J. Endocrinol.*, 73:33, 1977.
- 092 - SANDOW, J.; VON RECHENBERG, W.; KONIG, W.; HAHN, M.; JERZABEK, G. & FRASER, H. - Physiological studies with highly active analogues of LHRH. In: D. GRIPTA, ed. - Proc. 2nd. European collo-

quium on hypothalamic hormones. Tuebingen, Germany, 1976. Verlag Chemie Weinheim Germany. Chemiker zeitung 100,1976. p. 537.

093 - SANDOW, S.; VON RECHENBERG, W.; KONIG, W.; HAHN, M.; JERZABEK, G. & FRASER, H. - Physiological studies with highly active analogues of LH-RH. In: D. GRIPTA & VOELTER, ed. - Hypothalamic hormones-chemistry physiology and-clinical applications. Verlag Chemie, Weinheim, New York, 1978. pp. 307-26.

094 - SANTEN, R.J. & BARDIN, C.W. - Episodic luteinizing hormone secretion in man: pulse analysis, clinical interpretation, physiologic mechanisms. J. Clin. Invest., 52:2617, 1973.

095 - SCHÄFFENBURG, C.A. - Discussion: safety and secondary pharmacology studies of LHRH analogs. In: ZATUCHNI, G.I., SHELTON J.D., SCIARRA J.J., ed. - LHRH peptides as female and male contraceptives. Philadelphia, Pennsylvania, Harper and Row, 1981. pp. 374-5 (PARFR Series on Fertility Regulation).

096 - SCHALLY, A.V. - Current status of antagonist analogs of LH-RH as a contraceptive method in the female. In: ZATUCHNI, G.I., ed. - Research frontiers in fertility regulation. July, 1983. Vol 2, n° 5, p. 1.

097 - SCHALLY, A.V.; ARIMURA, A.; BABA, Y.; NAIR, R.M.G.; MATSUO, H.; REDDING, T.W.; DEBELJUK, L. & WHITE, W.F. - Isolation and properties of FSH-and-LH releasing hormone. Biochem. Biophys. Res.

Commun., 43:393, 1971.

098 - SCHALLY, A.V.; ARIMURA, A.; BOWERS, C.Y.; KASTIN, A.J.; JAWANA, S. & REDDING, T.W. - Hypothalamic neuro-hormones regulating anterior pituitary function. Recent Prog. Horm. Res., 24:497, 1968.

099 - SCHALLY, A.V.; ARIMURA, A.; KASTIN, A.J.; MATSUO, H.; BABA, Y.; REDDING, T.W.; NAIR, R.M.G. & DEBELJUK, L. - Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. Science, 173:1036, 1971.

100 - SCHALLY, A.V.; COY, D.H. & ARIMURA, A. - LHRH-agonists and antagonists. Int. J. Gynaecol. Obstet., 18:318, 1980.

101 - SCHALLY, A.V.; KASTIN, A.J. & COY, D.H. - LH-releasing hormone and its analogues: recent basic and clinical investigations. Int. J. Fertil., 21:1, 1976.

102 - SCHMIDT, F.; SUNDARAM, K. & THAU, R.B. - EAc-D-NAL(2)1, 4 FD-PHe2, D-Trp3, D-Arg6]-LHRH, a potent antagonist of LHRH produces transient edema and behavioral changes in rats. Contraception, 29(3):283, 1984.

103 - SEYLER, L.E., Jr. & REICHLIN, S. - Luteinizing hormone-releasing factor (LRF) in plasma of postmenopausal women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 37:197, 1973.

- 104 - SHARPE, R.M. - Extra-pituitary actions of LHRH and its agonists. Nature, 286:12, 1980.
- 105 - SHAW, R.W. - Differential response to LHRH following oestrogen therapy in women with amenorrhoea. Br. J. Obstet. Gynaecol., 86:69, 1979.
- 106 - SHEEHAN, K.L.; CASPER, R.F. & YEN, S.S.C. - Effects of a superactive luteinizing hormone-releasing factor agonist on gonadotropin and ovarian function during the menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynecol., 135:759, 1979.
- 107 - SHEELAN, K.L.; CASPER, R.F. & YEN, S.S.C. - Induction of luteolysis by luteinizing hormone releasing factor (LRF) agonist: sensitivity, reproducibility and reversibility. Fertil. Steril., 37(2):209, 1982.
- 108 - SILER-KHODR, T.M. & KHODR, G.S. - Content of luteinizing hormone-releasing factor in the human placenta. Am. J. Obstet. Gynecol., 130:216, 1978.
- 109 - SILER-KHODR, T.M. & KHODR, G.S. - Extrahypothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LRF): release of immunoreactive LRF in vitro. Fertil. Steril., 32(3):294, 1979.
- 110 - SILVERMAN, A.Y.; SMITH, C.G.; SILER-KHODR., T.M. & ASCH, R.H. -

Human chorionic gonadotropin blocks the estrogen-induced luteinizing hormone release in long-term castrated rhesus monkeys: evidence for an ultrashort-loop negative feedback. *Fertil. Steril.*, 35(1):74, 1981.

111 - SKARIN, G.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Early follicular phase luteinizing hormone-releasing hormone agonist administration. Effects on follicular maturation and corpus luteum function in women. *Contraception*, 25(1):31, 1982.

112 - SKARIN, G.; NILLIUS, S.J. & WIDE, L. - Effects of an LRH agonist on early human pregnancy. Preliminary report to ICCR, January, 1982.

113 - SOULES, M.R.; JELOVEK, F.R.; WIEBE, R.H.; PYREY, L.; PAULSON, D.F. & HAMMOND, C.B. - Amenorrhea: observations based on the analysis of luteinizing hormone-releasing hormone testing. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135:651, 1979.

114 - SPEROFF, L. - Getting high on running. *Fertil. Steril.*, 36(2):149, 1981.

115 - STEWART, J.M. - Pharmacology of LHRH and analogs. In: ZATUCHNI, G.I., SHELTON, J.D., SCIARRA, J.J., ed. - LHRH peptides as female and male contraceptives. Philadelphia, Pennsylvania, Harper and Row, 1981. pp. 2-12 (PARFR Series on Fertility Regulation).

116 - TAN, G.I.S. & BIGGS, J.S.G. - Absence of effect of LH-RH on progesterone production by human luteal cells in vitro. J. Reprod. Fertil., 67:411, 1983.

117 - TOLIS, G.; COMARU-SCHALLY, A.M.; MEHTA, A.E. & SCHALLY, A.V. - Failure to interrupt established pregnancy in human by D-Tryptophan -6- luteinizing hormone-releasing hormone. Fertil. Steril., 36(2):241, 1981.

118 - VICKERY, B.H.; MCRAE, G.I. & STEVENS, V.C. - Suppression of luteal and placental function in pregnant baboons with agonist analogs of luteinizing hormone-releasing hormones. Fertil. Steril., 36(5):664, 1981.

119 - YEN, S.S.C. - Hypotalamic releasing factors in gynecology. Endocrinology. In: PITKIN, R.M., ed. - Year Book of Obstetrics and Gynecology, 1976. p. 197.

120 - YEN, S.S.C.; NAFTOLIN, F.; LEIN, A.; KRIEGER, D. & UTIGER, R. - Hypotalamic influences on pituitary functions in humans. In: GREEP, R.O., ed. - Frontiers in reproduction and fertility control (part 2). The MIT press, Cambridge, Massachusetts and London, 1977. p. 108.

121 - YEN, S.S.C.; VANDENBERG, G.; REBAR, R. & EHARA, Y. - Variation of pituitary responsiveness to synthetic LRF during different phases of the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab.,

35:931, 1972.

122 - WANG, C.F.; LASLEY, R.L.; LEIN, A. & YEN, S.S.C. - The functional changes of the pituitary gonadotrophs during the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab., 42:718, 1976.

123 - WIEGELMANN, W.; SOLBACH, H.G.; KLEY, H.K.; NIESCHLAG, E.; RUDORFF, K.H & KRUSKEMPER, H.L. - A New LHRH analogue: D-SER(TBU)6 LHRH 1-9 EA 10. In: D. GRIPTA, ed.- Proc. 2nd. european colloquium hypothalamic hormones. Tuebingen, Germany, Verlag Chemie, Weinheim, 1976.

124 - WURTMAN, R.J. - Brain neurotransmitters and the hypothalamic control of pituitary gonadotropin secretion. In: GREEP, R.O., ed. - Frontiers in reproduction and fertility control (part 2). The mit press, Cambridge, Massachusetts and London, 1977. p. 103.

125 - ZARATE, A.; CANALES, E.S.; STHORY, I.; COY, D.H.; CAMARUSCHALLY; A.M. & SCHALLY, A.V. - Anovulatory effect of a LHRH antagonist in women. Contraception, 24(3):315, 1981.