

Análise Crítica da Utilidade do Teste de Clonidina – Hormônio de Crescimento (GH) no Diagnóstico do Homem Infértil

perspectiva

RESUMO

O presente trabalho visa analisar a confiabilidade do teste de clonidina - GH (TC-GH) no diagnóstico de uma insuficiência relativa de GH em uma população de homens inférteis. Vinte e sete pacientes foram classificados em 3 grupos de acordo com a dose de clonidina. Os grupos I (clonidina 0,150mg) e II (clonidina 0,200mg) tinham 9 e 6 pacientes oligozoospermicos, respectivamente. O grupo III (clonidina 0,400mg) tinha 5 pacientes oligozoospermicos (subgrupo IIIa) e 7 normozoospermicos (subgrupo IIIb). Trinta e um TC-GH foram realizados e vinte e nove deles foram analisados; cinco (17,2%) resultaram normais (1 no grupo I, 1 no grupo III e 3 no grupo IIIb). As respostas do GH após 60, 90 e 120 minutos do estímulo não mostraram diferença significativa nos grupos I, II e III nem entre os subgrupos IIIa e IIIb. Conclui-se que o TC-GH não é de utilidade no diagnóstico de uma relativa insuficiência de GH no homem infértil, independente da dose de clonidina. A razão é a incapacidade da clonidina produzir um estímulo de GH confiável no homem adulto. (**Arq Bras Endocrinol Metab 1999;43/5: 373 -376**).

Unitermos: Hormônio de crescimento; Teste clonidina - GH; Infertilidade masculina; Insuficiência de GH

ABSTRACT

The aim of this study was to analyse the reliability of the GH - clonidine test (GH-CT) in the diagnosis of a relative GH insufficiency in an infertile male population. Twenty seven patients were classified in 3 groups according to clonidine dosage. Groups I (clonidine 0.150mg) and II (clonidine 0.200mg) had 9 and 6 oligozoospermic patients, respectively. Group III (clonidine 0.400mg) had 5 oligozoospermic (subgroup IIIa) and 7 normozoospermic patients (subgroup IIIb). Thirty one GH-CT were performed and 29 of them were included in the study. Five (17.2%) normal GH-CT were observed (1 in group I, 1 in group II and 3 in subgroup IIIb). GH responses at 60, 90 and 120 min after clonidine stimulation showed no significant differences in groups I, II and III, neither between subgroups IIIa and IIIb. We conclude that the GH-CT is of no use in the diagnosis of a relative GH insufficiency in the infertile male, irrespective of the clonidine dosage. The reason is the clonidine inability to carry out a reliable GH stimulation in the adult male. (**Arq Bras Endocrinol Metab 1999;43/5: 373 -376**)

Keywords: Growth hormone; GH - clonidine test; Male infertility; GH insufficiency

EXISTEM EVIDÊNCIAS DE QUE O GH e o IGF-1 têm papel importante no sistema reprodutor de ambos os sexos (1,2). Essas evidências são melhor comprovadas na mulher, na qual o GH aumenta a produção de estradiol e de progesterona e, também, a divisão celular *in vitro* das células da granulosa (3). No homem, o GH e o IGF-1 teriam um efeito facilitador do processo de síntese de testosterona e de espermatogênese (2,4). No entanto, estudos sobre a fisiopatologia do GH e do IGF-1 no homem

*Antônio Carlos Bonaccorsi
Denise Boechat Leite
Raul Faria Júnior*

*Instituto Estadual de Diabetes e
Endocrinologia do Rio de Janeiro -
IEDE, Rio de Janeiro, RJ.*

*Recebido em 26/04/99
Revisado em 27/09/99
Aceito em 30/09/99*

infértil e, principalmente, sobre a possível ação terapêutica do GH são pouco conclusivos (5,6). Em 1993, Shimonovitz e cols. (7) encontraram ausência de resposta do GH ao estímulo pela clonidina (0,150mg) em 91% de 11 pacientes azoospermicos, o que sugeria que a alteração da espermatogênese seria dependente do GH. Diante destes dados, passamos, a partir de 1995, a tentar identificar se em pacientes não azoospermicos essa ausência de resposta do GH à clonidina poderia também estar presente. O presente trabalho é uma análise retrospectiva dos exames realizados em pacientes oligozoospermicos, análise esta que nos levou, a proporção que surgiam os resultados, a ampliar nossa avaliação para também estudar pacientes normozoospermicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados pelo teste da clonidina – GH, 27 homens inférteis com idades entre 25 e 50 anos (média de 32,6 anos). Ao exame físico todos os pacientes eram bem virilizados e tinham volume testicular total (valor normal acima de 30ml) normal, exceto por 2 casos de varicocele e outro que sofrera orquiectomia por criptorquidia. Havia 15 pacientes (55,5%) com varicocele. Exceto em 4 pacientes, a infertilidade era primária em todos.

Os testes de clonidina – GH foram realizados quando havia necessidade da realização de um teste de estímulo com LH-RH (luteinizing hormone-releasing hormone), sendo a facilidade de concomitância dos dois testes o único critério de escolha dos 27 pacientes. Em 4 pacientes, o teste de clonidina – GH foi repetido na ausência do teste do LR-RH. Portanto, foram realizados ao todo 31 testes. Os testes foram realizados sempre no mesmo local com o paciente em decúbito dorsal e em repouso há pelo menos 15 minutos, sendo sempre acompanhados por um dos autores durante todo o seu desenvolvimento. Nenhum paciente apresentou quadro de hipotensão que causasse preocupação, sendo que todos entraram em sono mais ou menos profundo. O GH foi dosado em condições basais e 60, 90 e 120 minutos após a ingestão da clonidina. Foi considerado um teste normal uma resposta do GH de pelo menos 5 ng/ml.

Os pacientes foram divididos em 3 grupos de acordo com a dose de clonidina utilizada. O grupo I era constituído de 9 pacientes oligozoospermicos (menos de 20×10^6 espermatozoides/ml e, de pelo menos, 40×10^6 /ejaculado), os quais receberam 0,150mg de clonidina. O grupo II (0,200mg de clonidina) tinha 6 pacientes oligozoospermicos e nele foram incluídos mais 4

pacientes não responsivos do grupo I, os quais estavam sendo re-testados com dose mais elevada de clonidina, o que eleva para 10 o número total de testes realizados neste grupo. O grupo III recebeu 0,400mg de clonidina e era constituído de 5 pacientes oligozoospermicos (subgrupo IIIa) e 7 pacientes normozoospermicos (subgrupo IIIb) com diferentes graus de astenospermia, exames estes ainda compatíveis com fertilidade. Estes 7 pacientes tinham $29,4 \times 10^6$ a 160×10^6 espermatozoides/ml (média de $77,3 \times 10^6$) e 97×10^6 a $333,6 \times 10^6$ espermatozoides/ejaculado (média de 196×10^6).

As dosagens de GH foram realizadas utilizando-se método imunofluorimétrico com kit da marca Auto Delfia (Wallac / EG & G). O limite de detecção do GH por este método é de 0,01ng/ml (0,03mU/L) e os coeficientes intra e inter-ensaio são de 1,9 ng/ml (5,1µmol/L) e 0,9 ng/ml (2,5µmol/L), respectivamente. O fator de conversão é: 1 ng/ml = 2,6 µmol/L.

As respostas de GH após 60, 90 e 120 minutos do estímulo pela clonidina foram comparadas entre os grupos I, II e III por análise de variância (ANOVA) e nos subgrupos IIIa e IIIb foi utilizado o teste t pareado (Student).

RESULTADOS

Dos 31 testes realizados, 1 do grupo II e 1 do subgrupo IIIb foram excluídos da avaliação por terem valores elevados de GH basal, o que foi atribuído ao “stress” da prova. Dentre os 29 testes remanescentes, 5 deles (17,2%) mostraram resultados normais, sendo 1 (11,1%) nos 9 pacientes do grupo I, 1 (11,1%) nos 9 pacientes do grupo II e 3 (17,2%) nos 11 pacientes do grupo III. Estes 3 testes normais foram encontrados no subgrupo IIIb, ou seja, em 50% dos 6 pacientes normozoospermicos. As médias dos resultados de GH dos testes realizados nos 3 grupos estudados estão contidos na tabela 1. Os valores dos resultados dos 5 testes normais são apresentados na tabela 2. Não foi observada diferença significativa nos valores de GH das respostas de 60, 90 e 120 minutos após estímulo entre os grupos I, II e III e, também, entre os subgrupos IIIa e IIIb.

DISCUSSÃO

São muitas as evidências clínicas de que o GH e o IGF-1 estão envolvidos na espermatogênese (2,5). No homem, a resposta testicular ao hormônio gonadotrófico coriônico é diminuída em pacientes com deficiência ou resistência ao GH (8). Em homens com hipogonadismo hipogonadotrófico, a adição de GH ao tratamento com gonadotrofinas aumenta a produção

Tabela 1. Valores de GH (média±desvio padrão, em ng/ml) no teste de estímulo pela clonidina nos 3 grupos estudados.

GRUPO	n	BASAL	APÓS 60'	APÓS 90'	APÓS 120'
GRUPO I	9	0,261 ± 0,091	0,281 ± 0,081	1,533 ± 0,510	1,966 ± 1,341
GRUPO II	9	0,518 ± 0,442	0,468 ± 0,122	1,849 ± 0,943	1,117 ± 0,397
GRUPO III	11	0,201 ± 0,151	1,264 ± 0,552	2,94 ± 0,784	1,522 ± 0,429
GRUPO IIIa	5	0,026 ± 0,007	0,87 ± 0,672	1,68 ± 0,376	0,87 ± 0,690
GRUPO IIIb	6	0,346 ± 0,271	1,592 ± 0,892	3,99 ± 1,279	2,067 ± 0,433

Tabela 2. Valores dos resultados de GH (em ng/ml) no teste de clonidina-GH nos 5 pacientes com resultados normais.

PACIENTES	DOSE DE CLONIDINA (mg)	BASAL	APÓS 60'	APÓS 90'	APÓS 120'
1	0,150	0,5	0,6	6,9	12,6
2	0,200	0,1	0,3	8,0	2,9
3	0,400	1,7	5,2	7,2	2,8
4	0,400	0,04	0,06	6,0	3,4
5	0,400	0,06	3,3	6,7	3,9

de testosterona e a concentração espermática (9). O IGF-1 é encontrado nas células de Sertoli e, em menor quantidade, nos espermatócitos primários (4,10), estando essa produção regulada, pelo menos em parte, pelas gonadotrofinas. Receptores de IGF-1 têm sido encontrados nas células de Leydig, onde o IGH-1 controla e facilita a síntese androgênica (11). Camundongos com ruptura do gene do IGF-1 mostram insuficiência espermatogênica, mais com respeito a quantidade do que a uma parada em determinada fase da espermatogênese (12). Junto a uma série de outros fatores de crescimento, como os da família do *transforming growth factor-β*, o GH e o IGF-1 parecem ser, antes que uma necessidade absoluta, fatores facilitantes de uma espermatogênese normal (13).

Estes dados têm estimulado a realização de testes de estímulo de GH em pacientes inférteis, visando detectar alterações na sua liberação. As avaliações laboratoriais até agora realizadas incluem testes de estímulo pelo *growth hormone-releasing hormone* (GH-RH) (14), pela arginina (15) e pela clonidina (7). Estes testes mostraram ténues evidências de que no homem subfértil pode existir uma anormalidade de produção e/ou secreção de GH, o que poderia ter implicações terapêuticas (2,5).

Segundo Shimonovitz e cols. (7), o teste de clonidina resultou negativo em 91% dos casos de azoospermia avaliados, ao passo que em 82% dos casos de oligozoospermia e em todos os pacientes férteis o

mesmo teste mostrou resposta normal do GH ao estímulo. Estes dados nos animaram a passar a realizar esse mesmo teste em todo paciente infértil em que fosse ser realizado um teste de LH-RH, tendo sido este o único critério de escolha. A ausência de resposta na maioria dos pacientes nos fez, de início, supor que a causa estivesse relacionada a uma insuficiência da dose clássica de clonidina (0,150mg), pelo que elevamos a mesma para 0,200mg, ainda em pacientes oligozoospermicos, o que não alterou o padrão de resposta previamente obtido. A dose de clonidina foi, então, aumentada para 0,400mg, e incluídos no estudo pacientes normozoospermicos, o que resultou em um maior número de respostas normais nestes pacientes normozoospermicos. No entanto, esta maior incidência de respostas normais não foi estatisticamente significativa, o que poderia ser atribuído à reduzida amostragem por nós estudada.

Afastada a possibilidade destes resultados se deverem a uma dose insuficiente de clonidina, as únicas explicações possíveis seriam, ou que a maioria destes pacientes têm realmente insuficiência relativa de GH, ou que a clonidina não seria um estímulo adequado para este diagnóstico. A primeira hipótese seria afastada pelos achados de resposta de GH normal, ainda que com diferença significativa daquelas de homens normais, na totalidade dos inférteis submetidos à infusão de arginina (14) e de GH-RH (15). Resta a hipótese da clonidina ser ineficaz como agente estimulante do GH.

A clonidina, um agonista central alfa-2-adrenérgico, é um poderoso estimulador do GH-RH na criança e no adolescente, sendo no adulto muito pouco específico e, na verdade, sem uso diagnóstico na insuficiência de GH do adulto (16). Rahim e col. (16), estudando 18 homens normais com idade média de 22 anos e usando doses de 0,100 a 0,200mg de clonidina, concluíram que a clonidina não é recomendada como um teste de avaliação do GH, sendo seus efeitos comparáveis aos de um placebo. Acreditamos poder afirmar, por nossos achados, que mesmo uma dose de 0,400mg de clonidina é ineficaz como estimulante do GH.

Em que pese não termos incluído em nosso estudo um grupo controle de pacientes não inférteis, nossa conclusão é que o teste da clonidina, qualquer que seja a dose usada, não é de utilidade no diagnóstico de uma insuficiência relativa de GH no homem infértil, sendo a causa a inadequação da clonidina para estimular GH em homens adultos. Não sabemos como explicar os resultados e as conclusões do estudo de Shimonovitz e col. (7).

REFERÊNCIAS

1. Ovesen P, Moller J, Moller N, Christoansen JS, Oskov H, Jorgensen JOL. Growth hormone secretory capacity and insulin-like growth factor-I levels in primary infertile, anovulatory women with regular menses. **Fertil Steril** 1992;57:97-101.
2. Shoham Z, Zalel Y, Jacobs HS. The role of growth hormone in male infertility. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1994;41:1-5.
3. Ovesen P, Ingersley HJ, Orskov H, Ledet T. Effect of growth hormone on steroidogenesis, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-I and DNA synthesis in cultured human luteinized granulosa cells. **J Endocrinol** 1994;140:313-9.
4. Saez JM. Leydig cells: endocrine, paracrine and autocrine regulation. **Endocr Rev** 1994;15:574-626.
5. Ovesen P, Jorgensen JOL, Ingerslev J, Ho KKY, Orskov H, Christiansen JS. Growth hormone treatment of subfertile males. **Fertil Steril** 1996;66:292-8.
6. Anaplotou MGL, Evagellou MD, Kastanias I, Liparaki M, Psara P, Goulandris N. Effect of growth hormone cotreatment with human chorionic gonadotropin in testicular steroidogenesis and seminal insulin-like growth factor in oligozoospermia. **Fertil Steril** 1996;66:305-11.
7. Shimonovitz S, Zacut D, Bem Chetrit A, Ron M. Growth hormone status in patients with maturation arrest of spermatogenesis. **Human Reprod** 1993;8:919-21.
8. Tato L, Zamboni G, Antoniazzi F, Piubello G. Gonadal function and response to growth hormone (GH) in boys with isolated GH deficiency and to GH and gonadotropins in boys with multiple pituitary hormone deficiencies. **Fertil Steril** 1996;65:830-40.
9. Shoham Z, Conway GS, Ostergaard H, Lahlou N, Bouchard P, Jacobs HS. Cotreatment with growth hormone for induction of spermatogenesis in patients with hypogonadotropic hypogonadism. **Fertil Steril** 1992;57:1044-51.
10. Vannelli BG, Barni T, Orlando C, Natali A, Serio M, Baldoni GC. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) IGF-I receptor in human testis: an immunohistochemical study. **Fertil Steril** 1988;49:666-9.
11. Nagpal ML, Wang D, Calkins JH. Human chorionic gonadotropin up-regulates insulin-like growth factor-receptor gene expression of Leydig cells. **Endocrinology** 1991;129:2820-6.
12. Baker J, Liu J, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. **Cell** 1993;75:73-82.
13. Lamb DJ. Growth factors and testicular development. **J Urol** 1993;150:583-92.
14. Rajmil O, Rodriguez-Espinosa J, Sarquella J, Castellet R, Oliver A, Queraltó JM. Growth hormone response to growth hormone-releasing hormone stimulation in oligozoospermic patients. **Fertil Steril** 1994;62:1039-43.
15. Ovesen P, Jorgensen JOL, Kjaer T, Ho KY, Orskov H, Christiansen JS. Impaired growth hormone secretion and increased growth hormone-binding protein levels in subfertile males. **Fertil Steril** 1996;65:165-9.
16. Rahim A, Toogood AA, Shalet SM. The assessment of growth hormone status in normal young adults using a variety of provocative agents. **Clin Endocrinol (Oxford)** 1996;45:557-62.

Endereço para correspondência:

Antônio Carlos Bonaccorsi
Av. N. Sra. Copacabana 647 sala 1115
22050-000 Rio de Janeiro, RJ.
Fax: (021)235-2240