

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CLÍNICA MÉDICA
MESTRADO

**VARIAÇÃO DO pH DO MUCO CERVICAL *IN SITU* PELA
EXPOSIÇÃO AO AR ATMOSFÉRICO**

AUTORA: CINTIA HELENA MOREL CORRÊA

*Dissertação de Mestrado
apresentada ao Curso de Pós-
graduação em Clínica Médica para
obtenção do título de Mestre em
Medicina*

ORIENTADOR: PROF. DR. ARNALDO N. FERRARI

Porto Alegre
1997

C824v Corrêa, Cíntia Helena Morel

Varição do pH do muco cervical *in situ* pela exposição ao ar atmosférico / Cíntia Helena Morel Corrêa; orient, Arnaldo N. Ferrari; co-orient, Ana Luiza G. Mattos. - Porto Alegre: UFRGS, 1997.
106f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica.

1. Muco Cervical. 2. pH. I. Ferrari, Arnaldo N. II. Mattos, Ana Luiza G. III. Título.

AGRADECIMENTOS

A todos os que, de alguma forma, contribuíram para a efetivação desta dissertação. Em especial,

- Ao Prof. Dr. Arnaldo N. Ferrari, pela acolhida como orientador, incentivo e orientação na elaboração deste estudo.
- À Dra. Ana Luiza G. Mattos, pela grande amizade, incentivo, dedicação, disponibilidade e inestimável colaboração durante o período de execução deste trabalho.
- Ao Prof. José Goldim, pela orientação na análise dos dados.
- Aos meus pais, pelo constante incentivo aos estudos dedicado a seus filhos desde cedo e permanente estímulo à minha formação.
- Ao Dr. Valter Portella, pelo permanente incentivo.
- Aos colegas da Fundação Universitária de Endocrinologia e Fertilidade - FUEFE - que, de várias formas, colaboraram para a execução desta tarefa.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
SUMMARY.....	X
1 - INTRODUÇÃO.....	12
1.1 - Infertilidade Conjugal.....	15
1.2 - Fator Cervical e Infertilidade Conjugal.....	19
1.2.1 - Secreção Cervical.....	19
1.2.1.1 - Estrutura do Muco Cervical.....	21
1.2.1.2 - Composição do Muco Cervical.....	22
1.2.1.3 - Propriedades do Muco Cervical.....	25
1.2.2 - Sêmen e Interação Mucoespermática.....	29
1.2.3 - Investigação do Fator Cervical.....	34
1.2.3.1 - Teste Pós-Coital.....	36
1.2.3.2 - Estudos <i>In-Vitro</i>	40
1.3 - A Importância do pH do Trato Genital Feminino na Migração Espermática.....	42
1.4 - Métodos para a Medida do pH.....	47
2 - OBJETIVO.....	52

3 - METODOLOGIA	53
3.1 - Pacientes.....	53
3.2 - Avaliação do Muco Cervical.....	54
3.2.1 - Procedimento de Coleta do Muco Cervical.....	54
3.2.2 - Exame do Muco Cervical.....	54
3.2.2.1 - Volume.....	55
3.2.2.2 - Filância.....	55
3.2.2.3 - Cristalização.....	57
3.2.2.4 - Superaquecimento.....	57
3.2.2.5 - Escore Geral.....	59
3.3 - Determinação do pH do Muco Cervical.....	60
3.4 - Delineamento de Pesquisa.....	63
3.5 - Análise Estatística.....	63
4 - RESULTADOS	64
4.1 - Idade das Pacientes.....	64
4.2 - Duração do Ciclo Menstrual.....	65
4.3 - Período de Abstinência Sexual.....	65
4.4 - Qualidade do Muco Cervical.....	65
4.5 - Valores de pH	66
5 - DISCUSSÃO	70
5.1 - O pH do Muco e o Fator Cervical em Infertilidade.....	70
5.2 - Exposição do Muco Cervical ao Ar Atmosférico e pH.....	72
5.3 - Influência da Exposição do Muco ao Ar nos Testes de Interação Mucoespermática.....	75

5.4 - Outros Fatores Capazes de Alterar o pH do Muco Cervical.....	78
5.4.1 - Idade das Pacientes.....	78
5.4.2 - Duração do Ciclo Menstrual.....	79
5.4.3 - Período de Abstinência Sexual.....	79
5.4.4 - Qualidade do Muco Cervical.....	80
5.4.5 - Presença de Microorganismos no Trato Genital.....	83
5.4.6 - Formas de Medida do pH do Muco Cervical.....	85
5.5 - Perspectivas Terapêuticas na Infertilidade por Fator Cervical.....	87
6 - CONCLUSÕES.....	91
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 -	Incidência dos fatores etiológicos da infertilidade em diversos centros mundiais (1977 a 1985)	18
QUADRO 2 -	Crítérios de normalidade do sêmen	30
QUADRO 3 -	Classificação etiológica da má interação mucoespermática	38
TABELA 1 -	Idade das pacientes submetidas à medida de pH do muco cervical	64
TABELA 2 -	Duração do ciclo menstrual das pacientes submetidas à medida de pH do muco endocervical	65
TABELA 3 -	Qualidade do muco cervical: pontuações parciais	66
TABELA 4 -	Score do muco cervical ao superaquecimento	66
TABELA 5 -	Valores de pH ecto e endocervical medidos aos 0, 5 e 10 minutos	67
TABELA 6 -	Distribuição dos valores de pH no muco ectocervical em relação ao tempo de medida	67
TABELA 7 -	Valores médios de pH ectocervical encontrados nas 20 pacientes em cada período de avaliação	68
TABELA 8 -	Distribuição dos valores de pH no muco endocervical em relação ao tempo de medida	68
TABELA 9 -	Valores médios de pH endocervical encontrados nas 20 pacientes em cada período de avaliação	69

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 -	Modelo da estrutura reticular do muco cervical sob influência estrogênica (a) e progesterônica (b)	22
Fig. 2 -	Muco cervical pré-ovulatório :avaliação da filância	56
Fig. 3 -	Aspecto de cristalização típica do muco cervical com ramificações terciárias e quaternárias	57
Fig. 4 -	Superaquecimento do muco cervical	58
Fig. 5 -	Aspecto das três cores obtidas pelo aquecimento do muco cervical seco em chama de álcool	59
Fig. 6 -	Microeletrodo de vidro Beckmann nº 39535	61
Fig. 7 -	Medida do pH endocervical	62

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar se o tempo de exposição do muco cervical ao ar atmosférico, por ocasião do exame especular, pode alterar o valor do pH do muco.

A determinação dessa alteração se justifica pela possível interferência na interação mucoespermática, já que um pH ácido é desfavorável à penetração espermática e está associado à infertilidade por fator cervical.

Para tal, foram estudadas 20 pacientes com muco de boa qualidade, avaliado através do volume, filância, cristalização e coloração ao superaquecimento, livres de medicação e de patologia ginecológica e que concordaram em participar do estudo. As medidas do pH do muco ecto e endocervical foram realizadas *in situ*, com eletrodo de vidro, aos zero, cinco e dez minutos de exposição da cérvix.

Os resultados mostraram alcalinização progressiva do pH do muco com o tempo de exposição ao ar, observando-se, no muco ectocervical, valores médios de pH de 6,91, 7,16 e 7,27 aos zero, cinco e dez minutos respectivamente, ao passo que, no muco endocervical, os valores médios foram de 7,09, 7,34 e 7,46 aos zero, cinco e dez minutos, respectivamente. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os

valores obtidos aos zero e cinco minutos e aos zero e dez minutos ($p < 0,05$) em ambos os sítios. Não foram encontradas diferenças significativas entre os valores registrados aos cinco e dez minutos num e noutra sítio.

Concluiu-se que o tempo de exposição ao ar afeta o pH do muco cervical de forma significativa. Como os testes empregados até o momento para avaliar a interação mucoespermática não consideram essa possibilidade, sugere-se que os mesmos sejam realizados imediatamente após a coleta do muco a fim de evitar uma possível interferência nos valores obtidos e, conseqüentemente, na interpretação de tais testes.

Futuros estudos são necessários para determinar o momento exato, no intervalo entre os zero e cinco minutos, em que as alterações de pH do muco cervical promovidas pela exposição ao ar atmosférico têm início.

SUMMARY

The aim of this study was to verify if the exposure of cervical mucus to atmospheric air during specular examination could alter the value of the mucus pH.

The detection of this alteration is justified for its possible interference on sperm-mucus interaction, since an acidic pH is unfavorable to sperm penetration and is associated to infertility due to cervical factor.

20 patients with good quality mucus evaluated by volume, spinnbarkeit, ferning and colour at overheating, free either of medication, or of gynecological pathology and who agreed to participate of this study were evaluated. The pH measurements of exo and endocervical mucus *in situ* were performed by means of a glass electrode, at zero, five and ten minutes of cervical exposure.

The results showed progressive alcalinization of the mucus pH associated to the time of exposure to the air. The mean values of exocervical mucus pH were 6,91, 7,16 and 7,27 at zero, five and ten minutes respectively, while the mean values of endocervical mucus pH were 7,09, 7,34 and 7,46 at zero, five and ten minutes respectively. Significant differences between the mean values obtained at zero and five minutes, and at zero and

ten minutes ($p < 0,05$) were found. Differences for mean pH values at five and ten minutes were not significant at both sites.

It was concluded that the period of exposure to atmospheric air affects the cervical mucus pH in a significant way. Since the tests used until now to evaluate sperm-mucus interaction have not considered this possibility, we suggest them to be performed immediately after the mucus collection in order to avoid the interference on the values obtained and, in consequence, on the interpretation of such tests.

Future experiments are needed to determine the exact moment, between zero and five minutes, when the the cervical mucus pH variations, promoted by exposure to the air, begin to occur.

1-INTRODUÇÃO

A infertilidade conjugal é um problema que atinge casais em todo o mundo. Nos países desenvolvidos, onde se deve principalmente a distúrbios da interação do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, incide em cerca de 10% dos casais. Já nos países em desenvolvimento, as causas da infertilidade são principalmente infecciosas, sendo que o número de casais inférteis em alguns países da África Equatorial ultrapassa a 30% (Population Information Program,1984; Sobrero,1991).

Dentre as causas da infertilidade conjugal inclui-se o fator cervical, nomenclatura utilizada para designar os diversos distúrbios da interação do muco cervical com o espermatozoide. A má interação entre o espermatozoide e o muco cervical é associada à infertilidade (Matthews, Makin & Cos, 1980; Alexander,1981; Harrison,1981; Hull, Savage & Bromham,1982). Anormalidades na cérvice e em sua secreção são responsáveis por 5% a 10% dos casos de infertilidade (Insler,1977; Blasco,1977; Speroff, Glass & Kase,1989; Dajavan,1991, Ferrari,1991; Baruffi et al.,1992; Moghissi,1993; Edwards & Brody,1995; Sims & Gibbons,1996).

A investigação do fator cervical é tradicionalmente realizada pelo teste pós-coital (TPC) (WHO,1989), proposto em 1886 por Sims e posteriormente popularizado por Huhner (1913), tornando-se o teste de Sims-Huhner o método de escolha para a avaliação da interação mucoespermática *in vivo*, a qual pode ser também realizada pelos testes de penetração espermática *in vitro* (WHO,1992; Moghissi,1993; Boyers,1995).

Alguns casos em que o resultado do TPC é considerado insatisfatório são atribuídos primordialmente a problemas imunológicos. No entanto estudos recentes (Souza et al.,1992) demonstraram que a incidência do fator imunológico nesses casos é baixa, sendo 80% deles passíveis de reversão através de uma ducha de bicarbonato (Ferrari & Mattos,1996). A melhora observada com a alcalinização do muco através da ducha de bicarbonato sugere, como causa do fator cervical, o baixo pH do muco. Além disso, foi relatado que alguns casos de TPC negativo (ausência de espermatozóides com movimentos direcionais) ou ausente (ausência de espermatozóides), realizados com muco ovulatório e esperma normal, se tornavam positivos durante a realização das provas *in vitro* (Ferrari, Lomando & Adamy,1978; Jonsson et al.,1986, Overstreet,1986; Ferrari & Mattos,1996). Suspeitou-se que essa alteração pudesse ser devida à variação do pH do muco após a exposição ao ar (Ferrari,1986).

Usualmente não é dada muita atenção ao pH do muco cervical, embora esse parâmetro possa ser facilmente determinado durante a investigação básica da infertilidade. Inexiste, no entanto, um consenso sobre a forma ideal de medida do pH do muco, bem como sobre os fatores que provocam sua alteração.

Há estudos prévios relatando a alteração do pH do muco cervical com a exposição ao ar (Breckenridge, Pederson & Pommerenke,1950; Kroeks & Kremer,1977), porém os mesmos foram realizados *in vitro*, ou seja, com o muco aspirado, situação essa que não reproduz as condições que ocorrem *in vivo*.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar se o pH do muco cervical também se altera *in situ* quando exposto ao ar por intermédio do exame especular.

1.1 - INFERTILIDADE CONJUGAL

A infertilidade conjugal é definida clinicamente como a incapacidade de conceber no período de um ano de relações sexuais regulares, ou seja, 2 a 4 vezes por semana, sem o uso de qualquer método contraceptivo (Greenhall & Vessey,1990; Mosher & Pratt,1991; Edwards & Brody,1995, Speroff, Glass & Kase,1995; Guzick,1996). Esta definição está de acordo com um estudo realizado por Tietze, Guttmacher & Rubin (1950), que mostrou que 90% dos casais que conseguem uma gravidez o fazem no período de um ano. Outros autores sugerem que o período de dois anos seria mais adequado para definir a infertilidade clínica, já que a concepção pode se atrasar em algumas mulheres (Templeton, Fraser & Thompson, 1990).

Alguns autores utilizam o termo esterilidade para definir a incapacidade completa e permanente de procriar. Neste texto, os termos esterilidade e infertilidade são considerados sinônimos.

Faz-se distinção entre infertilidade primária e secundária. Infertilidade primária refere-se à de um casal que jamais conseguiu uma gravidez, enquanto infertilidade secundária diz respeito a um casal que já a conseguiu, mesmo que esta não haja resultado em nativivo, mas que tem dificuldades em alcançar outra gravidez (Sobrero,1991; Edwards & Brody,1995).

A freqüência da infertilidade conjugal na população geral é muito difícil de ser estabelecida. Estima-se que atinja entre 10% e 30% dos casais em idade fértil (Page,1989; Thonneau et al.,1991; Speroff, Glass & Kase,1995; Guzik,1996). As perturbações patológicas que afetam a saúde reprodutiva da mulher e do homem variam em sua freqüência de acordo com múltiplos fatores, especialmente geográficos e sócio-

econômicos, os quais geralmente envolvem diferentes costumes e qualidade de vida (Di Paola & Procaccini,1991).

Mosher & Pratt (1991) referem, a partir do informativo sobre problemas reprodutivos em mulheres casadas denominado *National Survey of Family Growth*, realizado em 1988 e baseado em entrevistas pessoais com mulheres de 15 a 44 anos com casamentos estáveis e que não haviam usado nenhum método contraceptivo durante os doze meses anteriores à pesquisa, que, nos Estados Unidos, 8,4% tinham fecundidade diminuída. Na pesquisa publicada em 1982, a proporção de mulheres casadas com fecundidade afetada se estendia por um intervalo de 9% para as menores de 20 anos a 20% para as de 44 anos de idade, em 1976. Os casais negros tinham 23% de infertilidade em relação aos brancos, que tinham 15% (Mosher & Pratt,1982).

Em outros lugares, como ocorre particularmente nos países da África Equatorial, os índices de infertilidade involuntária medidos por nuliparidade ao final da idade reprodutiva (50 anos ou mais) podem ultrapassar os 30%, sendo a região do mundo onde a esterilidade é mais freqüente (Vaessen,1984). A *Pesquisa Mundial de Fecundidade* mostra que, no Gabão, 32% das mulheres chegam aos 50 anos sem filhos, no Zaire o percentual é de 18%, na República Centro Africana é de 14% e no Sudão, de 10% (Population Information Program,1984).

Essas diferenças geográficas podem estar relacionadas à freqüência de infecções sexualmente transmissíveis, especialmente das doenças inflamatórias pélvicas provocadas por gonococo, clamídia (Eggert-Kruse et al.,1996; Paavonen,1996; Westrom,1996) e micoplasma. Também podem influir as infecções sépticas pós-parto e pós-aborto devidas a condições de atendimento não satisfatórias. As doenças sexualmente transmissíveis afetam igualmente a fertilidade do homem (Di Paola & Procaccini,1991; Purvis & Christiansen,1996).

Os fatores femininos podem ser responsáveis por 40% a 70% de todos os casos de infertilidade e os masculinos por 30% a 50% deles (Sorensen,1980; Kruger & Franken,1994; Edwards & Brody,1995; Speroff, Glass & Kase,1995; Kretser & Baker,1996). Estudos clínicos de casais estéreis na Dinamarca, Israel, Estados Unidos e Singapura sugerem que os transtornos da ovulação são responsáveis por 20% a 30% da infertilidade feminina, os problemas tubários por cerca de 15% a 25% e a endometriose (Prentice & Ingamells,1996) por 10% a 15% (Population Information Program,1984; Edwards & Brody,1995; Guzik,1996). Todos os centros reconhecem que em 5% a 20% dos casos não se pode identificar nenhuma causa clínica para a infertilidade após uma investigação completa (Moghissi & Wallach, 1983; Crosignani et al.,1993). Essas cifras são baseadas em séries de casos e, conseqüentemente, podem não ser representativas das causas de infertilidade na população em geral. Muitos casos de infertilidade são, freqüentemente, devidos a uma combinação de fatores. Além disso, a contribuição relativa desses fatores aparenta ser diferente entre distintos grupos populacionais. Por exemplo, as anormalidades tubárias são a principal causa de infertilidade nos países em desenvolvimento (Paavonen,1996), enquanto os distúrbios ovulatórios, a endometriose e os fatores masculinos são as causas mais comuns de infertilidade nos países desenvolvidos (Sorensen,1980; Population Information Program,1984). O quadro 1 apresenta a incidência dos diversos fatores em diferentes centros especializados do mundo.

O estudo realizado por Ferrari (1987) em 149 casais inférteis mostra a incidência das causas de infertilidade em nível local, ou seja: fator cervical 8,7%; fator uterino 8%; fator tubário 24,8%; fator ovariano 14%; fator peritoneal 14%; fator hipofisário 2,6% e fator masculino 27,5%.

QUADRO 1- Incidência dos fatores etiológicos da infertilidade em diversos centros mundiais (1977 a 1985)

Autor / País	N ° casos	Fator mascul (%)	Fator tubário (%)	Fator ovariano endócrino (%)	Fator cervical (%)	Fator uterino (%)	Endometriose (%)	Outras causas (%)	Causas desconh. ESCA (%)
Garcia Martinez,A México,1977	500	12	23	23	20	10	0	10	2
Nakamura. MS Brasil,1971	919	28	35	10	5	13	0	4	2
Dor, J Israel,1977	665	23	16	33	1	4	0	1	18
Sorensen. SS Dinamarca,1980	196	10	27	22	0	9	0	0	18
Katayama. KP EUA,1979	459	18	12	24	5	2	25	NR	15
Barten, J Indonésia,1978	863	30	42	12	3	4	0	4	6
Thomas, AK Austrália,1980	291	6	5	50	0	0	2	NR	23
Jones, GS EUA,1962	555	15	21	22	4	2	12	3	16
DiPaola, GR Argentina,1985	695	43	35	18	24	3	NR	3	11

NR: não registrado

Fonte: Di Paola & Procaccini, 1991

ESCA: esterilidade sem causa aparente

1.2 - FATOR CERVICAL E INFERTILIDADE CONJUGAL

Como referido anteriormente, o fator cervical, termo que define os diversos distúrbios da interação muco cervical-esperma, é responsável por 5% a 10% dos casos de infertilidade conjugal (Blasco,1977; Insler,1977; Moghissi 1983,1993; Speroff, Glass & Kase,1989; Dajavan,1991; Ferrari,1991; Baruffi et al.,1992; Edwards & Brody,1995; Sims & Gibbons,1996).

1.2.1 - Secreção Cervical

A cérvix uterina humana é uma estrutura cilíndrica de paredes espessas que se afunila em direção ao orifício interno. A mucosa endocervical é um intrincado sistema de criptas que, agrupadas, dão a falsa impressão de glândulas. Essas criptas, que consistem em bolsas de epitélio colunar da mucosa cervical, podem estar orientadas oblíqua, transversa ou longitudinalmente e nunca se cruzam. A estrutura das criptas cervicais varia de acordo com a idade, fase do ciclo menstrual ou presença de patologia cervical (WHO,1992; Moghissi,1993).

O epitélio cervical compreende diferentes tipos de células secretoras que variam em natureza e abundância de grânulos secretores nas diferentes partes da cérvix. As secreções dessas células contribuem para a formação do muco cervical. Pequenas quantidades de líquido endometrial, tubário e, possivelmente, folicular podem também contribuir para a composição final de muco cervical. Além disso, detritos celulares

procedentes dos epitélios cervical e uterino, bem como leucócitos, estão presentes (WHO,1992; Moghissi,1993).

A taxa de secreção de muco cervical varia em função da resposta das células secretoras da cérvix uterina aos hormônios ovarianos circulantes. A cérvix reage aos estímulos hormonais durante o ciclo ovariano de uma forma bem definida. O canal cervical se dilata na metade do ciclo e produz quantidades abundantes de muco aquoso sob influência dos estrógenos pré-ovulatórios em ascensão. Essas alterações envolvem no prazo de 1 a 3 dias sob a influência da produção crescente de progesterona que ocorre após a ovulação. A progesterona inibe a atividade secretora das células epiteliais cervicais (Sims & Gibbons,1996). Na fase luteínica, portanto, às vezes é difícil aspirar o muco com o auxílio de uma seringa de tuberculina, como habitualmente é feito na fase periovulatória (Schumacher,1986).

A quantidade de muco cervical secretada exibe variações cíclicas. Em mulheres normais, no período reprodutivo, a produção diária de muco varia desde 600mg durante a metade do ciclo até menos de 60mg em outros períodos do ciclo menstrual (Gorodeski,1996).

À cérvix e à sua secreção podem ser atribuídas as seguintes funções (Kesserü,1989, Ferrari,1991; WHO,1992; Sims & Gibbons,1996):

a) receptividade à penetração espermática no período periovulatório e interferência na penetração em outras fases do ciclo;

b) proteção aos espermatozoides do ambiente vaginal hostil e contra a fagocitose;

- c) suplementação das necessidades energéticas dos espermatozóides;
- d) efeito de filtro, evitando a penetração de formas anômalas e bactérias;
- e) reservatório espermático desenvolvido através das criptas cervicais;
- f) provável sítio de início da capacitação espermática.

1.2.1.1 - Estrutura do Muco Cervical

O muco cervical é um hidrogel cuja fração fluida é definida por alguns autores como plasma cervical. A fase de gel também se denomina componente de alta viscosidade, enquanto a aquosa é conhecida como componente de baixa viscosidade. De acordo com estudos físico-químicos realizados por ressonância magnética nuclear, a rede de micelas associadas entre si no muco periovulatório deixa espaço suficiente (3-5 μ m) para a mobilidade dos espermatozóides, enquanto a rede de micelas sob a influência dos progestágenos possui uma estrutura tão densa que impede os espermatozóides de atravessar o gel (Odeblad,1968). Assim, existem dois tipos de muco, o tipo estrogênico (tipo E) e o tipo gestagênico (tipo G) que estão sempre misturados e que predominam em proporções variadas nas fases correspondentes. No muco pré-ovulatório do tipo E há cerca de 3% de fração de muco denso do tipo G, ao passo que na fase luteínica estão presentes cerca de 10% do tipo E (Höglund & Odeblad,1977). Portanto, no muco tipo E, o espermatozóide penetra facilmente e, no tipo G, devido ao entrelaçamento das fibrilas e redução das cavidades, a espermomigração é diminuída ou anulada (figura 1).

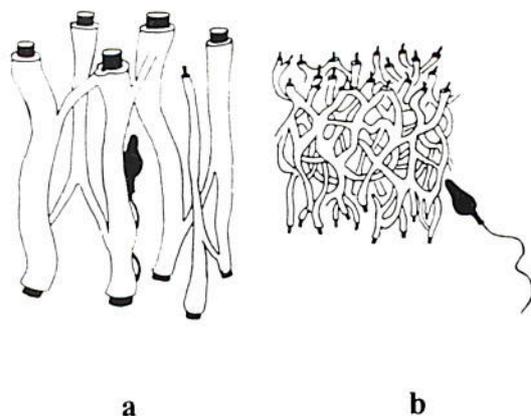


Fig 1- Modelo da estrutura reticular do muco cervical sob influência estrogênica (a) e progestogênica (b). (apud Schumacher 1986).

1.2.1.2 - Composição do Muco Cervical

O muco cervical se compõe de um polímero insolúvel de glicoproteínas, a mucina, que forma uma matriz na qual se dispersa a fase aquosa solúvel (De Fazio & Ketchel,1971; Masson,1973; Schumacher,1973). Tanto a mucina quanto a fase aquosa são consideradas de suma importância para a integridade estrutural e funcional do muco cervical (De Fazio & Ketchel,1971; Blasco, Sokoloski & Wolf,1979; Poon & Mc Coshen,1985).

- ***Bioquímica da mucina***

A mucina consiste de uma cadeia peptídica de moléculas entrelaçadas com glicoproteínas de alto peso molecular. Essas moléculas possuem numerosas cadeias laterais de oligossacarídeos, especialmente o ácido siálico (Snyder & Zaneveld,1985; Kesserü,1989). O conteúdo de ácido siálico na mucina é máximo durante a fase

ovulatória do ciclo ou por ocasião de tratamento com estrógenos (Kesserü & Westphal,1975; Chantler & Debruyne,1977; Gaton et al.,1982). O papel do ácido siálico é capital na receptividade do muco aos espermatozóides (Kesseru,1989). Na fase luteínica, o conteúdo de ácido neuramínico, responsável pela rigidez das fibrilas de mucina, encontra-se elevado (Bushana Rao & Masson,1977).

- ***Bioquímica da fase aquosa***

Água: O equilíbrio hídrico do muco cervical oscila consideravelmente. De qualquer forma, se admitem como cifras corretas os valores de 95-98% de conteúdo hídrico para o muco periovulatório e cerca de 85-92% para as fases proliferativa inicial e luteínica (Schumacher,1986). Bergman demonstrou, em 1953, que os espermatozóides não penetram no muco se o conteúdo de água for inferior a 94,5%.

Eletrólitos: O cloreto de sódio representa a maior parte dos eletrólitos presentes no muco e é responsável, junto com os íons de potássio, pelo fenômeno de cristalização (Rubinstein,1951; MacDonald,1963). O nível da concentração fisiológica de cloreto de sódio parece se alterar proporcionalmente durante o ciclo menstrual em relação às frações orgânicas, como a mucina e as proteínas solúveis, as quais diminuem na metade do ciclo, e a proporção recíproca dessas frações na substância seca se modifica de forma intensa nesse período em favor do sal (Gorodeski,1996). Dos oligoelementos, o cálcio, o magnésio e o zinco mostram valores crescentes em relação à substância seca, enquanto o potássio, o cobre e o ferro descendem na metade do ciclo. Gould & Ansari (1983) demonstraram marcado aumento da concentração relativa de sódio e cloro no muco cervical durante o período periovulatório. O pH pode ser influenciado pelos eletrólitos e,

e, como os espermatozóides são sensíveis ao ácido, são importantes as cifras de pH (Schumacher,1986).

Hidratos de carbono de baixo peso molecular: No muco cervical são encontradas glicose e maltose. Normalmente ocorre um aumento de glicose no muco durante o período ovulatório (Kellerman & Weid,1970; Linden et al.,1992; Gorodeski,1996).

Lípidios: o muco cervical contém fosfolípidios, colesterol, ésteres de colesterina, glicerídios e ácidos graxos (Gorodeski,1996) cujas concentrações estão diminuídas no período ovulatório (Schumacher,1986).

Glicogênio, aminoácidos, AMP cíclico e hormônios esteróides: o conteúdo de glicogênio do muco é relativamente baixo e não sofre oscilações cíclicas evidentes. Diversos aminoácidos são encontrados no muco, e sua presença diminui na metade do ciclo. Ao contrário de outros componentes do muco cervical, o conteúdo de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) mostra um aumento significativo na fase periovulatória. Não está estabelecido se esse fato tem influência na motilidade espermática. O conteúdo de 17β estradiol no muco cervical é bastante similar à concentração sérica desse esteróide. Isso parece não se aplicar à progesterona, mas não se dispõe de investigações suficientes em relação a esse fato (Schumacher,1986).

Proteínas solúveis: as proteínas solúveis representam cerca de 30% dos componentes não dialisáveis do muco cervical. Tem-se identificado um grande número de proteínas, enzimas e inibidores enzimáticos, sendo que a maior parte deles provém do

soro e outros são produzidas no local (Gorodeski,1996). Entre as proteínas séricas incluem-se a albumina, a ceruloplasmina, a α 1 antitripsina, a antitrombina III, o componente C3 do sistema de complemento, a proteína C reativa e as imunoglobulinas IgG , IgM e IgA, entre outras. Uma parte da IgA é encontrada como IgA secretora (Schumacher,1973; McGrath, Strasburger & Cushing.,1994). Entre as proteínas locais encontram-se a lactoferrina, a lisozima e o ativador do plasminogênio. Não está claro em que grau as proteínas solúveis contribuem para o processo normal de migração e sobrevivência dos espermatozoides, ou para a preparação do processo de fecundação ou, ainda, se inibem esses processos como ocorre, por exemplo, com os anticorpos anti-espermatozoide. Não há dúvida de que os anticorpos e imunofatores específicos, como a lisozima e a lactoferrina, contribuem para as funções de defesa imunológica (Schumacher,1986).

1.2.1.3 - Propriedades do Muco Cervical

O muco cervical exibe uma série de propriedades físico-químicas e bioquímicas que se modificam de uma maneira típica sob a influência dos estrógenos e da progesterona.

Na metade do ciclo o muco cervical é claro como cristal e, no restante do ciclo, apresenta graus variados de turbidez devido, em parte, ao conteúdo leucocitário.

O muco cervical é viscoso-elástico, aderente, tem elasticidade de fluxo e plasticidade.

- *Filância*

Filância é o termo empregado para descrever a característica de elasticidade do muco cervical. O muco cervical tem a característica de alongar-se quando é estendido, de forma similar à goma de mascar (Kesserü,1989).

Quando colocado entre duas lâminas de vidro que posteriormente são separadas verticalmente, o muco cervical forma um filamento que se rompe a uma determinada distância. Esse método de avaliação é extremamente sensível e tem a vantagem de ser expresso em cifras absolutas como, no caso, em centímetros.

A filância se baseia na combinação da capacidade de adesão do material ao cristal com a capacidade de deslizamento interno dos filamentos de mucina entrelaçados entre si e rodeados de líquido. A fração da fase aquosa do gel é alta por influência dos estrógenos (Schumacher,1986). Em termos bioquímicos, as variações da filância se relacionam com a proporção dos eletrólitos, com o conteúdo de mucina e também com a proporção de oligossacarídeos e mucoproteínas (Odeblad,1973; Kesserü,1989).

A filância está sujeita aos efeitos dos esteróides sexuais. Os estrógenos a aumentam e os progestágenos a deprimem, portanto, nas fases proliferativa inicial e luteínica, a filância deixa de existir. Tal propriedade está muito acentuada na fase pré-ovulatória quando o fio de muco atinge de 5 a 15 cm. O bloqueio exercido pelos progestágenos é altamente efetivo, uma vez que a administração de microdoses de progestágenos, insuficientes para alterar a ovulação, diminui a filância (Kesserü et al.,1972; Kesserü et al.,1974; Graham & Fraser,1982). O efeito ocorre também muito

rapidamente, observando-se uma redução significativa da filância duas horas após a ingestão oral de um progestágeno (Kesserü et al.,1974).

Além da regulação hormonal, a filância se deteriora na presença de qualquer alteração patológica do muco cervical, como infecções (Toth, O'Leary & Ledger,1982; Tredway et al.,1985) e sangramentos, inclusive microscópicos (Kesserü,1989).

- *Cristalização*

O muco cervical possui a característica de formar microcristais similares a folhas de samambaia, ao secar, nos dias próximos à ovulação. Essa cristalização não é exclusiva do muco cervical, ocorrendo também, de forma similar, nas secreções nasal e brônquica, bem como em qualquer fluido que tenha uma quantidade determinada de mucina e eletrólitos. Entretanto apenas no muco cervical o fenômeno da cristalização possui importância clínica, pois a cristalização em folha de samambaia apresenta uma variação definida durante o ciclo menstrual (Schumacher,1986; Kesserü,1989) e é também um excelente indicador da penetrabilidade no muco cervical (Edvinsson et al.,1983). Se uma amostra de muco possui um grau de cristalização suficientemente elevado, pode-se afirmar que esse muco é clinicamente normal em relação à possibilidade de penetração e migração dos espermatozóides. A cristalização, portanto, é um dos mais importantes parâmetros para a avaliação do muco cervical.

Assim como a filância, a cristalização também é regulada pelos esteróides sexuais. Durante a fase proliferativa inicial, o fenômeno é observado em proporções

reduzidas ou nulas e, 2 a 3 dias após a ovulação, desaparece por influência da progesterona.

- ***Coloração ao superaquecimento***

O muco cervical deposto em lâmina e previamente seco, ao ser aquecido em uma chama de lamparina de álcool durante 1 minuto com movimentos de vai-e-vem, apresenta diferentes colorações associadas a distintas fases do ciclo menstrual. Assim, nos primeiros dias do ciclo, o muco apresenta-se com uma coloração marrom-escuro, tornando-se, a seguir, marrom-claro e, durante apenas um dia, a cor é completamente clara, correspondendo a última, ao dia da ovulação. O muco volta a escurecer no dia seguinte, tornando-se marrom-escuro na fase pós-ovulatória e pré-menstrual (Ferrari, 1978).

A correspondência microscópica deste processo com a cristalização convencional demonstra que a cor marrom-escuro corresponde à ausência de cristalização; a cor marrom-claro corresponde à cristalização atípica e a cor máxima clara, à cristalização típica com ramificações dendríticas terciárias e quaternárias.

- ***Conteúdo leucocitário***

Em condições normais na fase pré-ovulatória, quando a filância e a cristalização estão mais pronunciadas pela ação estrogênica, não se deveria observar mais do que cinco leucócitos por campo microscópico em grande aumento ($A= 400$). Durante as fases proliferativa inicial e lútea, o número de leucócitos é bem maior. Como o muco

cervical não é homogêneo, habitualmente há uma distribuição irregular de células nos diversos campos microscópicos examinados (Schumacher,1986).

Nos processos inflamatórios da cérvix, os leucócitos aparecem em grande número também durante a fase pré-ovulatória. As inflamações também podem ter influência sobre a filância, cristalização e transparência do muco cervical (Schumacher,1986).

1.2.2 - Sêmen e Interação Mucoespermática

O sêmen é composto de espermatozóides suspensos em secreções provenientes dos testículos e do epidídimo as quais, no momento da ejaculação, são misturadas com secreções da próstata, das vesículas seminais e das glândulas bulbo-uretrais. A composição final é um líquido viscoso que constitui o ejaculado. Os critérios de normalidade do sêmen mais comumente empregados (WHO,1992; Overstreet, Davis & Katz,1992) são mostrados no quadro 2.

QUADRO 2 - Critérios de normalidade do sêmen

Volume	2,0 ml ou mais
pH	7,2-8,0
Concentração espermática	20 milhões espermatozóides/ml ou mais
Motilidade	50% ou mais de formas progressivas (categorias "a" e "b")* ou 25% com progressão linear rápida (categoria "a") 60 min após a ejaculação
Morfologia	30% ou mais com formas normais
Vitalidade	75% ou mais vivos
Leucócitos	menos de 1 milhão/ml

* "a": motilidade progressiva linear rápida

WHO,1992

" b": motilidade linear lenta ou não linear

Habitualmente, durante o coito, 50 a 500 milhões de espermatozóides são depositados na cérvix e no fôrnice vaginal posterior. O sêmen coagula imediatamente após a ejaculação e aprisiona a maioria dos espermatozóides até que as enzimas proteolíticas encontradas no plasma seminal promovam sua liquefação. A primeira porção do ejaculado contém a mais alta concentração de espermatozóides, os quais, sob condições favoráveis, prontamente penetram no muco cervical. A mistura do ejaculado com o muco cervical, causada pelos movimentos penianos e pelo deslocamento da coluna de muco, pode ajudar no processo de penetração espermática. Como os espermatozóides são rapidamente destruídos pela acidez vaginal, seu aprisionamento no coágulo até que ocorra a liquefação pode ser considerado como uma medida de proteção para prevenir sua morte (Moghissi,1993).

Estudos *in vitro* têm demonstrado que amostras de sêmen não liquefeito são destruídas quando tratadas com uma solução ácida. Assim, é possível que a acidez vaginal aumente a liquefação do coágulo seminal. Além disso, a liquefação completa do

coágulo seminal *in vivo* parece ocorrer um pouco mais rapidamente após a ejaculação do que *in vitro* (Moghissi,1993).

O conteúdo vaginal é habitualmente ácido, com pH entre 3,0 e 5,0 (Moghissi,1993). A secreção cervical, que tem pH entre 4,0 e 7,5 na fase periovulatória (Moghissi,1977; Kroeks & Kremer,1977), ao cobrir a parte superior da vagina aumenta a alcalinidade do meio vaginal, fornecendo ambiente favorável ao espermatozóide e aparentemente promovendo sua motilidade e longevidade.

O plasma seminal, que é um fluido alcalino, também possui um efeito tamponante sobre o ambiente vaginal, alterando o pH e facilitando, assim, a transição do espermatozóide para o muco cervical (Moghissi,1993).

A migração espermática através da cérvix envolve três fatores distintos, porém inter-relacionados (Moghissi,1993):

a) a capacidade de o espermatozóide penetrar no muco pela sua motilidade intrínseca;

b) a estrutura fibrilar da mucina cervical habilitando o muco para participar ativamente no processo do transporte espermático;

c) a configuração morfológica das criptas cervicais que contribui para o armazenamento e preservação do espermatozóide no canal cervical e para sua manutenção e liberação progressiva para o trato reprodutivo superior.

O espermatozóide humano é dotado de motilidade intrínseca, propriedade essencial para a penetração no muco cervical e subsequente fertilização. Não existe

evidência de que espermatozóides imóveis ou mortos sejam capazes de ultrapassar a cérvix humana ou efetivar a fertilização. Pelo fato de os espermatozóides possuírem uma reserva endógena de glicogênio desprezível, eles dependem de carboidratos extracelulares para suprir suas necessidades energéticas durante sua passagem pelo trato reprodutor feminino. Não se sabe em que grau a sobrevivência e a motilidade espermática no muco cervical são influenciadas pela quantidade de carboidratos disponíveis ou por outros nutrientes presentes na secreção cervical. Estudos *in vitro* sugerem que a viabilidade do espermatozóide está relacionada ao nível de glicose do muco cervical (Moghissi,1993). Além disso, foi encontrada uma diminuição na concentração de glicose do muco cervical em muitas pacientes inférteis. Kellerman e Weed (1970) acreditam que a hostilidade cervical inexplicada pode refletir uma deficiência do conteúdo de glicose no muco cervical.

O muco cervical protege o espermatozóide do ambiente vaginal hostil e contra a fagocitose. O muco também fornece suplementação energética ao espermatozóide, age como filtro para reter as formas anômalas (Katz et al.,1990) e fornece o meio adequado para a capacitação espermática (Clement,1991). A função da cérvix como reservatório espermático tem muita importância na fertilidade, pois apenas raramente o coito ocorre no momento da ovulação. Na maioria das vezes o encontro dos gametas depende de um suprimento constante de espermatozóides ao sítio de fertilização por algumas horas antes ou após a ovulação (Moghissi,1993).

As propriedades físicas e certos constituintes químicos do muco cervical mostram variações cíclicas. Tais alterações podem influenciar a penetrabilidade, a nutrição e a sobrevivência dos espermatozóides (Moghissi,1977). Aumento da quantidade,

da filância, da cristalização e do pH e diminuição da viscosidade e do conteúdo celular são alterações que conferem ao muco condições ótimas de receptividade à penetração espermática imediatamente antes da ovulação e são revertidas após a ovulação. Assim, o muco pré-ovulatório é o mais receptivo à penetração espermática (Moghissi et al.,1964; Moghissi, Syner & Evans,1972).

A penetrabilidade dos espermatozóides no muco cervical humano inicia aproximadamente no nono dia de um ciclo normal e aumenta gradualmente até culminar durante a ovulação. A penetração espermática costuma ser inibida 1 a 2 dias após a ovulação, mas pode persistir em menor grau por um período mais longo (Moghissi,1966). Em algumas mulheres a penetração espermática ocorre apenas durante um período muito limitado do ciclo menstrual. São comuns as variações individuais (WHO,1992).

Existem duas fases de migração espermática através da cérvix: a) a fase rápida, na qual o espermatozóide mais veloz (dianteiro) penetra pela porção central do canal cervical e avança em linha paralela às fibrilas de mucina originárias das imediações do orifício cervical interno; b) a fase lenta, durante a qual os espermatozóides penetram periféricamente no muco cervical e são orientados pelas fibrilas de mucina originárias das criptas, colonizando as mesmas. Este último processo é o responsável pelo armazenamento dos espermatozóides nas criptas cervicais e por sua liberação gradual durante várias horas após o coito para o útero e as trompas (Moghissi,1993; Kunz et al.,1996).

Em circunstâncias normais de concepção, a cérvice uterina é a principal barreira à passagem do espermatozóide ao sítio de fertilização, ou seja, a trompa de Falopio. O produto da secreção das células endocervicais, o muco cervical, é um sistema complexo regulador do trânsito espermático por ação multifatorial. A interação mucoespermática pode ser influenciada por fatores hormonais (Moghissi,1976; Gaton et al.,1982), microbianos (Eggert-Kruse et al.,1992), imunológicos (Alexander & Anderson,1987; Eggert-Kruse et al.,1991; Collins et al.,1993; Haas,1994; Marshburn & Kutteh,1994), físico-químicos (Blasco,1977, Gould & Ansari,1983), anatômicos (Blasco,1977; Moghissi,1984), por variáveis psicosexuais (Moghissi,1976; Harrison,1981), bem como pelo baixo pH do muco cervical (Kroeks & Kremer,1977; Zavos & Cohen,1980; Peek & Matthews,1986; Jenkins et al.,1989; Eggert-Kruse et al.,1993; Ferrari & Mattos,1996).

1.2.3 - Investigação do Fator Cervical

Os espermatozoides estão permanentemente suspensos em um meio líquido. A interação entre o esperma e as secreções do trato reprodutivo feminino tem importância crucial para a sobrevivência e a função do espermatozóide. Ainda não existe um método prático para avaliar os efeitos dos líquidos uterinos e tubários sobre os espermatozoides, ao passo que o muco cervical é muito acessível para isto. Portanto o estudo da interação mucoespermática e dos fatores que a influenciam é essencial na investigação da infertilidade conjugal.

Conforme já referido, a tradicional investigação do fator cervical é realizada pelo TPC (WHO,1989), criado em 1886 por Sims e posteriormente popularizado por Huhner (1913), tornando-se o teste de Sims-Huhner o método de escolha para a avaliação da interação mucoespermática *in vivo* (American Fertility Society,1986; Speroff, Glass & Kase,1989; Dajavan,1991; Glass,1991; WHO,1992) a qual pode ser também avaliada pelos testes de penetração espermática *in vitro* (WHO,1992; Moghissi,1993).

A avaliação do fator cervical inicia pelo estudo do muco cervical, pois, como já mencionado anteriormente, a condição do muco cervical tem grande influência na receptividade espermática, devendo ser cuidadosamente avaliada antes da realização do teste pós-coital. O muco pré-ovulatório receptivo à penetração espermática é profuso, claro, fino, sem células e alcalino. Exibe cristalização em folha de samambaia e alta filância.

Várias técnicas para a coleta de muco cervical têm sido descritas. Os métodos mais utilizados consistem da aspiração com seringa de tuberculina sem agulha, pipeta, tubo de polietileno ou pinça especial. O muco deve ser coletado no período pré-ovulatório e seu estudo inclui a determinação do volume, viscosidade, celularidade, pH, cristalização, filância e exame microbiológico em casos suspeitos. Existem vários sistemas de avaliação desses parâmetros que geram um determinado escore cervical. Os mais adotados são os idealizados por Insler e cols. (1972) e por Moghissi (1976). Também é utilizado o método do superaquecimento (Ferrari,1978).

1.2.3.1 - Teste Pós-Coital

O teste pós-coital deve ser realizado o mais próximo possível da ovulação, a qual é determinada pelos métodos clínicos usuais, como temperatura basal, alterações do muco cervical e ultra-sonografia. O casal é instruído para observar um período de abstinência sexual nos 2 dias que antecedem o exame (WHO,1992; Matilsky et al.,1993, Boyers,1995), o qual é realizado em torno de 9 a 24 horas após o coito (WHO,1992).

Um espécuro não lubrificado é inserido na vagina, e o muco endocervical é aspirado com uma seringa de tuberculina sem agulha, pipeta ou tubo de polietileno. O material coletado é depositado sobre uma lâmina de vidro, coberto com lamínula e observado ao microscópio óptico com aumento de 400 vezes.

A interpretação do teste requer um entendimento da função cervical e transporte espermático. Os espermatozóides alcançam o orifício cervical interno rapidamente após a ejaculação, onde seu número, de acordo com Tredway e cols. (1975), aumenta gradualmente, alcançando um pico entre 2 a 3 horas após. O número de espermatozóides permanece, então, relativamente constante por até 24 horas.

Um ponto importante é o número de espermatozóides que deve ser encontrado no TPC para que o mesmo seja considerado satisfatório. O tema é controverso e, até hoje, carece de padronização na interpretação de seus resultados (Doody & Good, 1993; Agostini, Tawfik & Campana,1996). Segundo a OMS (1989), 9 a 24 horas após o coito, devem ser encontrados mais de dez espermatozóides dotados de motilidade

adequada (categorias “a” ou “b”; sendo “a” motilidade progressiva linear rápida e “b” motilidade linear lenta ou não linear) por campo (A=400x).

A presença de menos de dez espermatozóides por campo, particularmente quando associada com movimentos pendulares ou circulares da categoria “b”, é indicativa de penetração espermática diminuída ou anormalidade no muco (WHO,1992).

Kremer (1981), contudo, observou que a taxa de gravidez não é influenciada pelo número e grau de motilidade do espermatozóide, pois, na presença de qualquer número de espermatozóides progressivos, as taxas de gestação se equivaleram. Da mesma forma, em um estudo retrospectivo realizado por Ferrari e cols.(1987) em 76 pacientes inférteis que engravidaram, analisando os resultados do TPC efetuado durante a investigação, foi constatada equivalência de gestações entre todas as pacientes que apresentavam, no mínimo, um espermatozóide direcional, havendo declínio de gestações quando não eram encontrados espermatozóides direcionais no TPC. Fica claro, também em outros estudos (Hull, Savage & Bromham,1982; Collins et al.,1984), que o fator mais importante no resultado do teste é a presença ou a ausência de algum espermatozóide móvel progressivo. Portanto uma classificação altamente específica do TPC parece ser irrelevante para predizer a probabilidade de gravidez.

De qualquer forma, a informação fundamental em relação ao TPC é que a presença de espermatozóides direcionais no muco cervical pré-ovulatório descarta o fator cervical como possível causa da infertilidade (WHO,1989; Kremer & Jager,1992; Boyers,1995).

O quadro 3 mostra as possibilidades etiológicas da má interação mucoespermática (TPC anormal).

QUADRO 3 - Classificação etiológica da má interação mucoespermática

<p>Fatores Femininos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Época desfavorável para o exame 2. Distúrbios ovulatórios 3. Problemas de deposição: <ul style="list-style-type: none"> dispareunia prolapso anomalias congênitas 4. Causas anatômicas e orgânicas: <ul style="list-style-type: none"> amputação ou conização do colo eletro ou criocauterização profunda do colo tumores: pólipos ou leiomiomas estenose severa endocervicite 5. Muco cervical hostil: <ul style="list-style-type: none"> viscosidade aumentada celularidade aumentada (infecção) muco ácido presença de anticorpos antiespermatozóide <p>Fatores Masculinos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Problemas de deposição: <ul style="list-style-type: none"> impotência ejaculação retrógrada hipospádias 2. Anormalidades do sêmen: <ul style="list-style-type: none"> baixa concentração baixa motilidade alta porcentagem de formas anômalas volume anormal : < 1ml ou > 8ml dificuldade de liquefação 3. Anticorpos antiespermatozóide no sêmen e/ou plasma seminal

Moghissi, 1993

A causa mais comum de TPC anormal é sua realização em época desfavorável quando o muco não apresenta condições de penetração, como na fase proliferativa inicial ou na fase lútea (Moghissi, 1993; Boyers, 1995, Sims & Gibbons, 1996).

Distúrbios ovulatórios podem provocar alterações no muco cervical, dificultando, igualmente, a penetração espermática (Harrison,1981; Check et al.,1991; Taney et al.,1991; Sims & Gibbons,1996).

A amputação ou a conização do colo podem resultar em destruição das células secretoras da endocérvice e das criptas cervicais, ocasionando disfunção da produção de muco. Conseqüências similares podem suceder a eletro ou criocauterizações profundas da cérvice. A estenose cervical é geralmente secundária a procedimentos cirúrgicos prévios e interfere na drenagem da secreção cervical, ocasionando efeito deletério na sobrevivência do espermatozóide na vagina e na penetração espermática (Sims & Gibbons,1996). Na endocervicite, a migração espermática pode ser impedida devido à presença de numerosos leucócitos no muco (Wah, Anderson & Hill,1990; Moghissi,1993; Boyers,1995; Sims & Gibbons,1996).

A viscosidade do muco cervical é a maior barreira à penetração espermática e pode ser idiopática ou secundária a tratamentos com progestágenos ou citrato de clomifeno (Randall & Templeton,1991; Check, Davies & Adelson,1992; Asaad et al,1993; Thompson et al.,1993; Derman & Adashi,1994; Murillo et al.,1995; Gorodeski,1996) sendo igualmente observada na fase lútea e durante a gestação. O espermatozóide é susceptível a alterações no pH do muco cervical. O muco ácido imobiliza o espermatozóide enquanto o muco alcalino favorece a sua motilidade (Moghissi,1993). O muco cervical contém imunoglobulina A (IgA), IgA secretora (McGrath, Strasburger & Cushing.,1994), IgG e, ocasionalmente, traços de IgM (Schumacher,1973; Gorodeski,1996). A presença de anticorpos antiespermatozóide aglutinantes ou imobilizantes no muco cervical tem sido relatada, e o teste pós-coital, na

maioria dessas pacientes, é negativo ou muito alterado (Moghissi, Sacco & Borin,1980; Check et al.,1994; Sims & Gibbons,1996). Foi observado que, na presença de anticorpos antiespermatozóide no muco cervical ou na superfície dos espermatozoides, estes perdem seus movimentos progressivos e mostram um tipo característico de movimento pendular local (Kremer, Jager & Kuiken,1977). A presença de anticorpos antiespermatozóide circulantes, mesmo quando não associada a anticorpos no muco, pode igualmente alterar o TPC (Moghissi,1993).

Em relação aos fatores masculinos, é importante salientar que um TPC satisfatório é resultante da deposição de sêmen de boa qualidade na vagina (Kretser & Baker,1996). Portanto quaisquer condições que impeçam a ejaculação ou a penetração do pênis na vagina estão associadas a teste negativo (Boyers,1995). Uma causa comum de resultado negativo é o sêmen anormal. A presença de anticorpos antiespermatozóide no soro e/ou sêmen também pode estar associada à anormalidade na penetração espermática (Moghissi,1993; Haas,1994).

1.2.3.2 - Estudos In Vitro:

Uma avaliação detalhada da interação mucoespermática pode ser elaborada através da realização dos testes de penetração *in vitro*. Existem três categorias deles: 1) teste do esfregaço ou *slide test*, 2) teste de contato esperma-muco cervical (SCMCT) e 3) teste do tubo capilar.

Teste do esfregaço ou slide test: originalmente proposto por Kurzrok e Miller (1928), consiste em justapor uma gota de muco e outra de sêmen em uma lâmina e

cobri-las com lamínula, sendo a preparação incubada em uma câmara úmida a 37°C por 30 minutos. A penetração espermática é então observada (WHO,1992).

Teste de contato esperma-muco cervical (SCMCT): seu objetivo é detectar a presença de anticorpos antiespermatozóide no espermatozóide e/ou no muco. O teste é realizado colocando-se uma gota de muco cervical pré-ovulatório e aproximadamente a mesma quantidade de sêmen em uma das extremidades de uma lâmina de microscópio, sendo as duas secreções misturadas. Outra gota de sêmen é colocada na outra extremidade da lâmina. A mistura de sêmen-muco e a gota de sêmen são cobertas com lamínula e o preparado é armazenado em uma placa de Petri em temperatura ambiente por 30 minutos. Nesse momento, a porcentagem de espermatozóides com movimentos pendulares vigorosos da cabeça (*shaking*) é determinada. O sêmen puro serve como controle da atividade espermática (Kremer & Jager,1976, WHO,1992).

Teste do tubo capilar (teste de Kremer): mede a capacidade de o espermatozóide penetrar na coluna de muco cervical em um tubo capilar, o qual é preenchido com muco pré-ovulatório e imerso em um pequeno reservatório de sêmen. A penetração espermática é aferida em intervalos variáveis após o contato inicial muco-sêmen (10 minutos, 30 minutos e 3 horas ou outros intervalos, dependendo do tipo de estudo). São avaliadas a penetração linear e a densidade de penetração (WHO,1992; Moghissi,1993).

1.3 - A IMPORTÂNCIA DO pH DO TRATO GENITAL FEMININO NA MIGRAÇÃO ESPERMÁTICA

O pH é um fator importante para a receptividade do muco cervical e, conseqüentemente, para a fertilidade, uma vez que os espermatozóides são suscetíveis a alterações do pH do muco cervical (Moghissi et al.,1964; Moghissi,1966; Ferrari,1991). Segundo Moghissi e cols.(1964), a motilidade espermática é reduzida quando o pH do muco está abaixo de 6,5. Kroeks & Kremer (1977) demonstraram que os espermatozóides não apresentam movimentos progressivos quando o pH do muco cervical é inferior a 6,3. Makler e cols. (1981) examinaram a motilidade espermática em soluções-tampão de variados pH e não encontraram espermatozóides móveis quando o pH estava abaixo de 5,5, embora tenha ocorrido reversão da imobilização após a neutralização do pH.

O conteúdo vaginal é habitualmente ácido, com pH entre 3,0 e 5,0 (Moghissi,1977). A secreção cervical, que tem pH entre 4,0 e 7,5 na fase periovulatória (Moghissi,1977; Kroeks & Kremer,1977), ao cobrir a parte superior da vagina aumenta a alcalinidade do meio vaginal, fornecendo ambiente favorável ao espermatozóide e aparentemente promovendo sua motilidade e longevidade. Diz-se, então, que o muco ácido imobiliza o espermatozóide, enquanto o muco alcalino favorece sua motilidade. A alcalinidade excessiva do muco (pH acima de 8,5) também pode ter efeito adverso sobre a viabilidade do espermatozóide (Moghissi,1993).

O pH ótimo para a migração e sobrevivência dos espermatozóides no muco cervical situa-se entre 7,0 e 8,5 (Moghissi et al.,1964; Moghissi,1966). Kroeks & Kremer (1977) verificaram que, em mulheres férteis, o pH médio do muco endocervical durante o período periovulatório varia entre 6,3 e 7,2; no muco ectocervical, entre 4,1 e 7,5; no

fundo de saco vaginal lateral, entre 2,9 e 5,8 e no intróito vaginal, entre 2,9 e 3,9. Se o pH do muco ectocervical não ultrapassa o valor crítico de 6,3, os espermatozóides não conseguem penetrar no muco, pois perdem sua motilidade rapidamente em tal ambiente ácido. Se o pH do muco endocervical não pode ser mantido em nível acima de 6,3 durante um período de, no mínimo, 24 horas, os espermatozóides armazenados nas criptas endocervicais não conseguem sobreviver o tempo suficiente para haver possibilidade de concepção. Esses dados foram demonstrados por Kroeks & Kremer (1977) que, ao estudarem a influência do pH do muco cervical sobre a motilidade espermática em uma mistura de muco cervical normal pré-ovulatório e sêmen de boa qualidade, não encontraram espermatozóides móveis progressivos quando os valores de pH estavam abaixo de 6,3. Em níveis de pH inferiores a 5,9 foram observados apenas espermatozóides imóveis. Quando o pH estava acima de 6,3 foram observados espermatozóides com motilidade boa a excelente.

Outros autores têm demonstrado que o muco cervical com baixo pH está associado com imobilidade do espermatozóide.

Zavos & Cohen (1980), em estudo realizado com o objetivo de determinar o pH do muco cervical durante o TPC e correlacionar variações no pH do muco com a motilidade espermática, encontraram forte correlação entre os valores de pH do muco ectocervical e a porcentagem de espermatozóides móveis. Com a diminuição do pH, baixou a porcentagem de espermatozóides móveis observados (coeficiente de correlação de 0,78). O ponto crítico do pH registrado pelos autores foi em torno de 6,0, quando as diferenças significativas de motilidade espermática ($p < 0,01$) ocorreram. Em metade das amostras de muco obtidas durante o teste pós-coital o pH era inferior a 6,0 e os espermatozóides, nessas amostras, estavam sempre imóveis. O valor médio de pH do muco nos 44 testes pós-coitais realizados foi 6,42. Segundo os autores, então, os valores de pH do muco iguais ou superiores a 6,1 asseguram viabilidade aos espermatozóides,

enquanto valores de pH abaixo de 6,0 tendem a diminuir sua viabilidade, resultando em testes pós-coitais negativos.

Ao estudarem a relação entre o pH do muco endocervical aspirado e o resultado do TPC em 120 pacientes, Peek & Matthews (1986) constataram ausência de espermatozóides móveis quando o pH estava abaixo de 6,0 (23/120 = 19%).

Jenkins e cols. (1989) investigaram a influência do pH na penetração espermática no muco cervical avaliada pelo teste de penetração *in vitro* (*slide-test*) em 33 casais. Identificaram 17 casos com teste de penetração *in vitro* insatisfatórios, sendo que 14 dessas pacientes tinham pH endocervical inferior a 6,0. Foi encontrada associação altamente significativa entre teste de penetração alterado e pH abaixo de 6,0 ($p < 0,001$).

Da mesma forma, Baruffi e cols. (1992), ao avaliarem a influência do pH do muco cervical no TPC em pacientes com muco de boa qualidade e espermograma normal, encontraram incidência de testes pós-coitais anormais significativamente maior nos casos de pH inferior a 7,0 em comparação com aqueles nos quais o pH foi igual ou superior a 7,0.

Eggert-Kruse e cols. (1993) verificaram relação significativa entre o pH do muco endocervical e os resultados do TPC. A mediana de pH nos casos de TPC negativo ou pobre foi 6,7, inferior àquela encontrada nos casos de testes satisfatórios, que foi 7,0 (teste de Wilcoxon, $p < 0,05$). Os valores de pH do muco endocervical encontrados no estudo variaram entre 5,4 a 8,2 (média 6,86).

Outros fatores, como o plasma seminal, que é um fluido alcalino, têm efeito de tamponamento do pH vaginal (Everhardt et al., 1986). Fox, Meldrum & Watson (1973) mediram o pH vaginal durante o coito de forma contínua por telemetria e observaram que o pH se altera 8 segundos após a ejaculação. Kroeks & Kremer (1977)

demonstraram a influência direta do coito no pH da secreção vaginal e do muco ecto e endocervical. Estudaram o efeito do coito no pH do trato genital inferior em três casais, medindo o pH no fluido vaginal e no muco ecto e endocervical 5 minutos antes e 1, 15, 30 e 50 minutos após o coito, observando elevação do pH em todos os tempos de medida. Esse estudo revelou potente capacidade tamponante do ejaculado sobre a secreção vaginal ácida, com aumento menos pronunciado no pH do muco endocervical. Por um período de, no mínimo, 50 minutos após o coito, o pH se manteve suficientemente alto para que houvesse migração espermática adequada.

Os mesmos autores demonstraram, também, a ocorrência de aumento no pH da secreção vaginal e do muco endocervical após irrigação vaginal com solução de bicarbonato de sódio (30g/l). Em ambos os sítios ocorreu uma elevação significativa no pH 30 minutos após a irrigação, a qual persistiu por, no mínimo, 60 minutos. A irrigação alcalinizante elevou o pH do muco endocervical em 0,5 a 1,3 unidades de medida, mantendo-o favorável à penetração espermática por, no mínimo, 16 horas. Ao compararem o aumento do pH ocasionado pela irrigação alcalinizante com o efeito do ejaculado, não constataram diferença, indicando a irrigação apenas nos casos em que a capacidade tamponante do ejaculado esteja diminuída (volume seminal inferior a 2,0ml). Kremer (1986), entretanto, preconiza a ducha vaginal alcalinizante pré-coital nos casos em que o pH do muco endocervical esteja abaixo de 6,3 e o TPC realizado no período periovulatório não revele espermatozóides móveis.

Jenkins e cols. (1989) realizaram um estudo no qual 20 casais com testes de penetração *in vitro* insatisfatórios, testes das microimunesferas para detectar anticorpos antiespermatozóides negativos e sêmen normal, todos apresentando pH no muco endocervical abaixo de 6,0, receberam irrigação vaginal com solução de bicarbonato de sódio 2h antes do coito. Antes do tratamento, o pH variou entre 4,0 a 5,5 (média 4,4). O pH foi reavaliado 2-3h após a realização da ducha de bicarbonato e situou-se entre 6,0

e 8,0 (média 7,0). Após a ducha ocorreu melhora da motilidade, e os testes de penetração espermática foram classificados como satisfatórios em todos os casos .

Ferrari, Lomando & Adamy (1978), realizando ducha vaginal pré-coital com solução de bicarbonato de sódio a 10% em 25 casais com TPCs negativos ou ausentes, ela apresentando muco ovulatório de boa qualidade e ele espermograma normal, obtiveram melhora dos testes em 80% dos casos.

Ansari, Gould & Ansari. (1980) prescreveram administração de ducha vaginal com solução de bicarbonato de sódio em 93 pacientes inférteis com TPCs negativos ou pobres e pH no muco cervical inferior a 7,0, observando notável melhora nos testes, com gestação em 31 pacientes.

Everhardt e cols. (1990) investigaram a influência da ducha vaginal com bicarbonato de sódio sobre a viscoelasticidade do muco cervical e penetração espermática *in vitro* e *in vivo* em 25 casais com ciclos ovulatórios regulares, sêmen normal e TPCs negativos, observando melhora da viscoelasticidade do muco cervical bem como dos testes pós-coitais e de penetração *in vitro*.

1.4 - MÉTODOS PARA A MEDIDA DO PH

Segundo orientação da Organização Mundial da Saúde para padronização dos testes de penetração mucoespermática, a medida do pH do muco cervical pode ser realizada com papel indicador de pH no muco *in situ* ou imediatamente após a sua coleta (*in vitro*) (WHO,1992). Pela simplicidade de aplicação e pelo baixo custo, os papéis indicadores de pH eram geralmente utilizados para a estimativa dos valores de pH, tanto com um aplicador *in situ*, como proposto por Breckenridge, Pederson & Pommerenke em 1950, como após a remoção de uma amostra de muco com uma seringa, conforme descrito por Dajavan & Kunitake em 1969. Entretanto as cores indicadoras geralmente sofrem os chamados erros protéicos e salinos, isto é, quantidades relativamente altas de eletrólitos, proteínas ou ambos geram maiores alterações de cor do que soluções diluídas sem proteínas ou colóides. Além disso, em substâncias semifluidas, com alta viscosidade e tensão superficial, há o efeito de diferentes taxas de difusão entre pequenas e grandes moléculas, o que resulta em um tipo de separação cromatográfica durante o contato da amostra do fluido com o papel reagente (Van Duyn,1974). Por essas razões, os métodos colorimétricos foram preteridos pelo eletrométrico em 1936 por Oberst & Plass, os quais aplicaram um microeletrodo para realizar a medida do pH do muco cervical. As medidas *in vivo*, contudo, só foram possíveis em 1940, com a introdução de um eletrodo de vidro por Trussel & Mac Dougal. Com esse aparelho, porém, só conseguiram alcançar o orifício cervical externo, sem possibilidade de penetrar no canal.

Em 1950, Breckenridge, Pederson & Pommerenke realizaram um estudo para comparar os valores de pH do muco cervical após aspiração medidos com papel indicador de pH (Hydrion ®) e eletrodo de vidro (Beckmann ®). O pH foi determinado pelo eletrodo em 319 amostras de muco aspirado. Em 351 amostras de muco aspirado, a determinação foi feita através do papel indicador. Em 190 das amostras usaram-se ambos os métodos, colorimétrico e eletrométrico. Os autores observaram que o pH das amostras alcalinas ou levemente ácidas aumentou lentamente no momento em que a determinação vinha sendo realizada. Houve correlação próxima entre os resultados de ambos os métodos, com pH levemente inferior na maioria dos casos medidos com o papel. Os autores analisaram também o pH do canal cervical inferior medido *in vivo* através de papel indicador inserido no canal cervical por um aplicador especial, em 68 ciclos. O pH assim determinado foi comparado com o medido com papel indicador nas amostras previamente aspiradas. A faixa de variação dos valores de pH no muco aspirado foi o dobro da do pH endocervical medido *in situ*.

Van Duyn, em 1974, reanalisou os dados de Breckenridge, Pederson & Pommerenke (1950), os quais haviam sido divulgados apenas sob forma de gráfico de dispersão e, ao analisar os resultados da comparação entre as medidas de pH com papel indicador e eletrodo, encontrou erro sistemático no método do papel indicador. Este último, ao ser reavaliado em bases quantitativas, mostrou que os erros absolutos do método do papel indicador estão na faixa entre - 1,5 a + 0,7 unidades de pH em relação ao valor registrado com o eletrodo.

Breckenridge, Pederson & Pommerenke (1950) também compararam os resultados da medida colorimétrica do pH *in vivo* com o pH de amostras coletadas *in*

vitro durante a mesma sessão. Os dados foram novamente divulgados sob forma de gráfico de dispersão sem análise estatística (nem correlação nem regressão foram apresentadas). Van Duyn (1974) reanalisou também esses dados e, embora tenha encontrado correlação significativa entre os valores de pH *in situ* e *in vitro* ($r = 0,48$; $p < 0,01$), considerou os desvios de - 1,8 a + 1,8 unidades de pH novamente intoleráveis.

Devido à importância de se afirmar se as medidas de pH do muco cervical removido de seu sítio natural eram realmente representativas dos valores *in situ*, conforme sugerido por Breckenridge, Pederson & Pommerenke (1950), Van Duyn (1974) realizou um estudo comparativo entre a medida do pH diretamente no canal endocervical com eletrodo de vidro e o método colorimétrico (Oxyfen ®) *in vitro*. Comparando os resultados de 42 amostras de muco, encontrou uma correlação significativa ($r = 0,787$; $p < 0,02$), mas também uma enorme dispersão de até 2,0 unidades de pH. Em sua opinião, embora o coeficiente de correlação possa parecer alto para as pessoas acostumadas a relações biológicas, ele não é considerado alto do ponto de vista de sistemas de medida. Ao realizar a comparação entre as medidas de pH *in vivo* e *in vitro* através de eletrodo, o autor encontrou variação de até 3,0 unidades de pH *in vitro* em relação à medida *in vivo*. Por não haver correlação entre os valores, concluiu que o papel indicador de pH é inadequado para obtenção de qualquer informação útil sobre a medida do pH do muco cervical no trato genital feminino. Além disso, ficou demonstrado que nem as medidas de pH realizadas por eletrodo *in vitro*, após a remoção do muco da cérvix, são representativas das condições *in vivo*. Ainda, como os desvios são aleatórios, é impossível concluir sobre a acidez ou alcalinidade *in vivo*.

Em 1977, Kroeks & Kremer desenvolveram um microeletrodo de vidro com 3mm de diâmetro e 21 cm de comprimento, adequado para medidas de pH em pequenas quantidades de fluidos. Segundo eles, com os eletrodos utilizados por Van Duyn (1974) e outros autores previamente citados, não seria possível realizar a medida do pH no canal endocervical e por isso realizaram a comparação entre as medidas de pH *in vivo* e *in vitro* no muco cervical. Ao compararem medidas *in vitro* e *in vivo* realizadas com microeletrodo, não encontraram correlação significativa entre os valores de pH. Ao compararem as medidas de pH pelos métodos colorimétrico e eletrométrico no muco ectocervical *in vitro* não houve qualquer correlação. Baseados nesses achados, os autores concluíram que o pH no muco cervical deve ser medido com eletrodo e *in vivo*.

Ragni e cols., em 1984, realizaram uma análise comparativa entre os métodos colorimétrico e eletrométrico medindo o pH no trato genital inferior (fundo de saco vaginal, orifício cervical externo e canal endocervical) em 53 mulheres no período ovulatório. O pH foi primeiramente medido com papel indicador (Merck ®) e, após, com eletrodo com diâmetro de 3 mm (Ingold ® 104053144) no canal endocervical a cerca de 1,5 cm do orifício cervical externo, antes de o muco ser aspirado. Os valores de pH obtidos com os dois métodos foram comparados pelo teste "t" de Student e não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os três diferentes sítios anatômicos por nenhum dos métodos, porém os valores encontrados através do eletrodo foram sempre levemente superiores aos medidos com o papel indicador.

Trabalho com o objetivo de esclarecer a relação entre o pH do muco cervical *in situ* e após a sua aspiração, bem como a relação entre os métodos colorimétrico e eletrométrico foi levado a efeito por Peek & Matthews em 1986. Para isso, realizaram

medidas de pH *in situ* e *in vitro* com papel Merck ® e microeletrodo (N60. Schott-Gerate, Germany). Analisando 40 amostras de muco, os autores encontraram forte correlação entre as medidas de pH no muco aspirado realizadas pelos dois métodos ($r = 0,95$; $n = 40$). Quando o pH do muco cervical medido com o papel *in situ* foi comparado com o pH do mesmo muco medido com o eletrodo após aspiração, a correlação foi razoável ($r = 0,83$; $n = 20$). Não houve correlação quando o eletrodo foi utilizado para a medida *in situ* e o papel para a medida no muco aspirado ($r = 0,04$; $n = 20$).

Eggert-Kruse e cols., em 1993, realizaram um estudo com o objetivo de determinar a significância clínica do pH do muco endocervical na interação mucospermática durante a investigação da infertilidade. Nesse estudo, o pH foi determinado através de papel indicador (Merck ®) imediatamente após o muco cervical ter sido aspirado da endocérvice de 216 mulheres e colocado em lâmina de vidro. Em 19 amostras, o pH do muco endocervical foi também avaliado *in situ*, através de eletrodo de vidro com diâmetro de 3 mm (tipo 402-M3-CV, Germany). A comparação dos valores do pH endocervical obtidos com as duas técnicas apresentou correlação altamente significativa ($r = 0,957$; $p < 0,0001$ - correlação de Spearman).

2 - OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo verificar se o pH o do muco cervical se altera *in situ* quando a cérvix uterina é exposta ao ar atmosférico por intermédio do exame especular.

3 - METODOLOGIA

3.1 - PACIENTES

Para a realização deste estudo foram avaliadas 20 mulheres que consultaram na Fundação Universitária de Endocrinologia e Fertilidade, em Porto Alegre, no período de um ano. Participaram voluntariamente da pesquisa pacientes em idade reprodutiva, com ciclos regulares (duração de 21 a 35 dias e fluxo menstrual de 2 a 7 dias) e que apresentassem adequada atividade secretória de muco cervical, isto é, presença de muco cervical pré-ovulatório de boa qualidade. As pacientes foram submetidas a exame a fresco (Moura,1982 ^a) e/ou bacterioscópico de secreção vaginal (Moura,1982 ^b) previamente às avaliações do muco. Todas as pacientes avaliadas apresentavam exames a fresco e/ou bacterioscópico de secreção vaginal negativos para germes patogênicos no ciclo em estudo. O período de abstinência sexual foi registrado.

Foram excluídas pacientes em uso de medicação que causasse alteração no muco cervical, como citrato de clomifeno, anticoncepcionais orais, progestágenos e estrógenos; pacientes com sinais ou sintomas clínicos e/ou laboratoriais de infecção genital; usuárias de medicações vaginais, como cremes e óvulos vaginais, substâncias espermaticidas e duchas vaginais; portadoras de alterações orgânicas e anatômicas do colo uterino que pudessem causar distúrbios na secreção de muco, como amputação ou conização do colo uterino, estenose cervical pronunciada decorrente de eletro ou criocauterização extensas da cérvix; pacientes portadoras de tumores de colo uterino como leiomiomas, pólipos ou carcinoma.

3.2 - AVALIAÇÃO DO MUCO CERVICAL

3.2.1 - Procedimento de Coleta do Muco Cervical

As pacientes eram examinadas em mesa ginecológica na posição ginecológica perineal de Proust, sempre pelo mesmo investigador.

Para a coleta do muco cervical, a cérvix uterina era exposta com um espéculo de Collin estéril não lubrificado e a exocérvice limpa com algodão estéril montado em pinça de Chéron com o objetivo de minimizar a contaminação vaginal.

O muco cervical em sua totalidade era aspirado da endocérvice com uma seringa de tuberculina sem agulha, diariamente, iniciando-se as coletas entre o 8º e o 9º dias do ciclo menstrual e prosseguindo-se até o escore ideal do muco ser atingido, conforme descrito a seguir. A qualidade do muco cervical era avaliada imediatamente após a coleta.

3.2.2 - Exame do Muco Cervical

O muco cervical era avaliado de acordo com os seguintes parâmetros: volume, filância, cristalização e superaquecimento. A variável abertura do orifício cervical externo preconizada por Insler e cols. (1972) para a estimação do escore cervical não foi considerada no presente estudo. Cada um desses parâmetros recebeu pontuações de 0 a 3, com exceção do superaquecimento, que foi graduado de maneira diversa. O valor 3

correspondeu à condição ótima em cada item. A soma das pontuações parciais levava a um escore total máximo de 9. Um escore do muco cervical igual ou superior a 6 indicava muco pré- ovulatório receptivo à penetração espermática. Um escore inferior a 6 era associado a secreção cervical desfavorável. O escore inferior a 3 significava muco hostil.

A avaliação do muco cervical era realizada após a colocação do espéculo vaginal e limpeza da ectocérvice.

3.2.2.1 - Volume

O volume de muco cervical era medido na própria seringa de tuberculina utilizada para coleta e pontuado da seguinte maneira (WHO,1992):

- 0: ausente
- 1: 0,1 ml
- 2: 0,2 ml
- 3: 0,3 ml ou mais

3.2.2.2 - Filância

A filância era avaliada de acordo com o comprimento do fio de muco cervical obtido da seguinte forma: colocava-se o muco cervical sobre lâmina de vidro, encostava-se uma lamínula no muco e elevava-se a mesma com suavidade até que o fio formado se rompesse. A estimativa da filância em centímetros era feita através da medida do comprimento do fio de muco cervical entre lâmina e lamínula antes de ele romper-se (figura 2) (Schumacher,1986; Kesserü,1989) e era classificada como a seguir (WHO,1992):

- 0: inferior a 1 cm
- 1: 1 - 4 cm
- 2: 5 - 8 cm
- 3: superior a 9 cm

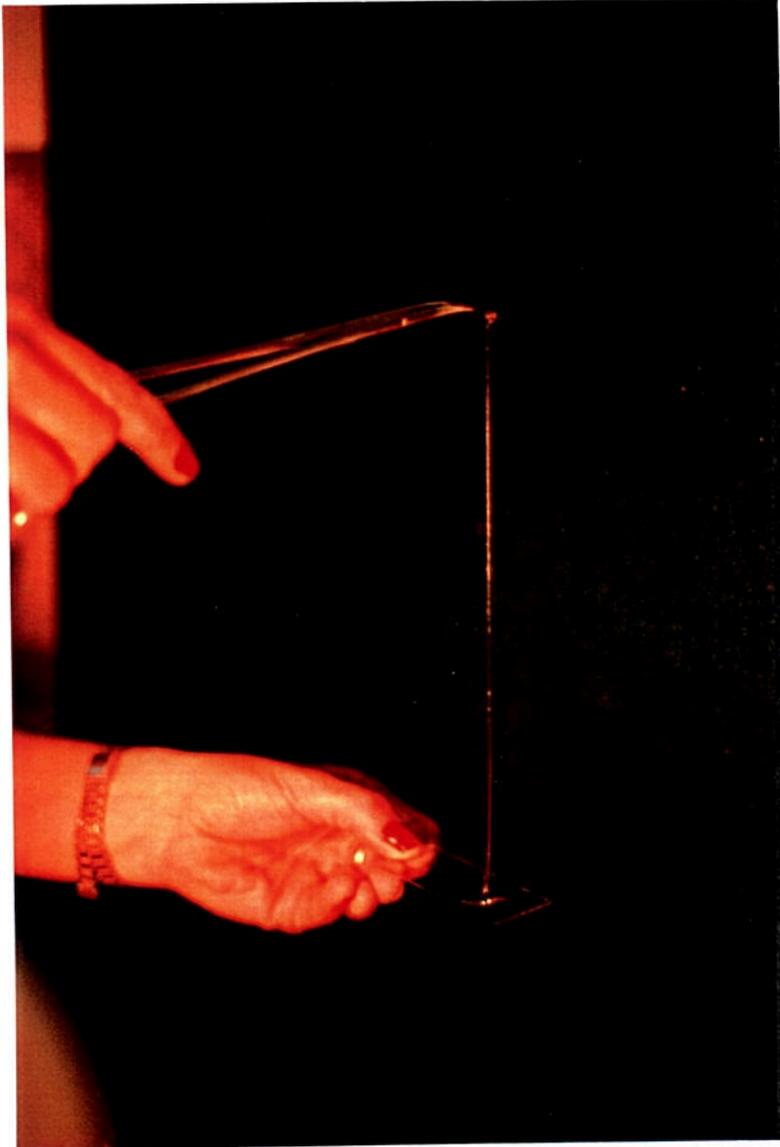


Fig 2- Muco cervical pré-ovulatório :avaliação da filância

3.2.2.3 - *Cristalização*

Para avaliar a cristalização, o muco cervical coletado era distendido em lâmina e seco em calor brando. A lâmina seca era observada em microscópio óptico (A=400x) (Schumacher,1986; WHO,1992) e a cristalização assim classificada:

0: ausência de cristalização

1: formação de cristais atípicos

2: cristalização típica em folha de samambaia com ramificações primárias ou secundárias

3: cristalização típica em folha de samambaia com ramificações terciárias ou quaternárias (figura 3)

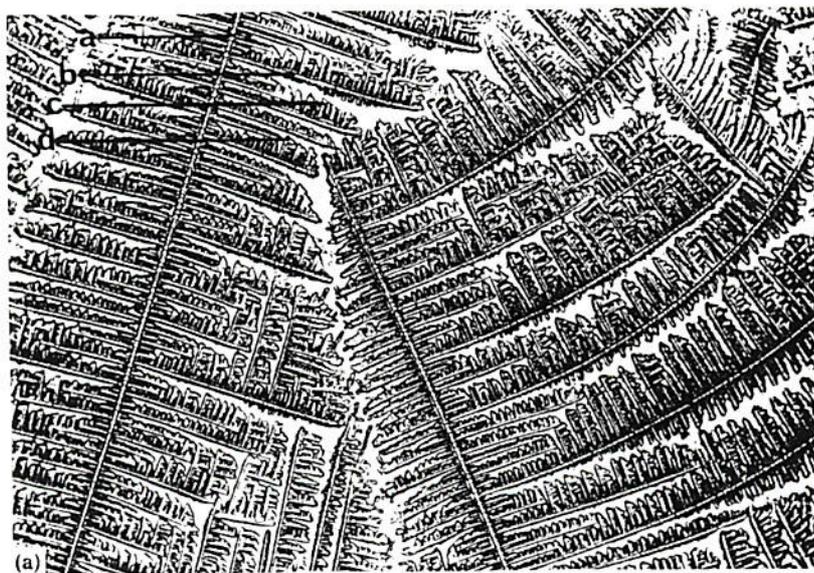


Fig 3- Aspecto de cristalização típica do muco cervical com ramificações terciárias e quaternárias

3.2.2.4 - *Superaquecimento*

Após a avaliação da cristalização ao microscópio óptico, a mesma lâmina era aquecida na parte superior de uma chama de lamparina de álcool durante 1 minuto , em

movimentos regulares de vai-e-vém, para que o calor se distribuisse uniformemente pela lâmina (figura 4).

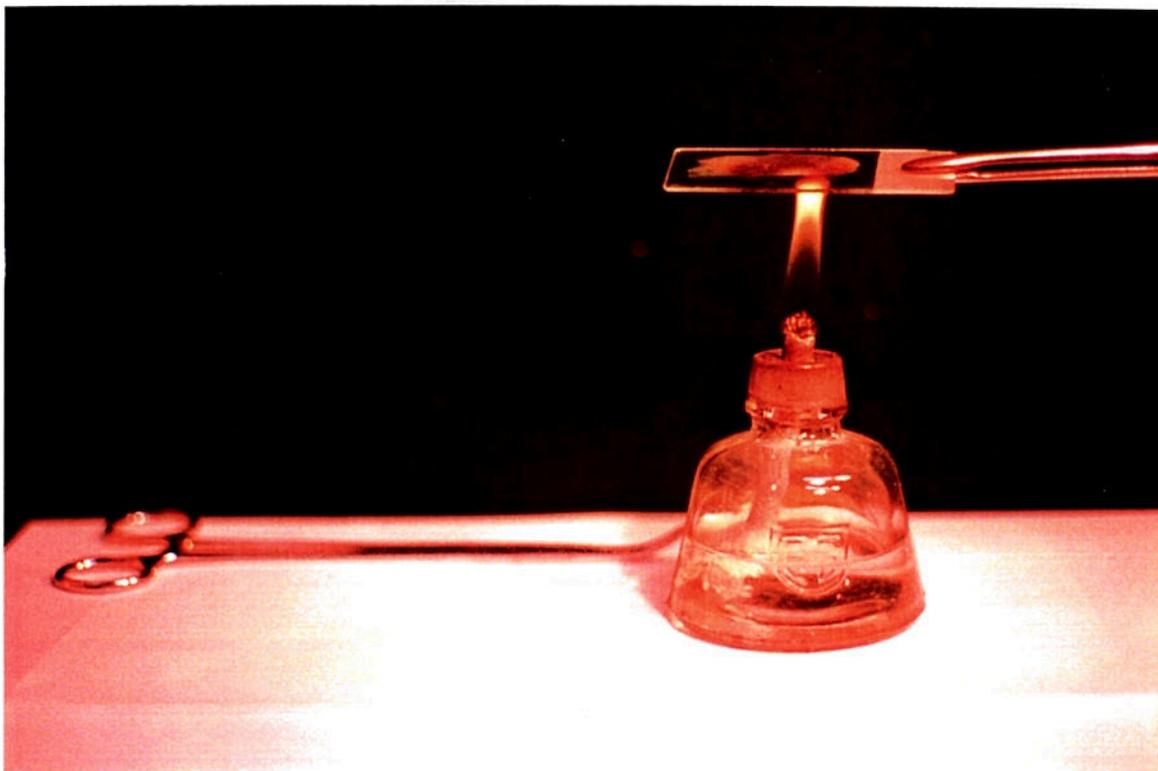


Fig 4- Superaquecimento do muco cervical

A cor do muco cervical após o aquecimento era observada contra uma superfície luminosa clara e classificada da seguinte forma (Ferrari, 1978), (figura 5):

A = cor marrom-escura: corresponde à ausência de cristalização ou aos estágios iniciais de cristalização

B = cor marrom-claro : corresponde à cristalização atípica

C = cor clara-transparente: corresponde à cristalização típica com ramificações dendríticas terciárias ou quaternárias

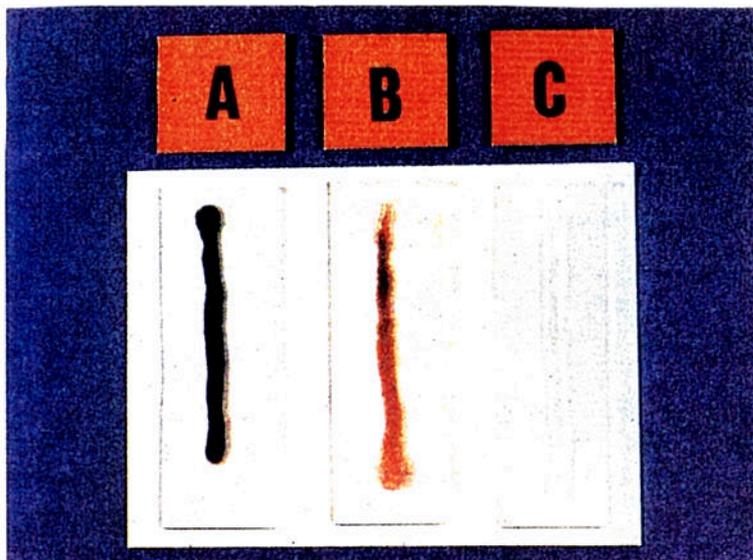


Fig 5- Aspecto das três cores obtidas pelo aquecimento do muco cervical seco em chama de álcool

O resultado era expresso conforme o percentual aproximado de cada cor presente na amostra de muco superaquecido. Por exemplo, uma lâmina apresentando 70% de cor clara-transparente e 30% de cor marrom-claro era classificada como C70 B30.

3.2.2.5 - *Escore Geral*

Assim, a soma das pontuações conferidas ao volume, filância e cristalização, originava um escore variável de 0 a 9. O muco superaquecido, avaliado de forma distinta, possibilitava variações cromáticas na fase periovulatória num espectro de B100C0 a C100B0.

No presente estudo foram incluídas somente as pacientes que apresentassem muco cervical de boa qualidade, sendo consideradas, portanto, apenas aquelas com escore cervical igual ou superior a 6/9 e/ou porcentagem de cor-clara transparente igual ou superior a 50% ao superaquecimento.

A medida do pH do muco cervical era efetuada quando o escore cervical fosse igual ou superior a 6/9 e/ou superaquecimento igual ou superior a C50 B50. Para tal, as pacientes eram avaliadas diariamente quanto ao escore do muco cervical. Quando o mesmo estivesse próximo a tais valores, era programada a realização da medida do pH para o dia seguinte. Nessa ocasião, efetuava-se primeiramente a medida do pH e, após, a avaliação da qualidade do muco cervical. Se o mesmo não atingisse o escore pré-determinado, a medida do pH era desconsiderada e programada para o dia seguinte ou para o próximo ciclo.

3.3 - DETERMINAÇÃO DO PH DO MUCO CERVICAL

Ao atingir os critérios pré-determinados, o pH do muco cervical era medido *in situ* na ecto e na endocérvice através de microeletrodo de vidro (Beckman nº39535), com 24cm de comprimento e 5mm de diâmetro (figura 6), conectado a milivoltímetro (Digimed ®).

O microeletrodo era cuidadosamente calibrado contra soluções-tampão padrão (pH 4,0 e 7,0) de acordo com as especificações do fabricante, previamente à utilização em cada paciente.

Após ser utilizado em cada paciente, o microeletrodo era limpo com papel macio e lavado com água deionizada, sendo então colocado em solução de cloreto de benzalcônio para desinfecção. Ao ser reutilizado, era previamente lavado com água deionizada, recalibrado e lavado novamente.

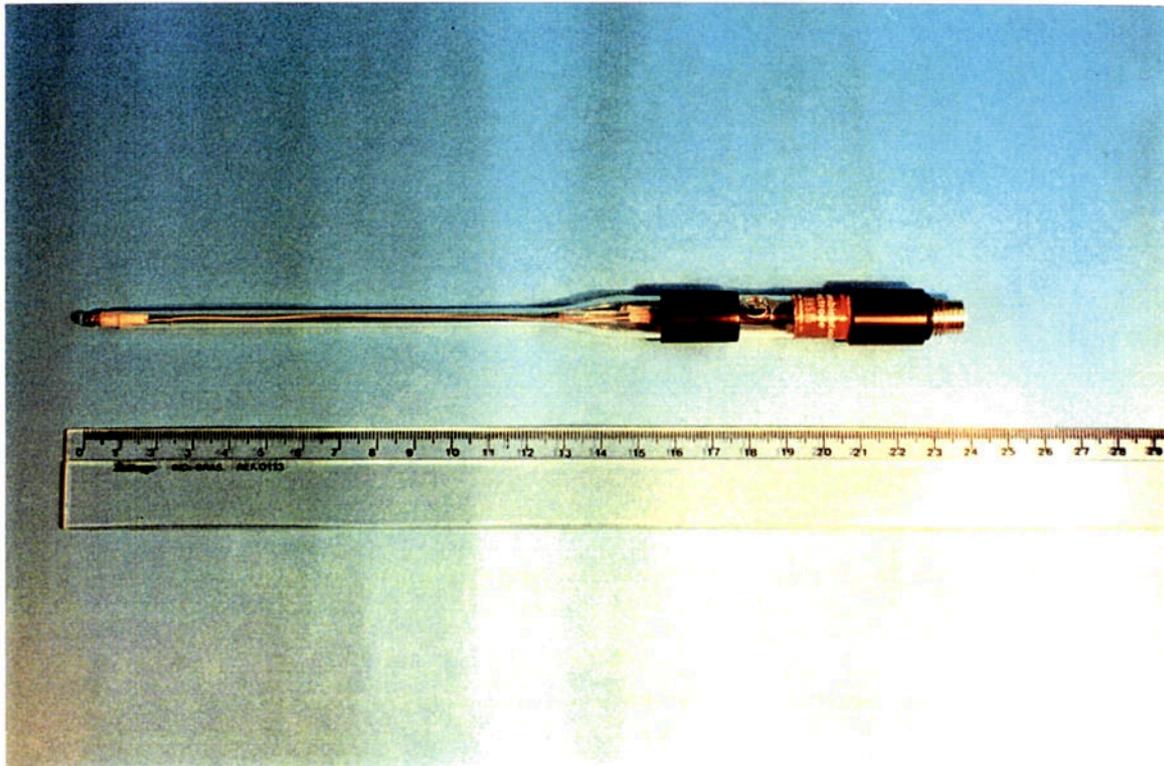


Fig. 6- Microeletrodo de vidro Beckmann n° 39535

A quantidade de cloreto de potássio no interior do eletrodo era conferida a cada situação de uso e reabastecida regularmente.

A primeira medida do pH (tempo zero) era realizada imediatamente após a colocação do espéculo vaginal e da remoção da secreção vaginal com algodão estéril montado em pinça de Chéron.

O eletrodo era então colocado em contato com o muco ectocervical, exatamente em frente ao orifício cervical externo, quando era tomada a medida do pH ectocervical. O eletrodo era então introduzido delicadamente no canal em direção ao orifício interno, quando se tomava a medida do pH endocervical (figura 7). Essas medidas eram registradas como tempo zero. O eletrodo era então retirado da cérvix, limpo com papel macio e lavado com água deionizada.



Fig 7. - Medida do pH endocervical

Não era realizada lavagem do eletrodo entre as medidas do pH ecto e endocervical, pois, para realizar esta última medida, a passagem do eletrodo pela ectocérvice é inevitável, tornando assim, o procedimento supérfluo.

O espéculo vaginal era mantido aberto e o mesmo procedimento era repetido após 5 e 10 minutos. Finalizadas as medidas de pH, o muco cervical era aspirado delicadamente com seringa de tuberculina sem agulha e avaliado de acordo com os critérios descritos previamente, ou seja, volume, filância, cristalização e supraaquecimento, sendo registrados os resultados.

3.4 - DELINEAMENTO DE PESQUISA

Trata-se de uma série temporal de casos

3.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Considerando que as variáveis analisadas seguiram a curva de distribuição normal, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para comparação entre os valores médios de pH nos diferentes tempos de medida. O nível de significância adotado foi 5%.

4 - RESULTADOS

A seguir são apresentadas as características das pacientes incluídas no estudo, como idade, duração do ciclo menstrual, período de abstinência sexual e qualidade do muco cervical, bem como os valores de pH ecto e endocervical registrados nos diferentes tempos de medida.

4.1 - IDADE DAS PACIENTES

A idade das pacientes avaliadas variou de 24 a 42 anos, com média de 32,5 ($\pm 4,63$) e está demonstrada na tabela 1.

TABELA 1 - IDADE DAS PACIENTES SUBMETIDAS À MEDIDA DE pH DO MUCO CERVICAL

Idade	Frequência	%
24	1	5
27	2	10
28	1	5
30	4	20
31	1	5
32	1	5
33	3	15
34	2	10
35	1	5
38	2	10
41	1	5
42	1	5
Total de Pacientes	20	100

Média: 32,5 DP:4,63

4.2 - DURAÇÃO DO CICLO MENSTRUAL

Os ciclos menstruais variaram de 24 a 35 dias de duração, com média de 28,55 dias ($\pm 2,80$) e estão relacionados na tabela 2.

TABELA 2 - DURAÇÃO DO CICLO MENSTRUAL DAS PACIENTES SUBMETIDAS À MEDIDA DE pH DO MUCO ENDO-CERVICAL

Ciclos (dias)	Freqüência	%
24	2	10
25	1	5
26	1	5
28	9	45
30	5	25
35	2	10
Total de Pacientes	20	100

Média :28.55 DP:2.80

4.3 - PERÍODO DE ABSTINÊNCIA SEXUAL

O período de abstinência sexual oscilou de zero a 13 dias, havendo em média 3,43 dias de abstinência sexual prévia à medida do pH.

4.4 - QUALIDADE DO MUCO CERVICAL

Em relação à qualidade do muco cervical por ocasião da medida do pH, o parâmetro volume recebeu pontuação 2 em quatro pacientes (20%) e pontuação 3 em dezesseis pacientes (80%). A filância foi 2 em oito pacientes (40%) e 3 em doze pacientes (60%). A cristalização foi terciária ou quaternária (pontuação 3) em todas as amostras de muco avaliadas. O escore cervical total foi 7/9 em duas pacientes (10%),

8/9 em oito pacientes (40%) e 9/9 em dez pacientes (50%). Esses resultados estão demonstrados na tabela 3.

TABELA 3 - QUALIDADE DO MUCO CERVICAL: PONTUAÇÕES PARCIAIS

Parâmetro Avaliado	Pontuação Parcial					
	1	%	2	%	3	%
Volume	0	0	4	20	16	80
Filância	0	0	8	40	12	60
Cristalização	0	0	0	0	20	100

Em relação ao superaquecimento, 90% das pacientes (n=18) apresentaram porcentagem de cor clara-transparente igual ou acima de 50%, ou seja, escore de C50B50 ou superior (tabela 4).

TABELA 4 - ESCORE DO MUCO CERVICAL AO SUPERAQUECIMENTO

Muco-Superaquecimento	Freq.	%
B60C40	1	5
B70C30	1	5
C50B50	7	35
C70B30	4	20
C80B20	3	15
C90B10	1	5
C100	3	15
Total	20	100

4.5 - VALORES DE PH

Os valores de pH ecto e endocervicais encontrados nas 20 pacientes estudadas estão demonstrados na tabela 5.

TABELA 5 - VALORES DE pH ECTOCERVICAL E ENDOCERVICAL MEDIDOS AOS 0, 5 E 10 MINUTOS

Paciente	pH ectocervical			pH endocervical		
	0 min	5 min	10 min	0 min	5 min	10 min
1	6,82	6,92	7,29	6,93	7,38	7,51
2	6,92	7,13	7,21	6,97	7,33	7,37
3	7,00	6,99	7,12	7,26	7,46	7,51
4	7,23	7,25	7,43	7,34	7,25	7,28
5	7,27	7,50	7,64	7,26	7,51	7,61
6	6,90	7,23	7,54	7,28	7,54	7,66
7	6,95	7,04	7,25	7,11	7,36	7,46
8	7,17	7,46	7,51	7,30	7,51	7,69
9	6,33	6,78	6,98	6,77	6,89	7,03
10	6,77	7,05	7,03	6,94	7,20	7,33
11	7,07	7,18	7,26	7,21	7,41	7,46
12	6,75	7,21	7,21	7,40	7,46	7,44
13	6,53	7,03	7,36	6,98	7,24	7,44
14	7,35	7,62	7,73	7,01	7,35	7,50
15	6,77	6,81	6,85	7,00	7,15	7,30
16	7,06	7,22	7,18	7,14	7,42	7,51
17	7,01	7,30	7,33	7,21	7,41	7,64
18	6,81	7,11	7,27	7,06	7,50	7,69
19	6,81	7,23	7,22	7,10	7,31	7,50
20	7,03	7,30	7,41	7,13	7,39	7,45

O valor mínimo de pH no muco ectocervical no tempo zero foi 6,33 e o valor máximo 7,35; aos cinco minutos o valor mínimo foi 6,78 e o valor máximo 7,62; aos dez minutos os valores mínimo e máximo foram 6,85 e 7,73 respectivamente. A variação dos valores de pH do muco ectocervical nos diferentes tempos de medida vem expressa na tabela 6.

TABELA 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE pH NO MUCO ECTOCERVICAL EM RELAÇÃO AO TEMPO DE MEDIDA

Período (min)	pH mínimo	mediana	pH máximo
0	6,33	6,91	7,35
5	6,78	7,15	7,62
10	6,85	7,25	7,73

A média de pH ectocervical no tempo zero foi 6,91 (\pm 0,235); aos cinco minutos foi encontrada média de 7,16 (\pm 0,215) e aos dez minutos a média foi de 7,27 (\pm 0,220). Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores obtidos aos zero e cinco minutos e aos zero e dez minutos (ANOVA $p < 0,05$), mas não entre os valores médios de pH ectocervical obtidos aos cinco e dez minutos. Os valores médios de pH ectocervical observados nos diferentes períodos estudados estão registrados na tabela 7.

TABELA 7- VALORES MÉDIOS DE pH ECTOCERVICAL ENCONTRADOS NAS 20 PACIENTES EM CADA PERÍODO DE AVALIAÇÃO

Período (min)	pH média	\pm desvio padrão
0	6,91 ^a	\pm 0,235
5	7,16 ^b	\pm 0,215
10	7,27 ^b	\pm 0,220

a,b ($p < 0,05$) : letras diferentes representam diferenças significativas

O valor mínimo de pH encontrado no muco endocervical no tempo zero foi 6,77 e o valor máximo nesse tempo foi 7,40. Aos cinco minutos o valor mínimo de pH foi 6,89 e o valor máximo 7,54. Aos dez minutos, o valor mínimo de pH foi 7,03 e o valor máximo 7,69. Esses resultados estão expostos na tabela 8.

TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE pH NO MUCO ENDOCERVICAL EM RELAÇÃO AO TEMPO DE MEDIDA

Período (min)	pH mínimo	mediana	pH máximo
0	6,77	7,10	7,40
5	6,89	7,38	7,54
10	7,03	7,48	7,69

Em relação aos resultados das medidas de pH endocervical, foi encontrada média de 7,09 no tempo zero, aos cinco minutos a média foi 7,34 e aos dez minutos 7,46. Houve diferenças significativas entre os valores obtidos aos zero e cinco minutos e entre os zero e dez minutos (ANOVA $p < 0,05$). Não houve, porém, diferença significativa entre os valores obtidos aos cinco e dez minutos (tabela 9).

TABELA 9 - VALORES MÉDIOS DE pH ENDO-CERVICAL ENCONTRADOS NAS 20 PACIENTES EM CADA PERÍODO DE AVALIAÇÃO

Período (min)	pH média	± desvio padrão
0	7,09 ^a	± 0,161
5	7,34 ^b	± 0,159
10	7,46 ^b	± 0,164

a,b ($p < 0,05$): letras diferentes representam diferenças significativas

5 - DISCUSSÃO

5.1 - O PH DO MUCO E O FATOR CERVICAL EM INFERTILIDADE

Sendo o fator cervical responsável por 5% a 10% dos casos de infertilidade conjugal, uma investigação mais aprofundada de sua fisiopatogenia se justifica.

Conforme já referido, a expressão fator cervical se aplica à infertilidade resultante de deficiências no mecanismo de passagem do espermatozóide através da cérvix uterina, abrangendo uma ampla variedade de distúrbios nos quais a característica comum é a presença de testes pós-coitais anormais. Assim, a avaliação da interação mucoespermática inicia pela realização do teste pós-coital. Se o mesmo apresenta resultado satisfatório, ou seja, a presença de muco abundante com boa cristalização e filância e vários espermatozoides móveis, descarta-se o fator cervical como etiologia da infertilidade.

Freqüentemente, porém, os resultados do TPC não são conclusivos devido a achados de baixo número de espermatozoides ou de motilidade diminuída ou ausente desses espermatozoides. Esses casos, portanto, requerem uma avaliação mais detalhada do fator cervical. Nessas situações, indica-se realização de provas de penetração *in vitro* bem como a investigação de outros fatores capazes de interferir na penetração espermática, entre eles o pH do muco cervical e o fator imunológico.

Vários autores têm demonstrado que o baixo pH do muco cervical está associado à imobilidade do espermatozóide (Kroeks & Kremer,1977; Ansari,Gould & Ansari,1980; Zavos & Cohen,1980; Peek & Matthews,1986; Jenkins et al.,1989; Baruffi et al.,1992; Eggert-Kruse et al.,1993).

Outros estudos relatam o achado de provas pós-coitais persistentemente negativas seguidas de testes de penetração *in vitro* normais (Jonsson et al.,1986; Overstreet,1986; Ferrari,1986).

Jonsson e cols. (1986) demonstraram que anormalidades na interação mucoespermática evidenciadas pelo TPC podem não ser confirmadas quando o sêmen e o muco são testados juntos no laboratório pelas provas *in vitro*, sugerindo que muitas dessas discrepâncias poderiam ser atribuídas à realização do TPC em momento inapropriado.

Overstreet (1986) relata também ter encontrado testes de penetração espermática *in vitro* normais durante períodos de testes pós-coitais persistentemente negativos. Em sua opinião, tais observações poderiam sugerir a presença de distúrbios na interação vagina-esperma ou estar relacionadas à baixa sobrevivência do espermatozóide no muco ao invés de anormalidade na penetração espermática.

Da mesma forma, Ferrari (1986) relata que, em certos casos, o TPC pode se apresentar negativo (ausência de espermatozóides com movimentos direcionais) ou ausente (ausência de espermatozóides) na presença de muco ovulatório e espermograma normal. Nesses mesmos casos, essas provas que medem a penetração espermática *in vivo*

se tornavam positivas quando o muco exposto ao ar era utilizado em provas de penetração *in vitro*. Assim, as variações dos resultados do TPC em relação aos dos testes de penetração *in vitro* levaram à suspeita de que as mesmas poderiam ter sido provocadas pela alteração do pH do muco cervical exposto ao ar, motivando a realização do presente estudo.

5.2 - EXPOSIÇÃO DO MUCO CERVICAL AO AR ATMOSFÉRICO E PH

Estudos prévios relatam a alteração do pH do muco cervical com a exposição ao ar (Breckenridge, Pederson & Pommerenke, 1950; Kroeks & Kremer, 1977).

Já em 1950, Breckenridge, Pederson & Pommerenke realizaram a medida de pH no interior do canal cervical inferior imediatamente após a aspiração de algumas amostras de muco, através de um instrumento destinado a colocar o papel Hydrion ® em contato com a parede do canal cervical, sem contaminação vaginal ou exposição ao ar. O pH assim determinado foi comparado ao do muco previamente aspirado (também medido com o papel). Os autores observaram que o pH das amostras alcalinas ou levemente ácidas aumentava mesmo durante o breve período de exposição ao ar que ocorre entre o processo de coleta das amostras e a medida imediata do pH.

Posteriormente, em 1977, Kroeks & Kremer realizaram um estudo no qual o pH foi medido *in vitro* e *in vivo* no muco endocervical de 10 mulheres. O pH foi medido no canal cervical e, após, o muco foi aspirado com seringa de tuberculina e disposto em uma lâmina, em temperatura ambiente. O pH no muco foi medido a cada 5 minutos por duas

horas após a aspiração. Os autores observaram que, após a remoção do muco, o pH subiu 0,2 - 0,7 unidades. Esse aumento continuou por 30 minutos após a remoção e variou entre 0,7 e 1,6 unidades de pH. A temperatura e a umidade aparentemente não influenciaram seus valores.

Mais recentemente, Eggert-Kruse e cols. (1993) referiram que as medidas de pH devem ser realizadas imediatamente, pois o pH do muco cervical aumenta com a exposição ao ar. Informaram que, em estudo realizado, o pH nas amostras de TPCs foi medido “sem nenhuma demora em todas as amostras para evitar as alterações no pH que ocorrem com o tempo e a exposição ao ar”, justificando esse achado através de estudos prévios *in vitro*. Esse trabalho foi criticado por Shulman e cols. (1993) pelo fato de não haver detalhes em relação à alteração de pH promovida pela exposição ao ar, pois não foi relatada a dimensão da alteração ocorrida, nem tampouco se esse efeito foi realmente avaliado ou apenas teorizado.

No entanto os estudos prévios existentes que demonstraram que o pH do muco cervical se altera com a exposição ao ar foram realizados *in vitro*, ou seja, após o muco ter sido aspirado do canal cervical.

Assim, a presente pesquisa foi idealizada para avaliar se esse efeito também ocorre *in vivo*, isto é, se o pH do muco cervical sofre alteração *in situ* quando exposto ao ar por meio do exame especular.

Em 20 pacientes, foram realizadas uma primeira medida do pH do muco cervical imediatamente após a exposição da cérvix e duas medidas posteriores aos cinco

e dez minutos, analisando-se a variação das últimas medidas em relação à primeira, considerada basal, e entre si.

Os resultados mostraram que os valores basais do pH ecto e endocervical encontrados, com médias respectivas de 6,91 e 7,09 e variação entre 6,33 e 7,35 (ectocervical) e 6,77 e 7,40 (endocervical) (tabelas 6, 8 e 9), estão em concordância com os achados da literatura. Mac Donald & Lumley (1970) encontraram variação no pH endocervical entre 6,5 e 7,5, com média de 7,0. Singer (1975) registrou média de pH endocervical de 6,8 (variação entre 5,5 e 8,0) em 60 pacientes observadas. Eggert-Kruse e cols. (1993), ao avaliarem o pH do muco endocervical em 216 mulheres, constataram variação de 5,4 a 8,2, sendo a mediana de 7,0. Zavos & Cohen (1980), em 25 pacientes estudadas, encontraram um pH médio do muco cervical no momento do teste pós-coital de 6,42. Como estes últimos autores aspiraram o muco cervical com pipeta de vidro a partir do orifício cervical externo, a média de pH do estudo não pode ser comparada com as médias encontradas em trabalhos que avaliaram apenas o material endocervical. De qualquer forma, seus valores estariam mais próximos dos valores de pH ectocervical aqui encontrados: média basal de 6,91.

A presente investigação mostrou variações entre os valores de pH ecto e endocervical basais e os valores obtidos aos cinco e dez minutos da exposição da cérvix ao ar atmosférico. Diferenças estatisticamente significativas ocorreram entre os tempos zero e cinco minutos, bem como entre os tempos zero e dez minutos em ambos os sítios de medida. A comparação entre os tempos de cinco e dez minutos não demonstrou diferenças significativas (tabelas 7 e 9).

Essas variações provavelmente se deveram à perda de CO₂ do muco cervical no ar atmosférico, originando um aumento progressivo do pH, conforme sugerido por Breckenridge, Pederson & Pommerenke (1950). As alterações, da ordem de decimais, por si só, provavelmente não seriam suficientes para prejudicar a interação mucoespermática nesse intervalo de tempo.

Ragni e cols. (1984) mediram o pH do muco cervical inicialmente através de papel indicador e, posteriormente, com o microeletrodo *in vivo*. Ao compararem as medidas, verificaram que eram similares, porém levemente superiores quando realizadas com o eletrodo. De acordo com os achados do presente estudo, uma possível explicação para a diferença entre as medidas obtidas por Ragni e cols. (1984) seria o tempo decorrido entre elas, já que a realizada através do microeletrodo foi posterior à medida com o papel e os valores da primeira foram levemente superiores aos da segunda.

5.3 - INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO DO MUCO AO AR NOS TESTES DE INTERAÇÃO MUCOESPERMÁTICA

O teste pós-coital fornece informação biológica única sobre a interação dos gametas masculinos com as secreções do trato reprodutivo feminino e é parte integrante da investigação da infertilidade conjugal. Quando um teste pós-coital é anormal são necessários testes laboratoriais de interação mucoespermática para identificar a contribuição relativa de fatores patológicos no homem e na mulher e para indicar a direção das investigações subseqüentes ou a terapêutica apropriada.

Neste estudo foi verificada a alteração do pH do muco cervical pela exposição ao ar, o que permite algumas considerações a respeito da análise dos resultados das provas usuais de interação mucoespermática.

Embora as informações disponíveis até o momento para embasar o diagnóstico clínico de infertilidade por fator cervical provenham parcialmente de tais testes, as provas de interação *in vitro*, com certeza, não reproduziriam as condições que ocorrem *in vivo*, uma vez que o muco aspirado já teria seu pH alterado pelo contato com o ar. Se a origem da falta de penetração espermática fosse o baixo pH do muco cervical, a mesma poderia não estar mais preservada no momento do exame, fornecendo resultados discutíveis em relação à variável pH. De fato, diversos autores têm observado a situação em que, na presença de TPCs persistentemente negativos, os testes de penetração *in vitro* têm resultados normais (Ferrari,1986; Jonsson et. al.,1986, Overstreet,1986). Uma possível explicação para tais achados poderia ser a alteração de pH promovida pela exposição do muco ao ar durante a realização dos testes *in vitro*.

O teste pós-coital, prova clássica para análise da interação mucoespermática, também deveria ser interpretado com cautela, já que os dados por ele fornecidos são obtidos após a aspiração do muco cervical, ou seja, normalmente decorre algum tempo entre a colocação do espécule vaginal, a aspiração do muco e a observação da lâmina ao microscópio. Assim, se a penetração espermática não ocorre *in vivo* em razão de um pH endocervical baixo, a “correção” do pH promovida pelo período de exposição ao ar após a aspiração do muco e pelo tempo decorrido no processo de realização do exame poderia mascarar o fator etiológico, induzindo a um diagnóstico incorreto. No teste do esfregaço (*slide-test*) e no de contato espermá-muco cervical (SCMCT) (WHO,1992),

a penetração espermática é aferida após 30 minutos de incubação. Já no teste do tubo capilar, a penetração espermática é aferida aos 10 minutos, 30 minutos, 3 horas ou outros intervalos, de acordo com o tipo de estudo, sendo por vezes avaliada também após 24 horas do contato muco-sêmen. Assim, dependendo do tempo decorrido entre a coleta do muco e sua observação ao microscópio, a alteração poderia ser de menor ou maior grau. Provavelmente a alteração dos resultados do TPC seria menor que a dos testes *in vitro*, já que os últimos requerem um período longo de observação.

Na prática clínica, entretanto, até o momento, esses aspectos não têm sido considerados e, portanto, não se pode afirmar sua relevância, isto é, se a magnitude das alterações do pH ecto e endocervical observadas neste estudo é significativa ao ponto de produzir distorções na interpretação dos testes de interação mucoespermática. A importância clínica da alteração do pH do muco exposto ao ar se reflete em praticamente todos os testes atualmente empregados para a avaliação da interação mucoespermática, já que eles utilizam o muco cervical aspirado e, portanto, previamente exposto ao ar. De acordo com os resultados aqui obtidos, o muco teria seu pH alterado e já não refletiria a condição fisiológica. Além disso, como o pH varia em cada paciente, não existe um padrão de alcalinização que possa prever um fator de correção no momento da interpretação do teste. Os resultados contraditórios de alguns TPC poderiam ser explicados pela alteração do pH do muco em função dos diferentes momentos de interpretação.

Fica apontada a relevância da medida do pH do muco cervical durante a avaliação do fator cervical e enfatiza-se a importância do momento de realização dessa medida, ou seja, imediatamente após a colocação do espécule vaginal. É importante que

se tenha este cuidado uma vez que, como demonstrado no presente estudo, o pH do muco se altera com a exposição ao ar, podendo, portanto, mostrar valores normais em casos de acidez. Esta observação é fundamental tendo em vista a importância de esclarecer o diagnóstico etiológico e as possibilidades terapêuticas do fator cervical.

5.4 - OUTROS FATORES CAPAZES DE ALTERAR O pH DO MUCO CERVICAL

Embora se tenha demonstrado que o pH do muco cervical se altera progressivamente pela exposição ao ar atmosférico, outros fatores passíveis de interferir no pH basal do muco cervical não podem ser excluídos, como a idade da paciente, a duração do ciclo, a qualidade do muco, a presença ou não de microorganismos na secreção vaginal, o período de abstinência sexual e, especialmente, o método para a medida do pH. Apesar de estes fatores não se relacionarem diretamente com a variação do pH, poderiam interferir nos níveis basais e, conseqüentemente, nos valores numéricos finais registrados

5.4.1 - Idade das Pacientes

A idade não parece influenciar o pH do muco cervical. Eggert-Kruse e cols. (1993), ao avaliarem 216 mulheres, não encontraram correlação entre pH do muco endocervical e idade, bem como em relação à infertilidade primária ou secundária. Assim, no presente estudo, embora tenham sido registradas as variações do pH do muco em relação à idade das pacientes (média de 32,5), não foi atribuída maior importância à idade.

5.4.2 - Duração do Ciclo Menstrual

Na literatura consultada não foram encontradas referências a respeito da ocorrência de alteração do pH do muco cervical em função da duração do ciclo menstrual. Distúrbios ovulatórios podem levar a alterações no muco e serem responsáveis pelo fator cervical (Check et al.,1991, Moghissi,1993, Farhi et al.,1995). No presente estudo foram avaliadas somente pacientes com ciclos regulares em função de que, em geral, são ciclos ovulatórios e apresentam muco de boa qualidade. A duração do ciclo menstrual das pacientes submetidas à medida de pH do muco cervical neste estudo foi de 24 a 35 dias, com média de 28,55 dias.

5.4.3 - Período de Abstinência Sexual

Na avaliação do pH do muco cervical é importante considerar o período de abstinência sexual, já que o sêmen, por ser um fluido alcalino, exerce um efeito tamponante na acidez vaginal e, por conseguinte, no pH do muco cervical. Fox, Meldrum & Watson, em 1973, observaram que o pH se altera 8 segundos após a ejaculação. Kroeks & Kremer, em 1977, encontraram alteração no pH do muco endocervical a partir de 1 minuto após o coito por um período de, no mínimo, 50 minutos. No presente estudo, como o objetivo foi avaliar não o pH basal, mas sim sua variação, o período de abstinência sexual, embora registrado, não foi valorizado. No entanto, embora apenas quatro das vinte pacientes não estivessem em abstinência sexual

por dois dias ou mais, observou-se que o pH varia de forma semelhante independentemente do período de abstinência sexual.

5.4.4 - Qualidade do Muco Cervical

A respeito da qualidade do muco cervical, sabe-se que esta sofre alterações cíclicas durante o ciclo menstrual (Moghissi, Syner & Evans,1972). Em relação ao pH do muco, até há algum tempo atrás se acreditava que também sofria alterações cíclicas, tornando-se mais alcalino e, portanto, favorável à penetração espermática no período periovulatório. Por esse motivo, não se considerava necessário medi-lo durante a investigação da infertilidade. A literatura fornece resultados controversos em relação à existência de alguma variação cíclica no pH do muco durante o ciclo menstrual. Alguns trabalhos (MacDonald & Lumley,1970; Moghissi, Syner & Evans,1972; Singer,1975) mostram um aumento do pH no período periovulatório. Já outros autores, em estudos posteriores, não conseguiram confirmar nenhum padrão definido de variação cíclica do pH (Kroeks & Kremer,1977; Zavos & Cohen,1980; Ragni et al.,1984).

MacDonald & Lumley (1970) utilizando o método eletrométrico para as medidas *in vivo* do pH no muco endocervical, encontraram, em duas de três mulheres examinadas, um aumento do pH na fase pré-ovulatória.

Moghissi, Syner & Evans (1972) realizaram a medida do pH do muco cervical através de papel indicador introduzido no canal cervical diariamente durante o período

periovulatório e a cada dois dias durante o resto do ciclo em 10 mulheres com ciclos ovulatórios, verificando um aumento significativo do pH no período periovulatório.

Já Singer, em 1975, observou diferenças estatisticamente significativas entre as medidas de pH efetuadas com microeletrodo de vidro no muco ectocervical nas fases proliferativa (9°-10° dias) e secretora (22°-24 ° dias) de 60 mulheres. No muco endocervical as diferenças não foram significativas.

Em 1977, Kroeks & Kremer examinaram 23 mulheres com idade entre 23 e 31 anos e mediram o pH *in vivo* na secreção vaginal e no muco ecto e endocervical pelo método eletrométrico a cada dois dias durante o ciclo menstrual em combinação com os parâmetros ovulatórios usuais (temperatura basal, quantidade, filância, cristalização, dosagens séricas de LH, FSH, progesterona e estradiol). Não foi possível, no entanto, reconhecer um padrão cíclico de valores de pH no trato cérvico-vaginal. O curso do pH pareceu ser totalmente arbitrário, sendo que as variações entre um dia e outro foram grandes. Tanto valores mais elevados como mais baixos no pH foram obtidos durante a fase periovulatória.

Posteriormente, em 1980, Zavos & Cohen, com o objetivo de determinar o pH do muco cervical durante o teste pós-coital e correlacionar as variações no pH do muco com a motilidade espermática, estudaram 44 ciclos no período periovulatório. Realizaram a medida do pH com papel de nitrazina no muco ectocervical do 9° ao 16° dia do ciclo, 16,2 horas após o coito e não encontraram nenhum padrão distinto de pH; os valores flutuaram em todas as situações dentro de uma faixa levemente ácida. Tais resultados, entretanto, devem ser considerados com alguma reserva, uma vez que o pH

foi avaliado no muco ectocervical (que é mais ácido), com papel indicador e *in vitro* (no muco aspirado). O fato de a medida haver sido realizada após o coito também pode ter interferido nos resultados, já que o contato com o sêmen tampona a acidez do muco e pode alterar seus valores originais.

Ragni e cols. (1984), ao analisarem o pH do muco cervical de 53 pacientes durante cerca de cinco dias do período periovulatório, associaram a dosagem diária de estradiol sérico durante sete dias em 10 pacientes e não detectaram nenhuma alteração significativa no pH nos dias em torno do pico de estradiol.

Mais recentemente, Eggert-Kruse e cols. (1993) determinaram o índice cervical completo, incluindo os parâmetros volume de muco cervical, filância, viscosidade, cristalização e celularidade, pontuando cada um deles de 0 a 3, em 199 pacientes. Um índice cervical favorável (10 a 15) foi encontrado em 145 mulheres (72,9%); a qualidade do muco cervical estava reduzida em 54 casos (27,1%) e a média do índice cervical nesse estudo foi 12 (faixa de 3-15). Não foi estabelecida correlação entre o pH do muco endocervical e o índice cervical, provando que o escore cervical é inadequado para determinar esse importante parâmetro.

Da mesma forma, Jenkins e cols. (1995) observaram que o pH não se relaciona com o escore cervical: de 100 pacientes avaliadas, encontraram 10 casos com pH do muco endocervical inferior a 6,0 apesar de o escore de Insler (Insler et al.,1972) ser superior a 10.

Portanto parece não haver realmente um padrão cíclico de variação do pH do muco cervical. A tomada da medida do pH no muco endocervical puro não contaminado pelo muco ectocervical ácido é de difícil realização em fases do ciclo distantes da ovulação pelo simples fato de a quantidade de muco ser insuficiente para tal. Assim, deve-se considerar que o aparente aumento periovulatório no pH do muco endocervical possa ser uma simples consequência do aumento da quantidade de muco. De qualquer forma, o pH periovulatório é obviamente o mais importante, por ser o momento em que a penetração espermática ocorre. No presente estudo, o pH do muco cervical foi medido no período periovulatório, quando, de acordo com os parâmetros previamente citados, se obteve escore cervical máximo (escore total igual ou superior a 7; média do escore cervical neste estudo:8).

5.4.5 - Presença de Microorganismos no Trato Genital

Por muito tempo se suspeitou que a interação mucoespermática poderia ser prejudicada por microorganismos que colonizam o trato genital, potencialmente por alteração do pH (Ansari, Gould & Ansari,1980) e que a deterioração da motilidade do esperma mantido à temperatura corporal poderia dever-se principalmente ao crescimento de bactérias no sêmen e à alteração bacteriana do pH seminal (Appel & Evans,1978). Entretanto, em estudo realizado em grande número de casais assintomáticos sobre a influência da colonização bacteriana, incluindo um amplo espectro de microorganismos (Eggert-Kruse et al.,1992), a mesma foi de significância clínica mínima na penetração espermática. Além disso, já havia sido demonstrado que a interação mucoespermática não

melhorava com terapêutica antimicrobiana específica baseada no antibiograma (Eggert-Kruse et al.,1988).

Em pesquisa realizada com o objetivo de determinar a significância clínica do pH do muco endocervical na interação mucoespermática, Eggert-Kruse e cols. (1993) realizaram rastreamento microbiano em 46 casais. Novamente não foi encontrada influência significativa da colonização microbiana no pH do muco endocervical. Os exames incluíram a pesquisa de fungos e de tricomonas na secreção vaginal, exame bacterioscópico de secreção cervical, pesquisa de *Chlamydia trachomatis* e *Herpes simplex* no material endocervical, cultura para micoplasmas e bactérias potencialmente patogênicas em material obtido de *swab* cervical e de ejaculados. As espécies mais freqüentemente isoladas nos esfregaços cervicais foram lactobacilos (65,2%) e, nos ejaculados, *Staphylococcus epidermidis* (30,2%). Amostras estéreis foram observadas 10% das mulheres e em 7% dos homens. Nenhuma das amostras foi positiva para *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* ou *Trichomonas vaginalis*. O vírus do *Herpes simplex* foi encontrado em 4,3% dos casos e a *Candida albicans* em 6,3% das mulheres. O *Ureaplasma urealyticum* foi isolado em 8,7% dos esfregaços cervicais e em 22% dos ejaculados. A incidência de microorganismos nos casais assintomáticos corresponde àquela relatada em outro estudo com uma população maior (n=1000) (Eggert-Kruse et al.,1992). Não foi constatada influência significativa da colonização microbiana no pH do muco endocervical.

Embora a colonização microbiana não pareça afetar o pH do muco cervical, no presente estudo foram incluídas somente pacientes com exames a fresco e/ou bacterioscópico de secreção vaginal negativos para germes patogênicos, em função de

que a medida do pH foi realizada através de um mesmo eletrodo de vidro que, embora sistematicamente desinfetado após cada reutilização, poderia servir como veículo de contaminação entre as pacientes. O muco cervical age como filtro, prevenindo a entrada de fungos e bactérias na cavidade uterina; portanto, geralmente contém microorganismos patogênicos. Em 1987, Eggert-Kruse e cols. realizaram um estudo com o objetivo não só de avaliar a incidência de micoplasmas, clamídia, bactérias aeróbicas e anaeróbicas patogênicas, tricomonas, fungos e herpes simples em 233 casais assintomáticos com infertilidade persistente, bem como de esclarecer a influência desses microorganismos na interação mucoespermática. Os resultados mostraram que, para a maioria dos microorganismos isolados, não foram evidenciadas influências adversas na penetração espermática, concluindo que a colonização microbiana não interfere na interação mucoespermática. Apenas uma das amostras dos 233 casais avaliados foi considerada estéril nas várias culturas bacteriológicas efetuadas, demonstrando que a realização de exames culturais de rotina em casais assintomáticos não é recomendada.

5.4.6 - Formas de Medida do pH do Muco Cervical

Em relação às formas de medida do pH, isto é, métodos colorimétrico e eletrométrico, a literatura também oferece resultados controversos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO,1992), a medida do pH do muco cervical pode ser realizada com papel indicador de pH tanto no muco *in situ* como imediatamente após a sua coleta.

Van Duyn (1974) sugere que a medida de pH do muco cervical deva ser realizada com eletrodo e no muco cervical *in situ*, correspondendo aos achados de

Kroeks & Kremer (1977). Esses dois trabalhos compararam as medidas de pH no muco endocervical realizadas com eletrodo e papel indicador e não encontraram correlação entre os dois métodos nem entre as medidas realizadas diretamente no canal endocervical (*in situ*) e após a remoção do muco de seu sítio natural (*in vitro*).

Entretanto, no estudo de Ragni e cols. (1984), não houve diferença significativa entre os valores de pH medidos pelos métodos colorimétrico e eletrométrico. Da mesma forma, Eggert-Kruse e cols., em 1993, demonstraram correlação altamente significativa ($r = 0,957$; $n = 19$) entre os valores de pH obtidos pelo método colorimétrico no muco endocervical imediatamente após sua aspiração e pelo método eletrométrico no muco *in situ*.

Peek & Matthews (1986), ao realizarem medidas de pH *in situ* e *in vitro* com papel indicador e microeletrodo, verificaram forte correlação entre os valores de pH no muco aspirado obtidos com as duas técnicas ($r = 0,95$; $n = 40$). Quando o pH do muco cervical medido com o papel *in situ* foi comparado com o pH do mesmo muco medido com o eletrodo após aspiração, houve correlação razoável ($r = 0,83$; $n = 20$). Não houve correlação quando o eletrodo foi utilizado para a medida *in situ* e o papel para a medida no muco aspirado ($r = 0,04$; $n = 20$). A perda de CO_2 , nesse caso, é uma explicação improvável, pois ocorreram desvios tanto ácidos quanto básicos. Argumento similar se aplica para a contaminação por secreção vaginal ácida.

No presente estudo o pH foi medido por microeletrodo de vidro no muco cervical *in situ*, havendo alteração do pH promovida pela exposição do muco ao ar atmosférico. Estes achados talvez expliquem os resultados controversos quanto às

formas de medida obtidos pelos diversos autores até o momento, pois este aspecto não foi considerado nos seus estudos. Uma vez comprovada a importância da exposição do muco ao ar, vê-se que a maioria dos autores, até então, desconsiderou essa variável, tornando-se discutíveis e controversos seus resultados. Com base no presente estudo e na literatura existente, acredita-se que, talvez tão importante quanto a medida do pH e o método utilizado para realizá-la, seja o tempo de exposição do muco ao ar atmosférico antes da medida.

5.5 - PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS NA INFERTILIDADE POR FATOR CERVICAL

Na grande maioria dos casos de infertilidade devidos ao fator cervical, o tratamento preconizado são as diversas técnicas de inseminação artificial (Chaffkin et al.,1991; Karlstron et al.,1991; Hurst et al.,1992; Turhan et al.,1992; Cignitti et al.,1992; Hanggi et al.,1993; Irianni et al.,1993; Kossakowski, Stephenson & Smith,1993; Dodson & Haney,1996), sendo as inseminações intra-uterina e a intraperitoneal as mais utilizadas, nas quais se ultrapassa a barreira cervical (Oei et al.,1992; Calatayud & Ruiz-Jorro,1992; Campana et al.,1996; Tomlinsom et al.,1996). Ainda que esses procedimentos sejam de baixos riscos, ambos têm custo elevado, pois requerem preparo do sêmen em laboratório (Negri et al.,1996; Qasim et al.,1996)e, para obtenção de resultados satisfatórios, que sejam acompanhados de hiperestimulação ovariana controlada (Chaffkin et al.,1991; Dodson et al.,1991; Dodson & Haney,1991,1996; Calatayud & Ruiz-Jorro,1992; Silverberg et al.,1992; Turhan et al.,1992; Irianni et al.,1993; Davis & Rosenwaks,1994; Plosker et al.,1994), sendo, portanto, necessário

seguimento ultra-sonográfico (Bonilla-Mussoles et al.,1992; Steinkampf,1994; Itskovitz-Eldor & Thaler,1996). As taxas de gestação após inseminação artificial por fator cervical variam, de acordo com os diversos autores, desde 6,8% (Hanggi et al.,1993) até 35% (Karlstron et al.,1991; Friedman et al.,1991; Calatayud & Ruiz-Jorro,1992; Dodson & Haney,1996).

O tratamento de pacientes com falha na penetração mucoespermática por inseminação artificial, portanto, está geralmente restrito a centros especializados.

Já os casos de fator cervical devidos a baixo pH do muco cervical têm como terapêutica a realização de ducha vaginal com bicarbonato de sódio, a qual, ao contrário das diversas técnicas de inseminação artificial, é um procedimento extremamente simples, sem ônus financeiro e com bons resultados. Existem vários trabalhos mostrando significativa melhora na concepção pela simples administração da ducha vaginal de bicarbonato de sódio em casais apropriadamente selecionados..

Ferrari e cols. (1978) prescrevendo ducha vaginal pré-coital com solução de bicarbonato de sódio a 10% para 25 casais com testes pós-coitais negativos ou ausentes, ela apresentando muco ovulatório de boa qualidade e ele espermograma normal, obtiveram melhora dos testes em 80% dos casos.

Ansari, Gould & Ansari (1980) administraram ducha vaginal com solução de bicarbonato de sódio a 93 pacientes inférteis com testes pós-coitais negativos ou pobres e pH no muco cervical inferior a 7,0, observando notável melhora nos testes, com gestação em 31 pacientes.

Jenkins e cols. (1989) relatam que, ao estudarem 20 casais com pH do muco periovulatório inferior a 6,0, testes de penetração *in vitro* alterados, provas imunológicas negativas e cujas mulheres realizaram ducha vaginal de bicarbonato de sódio, encontraram melhora da motilidade espermática em todos os casos e, em 10 deles, ocorreu gestação.

Everhardt e cols. (1990) avaliaram a influência da ducha vaginal com bicarbonato de sódio sobre a viscoelasticidade do muco cervical e sobre a penetração espermática *in vitro* e *in vivo* em 25 casais com ciclos ovulatórios regulares, sêmen normal e testes pós-coitais negativos, constatando melhora da viscoelasticidade do muco cervical bem como dos testes pós-coitais e de penetração *in vitro*.

Assim, com base no exposto, ressalta-se a importância de diagnosticar o baixo pH como etiologia do fator cervical, já que seu tratamento com ducha de bicarbonato evita a utilização de tecnologias mais sofisticadas, das quais a inseminação artificial é um exemplo.

Finalizando, até o momento só se pode especular em relação à persistência de acidez no muco cervical e sua etiologia. Postula-se que poderia ser devida a um excesso de lactobacilos no muco endocervical, gerando a hipótese da excessiva produção de ácido láctico por essas bactérias. Cabe notar, entretanto, que em pacientes assintomáticas a colonização bacteriana com patógenos potenciais não parece ser importante para a interação mucoespermática (Eggert-Kruse et al.,1987). Tampouco foi encontrada influência significativa da colonização bacteriana no pH do muco endocervical no estudo realizado por Eggert-Kruse e cols. (1993), no qual as espécies mais freqüentemente

isoladas nos esfregaços cervicais foram os lactobacilos (65,2%). Alternativamente, poderia haver produção excessiva de glicogênio no interior do canal cervical, aumentando o substrato para a formação de ácido láctico. Outros fatores menos facilmente identificáveis também podem ser relevantes. Assim sendo, a etiologia da acidez do muco cervical requer futuras investigações.

Enfatiza-se, portanto, a importância da realização da medida do pH do muco cervical durante a avaliação do fator cervical na investigação da infertilidade conjugal, bem como o cuidado de realizar-se a medida imediatamente após a colocação do espéculo vaginal diretamente no canal endocervical.

Sugere-se, ainda, descartar o baixo pH do muco como causa da má interação mucoespermática antes de proceder a uma inseminação artificial e considerar a ducha de bicarbonato como terapêutica apropriada em casos de acidez do muco.

Para que se possa avaliar o período de tempo exato, no intervalo entre zero e cinco minutos, em que as alterações de pH do muco cervical decorrentes da exposição ao ar atmosférico passam a ocorrer, seria de todo recomendável a realização de estudos posteriores com o objetivo de determinar o momento adequado de realização dos testes de penetração espermática para que retratem fielmente as condições fisiológicas.

6 - CONCLUSÕES

O estudo do pH do muco ecto e endocervical de um grupo composto por 20 pacientes em idade reprodutiva, com ciclos ovulatórios regulares e muco cervical pré-ovulatório de boa qualidade nos permitiu chegar às seguintes conclusões:

6.1 - O pH do muco ecto e endocervical medido *in situ* com microeletrodo de vidro se eleva após cinco e dez minutos de exposição ao ar atmosférico.

6.2 - As medidas de pH ectocervical realizadas aos zero e cinco minutos e aos zero e dez minutos têm diferenças estatisticamente significativas, ao contrário das realizadas aos cinco e dez minutos.

6.3 - As medidas de pH endocervical realizadas aos zero e cinco minutos e aos zero e dez minutos mostram diferenças estatisticamente significativas, ao contrário do que ocorre com as realizadas aos cinco e dez minutos.

6.4 - O fato de o pH do muco cervical se alterar *in situ* não tem sido considerado pelos diversos autores nos testes utilizados para a avaliação do fator cervical até o momento. Esses achados, não valorizados até então, podem interferir nos testes atualmente utilizados para avaliação do fator cervical em infertilidade. Sugere-se maior valorização dessa variável na avaliação do fator cervical.

6.5 - Futuras investigações fazem-se necessárias para avaliar o período de tempo exato, no intervalo entre zero e cinco minutos, em que as alterações de pH do

muco cervical promovidas pela exposição ao ar atmosférico têm início e, conseqüentemente, o momento adequado de realização dos testes de penetração espermática para que estes retratem fielmente as condições fisiológicas.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGOSTINI, A.; TAWFIK, E.; CAMPANA, A. - Quantitative post-coital test: sperm counts in cervical mucus after enzymatic liquefaction. **Hum. Reprod.**, **11**: 311-17, 1996.
2. ALEXANDER, N.J. - Evaluation of male infertility with an *in vitro* cervical mucus penetration test. **Fertil. Steril.**, **36**: 201-8, 1981.
3. ALEXANDER, N.J. & ANDERSON, D.J. - Immunology of semen. **Fertil. Steril.**, **47**: 192-205, 1987.
4. AMERICAN FERTILITY SOCIETY. - **Investigation of the infertile couple.** Birmingham, AL, 1986. p.29.
5. ANSARI, A.H.; GOULD, K.; ANSARI, V.M. - Sodium bicarbonate douching for improvement of the postcoital test. **Fertil. Steril.**, **33**: 608-12, 1980.
6. APPEL, R.A. & EVANS, P.R. - The effect of temperature on sperm motility. II. Is bacterial growth a factor? **Fertil. Steril.**, **30**: 436-8, 1978.
7. ASAAD, M.; ABDULLA, U.; HIPKIN, L.; DIVER, M. - The effect of clomiphene citrate treatment on cervical mucus and plasma estradiol and progesterone levels. **Fertil. Steril.**, **59**: 539-43, 1993.
8. BARUFFI, R.L.R.; MAURI, A.L.; PETERSEN, C.G.; CAMPOS, M.S.; FRANCO JÚNIOR, J.G. - Influência do pH do muco cervical no teste pós-coito. **J. Brasil. Ginec.**, **102**: 213-5, 1992.
9. BERGMAN, P. - Sperm migration and cyclic changes in cervical mucus. **Fertil. Steril.**, **4**: 183, 1953.
10. BLASCO, L. - Clinical approach to the evaluation of sperm-cervical mucus interactions. **Fertil. Steril.**, **28**: 1133-45, 1977.
11. BLASCO, L.; SOKOLOSKI, J.E.; WOLF, D.P. - A practical, objective approach to the evaluation of the sperm and cervical mucus in humans. **Fertil. Steril.**, **32**: 55-60, 1979.
12. BONILLA-MUSSOLES, F.; SIMÓN, C.; RAGA, F.; BLANES, J. - Endosonografía e infertilidad. In: REMOHI, J.; PELLICER, A.; BONILLA-MUSSOLES, F. - **Avances en reproducción asistida.** Madrid, Ediciones Diaz de Santos S.A., 1992. p.401-34.

13. BOYERS, S.P. - Evaluation and treatment of disorders of the cervix. In: KEYE JR, W.R.; CHANG, R.J. et al. - **Infertility: evaluation and treatment**. Philadelphia, WB Saunders Company, 1995. p.195-229.
14. BRECKENRIDGE, M.A.B.; PEDERSON, D.P.; POMMERENKE, W.T. - A pH study of human cervical secretions. **Fertil. Steril.**, **1**: 427-34, 1950.
15. BUSHANA RAO, K.S.P. & MASSON, P.L. - Structure of cervical mucin. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.63-7.
16. CALATAYUD, C. & RUIZ-JORRO, M. - Inseminación artificial con semen del marido. In: REMOHI, J.; PELLICER, A.; BONILLA-MUSSOLES, F. - **Avances en reproducción asistida**. Madrid, Ediciones Diaz de Santos S.A., 1992. p.383-400.
17. CAMPANA, A.; SAKKAS, D.; STALBERG, A.; BIANCHI, P.G.; COMTE, I.; PACHE, T.; WALKER, D. - Intrauterine insemination: evaluation of the results according woman's age, sperm quality, total sperm count per insemination and life table analysis. **Hum. Reprod.**, **11**:732-36,1996.
18. CHAFFKIN, L.M.; NULSEN, J.C.; LUCIANO, A.A.; METZGER, D.A. - A comparative analysis of the cycle fecundity rates associated with combined human menopausal gonadotropin (hMG) and intrauterine insemination (IUI) versus either hMG or IUI alone. **Fertil. Steril.**, **55**: 252-7, 1991.
19. CHANTLER, E. & DEBRUYNE, E. - The relationship between the cervical glycosil transferases and mucus rheology. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed.- **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.77-82.
20. CHECK, J.H.; DIETTERICH, C.; LAUER, C.; LISS, J. - Ovulation inducing-drugs versus specific mucus therapy for cervical factor. **Int. J. Fertil.**, **36**: 108-12, 1991.
21. CHECK, J.H.; DAVIES, E.; ADELSON, H. - A randomized prospective study comparing pregnancy rates following clomiphene citrate and human menopausal gonadotrophin therapy. **Hum. Reprod.**, **7**: 801-5, 1992.
22. CHECK, J.H.; BOLLENDORF, A.; KATSOFF, D.; KOSAK, J. - The frequency of antisperm antibodies in the cervical mucus of women with poor postcoital tests and their effect on pregnancy rates. **Am. J. Reprod. Immunol.**, **32**: 38-42, 1994.
23. CIGNITTI, M.; COSTA, M.; CHIARELLI, A; PAPI, A. et al. - Inseminazione intrauterina omologa: nostra esperienza. **Ann. Ostet. Ginecol. Med. Perinat.**, **113**: 119-23, 1992.

24. CLEMENT, P.B. - Pathology of gamete and zygote transport. In: KRAUS, F.T.; DAMJANOV, I.; KAUFMAN, N., ed. - **Pathology of reproductive failure**. Baltimore, Williams and Wilkins, 1991. p.59.
25. COLLINS, J.A.; BURROWS, E.A.; YEO, J.; YOUNGLAI, E.V. - Frequency and predictive value of antisperm antibodies among infertile couples. **Hum. Reprod.**, **8**: 592-8, 1993.
26. COLLINS, J.A.; SO, Y.; WILSON, E.H., et al. - The postcoital test as a predictor of pregnancy among 355 infertile couples. **Fertil. Steril.**, **41**: 703-8, 1984.
27. CROSIGNANI, P.G.; COLLINS, J.; COOKE, J.D.; DUZFAWSY, E.; RUBIN, B. - Unexplained infertility. **Hum. Reprod.**, **8**: 977-980, 1993.
28. DAJAVAN, V. - Postcoital testing: the cervical factor as a cause of infertility. In: MISHEL, D.R.; DAJAVAN, V.; LOBO, R.A., ed. - **Infertility, contraception and reproductive endocrinology**. 3.ed. Boston, Blackwell Scientific, 1991. p.599-611.
29. DAJAVAN, V. & KUNITAKE, G.M. - Fractional in-vivo and in-vitro examination of postcoital cervical mucus in the human. **Fertil. Steril.**, **20**: 197-210, 1969.
30. DAVIS, O.K. & ROSENWAKS, Z. - Advances in ovarian hyperstimulation. In: BEHRMAN, S.J.; PATTON JR, G.W.; HOLTZ, G., ed. - **Progress in infertility**. 4.ed. Boston, Little Brown, 1994. p.55-65.
31. De FAZIO, S.R. & KETCHEL, M.M. - Biochemistry of mucines. **J. Reprod. Fertil.**, **25**: 11-19, 1971.
32. DERMAN, S.G. & ADASHI, E.Y. - Adverse effects of fertility drugs. **Drug Saf.**, **11**: 408-21, 1994.
33. DI PAOLA, G.R. & PROCACCINI, J.C. - Enfoque do casal estéril. In: FERRARI, A.N. - **Esterilidade conjugal**. São Paulo, Livraria. Roca Ltda., 1991. p.1-11.
34. DODSON, W.C. & HANEY, A.F. - Controlled ovarian hyperstimulation and intauterine insemination for treatment of infertility. **Fertil. Steril.**, **55**: 457-67, 1991.
35. DODSON, W.C.; WALMER, D.K.; HUGHES, C.L.; YANCY, S.E.; HANEY, A.F. - Adjunctive leuprolide therapy does not improve cycle fecundity in controlled ovarian hyperstimulation and intauterine insemination of subfertile women. **Obstet. Gynecol.**, **78**: 187-90, 1991.
36. DODSON, W.C. & HANEY, A.F. - Superovulation and intrauterine insemination. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.2233-43.

37. DOODY, M.C. & GOOD, M.C. - The postcoital test: a quantitative method. **J. Androl.**, **14**: 149-54, 1993.
38. EDVINSSON, A.; BERGMAN, P.; STEEN, Y.; NILSSON, S. - Characteristics of donor semen and cervical mucus at the time of conception. **Fertil. Steril.**, **39**: 327-32, 1983.
39. EDWARDS, R.G. & BRODY, S.A. - Evaluation and treatment of the infertile woman. In: _____ - **Principles and practice of asisted human reproduction**. Philadelphia, WB Saunders Company, 1995. p.195-232.
40. EGGERT-KRUSE, W.; GEHRARD, I.; HOFMAN, H.; RUNNEBAUM, B.; PETZOLDT, D. - Influence of microbial colonization on sperm-mucus interaction *in vivo* and *in vitro*. **Hum. Reprod.**, **2**: 301-8, 1987.
41. EGGERT-KRUSE, W.; HOFMAN, H.; GEHRARD, I.; BILKE, A.; RUNNEBAUM, B.; PETZOLDT, D. - Effects of antimicrobial therapy on sperm-mucus interaction. **Hum. Reprod.**, **3**: 861-9, 1988.
42. EGGERT-KRUSE, W.; HOFMÄB, A.; HAURY, E.; TILGEN, W.; GERHARD, I.; RUNNEBAUM, B. - Relationship between local anti-sperm antibodies and sperm-mucus interaction *in vitro* and *in vivo*. **Hum. Reprod.**, **6**: 267-76, 1991.
43. EGGERT-KRUSE, W.; POHL, S.; NÄHER, H.; TILGEN, W.; RUNNEBAUM, B. - Microbial colonization and sperm-mucus interaction - results in 1000 infertile couples. **Hum. Reprod.**, **5**: 612-20, 1992.
44. EGGERT-KRUSE, W.; KÖHLER, A.; ROHR, G.; RUNNEBAUM, B. - The pH as an important determinant of sperm-mucus interaction. **Fertil. Steril.**, **59**: 617-28, 1993.
45. EGGERT-KRUSE, W.; BUHLINGER-GÖPFARTH, N.; ROHR, G.; PROBST, S.; AUFENANGER, J.; NÄHER, H.; RUNNEBAUM, B. - Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in semen and relationship with parameters of male fertility. **Hum. Reprod.**, **11**: 1408-17, 1996.
46. EVERHARDT, E.W.; DONY, J.M.J.; LEMMENS, W.A.J.G.; DOESBURG, W.H.; DE PONT, J.H.H.M. - Buffering capacity of human semen. **Fertil. Steril.**, **46**: 114-9, 1986.
47. EVERHARDT, E.; DONY, J.M.J.; JANSEN, H.; LEMMENS, W.A.J.G.; DOESBURG, W.H. - Improvement of cervical mucus viscoelasticity and sperm penetration with sodium bicarbonate douching. **Hum. Reprod.**, **5**: 133-7, 1990.
48. FARHI, J.; VALENTINE, A.; BAHADUR, G.; SHENFIELD, F.; STEELE, S.J.; JACOBS, H.S. - In-vitro cervical mucus-sperm penetration tests and outcome of infertility treatments in couples with repeatedly negative post-coital tests. **Hum. Reprod.**, **10**: 85-90, 1995.

49. FERRARI, A.N. - Detecção da ovulação pelas mudanças de cor do muco cervical. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, **24**: 8-14, 1978.
50. FERRARI, A.N.; LOMANDO, S.; ADAMY, E.A. - O uso do bicarbonato de sódio no teste pós coital. In: REUNIÃO NACIONAL DA SOCIEDADE DE REPRODUÇÃO HUMANA, 5, Porto Alegre, 1978. **Resumos**. Porto Alegre, 1978. p.43.
51. FERRARI, A.N. - 20 anos de muco cervical. **Femina** , **14**: 992-5, 1986.
52. FERRARI, A.N.; CORRÊA, C.M.; ADREANI, M.B.T.; COSTAMILAN, T.B. - Estudos retrospectivos do teste pós-coital e espermocitograma. **Reprodução**, **1**: 97-100, 1987.
53. FERRARI, A.N. - Investigação de esterilidade: nossa rotina. **Rev. Lat. Amer. Est. Fert.**, **1**: 70-4, 1987.
54. FERRARI, A.N. - Fator cervical e interação muco-sêmen na esterilidade conjugal. In: _____ - **Esterilidade conjugal**. São Paulo, Livraria. Roca Ltda., 1991. p.141-66.
55. FERRARI, A.N. & MATTOS, A.L.G. - El uso del bicarbonato de sodio en el test post-coital. **Rev. Lat. Amer. Est. Fert.**, **10**: 33-6, 1996 .
56. FRIEDMAN, A.J.; JUNEAU-NORCROSS, M.; SEDENSKY, B.; ANDREWS, N.; DORFMAN, J.; CRAMER, D.W. - Life table analysis of intrauterine insemination for cervical factor and male factor and idiopathic infertility. **Fertil. Steril.**, **55**: 1005-7, 1991.
57. FOX, C.A.; MELDRUM, S.J.; WATSON, B.W. - Continuous measurement by radiotelemetry of vaginal pH during human coitus. **J. Reprod. Fert.**, **33**: 69-75, 1973.
58. GATON, E.; ZEJDEL, L.; BERNSTEIN, D.; GLEZERMAN, M.; CZERNOBILSKY, B.; INSLER, V. - The effect of estrogen and gestagen on the mucus production of human endocervical cells: a histochemical study. **Fertil. Steril.**, **38**: 580-5, 1982.
59. GLASS, R.H. -Infertility. In: YEN, S.S.C. & JAFE, R.B., ed. - **Reproductive endocrinology**. 3.ed. Philadelphia ,WB Saunders Company, 1991. p.689-709.
60. GORODESKI, G.I. - The cervical cycle. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery, and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.301-24.
61. GOULD, K.G. & ANSARI, A.H. - Chemical alteration of cervical mucus by eletrolytes. **Am. J. Obstet. Gynecol** **145**: 92-9, 1983.
62. GRAHAM, S.& FRASER, I.S. - The progestogen-only mini-pill. **Contraception**, **26**: 373-88, 1982.

63. GREENHALL, E. & VESSEY, M. - The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. **Fertil. Steril.** **54**:978-83, 1990.
64. GUZICK, D.S. - Human infertility: an introduction. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.1897-1913.
65. HAAS, G.G. JR. - Antisperm antibodies. In: BEHRMAN, S.J.; PATTON JR, G.W.; HOLTZ, G., ed. - **Progress in infertility**. 4.ed. Boston, Little Brown, 1994. p.283-303.
66. HANGGI, W.; BIRKHAUSER, M.H.; LEDERMANN, B.; BRANDENBERGER, A.W.; SIEBER, A. - Die Homologe intruterine insemination als therapiemöglichkeit der andrologisch bedingten sterilität. **Geburtshilfe Frauenheilkd**, **53**: 635-40, 1993.
67. HARRISON, R.F. - The diagnostic and therapeutic potential of the post-coital test. **Fertil. Steril.**, **36**: 71-5, 1981.
68. HÖGLUND, A. & ODEBLAD, E. - Sperm penetration in cervical mucus: a biophysical and group-theoretical approach. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.129-34.
69. HÜHNER, M. - Sterility in the male and female and its treatment. New York, Robman, 1913.
70. HULL, M.G.R.; SAVAGE, P.E.; BROMHAM, D.R. - Prognostic value of the postcoital test: prospective study based on time-specific conception rates. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, **89**: 299-305, 1982.
71. HURST, B.S.; TJADEN, B.L.; KIMBALL, A.; SCHLAFF, W.D.; DAMEWOOD, M.D.; ROCK, J.A. - Superovulation with or without intrauterine insemination for the treatment of infertility. **J. Reprod. Med.**, **37**: 237-41, 1992.
72. INSLER, V.; MELMED, H.; EICHENBRENNER, I.; SERR, D.; LUNENFELD, B. - The cervical score. **Internat. J. Gynec. Obstet.**, **10**: 223-8, 1972.
73. INSLER, V.; BERNSTEIN, D.; GLEZERMAN, M. - Diagnosis and classification of the cervical factor of infertility. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.253-65.
74. IRIANNI, F.M.; RAMEY, J.; VAINTRAUB, M.T.; OEHNINGER, S.; ACOSTA, A.A. - Therapeutic intrauterine insemination improves with gonadotropin ovarian stimulation. **Arch. Androl.**, **31**: 55-62, 1993.

75. ITSKOVITZ-ELDOR, J. & THALER, I. - Ultrasound and doppler ultrasound in reproductive medicine. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.1991-2030.
76. JENKINS, J.M.; ANTHONY, F.W; PURDIE, B.; GILBERT, D.; NOON, R.; MASSON, G.M. - Acidic endocervical mucus: a potentially cause of subfertility. **Contemp. Rev. Obstet. Gynaecol.**, **1**: 273-8, 1989.
77. JENKINS, J.M.; BROOK, P.F.; SARGEANT, S.; COOKE, I.D. - Endocervical mucus pH is inversely related to serum androgen levels and waist to hip ratio. **Fertil. Steril.**, **63**:1005-8, 1995.
78. JONSSON, B.; ENEROTH, P.; LANDGREN, B.M.; WIKBORN, C. - Evaluation of *in vitro* sperm penetration testing of 176 infertile couples with the use of ejaculates and cervical mucus from donors. **Fertil. Steril.**, **45**: 353-6, 1986.
79. KARLSTROM, P.O.; BAKOS, O.; BERGH, T.; LUNDKVIST, O. - Intrauterine insemination and comparison of two methods of sperm preparation. **Hum. Reprod.**, **6**: 390-5, 1991.
80. KATZ, D.F.; MORALES, P.; SAMUELS, S.J.; OVERSTREET, J.W. - Mechanisms of filtration of morphologically abnormal human sperm by cervical mucus. **Fertil. Steril.**, **54**: 513-6, 1990.
81. KELLERMAN, A.S. & WEED, J.C. - Sperm motility and survival in relation to glucose concentration: An *in vitro* study. **Fertil. Steril.**, **21**: 802-5, 1970.
82. KESSERÜ, E. - Interacción moco cervical- semen: métodos de diagnóstico. In: TOZZINI, R. I. & colaboradores. - **Esterilidad e infertilidad humanas**. 2.ed. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana S.A., 1989. p.112-41.
83. KESSERÜ, E.; GARMENDIA, F.; WESTPHAL, N.; PARADA, J. - The hormonal and peripheral effects of d-norgestrel in postcoital contraception. **Contraception**, **10**: 411-24, 1974.
84. KESSERÜ, E.; LARRAÑAGA, A.; HURTADO, H.; BENAVIDES, G. - Fertility control by continuous administration of d-Norgestrel, 0,03mg. **Int. J. Fertil.**, **17**: 17, 1972.
85. KESSERÜ, E. & WESTPHAL, N. - Variación de la relación del ácido sialico y proteína en el moco cervical humano. **Reproducción**, **2**: 131-9, 1975.
86. KOSSAKOWSKI, J.; STEPHENSON, M.; SMITH, H. - Intrauterine insemination with husband's sperm: comparison of pregnancy rates in couples with cervical factor, male factor, immunological factor and idiopathic infertility. **Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.**, **33**: 183-6, 1993.

87. KREMER, J. - Significance of progressively motile spermatozoa in the postcoital test for the fertility prognosis. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **Advances in diagnosis and treatment of infertility**. New York, Elsevier North Holland, 1981. p.229-34.
88. KREMER, J. -Treatment of disturbed sperm-cervical mucus interaccion. In: INSLER, V. & LUNENFELD, B. - **Infertility: male and female**. New York, Churchill Livingstone, 1986. p. 521-9.
89. KREMER, J. & JAGER, S. - The sperm-cervical mucus contact test (SCMCT); preliminary report. **Fertil. Steril.**, **27**: 335-40, 1976.
90. KREMER, J. & JAGER, S. - The significance of antisperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction. **Hum. Reprod.**, **7**: 781-4, 1992.
91. KREMER, J.; JAGER, S.; KUIKEN, J. - The meaning of cervical mucus in couples with antisperm antibodies. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.181-6.
92. KRETZER, D.M. & BAKER, H.W.G. - Human infertility: the male factor. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.2031-61.
93. KROEKS, M.V.A.M. & KREMER, J. - The pH in the lower third of the genital tract. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.109-118.
94. KRUGER, T.F. & FRANKEN, D. - Evaluation of male-factor infertility. In: BEHRMAN, S.J.; PATTON JR, G.W.; HOLTZ, G., ed. - **Progress in infertility**. 4.ed. Boston, Little Brown, 1994. p.113-121.
95. KUNZ,G.; BEIL, D.; DEININGER, H.; WILDT, L.; LEYENDECKER,G. - The dynamics of rapid sperm transport through the female genital tract: evidence from vaginal sonography of uterine peristalsis and hysterosalpingoscintigraphy. **Hum. Reprod.**, **11**: 627-32,1996.
96. KURZROK, R. & MILLER, E.G. - Biochemical studies of human semen and its relation to mucus of the cervix uteri. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **15**: 56-72, 1928.
97. LINDEN, P.J.Q.; KETS, M.; GIMPEL, J.A.; WIEGERNICK, M.A.A.M. - Cyclic changes in the concentration of glucose and fructose in human cervical mucus. **Fertil. Steril.**, **57**: 573-4, 1992.
98. MACDONALD, R.R. - Cervical mucus and the management of abortion. **J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonwealth**, **70**: 580-92, 1963.

99. MACDONALD, R.R. & LUMLEY, I.B. - Endocervical pH measured *in vivo* through the normal menstrual cycle. **Obstet. Gynecol.**, **35**: 202-6, 1970.
100. MAKLER, A.; DAVID, R.; BLUMENFELD, Z.; BETTER, O.S. - Factors affecting sperm motility. VII. Sperm viability as affected by change of pH and osmolarity of semen and urine specimens. **Fertil. Steril.**, **36**: 507-11, 1981.
101. MARSHBURN, P.B. & KUTTEH, W.H. - The role of antisperm antibodies in infertility. **Fertil. Steril.**, **61**: 799-811, 1994.
102. MASSON, P.L. - Carbohydrate component of cervical mucus. In: ELSTEIN, M.; MOGHISSI, K.S.; BORTH, R. - **Cervical mucus in human reproduction**. Copenhagen, Scriptor, 1973. p.82-92.
103. MATILSKY, M.; BATTINO, S.; BEN AMI, M. et al. - The effect of ejaculatory frequency on semen characteristics of normozoospermic and oligozoospermic men from an infertile population. **Hum. Reprod.**, **8**: 71-3, 1993.
104. MATTHEWS, C.D.; MAKIN, A.E.; COS, L.W. - Experience with *in vitro* sperm penetration testing in infertile couples. **Fertil. Steril.**, **33**: 187-92, 1980.
105. McGRATH, J.W.; STRASBURGER, V.C.; CUSHING, A.H. - Secretory IgA in cervical mucus. **J. Adolesc. Health**, **15**: 423-5, 1994.
106. MOGHISSI, K.S.; DABICH, D.; LEVINE, J.; NEUHAUS, O.W. - Mechanism of sperm migration. **Fertil. Steril.**, **15**: 15-23, 1964.
107. MOGHISSI, K.S. - Ciclic changes of cervical mucus in normal and progestin treated women. **Fertil. Steril.**, **17**: 663-75, 1966.
108. MOGHISSI, K.S.; SYNER, F.N.; EVANS, T.N. - A composite picture of the menstrual cycle. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **114**: 405-18, 1972.
109. MOGHISSI, K.S. - Postcoital test: physiologic basis, technique, and interpretation. **Fertil. Steril.**, **27**: 117-29, 1976.
110. MOGHISSI, K.S. - Sperm migration through the human cervix. In: INSLER, V. & BETTENDORF, G., ed. - **The uterine cervix in reproduction**. Stuttgart, Georg Thieme, 1977. p.146-65.
111. MOGHISSI, K.S.; SACCO, A.G.; BORIN, K. - Immunologic infertility. I. Cervical mucus antibodies and postcoital test. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **136**: 941-50, 1980.
112. MOGHISSI, K.S. & WALLACH, E.E. - Unexplained infertility. **Fertil. Steril.**, **39**: 5-21, 1983.
113. MOGHISSI, K.S. - The function of the cervix in human reproduction. **Current Probl. Obstet. Gynecol. Fertil.**, **7**: 1-57, 1984.

114. MOGHISSI, K.S. - Diagnosis and classification of disturbed sperm cervical mucus interaction. In: INSLER, V. & LUNENFELD, B. - **Infertility: male and female**. New York, Churchill Livingstone, 1993. p.299-314.
115. MOSHER, W.D. & PRATT, W.F. - Reproductive impairments among married couples. **Vital Health Statistics Series 23**, nº11, 1982.
116. MOSHER, W.D. & PRATT, W.F. - Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. **Fertil. Steril.**, **56**:192-3, 1991.
117. MOURA, R.A. - Culturas de material do trato genitourinário. In: _____ - **Técnicas de laboratório**. 2.ed. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu Ltda., 1982 a. p.384-386.
118. MOURA RA. Colorações. In: _____ - **Técnicas de laboratório**. 2.ed. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu Ltda., 1982 b. p.349.
119. MURILLO, A.; CARRANZA-LIRA, S.; MATIENZO, F. et al. - Evaluación del factor cervical en la mujer con inducción de la ovulación. **Ginecol. Obstet. Mex.**, **63**: 115-8, 1995.
120. NEGRI, P.; GRECHI, E.; TOMASI, A.; FABBRI, E.; CAPUZZO, A. - Effectiveness of pentoxifylline in semen preparation for intrauterine insemination. **Hum. Reprod.**, **11**:1236-39,1996.
121. OBERST, F.W. & PLASS, E.D. - The hydrogen ion concentration of human vaginal discharge. **Amer. J. Obstet. Gynecol.**, **32**: 22-35, 1936.
122. ODEBLAD, E. - The functional structure of human cervical mucus. **Acta Obst. Gyn. Scand.**, **47**(supp 1) : 59-79, 1968.
123. ODEBLAD, E. - Biophysical techniques of assessig cervical mucus and microstructure of cervical epithelium. In: ELSTEIN, M.; MOGHISSI, K.S.; BORTH, R. - **Cervical mucus in human reproduction**. Copenhagen, Scriptor, 1973. p.58-74.
124. OEI, M.L.; SURREY, E.S.; McCALEB, B.; KERIN, J.F. - A prospective, randomized study of pregnancy rates after transuterotubal and intrauterine insemination. **Fertil. Steril.**, **58**: 167-71, 1992.
125. OVERSTREET, J.W. - Evaluation of sperm-cervical mucus interaction. **Fertil. Steril.**, **45**: 324-6, 1986.
126. OVERSTREET, J.W.; DAVIS, R.O.; KATZ, D.F. - Semen evaluation. **Infertil. Reprod. Med. Clin. North. Am.**, **3**: 329-40, 1992.
127. PAAVONEN, J. - Immunopathogenesis of pelvic inflammatory disease and infertility- what do we know and what shall we do? **J. Br. Fertil. Soc.**, **1**:42-5,1996.

128. PAGE, H. - Estimation of the prevalence and incidence of infertility in a population: a pilot study. **Fertil. Steril.**, **51**: 571-77, 1989.
129. PEEK, J.C. & MATTHEWS, C.D. - The pH of cervical mucus, quality of semen, and outcome of the postcoital test. **Clin. Reprod. Fertil.**, **4**: 217-25, 1986.
130. PLOSKER, S.M.; JACOBSON, W.; AMATO, P. - Predicting and optimizing success in an intra-uterine insemination programme. **Hum. Reprod.**, **9**: 2014-21, 1994.
131. POON, W.W. & McCOSHEN, J.A. - Variances in mucus architecture as a cause of cervical factor infertility. **Fertil. Steril.**, **44**: 361-65, 1985.
132. POPULATION INFORMATION PROGRAM. - Esterilidad y enfermedades comunicadas por via sexual: un desafío para la salud pública. **Popul. Rep. (L)** **4 S**: L-1-L-43, 1984.
133. PURVIS, K.; CHRISTIANSEN, E. - The impact of infection on sperm quality. **J. Br. Fertil. Soc.**, **1**: 31-41, 1996.
134. PRENTICE, A.; INGAMELLS, S. - Endometriosis and infertility. **J. Br. Fertil. Soc.**, **1**: 51-55, 1996.
135. QASIM, S.M.; TRIAS, A.; KARACAN, M.; SHELDEN, R.; KEMMANN, E. - Does the absence or presence of seminal fluid matter in patients undergoing ovulation induction with intrauterine insemination? **Hum. Reprod.**, **11**: 1008-10, 1996.
136. RAGNI, G.; RUSPA, M.; BESTETTI, O.; DE LAURETIS, L.; OLIVARES, D.; WYSSLING, H. - Measurement of pH in the lower female genital tract during the periovulatory period: comparison of the eletrometric and colorimetric procedures. **Acta. Eur. Fertil.**, **15**: 377-80, 1984.
137. RANDALL, J.M. & TEMPLETON, A. - Cervical mucus score and *in vitro* sperm mucus interaction in spontaneous and clomiphene citrate cycles. **Fertil. Steril.**, **56**: 465-68, 1991.
138. RUBISTEIN, B.B.; STRAUSS, H.; LAZARUS, M.L.; HANKIN, H. - Sperm survival in women: motile sperm in the fundus and uterine tubes of surgical cases. **Fertil. Steril.**, **2**: 15-19, 1951.
139. SCHUMACHER, G.F.B. - Secreciones del tracto genital femenino. In: KAISER, R. & SCHUMACHER, G.F.B. - **Reproducción humana : fertilidad, esterilidad y contracepción**. Barcelona, Salvat editores S.A., 1986. p.75-90.
140. SCHUMACHER, G.F.B. - Soluble proteins of human cervical mucus. In: ELSTEIN, M.; MOGHISSI, K.S.; BORTH, R. - **Cervical mucus in human reproduction**. Copenhage, Scriptor, 1973. p. 93-113.

141. SHULMAN, S.; PITTS, W.; BAOYING, L.; HU, C. - Role of pH on sperm-mucus interaction. **Fertil. Steril.**, **60**: 588-9, 1993. [letter]
142. SILVERBERG, K.M.; JOHNSON, J.V.; OLIVE, D.L.; BURNS, W.N.; SCHENKEN, R.S. - A prospective, randomized trial comparing two different intrauterine insemination regimens in controlled ovarian hyperstimulation cycles. **Fertil. Steril.**, **57**: 357-61, 1992.
143. SIMS, J.A. & GIBBONS, W.E. - Treatment of human infertility: the cervical and uterine factors. In: ADASHI, E.Y.; ROCK, J.A.; ROSENWAKS, Z., ed. - **Reproductive endocrinology, surgery, and technology**. New York, Lippincott-Raven, 1996. p.2142-69.
144. SINGER, A. - The uterine cervix from adolescence to the menopause. **Brit. J. Obstet. Gynaecol.**, **82**: 81-99, 1975.
145. SNYDER, M.G. & ZANEVELD, L. J. - Treatment of cervical mucus with lectins: effects on sperm migration. **Fertil. Steril.**, **44**: 633-37, 1985.
146. SOBRERO, A.J. - Infertilidade involuntária, aspectos epidemiológicos. In: FERRARI, A.N. - **Esterilidade conjugal**. São Paulo, Livraria Roca Ltda., 1991. p.12-28.
147. SORENSEN, S.S. - Infertility factors: their relative importance and share in an unselected material of infertility patients. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, **59**: 513-20, 1980.
148. SOUZA, W.L.M.; MATTOS, A.L.G.; POZZER, M.A.; FERREIRA Fº, C.P.; FERRARI, A.N. - Abnormal postcoital test (PCT) and antisperm antibodies (ASA) in semen. In: WORLD CONGRESS ON FERTILITY AND STERILITY, 14, Caracas, 1992. **Abstracts**. Venezuela, 1992. p.67. (Abstract, 116)
149. SPEROFF, L.; GLASS, R.H.; KASE, N.G. - **Clinical gynecologic endocrinology and infertility**. 4.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1989. p.513-46.
150. SPEROFF, L.; GLASS, R.H.; KASE, N.G. - Infertilidade de causa feminina. In: _____ - **Endocrinologia ginecológica clínica e infertilidade**. 5.ed. São Paulo, Editora Manole Ltda, 1995. p.849-80.
151. STEINKAMPF, M.P. - Ultrasonography in infertility management. In: BEHRMAN, S.J.; PATTON JR, G.W.; HOLTZ, G., ed. - **Progress in infertility**. 4.ed. Boston, Little, Brown, 1994. p.339-74.
152. TANEY, F.H.; GRAZI, R.V.; WEISS, G.; SCHMIDT, C.L. - Detection of premature luteinization with serum progesterone levels at the time of the postcoital test. **Fertil. Steril.**, **55**: 513-5, 1991.
153. TEMPLETON, A.; FRASER, C.; THOMPSON, B. - The epidemiology of infertility in Aberdeen. **Br. Med. J.**, **301**: 142-56, 1990.

154. THOMPSON, L.A.; BARRATT, C.L.R.; THORNTON, S.J.; BOLTON, A.E.; COOKE, I.D. - The effects of clomiphene citrate and cyclofenil on cervical mucus volume and receptivity over the periovulatory period. **Fertil. Steril.**, **59**: 125-9, 1993.
155. THONNEAU, P.; MARCHAND, S.; TALLEC, S. et al. - Incidence and main causes of infertility in a resident population (18.500.000) of three French regions (1988-1989). **Hum. Reprod.**, **6**: 811-6, 1991.
156. TIETZE, C.; GUTTMACHER, A.F.; RUBIN, S. - Time required for conception in 1727 planned pregnancies. **Fertil. Steril.**, **1**: 338, 1950.
157. TOMLINSOM, M.J.; AMISSAH-ARTHUR, J.B.; THOMPSON, K.A.; KASRAIE, J.L.; BENTIK, B. - Prognostic indicators for intrauterine insemination (IUI): statistical model for IUI success. **Hum. Reprod.**, **11**:1892-96,1996.
158. TOTH, A.; O'LEARY, W.M.; LEDGER, W. - Evidence for microbial transfer by spermatozoa. **Obstet. Gynecol.**, **59**:556-59, 1982.
159. TREDWAY, D.R.; SETTLAGE, D.F.; NAKAMURA, R.M.; MOTOSHIMA, M.; UMEZAKI, C.U.; MISHHELL, D.R. - Significance of timing for postcoital evaluation of cervical mucus. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **121**: 387-93, 1975.
160. TREDWAY, D.R.; WORTHAM, J.W.; CONDON-MAHONY, M.; BAKER, D.; SHANE, J.M. - Correlation of postcoital evaluation with *in vitro* sperm mucus determinations and ureaplasma cultures. **Fertil. Steril.**,**43**: 286-9, 1985.
161. TRUSSEL, R.E. & MAC DOUGAL, R.F. - Vaginal acidity (*in vivo* glass eletrode measurements) in late pregnancy and its relation to the vaginal flora. **Amer. J. Obstet. Gynecol.**, **39**: 77-81, 1940.
162. TURHAN, N.O.; ARTINI, P.G.; D'AMBROGIO, G.; DROGHINI, F.; VOLPE, A.; GENAZZANI, A.R. - Studies on direct intraperitoneal insemination in the management of male factor, cervical factor, unexplained and immunological infertility. **Hum. Reprod.**, **7**: 66-71, 1992.
163. VAESSEN, M. (WORLD FERTILITY SURVEY). Analysis of WFS infecundity and childlessness data. **Current Population Reports, Séries (L)** p.4-6, set.1984.
164. VAN DUYN JR, C. - The determination of pH values of cervical mucus *in vitro* and *in vivo*. **Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, **4/2**: 61-6, 1974.
165. WAH, R.M.; ANDERSON, D.J.; HILL, J.A. - Asynptomatic cervicovaginal leucocytosis in infertile women. **Fertil. Steril.**, **54**: 445-50, 1990.
166. WESTROM, L.V. - Chlamydia and its effect on reproduction. **J. Br. Fertil. Soc.**, **1**:23-30,1996.

167. WORLD HEALTH ORGANIZATION.. - **Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical.** 2.ed. Buenos Aires, Editorial Medica Panamericana S.A., 1989. 80p.
168. WORLD HEALTH ORGANIZATION. - **WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction.** 3.ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1992. 107p.
169. ZAVOS, P.M. & COHEN, M.R. - The pH of cervical mucus and the postcoital test. **Fertil. Steril.**, **34**: 234-8, 1980.