



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

**JALSI TACON ARRUDA**

---

**Comparação entre dois protocolos para estimulação ovariana  
com agonista/antagonista do hormônio liberador de  
gonadotrofinas (GnRH) em mulheres submetidas ao primeiro  
ciclo de reprodução assistida**

---

**Goiânia**  
**2013**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**     Dissertação     Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Autor (a):	JALSI TACON ARRUDA	
E-mail:	jalsitacon@gmail.com	
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
Vínculo empregatício do autor:	nenhum	
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Sigla: CAPES
País: Brasil	UF: GO	CNPJ:
Título:	Comparação entre dois protocolos para estimulação ovariana com agonista/antagonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) em mulheres submetidas ao primeiro ciclo de reprodução assistida	
Palavras-chave:	Hormônio Liberador de Gonadotrofina, GnRH agonista, GnRH antagonista, indução da ovulação, infertilidade	
Título em inglês:	Comparison GnRH agonist short protocol and GnRH antagonist in Brazilian normoresponder patients undergoing their first cycle of controlled ovarian stimulation	
Palavras-chave em inglês:	Gonadotropin-Releasing Hormone, GnRH agonist, GnRH antagonist ovarian stimulation, infertility.	
Área de concentração:	Ciências da Saúde – Reprodução Humana	
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	01/07/2013	
Programa de Pós-Graduação:	Ciências da Saúde – Faculdade de Medicina	
Orientador (a):	Mário Silva Approbato	
E-mail:	approbato.m@hotmail.com	

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação. O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 2013

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) autor (a)

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

**JALSI TACON ARRUDA**

---

---

**Comparação entre dois protocolos para estimulação ovariana  
com agonista/antagonista do hormônio liberador de  
gonadotrofinas (GnRH) em mulheres submetidas ao primeiro  
ciclo de reprodução assistida**

---

---

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

**Orientador:** Dr. Mário Silva Approbato

**Goiânia**

**2013**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
GPT/BC/UFG**

A779c Arruda, Jalsi Tacon.  
Comparação entre dois protocolos para estimulação ovariana com agonista/antagonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) em mulheres submetidas ao primeiro ciclo de reprodução assistida [manuscrito] / Jalsi Tacon Arruda. - 2013.

85 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Mário Silva Approbato.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás,  
Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Ciências da Saúde,  
2013.

Bibliografia.

1. Reprodução humana assistida. 2. Ovulação – Indução. 3. Infertilidade feminina. I. Título.

CDU:612.6

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

**Universidade Federal de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO**

---

**Aluna: JALSI TACON ARRUDA**

---

**Membros:**

- 1. Dr. Mário Silva Approbato – Presidente FM/UFG**
- 2. Dra. Maria Alves Barbosa – Membro interno FEN/UFG**
- 3. Dra. Nádia Aparecida Bérغامo – Membro externo ICB/UFG**
- 4. Dra. Liliane da Rocha Siriano – Membro externo HC/UFG**

**Data: 01/07/2013**

*Dedico este trabalho a todos que  
fizeram, fazem e farão parte da  
minha história...*

## AGRADECIMENTOS

---

*“Para terminar uma caminhada de mil passos devemos iniciar com o primeiro”.*

*Provérbio Chinês*

*DEUS* te agradeço pelos momentos em que me carregou no colo...

*Luíz Francisco Arruda*, meu pai, agradeço por me dizer sempre que “o caminho mais curto entre dois pontos será sempre uma reta”...

*Danizete Tacon Francisco Arruda*, minha mãe, por me ensinar que o conhecimento é a única herança que levamos deste mundo.

*Bruno Lacerda Fleury Ventura*, meu marido, pelo carinho.

*Prof. Dr. Mário Silva Approbato*, agradeço pela experiência.

A equipe do Laboratório de Reprodução Humana – Hospital das Clínicas, em especial a *Tatiana Moreira da Silva*, *Mônica Canêdo Silva Maia*, *Carolina Rodrigues de Mendonça* e *Líliam Borges Fernandes*, queridas amigas, pelos ensinamentos e por compartilharem a amizade, os sorrisos e as angústias do dia a dia.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que essa etapa da caminhada chegasse ao fim.

*Obrigada!*

## **Homenagem**

*“As quatro horas seguintes passaram lentamente, mas quando examinei o oócito final, senti uma excitação como jamais em toda a minha vida. Uma excitação inacreditável. Em 28 horas os cromossomos estavam apenas começando sua marcha em direção ao centro do ovo... um ovo humano, vivo, em pleno desenvolvimento... ali, naquele único ovo, o último do grupo, repousa o segredo completo do programa humano... minhas esperanças... a possibilidade de ajudar as pessoas... foi subitamente se aproximando de uma realização concreta”.*

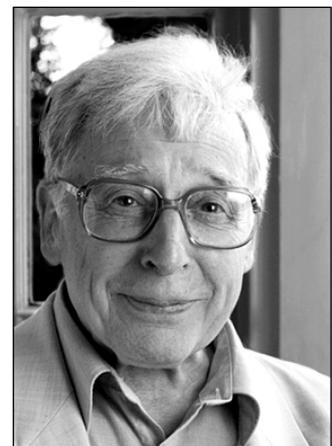
*“Foi uma visão indescritível: quatro lindos blastocistos humanos, esferas redondas de células cheias de fluido, com seus dois tipos de células – uma fina e delicada, sobre a superfície de cada esfera, destinada a se transformar em placenta, que iria nutrir o feto durante os nove meses de gestação; e a outra, um lindo disco de células fetais, o início do feto ao começar sua jornada em direção a vida. Leve, transparente, flutuante, expandindo-se lentamente, mas ainda menor do que uma cabeça de alfinete: ali estavam eles, quatro excelentes blastocistos. A intrínseca beleza disso... temos a sensação de sermos altamente privilegiados... quando caminhei para o carro, olhei para todas as estrelas, a lua, o céu noturno sobre Oldham e pensei nas visões igualmente surpreendentes que eu tinha acabado de ver sob meu microscópio”...*

Robert Geoffrey Edwards

Biólogo britânico, pioneiro na fertilização *in vitro*

Prêmio Nobel de Medicina em 2010

\*27/09/1925 - †10/04/2013



# SUMÁRIO

---

	Página
TABELAS E FIGURAS .....	viii
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS .....	ix
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
1.1 Laboratório de Reprodução Humana (LabRep–HC–UFG) .....	05
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	08
2.1 Fisiologia reprodutiva .....	08
2.2 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas – GnRH .....	10
2.2.1 Agonistas do GnRH .....	15
2.2.2 Antagonistas do GnRH .....	16
2.3 Análogos do GnRH e reprodução assistida .....	18
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	20
3.1 Objetivo geral .....	20
3.2 Objetivos específicos .....	20
<b>4. MÉTODOS</b> .....	21
4.1. Aspectos éticos .....	21
4.2 Casuística .....	21
4.3 Caracterização da amostra .....	21
4.4 Pacientes .....	21
4.4.1 Critérios de inclusão .....	21
4.4.2 Critérios de exclusão .....	22
4.5 Protocolos avaliados .....	22
4.6 Análise dos dados obtidos .....	25
<b>5. PUBLICAÇÕES</b> .....	26
Artigo 1 - Indução da ovulação controlada por medicamentos – uma revisão integrativa sobre a história e atualizações .....	27
Artigo 2 - Comparison GnRH agonist short protocol and GnRH antagonist: laboratorial outcomes in Brazilian normoresponder patients undergoing their first IVF/ICSI cycle ....	38
<b>6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	55
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	57
<b>ANEXOS</b> .....	67
ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....	68
ANEXO 2. Segundo Melhor Pôster apresentado durante o 2º Congresso Goiano de Ginecologia e Obstetrícia – Sociedade Goiana de Ginecologia e Obstetrícia .....	69
ANEXO 3. Normas para publicação do JBRA Assisted Reproduction .....	70

## TABELAS E FIGURAS

---

<b>Figura 1</b>	Recepção do Laboratório de Reprodução Humana no dia 02/12/2012 – um domingo, evidenciando a procura pelo serviço .....	06
<b>Figura 2</b>	Molécula original de GnRH e os locais de substituição de aminoácidos para formação de agonistas e antagonistas do GnRH .....	10
<b>Figura 3</b>	Estrutura em 3D da molécula do GnRH .....	11
<b>Figura 4</b>	Desenho esquemático do hipotálamo e hipófise .....	12
<b>Figura 5</b>	Protocolo para indução da ovulação controlada utilizando agonista do GnRH. O número de setas não corresponde ao número de dias de utilização dos indutores ou de ultrassonografias (USG) .....	23
<b>Figura 6</b>	Protocolo para indução da ovulação controlada utilizando antagonista do GnRH. O número de setas não corresponde ao número de dias de utilização dos indutores ou de ultrassonografias (USG) .....	23
<b>Tabela 1</b>	Characteristics for patients who received different protocols of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) for pituitary suppression during controlled ovarian stimulation .....	52
<b>Tabela 2</b>	Controlled ovarian stimulation and laboratory outcomes for patients who received different protocols of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) for pituitary suppression during controlled ovarian stimulation .....	53

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

<b>2pn</b>	Dois pró-núcleos de um oócito fertilizado
<b>AMH</b>	Hormônio anti-Mülleriano – <i>Anti-Müllerian Hormone</i>
<b>CC</b>	Citrato de clomifeno
<b>CEP/HC-UFG</b>	Comitê de Ética em Pesquisa - Hospital das Clínicas
<i>e.g.</i>	Por exemplo – do latim <i>exempli gratia</i>
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>FIV</b>	Fertilização <i>in vitro</i>
<b>FSH</b>	Hormônio Folículo Estimulante – <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
<b>GnRH</b>	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas – <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
<b>hCG</b>	Hormônio Gonadotrofina Coriônica Humana – <i>human Chorionic Gonadotropin</i>
<b>ICSI</b>	Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóide – <i>Intracytoplasmic Sperm Injection</i>
<b>IU</b>	Inseminação Intra-uterina
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corporal
<b>IOC</b>	Indução da Ovulação Controlada
<b>ISMAAR</b>	<i>International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction</i>
<b>kg/m<sup>2</sup></b>	Kilogramas por metro quadrado
<b>LabRep</b>	Laboratório de Reprodução Humana
<b>LH</b>	Hormônio Luteinizante – <i>Luteinizing Hormone</i>
<b>M2</b>	Metáfase II
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>OHSS</b>	Síndrome de Hiperestimulação Ovariana – <i>Ovarian Hyperstimulating Syndrome</i>
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>pg/mL</b>	Picogramas por mililitro
<b>REDLARA</b>	Rede Latinoamericana de Reprodução Assistida
<b>r-FSH</b>	FSH recombinante
<b>SisFert</b>	Prontuário eletrônico utilizado pelo LabRep
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>TRA</b>	Técnicas de Reprodução Assistida
<b>TSH</b>	Hormônio Tireotrófico ou Tireotrofina – <i>Thyroid Stimulating Hormone</i>
<b>UI/dia</b>	Unidade internacional por dia
<b>UI/mg</b>	Unidade internacional por miligrama

## RESUMO

---

A infertilidade afeta cada vez mais casais e as técnicas de reprodução assistida oferecem uma possibilidade de tratamento e a chance de ter um filho. Assim, a primeira tentativa de indução da ovulação é fundamental para o sucesso do ciclo ou, até mesmo, para que tentativas futuras sejam bem sucedidas. **Objetivo:** comparar os protocolos utilizando agonista ou antagonista do GnRH para estimulação ovariana em pacientes normo-respondedoras submetidas ao primeiro ciclo de FIV/ICSI. **Métodos:** foi realizada uma revisão da literatura sobre a história da indução da ovulação controlada por medicamentos. A partir dos dados disponíveis no banco de prontuários eletrônicos SISFERT utilizado pelo Laboratório de Reprodução Humana (LabRep-HC-FM-UFG), um estudo observacional retrospectivo comparativo foi conduzido com 50 pacientes distribuídas em dois grupos de acordo com o protocolo: GnRH-agonista (acetato de leuprolide 1 mg/dia protocolo curto) ou GnRH-antagonista (cetorelix 0,25 mg/dia); e que receberam 150 UI/dia de rFSH (alfa-folitropina) e 250 µg de rhCG (alfa-coriogonadotrofina) em ambos os grupos. **Resultados:** foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos dias de estimulação com rFSH, dose total de gonadotrofina, dias de uso do GnRH, dose total de GnRH e o número de folículos ( $\geq 16$  mm) no dia do rhCG no grupo GnRH-agonista. Não houve diferença significativa nos outros parâmetros, no entanto, o número de oócitos recuperados foi ligeiramente maior no grupo GnRH-agonista, mas a taxa de fertilização foi maior no grupo GnRH-antagonista. As taxas de gravidez química e clínica foram similares nos dois grupos. **Conclusões:** embora não tenha havido diferenças significativas nos resultados analisados, o uso do protocolo flexível com antagonista facilita a manipulação pela paciente usuária e possibilita doses menores tanto de gonadotrofinas quanto do próprio antagonista, reduzindo o custo do tratamento quando comparado ao protocolo com agonista do GnRH.

**Palavras-chave:** Hormônio Liberador de Gonadotrofina, GnRH agonista, GnRH antagonista, indução da ovulação, infertilidade.

## ABSTRACT

---

*Infertility affects more couples and assisted reproduction techniques offer a possibility of treatment and the chance of having a child. Thus, the first attempt to ovulation induction is critical to the success of the cycle or even for future attempts is successful. **Objective:** To compare the protocols using GnRH agonist or antagonist for ovarian stimulation in normo-responders undergoing the first cycle of IVF/ICSI. **Methods:** we conducted a literature review on the history of ovulation induction controlled by medications. From the data available in the database of electronic medical records SISFERT used in the Laboratory of Human Reproduction (LabRep-HC-FM-UFG) a comparative retrospective observational study was conducted with 50 patients divided into two groups according to protocol: GnRH-agonist (leuprolide acetate 1 mg/day short protocol) or GnRH-antagonist (Cetrorelix 0.25 mg/day), which received 150 IU/day of rFSH (follitropin alpha) and 250 µg of rhCG (alpha-coriogonadotrofina) in both groups. **Results:** Statistically significant differences were observed in the days of stimulation with rFSH, total dose of gonadotropin, days of use of GnRH, GnRH dose and total number of follicles ( $\geq 16$  mm) on the day of the group rhCG GnRH agonist. There was no significant difference in other parameters, however, the number of oocytes retrieved was slightly higher in the GnRH agonist, but fertilization rate was higher in the GnRH-antagonist. Pregnancy rates and clinical chemistry were similar in both groups. **Conclusions:** although no significant differences in the results analyzed, the use of flexible antagonist protocol facilitates the handling and enables the patient using much lower doses of gonadotropins itself as the antagonist, reducing the cost of treatment when compared to the protocol with GnRH agonist.*

**Key words:** *Gonadotropin-Releasing Hormone, GnRH agonist, GnRH antagonist ovarian stimulation, infertility.*

# 1. INTRODUÇÃO

---

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define a infertilidade como uma doença do sistema reprodutivo caracterizada pela incapacidade de obter uma gravidez após 12 meses ou mais de relações sexuais regulares sem o uso de métodos contraceptivos (ZEGERS-HOCHSCHILD *et al.*, 2009).

Gurunath *et al.*, (2011) relatam que 8 a 10% dos casais da população mundial em idade reprodutiva apresentam dificuldades para engravidar. Boivin *et al.*, (2007) referem uma prevalência de 3,5 a 16,7% de casais inférteis nos países desenvolvidos e Makuch *et al.*, (2010) mencionam 6,9 a 9,3% nos países em desenvolvimento. A prevalência mundial da infertilidade tem sido estimada em torno de 4 a 15%, devido a falta de padronização das metodologias utilizadas nas coletas de dados (WHO, 2002).

Nos Estados Unidos o *The National Women's Health Information Center* estimou que 10 a 15% dos casais no mundo são considerados inférteis conforme os critérios da OMS, e 20% desses casais recorrem as Técnicas de Reprodução Assistida (TRA) (WHO, 2002; BOIVIN *et al.*, 2007; MAKUCH *et al.*, 2010; GURUNATH *et al.*, 2011).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde (MS), mais de 278 mil casais apresentam dificuldades para gerar um filho em algum momento da vida reprodutiva (MS, 2005). Makuch *et al.*, (2011) em recente pesquisa sobre o acesso da população brasileira de baixa renda às TRAs constataram que há aproximadamente quatro milhões de casais inférteis. Embora não existam estatísticas relacionadas a prevalência da infertilidade no Brasil, Makuch *et al.*,

(2011) consideram que a taxa internacional (15%) seria aplicável a população do Brasil.

Acredita-se que no decorrer do século XXI a infertilidade afetará mais casais que procurarão serviços médicos que ofereçam TRAs como a Fertilização *in vitro* (FIV) ou a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI – *Intracytoplasmic Sperm Injection*).

A Rede Latino-Americana de Reprodução Assistida (REDLARA) define técnica de reprodução assistida como:

Todos os tratamentos ou procedimentos que incluem a manipulação *in vitro* tanto dos oócitos humanos quanto dos espermatozoides, ou embriões, com o propósito de se estabelecer uma gravidez. Inclui, mas não está limitado, a fertilização *in vitro* com transferência de embriões, a transferência intratubária de gametas, a transferência intratubária de zigotos, a transferência intratubária de embriões, a criopreservação de gametas e embriões, a doação de oócitos e embriões e a cessão temporária de útero (*surrogacy*). TRA não inclui inseminação assistida (inseminação artificial) utilizando espermatozoides, sejam do parceiro da mulher ou de um doador. (REDLARA, 2010).

A FIV foi desenvolvida com finalidade terapêutica para tratar pacientes inférteis por fator tubário, ou seja, para aquelas pacientes em que as trompas estavam ausentes ou obstruídas de forma irreversível. O primeiro caso de sucesso foi em 1978 com um único oócito obtido por ciclo natural, que culminou no nascimento de Louise Brown (EDWARD, 1965; STEPTOE; EDWARD, 1978).

A Indução da Ovulação Controlada (IOC) passou a ser utilizada na rotina a partir da década de 80, no tratamento da infertilidade para obter mais oócitos e, assim, mais embriões para transferência, reduzindo a necessidade de ciclos sucessivos de estimulação (FIGUEIREDO, 2005). Atualmente existem diversos protocolos de IOC que utilizam análogos do hormônio liberador de gonadotrofina

(GnRH – *Gonadotropin-Releasing Hormone*) – fármacos que atuam como agonista ou antagonista da molécula endógena; e gonadotrofinas exógenas, sob controle ecográfico para monitorizar a resposta ovariana (WHO, 2002).

A variedade de protocolos demonstra a busca pela alternativa mais eficaz, e a escolha do esquema que proporcione a melhor resposta folicular de maneira mais fisiológica possível é fundamental. Contudo, a definição do melhor protocolo ainda é uma incógnita devido ao fato de que cada paciente responde de forma individual a estimulação, e essa resposta ovariana pode variar a cada ciclo induzido, ainda que utilizando o mesmo medicamento e dosagem (AL-INANY; ABOULGHAR, 2002; BARMAT *et al.*, 2005; ROSSIN-AMAR, 2006).

A resposta individual depende de fatores como idade, reserva ovariana, taxa metabólica basal, desordens fisiológicas como ovários policísticos, endometriose, tempo de infertilidade além de características sócio-econômicas (FIGUEIREDO, 2005). Há fatores que predizem a resposta ovariana e, portanto, a probabilidade de sucesso. No entanto, nenhum fator antecipa a resposta definitiva, mas são utilizados na tentativa de minimizar possíveis complicações como, por exemplo, a Síndrome de Hiperestimulação Ovariana (OHSS – *Ovarian Hyperstimulating Syndrome*).

A idade é o fator mais importante na determinação das taxas de sucesso, já que a diminuição da fertilidade ocorre por consequência da depleção do número de oócitos e da qualidade reduzida dos mesmos (NIKOLAOU, 2008; YOVIK, 2011). A depleção folicular diminui a produção de estradiol (E<sub>2</sub>) e inibina-β aumentando a concentração de hormônio folículo estimulante (FSH - *Follicle Stimulating Hormone*) (SINHA, 2012).

O nível basal de FSH é habitualmente utilizado como marcador para verificar a reserva ovariana, embora sua avaliação dependa do dia do ciclo menstrual analisado (RODINI, 2010). O hormônio anti-Mülleriano (AMH – *Anti-Müllerian Hormone*) é cada vez mais utilizado para verificar a reserva ovariana relacionada ao número de folículos antrais, não dependendo do dia do ciclo menstrual além de auxiliar na prevenção da OHSS (FLEMING *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2010).

Os efeitos secundários sobre a resistência a insulina e hiperandrogenismo podem afetar a fertilidade nos casos de obesidade, medida através do Índice de Massa Corporal (IMC  $\text{kg/m}^2$ ) (TANG *et al.*, 2006). Hábitos pessoais como tabagismo ou etilismo também são fatores de impacto negativo. A herança genética com variantes anormais (mutações) tanto dos genes que codificam os hormônios quanto os receptores do FSH e do hormônio luteinizante (LH – *Luteinizing Hormone*) podem também restringir a resposta ovariana (RODINI, 2010; FAUSER *et al.*, 2011; SINHA, 2012).

Nem sempre o previsto acontece mesmo após avaliação desses fatores. Na prática, respostas inadequadas poderão ocorrer e o resultado do primeiro ciclo de estimulação ovariana é fundamental para ajustar o tratamento no ciclo subsequente. Dessa forma, uma abordagem individualizada é imprescindível para um resultado bem sucedido conforme o objetivo da IOC – um único bebê saudável, nenhum risco de saúde para a mãe (e, posteriormente, para o feto) e o custo mínimo do tratamento (SHARMA *et al.*, 2009).

## **1.1 Laboratório de Reprodução Humana (LabRep–HC–UFG)**

O Laboratório de Reprodução Humana é um serviço oferecido pelo Hospital das Clínicas, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. É o único serviço universitário da rede de saúde pública de Goiás que atua na área da reprodução humana, oferecendo tratamento para a infertilidade além de desenvolver pesquisas básicas e clínicas na busca pela eficiência das Técnicas de Reprodução Assistida.

Foi inaugurado em 12 de dezembro de 1989 oferecendo técnicas de baixa complexidade (inseminação intra-uterina e coito programado). Em 2002 passou a oferecer também as técnicas de alta complexidade (FIV e ICSI) à população.

A equipe é composta por médicos ginecologistas especialistas em reprodução humana, por enfermeiras especialistas em ginecologia/obstetrícia e técnicas de enfermagem, e biomédicas especialistas em embriologia. Disponibiliza a residência em ginecologia – especialidade reprodução humana e as áreas de psicologia e assistência social são oferecidas aos pacientes que procuram o serviço do LabRep.

Casais provenientes de diversas cidades brasileiras e de baixa renda com dificuldades em arcar com o tratamento na rede particular procuram o LabRep. O Sistema Único de Saúde (SUS) subsidia as consultas médicas e exames. A medicação imprescindível para a IOC é custeada pela paciente, já que o SUS não subsidia esse tipo de medicamento especial. Contudo, pode ser obtida com desconto na rede de farmácias conveniadas com a apresentação do receituário do LabRep. E os casais pagam pelo valor de custo referente aos materiais

utilizados nos procedimentos realizados. Alguns casais recorrem ao Ministério Público para aquisição da medicação necessária para a estimulação ovariana.



**Figura 1.** Recepção do Laboratório de Reprodução Humana no dia 02/12/2012 – um domingo, evidenciando a procura pelo serviço. Fonte: <http://labrep.hc.ufg.br/pages/41804>

Dos casais atendidos no LabRep 53% são por infertilidade primária (casais que nunca engravidaram) e 47% por infertilidade secundária (casais que já engravidaram e apresentam dificuldades para uma nova gravidez) (APPROBATO *et al.*, 2011; MAIA *et al.*, 2011). Há uma crescente demanda de mulheres que buscam a reanastomose tubária para reverter a laqueadura, já que grande parte delas são jovens, estão em um segundo casamento e desejam um filho da relação atual. Desse modo, esse contingente de mulheres laqueadas soma-se as pacientes com infertilidade por fator tubário, totalizando 37% dos casos de

infertilidade; e o fator masculino (32%) apresenta-se como a segunda causa mais frequente (ARRUDA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

O número de procedimentos realizados no LabRep vem crescendo corroborando com a literatura que relata o aumento da infertilidade devido as mudanças de hábitos não só do estilo de vida (*e.g.* consumo elevado de alimentos calóricos, tabagismo, etilismo, etc.) como também a gravidez tardia de mulheres que se dedicam mais a vida profissional (MAKUCH *et al.*, 2010, 2011; ARRUDA *et al.*, 2012)

Devido ao alto custo das TRAs, este tipo de terapêutica para infertilidade estaria restrita a população com poder aquisitivo maior. Todavia, é justamente a população de baixa renda a mais exposta às infecções do trato reprodutivo, uma das principais causas de infertilidade (APPROBATO *et al.*, 2011; MAIA *et al.*, 2011). E esses pacientes encontram no serviço público uma oportunidade de tratamento médico.

O conhecimento do protocolo mais eficiente que possibilite não só na redução dos valores desembolsados, mas também a redução das complicações decorrentes do tratamento, e alcance o sucesso de um nascido-vivo saudável, é objetivo dessa e de muitas pesquisas em andamento no LabRep.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1 Fisiologia Reprodutiva

A vida reprodutiva feminina inicia com a menarca e termina com a menopausa. O ciclo menstrual ocorre a cada 28 dias, podendo variar entre 21 a 35 dias. Modificações cíclicas na produção e concentração de hormônios no hipotálamo, hipófise e ovários, culminam na liberação de um oócito maduro e no desenvolvimento endometrial que aguarda a nidação do embrião. Quando a fertilização não acontece, o endométrio sofre a descamação, iniciando assim um novo ciclo (WHO, 2002; TERRES, 2005).

O ciclo menstrual é regulado pelo eixo hipotálamo-hipófise-ovário que controla a secreção e os mecanismos de retroalimentação dos hormônios. O hipotálamo secreta o hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH que estimula a hipófise a secretar o hormônio folículo estimulante – FSH e o hormônio luteinizante – LH, que por sua vez, estimulam a produção de estrogênio e progesterona (TERRES, 2005; MONTENEGRO, 2012).

Baixas concentrações de estrogênio e progesterona causam a degeneração e a descamação do endométrio dando início ao fluxo menstrual caracterizando o primeiro dia do novo ciclo. A fase folicular é marcada pelo incremento na produção de FSH e LH pela hipófise, estimulada pelo GnRH liberado pelo hipotálamo. A concentração de FSH aumenta discretamente durante a primeira metade da fase folicular, estimulando o recrutamento dos folículos (KOTECHI, 2004; RODINI, 2010).

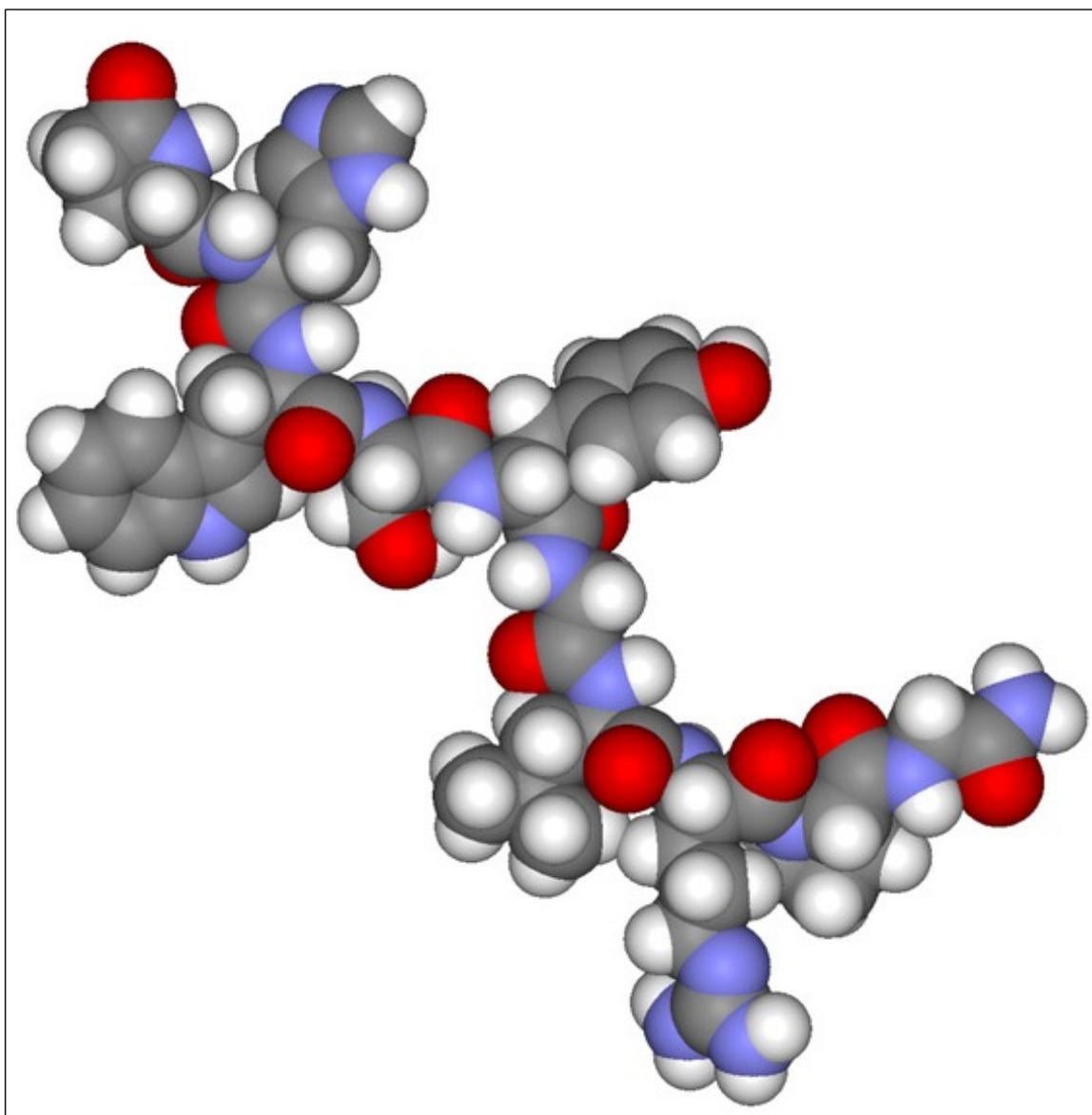
Durante a parte final da fase folicular o  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) estimula o espessamento do endométrio. O FSH e o LH agem sinergicamente no folículo nos dias que antecedem a ovulação e o folículo que adquire receptores de FSH mais rápido será o dominante. O eixo hipotálamo-hipófise requer níveis de 200 pg/mL de  $E_2$ , por um período mínimo de 36 horas para descarregar um pico de LH suficiente para desencadear a ovulação (MONTENEGRO, 2012).

A secreção de LH aumenta consideravelmente dois dias antes da ovulação, ocasionando um pico cerca de 16 horas antes da ovulação. Esse evento garante o prosseguimento da meiose, com a extrusão do primeiro corpúsculo polar – metáfase II, tornando o oócito apto a ser fertilizado. Atua também sobre as taxas de secreção de estrogênio, que começa a diminuir um dia antes da ovulação, enquanto as taxas de progesterona, que começa a ser secretada, aumentam. A rápida elevação das concentrações de FSH e LH dão início à fase ovulatória (KOTECHI, 2004; FAUSER *et al.*, 2011; PU *et al.*, 2011).

A fase lútea, também chamada de progestativa devido à grande quantidade de progesterona secretada, tem duração de  $14 \pm 2$  dias. O aumento súbito de LH e posterior ovulação marca a transição entre a presença do estrogênio produzido pelo folículo para a predominância de progesterona produzida pelo corpo lúteo formado pelo folículo roto. As células do corpo lúteo secretam inibina que, devido a retroalimentação da hipófise, mantém baixas concentrações de FSH e LH ocasionando a degeneração do corpo lúteo, nas semanas seguintes a ovulação, quando o oócito não é fertilizado. Níveis baixos de estrogênio, progesterona e inibina liberam a retroalimentação da hipófise retornando a secreção de FSH e LH iniciando um novo ciclo menstrual (POPOVIC-TODOROVIC *et al.*, 2003; DEVROEY *et al.*, 2004; NIKOLAOU, 2008; MONTENEGRO, 2012).



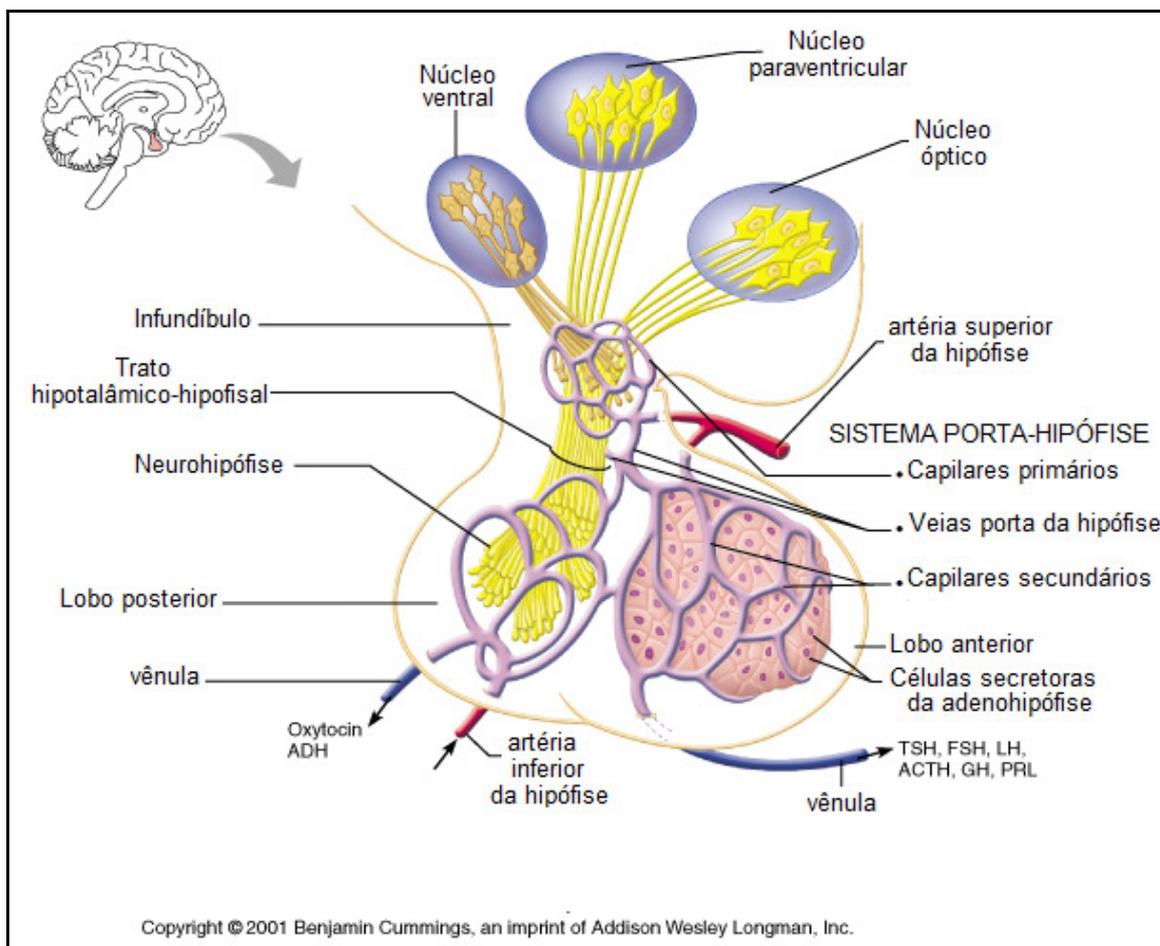
Esse decapeptídeo linear é produzido por neurônios hipotalâmicos, localizados na área pré-óptica do hipotálamo anterior com terminações nervosas nas porções laterais da camada externa, na eminência mediana adjacente ao pedículo hipofisário (LUNENFELD, 2005).



**Figura 3.** Estrutura em 3D da molécula do GnRH. Fonte: ABREU *et al.*, (2006).

Os neurônios que expressam o gene *GnRH* recebem aferências de vias adrenérgicas e peptidérgicas de opiáceos endógenos, que participam da regulação da secreção de gonadotrofinas agindo diretamente no hipotálamo. A

secreção de GnRH é estimulada pela noradrenalina por ativação de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, onde atuam os antagonistas provocando a inibição da ovulação. Contudo, a ativação de receptores  $\beta$ -adrenérgicos provoca a inibição da secreção do GnRH (LAVORATO *et al.*, 2012).



**Figura 4.** Desenho esquemático do hipotálamo e hipófise. Fonte: modificado de MARIEB (2002).

A secreção hipotalâmica do GnRH atinge a hipófise por duas vias. Na via direta através da comunicação entre o hipotálamo e a hipófise. Já a via indireta pode ocorrer de duas formas: 1) através do sistema porta-hipofisário, onde os axônios dos núcleos hipotalâmicos, que terminam nas paredes dos capilares deste sistema, liberam a neurosecreção que atinge as células da adenohipófise; 2) ou por meio de neurônios especiais denominados tanicitos (células que permitem a transferência seletiva de substâncias por facilitar a travessia da

barreira hematoencefálica), responsáveis pelo transporte da neurosecreção para outros neurônios ou para o sistema porta-hipofisário (LUNENFELD, 2005; AL-INANY *et al.*, 2007).

O GnRH é liberado de maneira pulsátil, controlado pelo gerador de pulsos no núcleo arqueado que induz a atividade sincronizada dos neurônios no hipotálamo médio-basal com propriedades eletrofisiológicas exclusivas, liberando o GnRH na circulação porta-hipófise (LAVORATO *et al.*, 2012).

O GnRH liga-se a receptores específicos na membrana dos gonadotrófos da adenohipófise, através de proteínas G, resultando na ativação da fosfolipase C e da proteína quinase C, aumentando a produção de trifosfato inositol e diacilglicerol que mobilizam o cálcio presente na mitocôndria e no retículo endoplasmático, e essas reações cálcio-dependentes ( $\text{Ca}^{2+}$  – calmodulina) estimulam a biossíntese e secreção das gonadotrofinas LH e FSH da mesma forma pulsátil, observando-se um sincronismo entre a secreção de GnRH e LH. O GnRH estimula a exocitose das reservas de gonadotrofinas, aumentando a transcrição dos genes *LH* e *FSH* por modificação da composição da porção glicídica (LAVORATO *et al.*, 2012; PUNDIR *et al.*, 2012).

Os neurônios secretores de GnRH são sensíveis ao controle por retroregulação dos esteróides gonadais (estrogênios, progestogênios e androgênios) e inibina (produto das células gonadais), que modulam a frequência e amplitude da secreção de gonadotrofina durante o desenvolvimento sexual e a progressão do ciclo menstrual (CAVAGNA *et al.*, 2010).

A retroregulação dos hormônios esteróides gonadais é determinada por monoaminas hipotalâmicas onde os neurônios hipotalâmicos dopaminérgicos provocam a inibição da liberação de GnRH, com redução da frequência do

gerador de pulsos, enquanto que os neurônios noradrenérgicos estimulam a secreção do GnRH (ORVIETO *et al.*, 2009).

A frequência dos pulsos de LH e FSH na fase folicular ocorrem a cada 45 minutos, e atinge máxima intensidade na fase ovulatória quando eleva a concentração das gonadotrofinas, e o pico de LH que promove a ovulação (TEHRANINEJAD *et al.*, 2010). Na fase luteínica a concentração do FSH diminui os pulsos do GnRH (por *feedback* negativo) devido ao aumento da concentração de E<sub>2</sub> e progestogênios (DEVROEY *et al.*, 2012).

A ação do GnRH é limitada pelos mecanismos: 1) degradação por proteases associadas a membrana logo após sua ligação aos receptores hipofisários; 2) proteólise lisossômica após internalização do complexo hormônio-receptor. Também pode ser metabolizado por degradação enzimática e excreção renal, já que esse hormônio está amplamente distribuído no líquido extracelular. Essa rápida deterioração garante que os pulsos de GnRH sejam reconhecidos como eventos únicos pelos receptores da hipófise (DEVROEY *et al.*, 2012; LAVORATO *et al.*, 2012; PUNDIR *et al.*, 2012).

A molécula original descrita na década de 70 (SCHALLY *et al.*, 1971), após extensas purificações de extratos hipotalâmicos, foi modificada originando os análogos do GnRH. São moléculas sintetizadas por alterações na estrutura química original e classificadas de acordo com a resposta induzida – inibição ou liberação das gonadotrofinas (LAINAS *et al.*, 2008; MORALOGLU *et al.*, 2008; LAVORATO *et al.*, 2012).

### 2.2.1 Agonistas do GnRH

Na década de 80 a modificação na glicina da posição 6 e na glicina-carboxiterminal na posição 10 criou a versão agonista do GnRH. Essa alteração aumentou a meia vida da molécula e a protegeu da degradação, além de aumentar a afinidade pelo receptor em até 100 vezes em relação ao GnRH endógeno (BARMAT *et al.*, 2005; ABREU *et al.*, 2006; FRANCO *et al.*, 2006; LAVORATO *et al.*, 2012).

Os agonistas ocupam os receptores específicos de GnRH na hipófise, dessensibilizando-os pela redução do número de receptores disponíveis na membrana celular. Ao ocupar esses receptores estimulam a liberação do LH e FSH já produzidos (efeito *flare-up*). Se o agonista for aplicado de forma contínua bloqueará o eixo hipotálamo-hipofisário, ocorrendo a dessensibilização dos gonadotrófos com decréscimo da síntese de esteróides ovarianos (*down-regulation*). O bloqueio hipofisário inicial ocorre entre 14 a 21 dias após o início do uso da medicação e seu efeito é duradouro, podendo persistir por algumas semanas, após a interrupção do uso (ABREU *et al.*, 2006; ORVIETO *et al.*, 2009; BLOCH *et al.*, 2011; MAGON, 2011; LAVORATO *et al.*, 2012).

Para o uso de agonistas dois protocolos são descritos para IOC: 1) protocolo longo – com aplicação do agonista desde a fase lútea do ciclo prévio ao ciclo de estimulação com gonadotrofinas, causando o efeito *down-regulation*; 2) protocolo curto – o agonista é iniciado no 1º dia do ciclo menstrual que será induzida a ovulação com gonadotrofinas (LAINAS *et al.*, 2010; MAHESHWARI *et al.*, 2011; PUNDIR *et al.*, 2012; TANNUS *et al.*, 2013).

O protocolo longo apresenta melhores resultados quando comparado ao protocolo curto, mas também desvantagens como o longo período de tratamento

para ocasionar a supressão da liberação de gonadotrofinas endógenas para que a estimulação com gonadotrofinas exógenas possa ser iniciada; a dessensibilização da hipófise leva à ocorrência de sintomas decorrentes da supressão de estrogênios como fogachos e secura vaginal; a necessidade de doses elevadas de gonadotrofinas exógenas para a maturação folicular; maior tempo necessário para a recuperação da secreção endógena de gonadotrofinas devido ao efeito *down-regulation* sobre os receptores hipofisário de GnRH e vesículas de armazenamento gonadotróficas; e o aumento do risco de hiperestimulação ovariana, especialmente quando utilizado o protocolo curto (AL-INANY; ABOULGHAR, 2002; ABREU *et al.*, 2006; GRIESINGER *et al.*, 2011; DEVROEY *et al.*, 2012).

As vantagens do protocolo curto são quanto ao custo do tratamento devido a quantidade menor de doses necessárias tanto do próprio agonista quanto de gonadotrofinas (ABREU *et al.*, 2006; HUIRNE *et al.*, 2007; LAVORATO *et al.*, 2012). Os agonistas do GnRH aprovados para uso clínico em reprodução assistida são: leuprorelina, buserelina, nafarelina e triptorrelina. Podem ser administrados por via subcutânea, intramuscular ou nasal (CAVAGNA *et al.*, 2010; BLOCH *et al.*, 2011; LAVORATO *et al.*, 2012).

### **2.2.2 Antagonistas do GnRH**

Para a formação do antagonista, já na década de 90, ocorreram múltiplas substituições nos aminoácidos das posições 2 e 3 (Histidina e Triptofano), na região que se liga ao receptor da molécula de GnRH. A posição 6 (Glicina) foi substituída para aumentar a vida média, e nas posições 8 e 10 (Arginina e Glicina) para eliminar reações alérgicas decorrentes da liberação de histamina no

local de aplicação da droga (GRIESINGER *et al.*, 2005; ABREU *et al.*, 2006; AL-INANY *et al.*, 2007; LAVORATO *et al.*, 2012).

O antagonista do GnRH promove bloqueio competitivo dos receptores de GnRH e imediata supressão (CHEUNG *et al.*, 2005; KOLIBIANAKIS *et al.*, 2006). A ação é dependente do equilíbrio entre o GnRH endógeno e o antagonista aplicado (LAVORATO *et al.*, 2012). O efeito dura em torno de 34 horas e a recuperação da função pituitária ocorre mais rapidamente do que em relação aos agonistas do GnRH (ABREU *et al.*, 2006; TEHRANINEJAD *et al.*, 2010; AL-INANY *et al.*, 2011; POLYZOS *et al.*, 2013).

No início, o antagonista era utilizado em uma aplicação no sexto dia do ciclo menstrual. Atualmente vem sendo aplicado quando um folículo atinge o diâmetro de  $\geq 14$  mm monitorizado por ecografia, seguindo de acordo com o tamanho folicular até o dia de aplicação do HCG recombinante (r-HCG hormônio gonadotrofina coriônica humana – *human Chorionic gonadotrophin hormone*) utilizado para maturação final dos oócitos (FEBRASGO, 2011; LAVORATO *et al.*, 2012; TANNUS *et al.*, 2013).

Os antagonistas atualmente disponíveis para uso clínico cetorelix e ganirelix apresentam alta potência biológica associada à reduzida atividade liberadora de histamina e podem ser administrados na fase folicular tardia (ABREU *et al.*, 2006; KOLIBIANAKIS *et al.*, 2011).

As vantagens do uso do antagonista em relação ao agonista são tempo de tratamento mais curto, menor quantidade de drogas (tanto do antagonista quanto gonadotrofinas exógenas) usadas na indução ovariana controlada (DEVROEY *et al.*, 2004, 2012), maior aceitação pela paciente devido a menor quantidade de injeções necessárias, rápida reversibilidade, ausência de efeito *flare-up* e efeitos

de privação estrogênica (GRIESINGER *et al.*, 2005; 2011) além de menor incidência de hiperestimulação ovariana. Pode ser utilizado com citrato de clomifeno e gonadotrofinas para indução da ovulação, aumentando o número de oócitos captados, melhorando os níveis de estradiol e as taxas de implantação (DEVROEY *et al.*, 2004; BARMAT *et al.*, 2005; FRANCO *et al.*, 2006; MAHESHWARI *et al.*, 2011).

### **2.3 Análogos do GnRH e reprodução assistida**

Tanto a molécula agonista quanto a antagonista do GnRH atuam na prevenção do aumento prematuro de LH durante a IOC. Contudo, os mecanismos de ação e os resultados clínicos são diferentes.

A revisão sistemática com meta-análise de Kolibianakis *et al.*, (2006) analisou 22 estudos clínicos randomizados que compararam diferentes protocolos para tratamento utilizando agonista ou antagonista do GnRH (3176 pacientes no total) e concluíram que não houve diferenças significativas ( $p= 0,085$ ). Os autores encontraram diferenças significativas apenas quanto a duração do tratamento com análogo, duração da indução ovariana, número de oócitos recuperados e índices de OHSS, em favor dos casos que utilizaram antagonistas do GnRH.

Al-Inany *et al.*, (2007, 2011) onde analisaram 27 estudos clínicos randomizados que compararam os protocolos com agonista e antagonista, verificaram que a taxa de gravidez clínica foi significativamente menor no grupo antagonista (OR= 0,84; IC 95% 0,72-0,97), porém, a taxa de nascido vivo foi menor no grupo agonista (OR=0,82; IC 95% 0,69-0,98), apesar do número equivalente de embriões transferidos em ambos os grupos. Os autores

observaram também a redução de OHSS no grupo antagonista além do menor número de oócitos recuperados, menor quantidade de gonadotrofinas e menor duração da indução ovariana nesse grupo.

Ainda que vários estudos não encontrem diferenças significativas quanto ao uso dos análogos do GnRH, tanto agonista quanto o antagonista são utilizados na rotina para indução da ovulação controlada (AL-INANY *et al.*, 2011; LAVORATO *et al.*, 2012).

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) tem um papel relevante e insubstituível no controle do ciclo reprodutivo feminino. Os tratamentos de reprodução assistida são estressantes para os casais e um dos principais inconvenientes é a administração diária de medicamentos injetáveis, que ficam sob responsabilidade da própria paciente. Portanto, qualquer tentativa de simplificar o tratamento, além de proporcionar conforto e diminuir os custos, são motivos de grande interesse, sem esquecer, contudo, que o principal objetivo do protocolo escolhido é um único bebê saudável sem que haja riscos de saúde para a mãe e, posteriormente, para o feto.

### **3. OBJETIVOS**

---

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Comparar dois protocolos com diferentes análogos do GnRH – agonista ou antagonista, para indução da ovulação controlada em pacientes submetidas ao primeiro ciclo de reprodução assistida no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Comparar os seguintes parâmetros entre os grupos de pacientes que utilizaram o protocolo para estimulação ovariana com agonista ou com antagonista:

- Folículos  $\geq 16$  mm no dia de administração do r-HCG
- Oócitos captados, em metáfase II, fertilizados e clivados
- Embriões transferidos
- Taxa de implantação e de gravidez (química e clínica)

## 4. MÉTODOS

---

### 4.1 Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (protocolo nº 007/2011). Como a pesquisa não envolveu abordagem direta às pacientes, não houve necessidade de aplicação do termo de consentimento livre e esclarecido. Este trabalho está de acordo com as diretrizes éticas internacionais sobre pesquisas envolvendo seres humanos.

### 4.2. Casuística

Foi realizado um estudo observacional retrospectivo comparativo entre dois tipos de protocolos para indução da ovulação controlada por medicamentos.

### 4.3. Caracterização da amostra

O grupo de estudo foi constituído por 50 mulheres, 25 em cada grupo, atendidas de acordo com a propedêutica da Organização Mundial de Saúde seguida pelo Laboratório de Reprodução Humana (LabRep).

### 4.4. Pacientes

#### 4.4.1 Critérios de inclusão

- Primeiro ciclo de indução da ovulação realizada entre 2009 a 2012
- Idade entre 20 e 40 anos
- Índice de massa corpórea (IMC)  $> 18$  e  $< 32 \text{ kg/m}^2$

- Reserva ovariana  $\geq 3$  folículos antrais
- FSH basal  $< 10$  mUI/mL
- Companheiro com sêmen dentro dos parâmetros normais (WHO, 1999)
- Procedimentos de alta complexidade (FIV–ICSI)

As pacientes que se enquadraram nesses critérios foram, por amostragem sistemática, divididas em dois grupos de acordo com o esquema utilizado para o bloqueio do eixo hipotálamo-hipófise-ovário:

- Grupo 1: Pacientes que receberam agonista do GnRH
- Grupo 2: Pacientes que receberam antagonista do GnRH

#### 4.4.2 Critérios de exclusão

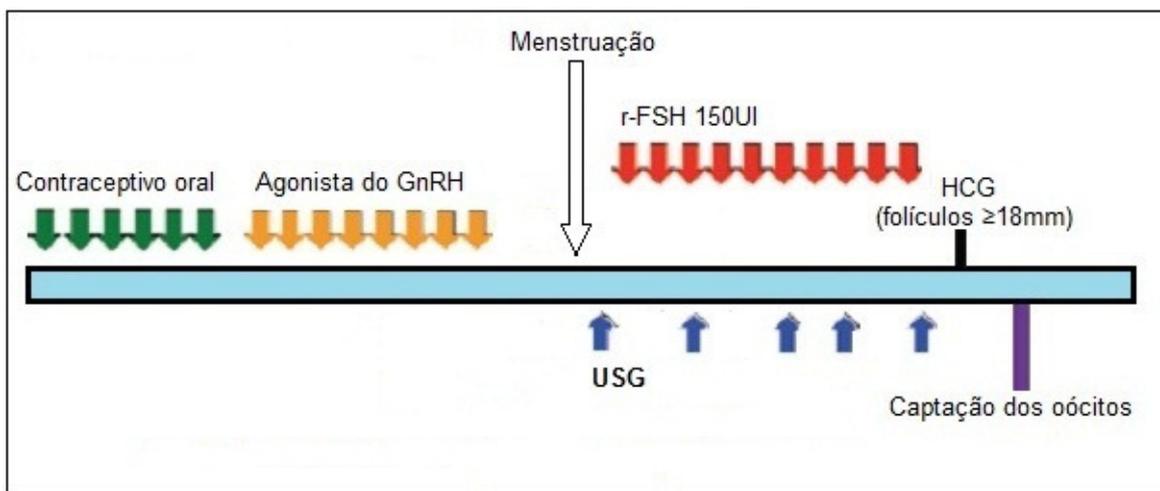
- Pacientes com síndrome de ovários policísticos
- Pacientes que receberam outro tipo de protocolo de indução da ovulação

#### 4.5 Protocolos avaliados

A programação do período menstrual foi realizada com uso de contraceptivo oral (Gynera<sup>®</sup> - 0,075mg gestodeno e 0,03mg etinilestradiol, *Bayer Schering Pharma*) no ciclo prévio ao da indução da ovulação controlada.

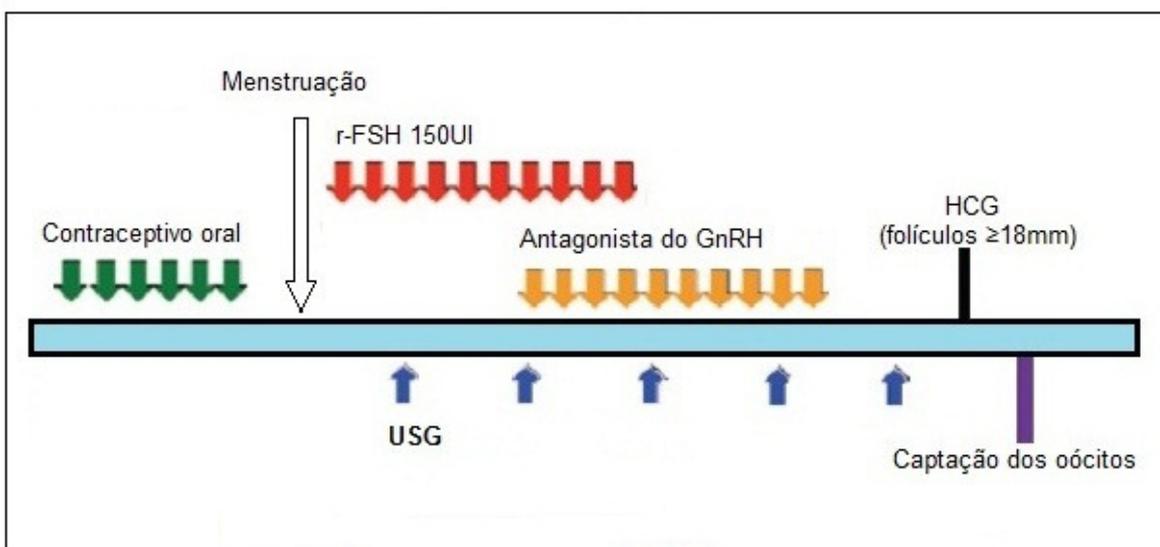
Foram avaliados os seguintes protocolos:

**Grupo agonista (protocolo curto):** dessensibilização hipofisária com agonista do GnRH (1 mg/dia Lupron<sup>®</sup> acetato de leuprolide, *Abbott, Serono*) iniciada no primeiro dia do ciclo, até o dia anterior ao r-hCG. Estimulação ovariana com 150 UI/dia de r-FSH (Gonal-F<sup>®</sup> alfa-folitropina, *Serono*) e r-hCG (250  $\mu$ g Ovidrel<sup>®</sup> alfa-coriogonadotropina, *Serono*) para maturação folicular.



**Figura 5.** Protocolo para indução da ovulação controlada utilizando agonista do GnRH. O número de setas não corresponde ao número de dias de utilização dos indutores ou de ultrassonografias (USG).

**Grupo antagonista:** estimulação ovariana com citrato de clomifeno (100 mg) do segundo ao sexto dia, 150 UI/dia de r-FSH (Gonal-F<sup>®</sup> alfa-folitropina, *Serono*). Antagonista do GnRH (0,25 mg/dia Cetrotide<sup>®</sup> acetato de cetrorelix; *Serono*) iniciado no final da fase folicular e r-hCG (250 µg Ovidrel<sup>®</sup> alfa-coriogonadotropina, *Serono*) para maturação folicular.



**Figura 6.** Protocolo para indução da ovulação controlada utilizando antagonista do GnRH. O número de setas não corresponde ao número de dias de utilização dos indutores ou de ultrassonografias (USG).

Após avaliação basal realizada no início do ciclo menstrual, por ultrassonografia transvaginal, as pacientes foram instruídas sobre como utilizar os medicamentos prescritos. A aspiração folicular guiada por ultrassom transvaginal foi realizada em centro cirúrgico, para captação de oócitos.

As seguintes variáveis foram pareadas para comparabilidade dos grupos:

- Idade (anos)
- Índice de massa corpórea ( $\text{Kg/m}^2$ )
- Duração da infertilidade (anos)
- Reserva ovariana (folículos antrais)
- Níveis sanguíneos (fase folicular – entre o 2° e 4° dia da menstruação) de:
  - FSH (mUI/mL)
  - LH (mUI/mL)
  - Estradiol (pg/mL)

As variáveis a seguir foram comparadas em cada grupo analisado:

- Duração de uso do rFSH (dias)
- Dose total utilizada de rFSH (UI)
- Duração de uso do bloqueio hipofisário – agonista ou antagonista (dias)
- Dose total utilizada de GnRH (mg)
- Número de folículos  $\geq 16$  mm, visualizados por ultrassonografia transvaginal, no dia de administração do r-HCG
- Número de oócitos captados na aspiração folicular
- Número de oócitos em metáfase II (MII) – células da corona ainda aderidas e células do cúmulus bem dispersas, com primeiro corpúsculo polar já liberado

- Número de oócitos fertilizados (2pn) – confirmada 16 a 20 horas após a fecundação, quando observada a presença dos pró-núcleos feminino e masculino
- Número de oócitos clivados – após 24 horas de confirmada a fertilização
- Número de embriões transferidos – a transferência do(s) embrião(ões) realizada com 72 horas (6 a 10 células) após o dia da coleta e fecundação dos oócitos (3° dia)
- Resultados de gravidez química (exame  $\beta$ -HCG quantitativo) e clínica (batimento cardíaco fetal positivo em ultrassom)

#### **4.6 Análise dos dados obtidos**

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa *IBM SPSS Statistics 20.0 (Statistical Packages for the Social Sciences, EUA)*. Para avaliar a diferença observada entre as médias dos grupos analisados aplicou-se teste não paramétrico para comparar duas amostras independentes - Teste de Mann-Whitney. Para avaliar diferenças entre proporções utilizou-se o teste Qui quadrado. O nível de significância foi de  $p = 5\%$  (0,05) (APPROBATO, 2010).

## 5. PUBLICAÇÕES

---

### **Artigo 1**

Indução da ovulação controlada por medicamentos – uma revisão sobre a história e atualizações

Autores: Jalsi Tacon Arruda; Tatiana Moreira da Silva; Carolina Rodrigues de Mendonça; Mônica Canêdo Silva Maia; Mário Silva Approbato

*JBRA Assisted Reproduction*

### **Artigo 2**

Comparison GnRH agonist short protocol and GnRH antagonist in Brazilian normoresponder patients undergoing their first cycle of controlled ovarian stimulation

Autores: Jalsi Tacon Arruda; Mário Silva Approbato; Mônica Canêdo Silva Maia; Tatiana Moreira da Silva; Carolina Rodrigues de Mendonça; Marisa de Sousa Ramos; Shirley Ribeiro Rodrigues; Maria Zélia Pires Brito; Coracy Coelho de Aguiar

*JBRA Assisted Reproduction*

## Artigo1

### Submetido ao *JBRA Assisted Reproduction*

Indução da ovulação controlada por medicamentos – uma revisão sobre a história e atualizações

Indução da ovulação controlada por medicamentos

*Ovulation induction controlled by drugs - an review of the history and updates*

Jalsi Tacon Arruda<sup>1\*</sup>; Tatiana Moreira da Silva<sup>2</sup>; Carolina Rodrigues de Mendonça<sup>3\*</sup>;  
Mônica Canêdo Silva Maia<sup>1</sup>; Mário Silva Approbato<sup>4</sup>

1- Doutoranda em Ciências da Saúde – UFG, Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás.

2- Mestre em Ciências da Saúde – UFG, Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás.

3- Mestranda em Ciências da Saúde – UFG, Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás.

4- Professor titular do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina e orientador no Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Diretor do Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás.

\*Bolsista CAPES/UFG

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

Não há conflitos de interesse.

Email: jalsitacon@gmail.com

## **Resumo**

Acredita-se que a infertilidade afetará cada vez mais casais no mundo que, por consequência, procurarão serviços médicos que ofereçam Técnicas de Reprodução Assistida. A Indução da Ovulação Controlada por Medicamentos é amplamente utilizada, contudo, cada paciente responde de forma individual ao mesmo medicamento e dosagem, sendo que essa resposta pode variar a cada ciclo induzido. Há vantagens como o aumento das chances de sucesso e desvantagens como a possibilidade da síndrome de hiperestimulação ovariana. Nas últimas décadas grandes avanços surgiram com o lançamento de novas drogas indutoras, o conhecimento sobre a fisiologia ovariana e sobre as novas tecnologias estão em desenvolvimento, tanto nas técnicas utilizadas quanto na medicação. Este estudo realizou uma revisão integrativa sobre a história dos experimentos que ajudaram no desenvolvimento da área e o atual conhecimento científico sobre a indução da ovulação controlada por medicamentos.

**Palavras-chave:** infertilidade, reprodução assistida, ovulação.

## **Abstract**

It is believed that infertility affects more couples in the world therefore seek medical services that provide Assisted Reproduction Techniques. Ovulation induction Controlled Drug is widely used, however, each patient responds individual to the same drug and dosage, and this response may vary with each cycle induced. There are advantages as increased chances of success and disadvantages such as the possibility of ovarian hyperstimulation syndrome. In recent decades great strides have emerged with the launch of new drugs inducing, knowledge of ovarian physiology and new technologies are in development in both the techniques used as medication. This study conducted an integrative review of the history of the experiments that helped in the development of the area and the current scientific knowledge about ovulation induction controlled by medications.

**Keywords:** infertility, assisted reproduction, ovulation.

## INTRODUÇÃO

No fim do século XIX cientistas faziam idéia de que o sangue carregava substâncias específicas, e o termo “hormônio” foi cunhado apenas em 1905 por William Maddock Bayliss e Ernest Henry Starling<sup>1</sup>. Lewi e Greving, por volta de 1920, caracterizaram o eixo hipotálamo-hipofisário e desvendaram os hormônios essenciais para a fertilidade feminina: hormônio folículo estimulante (FSH – *Follicle Stimulating Hormone*), hormônio luteinizante (LH – *Luteinizing Hormone*) e o hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG – *human Chorionic Gonadotropin*)<sup>2</sup>.

Robert Geoffrey Edwards conduzia seus estudos sobre embriologia de mamíferos investigando a ovulação e também as primeiras observações de oócitos humanos em diferentes estágios de maturação<sup>3,4</sup>. Porém, esbarrava na dificuldade em conseguir mais oócitos por ciclo que, até então, eram obtidos de ciclos naturais. Notou ainda que os espermatozóides eram abundantes enquanto que o oócito não e, a partir dessa observação, estudou a sincronização de oócitos para obter um número maior disponível para recuperação, originando uma série de estudos sobre controle da ovulação induzida por uso de hormônios exógenos.

Trabalhando em conjunto com Alan Gates, descreveram a sequência de eventos que levava a ovulação após a injeção hCG extraído de éguas prenhas, que induzia a maturação dos oócitos num tempo previsível<sup>5,6</sup>.

O primeiro fármaco utilizado para induzir a ovulação foi o citrato de clomifeno (trifeniletileno derivado não-esteróide), um antiestrogênio desenvolvido na década de 60 para tratamento do câncer de mama, e observou-se que induzia a menstruação em pacientes amenorréicas<sup>7</sup>.

O citrato de clomifeno é um agonista parcial do receptor de estrogênio no sistema nervoso central e atua bloqueando o *feedback* negativo para secreção do FSH, sendo este, por sua vez, causado pelo aumento do estrogênio sérico produzido pelo folículo dominante, em nível hipofisário, provocando maior liberação de FSH na corrente sanguínea, estimulando o desenvolvimento dos folículos e a ovulação. Contudo, sua ação é menos eficaz que o estrogênio natural<sup>8</sup>.

Ainda que apresente altas taxas de ovulação (70-90%) com o uso do citrato de clomifeno, as taxas de gestação são baixas devido à luteinização precoce, aumento de progesterona e redução na receptividade endometrial<sup>9</sup>.

Na década de 80 houve uma melhora na indução da ovulação controlada (IOC). Este acontecimento foi devido a introdução do uso de gonadotrofinas (FSH e LH) purificadas da urina de mulheres menopausadas (hMG – *human Menopausal Gonadotropin*) e o hCG purificado da urina de mulheres grávidas, possibilitando um recrutamento e desenvolvimento de um número maior de folículos <sup>10</sup>. Porém, as formulações iniciais possuíam grande quantidade de proteínas contaminantes (citocinas, transferrinas, imunoglobulinas, neurotoxinas derivadas de eosinófilos, além de proteínas urinárias), levando ao aprimoramento das técnicas de purificação para produção de formulações com menor quantidade de proteínas não ativas <sup>7</sup>.

Surgiu então o FSH com 20% de pureza obtido através da utilização de uma coluna de separação com anticorpos monoclonais contra o hCG. Posteriormente, o FSH altamente purificado (HP-FSH *high purified*), com 90% de pureza obtido pelo uso de uma coluna de separação com anticorpos monoclonais para o FSH, com a vantagem de poder ser administrado por via subcutânea <sup>11</sup>.

Mudanças aconteceram nos protocolos de IOC desde o primeiro sucesso relatado em 1978 por Steptoe e Edwards <sup>12</sup>. O hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) possui papel insubstituível no controle do ciclo reprodutivo feminino, sendo secretado de forma pulsátil pelo hipotálamo. Este hormônio se liga a receptores específicos na hipófise e estimula a secreção das gonadotrofinas (FSH e LH) que regulam a esteroidogênese e gametogênese ovarianas.

Durante os anos 80, foram introduzidos os agonistas do GnRH, permitindo o bloqueio do eixo hipotálamo-hipófise-ovário <sup>13</sup>. O GnRH agonista provoca a liberação das reservas de gonadotrofinas hipofisárias (efeito “*flare-up*”), esgota os receptores disponíveis na hipófise e dessensibiliza (efeito “*down regulation*”) bloqueando a síntese de gonadotrofinas. Esse processo solucionou o pico precoce do LH endógeno <sup>14</sup>.

A forma antagonista do GnRH surgiu nos anos 90, atuando quase imediatamente na secreção endógena de gonadotrofinas diminuindo a produção em 8 horas, e inibindo o pico de LH por se ligar de forma competitiva aos receptores de GnRH hipofisários <sup>15</sup>. O aumento na demanda por gonadotrofinas incentivou as pesquisas para criação de novas formulações e outros avanços surgiram em relação aos medicamentos para a IOC.

Na década de 90, a tecnologia do DNA recombinante permitiu que genes humanos fossem transferidos para células de ovário de Hamster chinês e com isso, foi possível produzir o FSH recombinante – r-FSH <sup>16</sup>. Culturas dessas células recombinantes são utilizadas para

produção comercial em larga escala do r-FSH. Ao final da década já era possível utilizar as três gonadotrofinas produzidas de forma recombinante: FSH, LH e hCG de fórmulas altamente puras e eficazes <sup>17</sup>.

A atividade específica do r-FSH é de 13.700 UI/mg de proteína com 99,9% de pureza, sendo que uma dose de 75 UI é equivalente a 5,5 microgramas de proteína recombinante, possibilitando um controle preciso da estimulação com ajuste da dose de acordo com cada paciente, e a primeira aplicação de r-FSH foi em 1991 <sup>16</sup>.

A combinação de todos estes avanços foi muito importante para a indução da ovulação controlada e as Técnicas de Reprodução Assistida (TRA) <sup>18,19</sup>. O uso de drogas indutoras aplicava-se até então, somente para a correção dos distúrbios ovulatórios e passou a ser indicada em casos de anovulação <sup>20,21</sup>.

### **Gonadotrofinas: FSH e LH**

A família de hormônios glicoprotéicos que inclui o hCG, FSH e LH, são compostos por 2 subunidades polipeptídicas associadas por ligações não-covalentes: a) subunidade  $\alpha$  comum a todos, super-expressa, localizada no cromossomo 6p21.1-23; b) subunidade  $\beta$  controlada por retroalimentação fornece especificidade biológica e imunológica a cada hormônio; sendo que o gene que codifica a subunidade  $\beta$ LH está localizado no cromossomo 19q13.32 junto ao grupo de genes que codificam o  $\beta$ hCG com alto grau de homologia que lhes permite ligação ao mesmo receptor; já a subunidade  $\beta$ FSH é codificada por um único gene localizado no cromossomo 11p13 <sup>22</sup>.

A expressão das gonadotrofinas está modulada por fatores hipotalâmicos, principalmente o GnRH, e retroalimentação gonadal. As células gonadotróficas são capazes de expressar as duas subunidades, embora algumas secretem apenas um dos hormônios. Os gonadotrófos que secretam FSH são grandes e apresentam grânulos grandes, retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi extensos. Já as células secretoras de LH apresentam grânulos menores que se acumulam em um dos pólos próximo a periferia, e o complexo de Golgi menos desenvolvido <sup>22</sup>.

O FSH é uma glicoproteína que possui peso molecular de 34kDa e consiste em 210 resíduos de aminoácidos com meia-vida de aproximadamente 240 minutos. Induz o crescimento e diferenciação das células da granulosa, estimula à atividade da aromatase, a síntese de estradiol e a formação de receptores de LH, e sua secreção pela hipófise é inibida pelos produtos foliculares estradiol ( $E_2$ ) e inibina B <sup>22,23</sup>.

O LH possui um peso molecular de 28,5kDa com 204 aminoácidos e meia-vida plasmática de 30 minutos. Esta glicoproteína é essencial para a ruptura do folículo e liberação do oócito, atua nas células da teca regulando a concentração dos hormônios esteróides e nas células da granulosa pra promover o desenvolvimento da célula germinativa <sup>23</sup>.

As preparações de gonadotrofinas utilizadas em TRA variam entre as obtidas da purificação urinária e as formas sintéticas produzidas por engenharia genética. Uma gama de formulações está disponível no mercado e, diante disso, cabe ao médico decidir qual o medicamento mais indicado para cada situação. A escolha deve ser pautada nas características individuais da paciente, na resposta a protocolos utilizados previamente e nos custos inerentes a cada grupo de medicamentos.

### **Ciclo induzido por medicamentos**

O principal objetivo da indução é obter um maior número de oócitos que possam desenvolver embriões de excelente qualidade reduzindo, assim, a necessidade de ciclos sucessivos, já que quanto melhor for a qualidade dos oócitos maior será a chance de sucesso <sup>24</sup>.

A IOC possibilitou aumentar o número de oócitos no recrutamento folicular e, conseqüentemente, o número de embriões disponíveis para transferência <sup>17,25</sup>. Dependendo do protocolo utilizado, diferentes drogas estimulantes podem ser utilizadas para induzir o desenvolvimento multifolicular e melhorar a receptividade do endométrio.

A IOC, em geral, é iniciada nos primeiros dias do ciclo menstrual. Consiste em aumentar a exposição dos ovários às gonadotrofinas, promovendo o crescimento de múltiplos folículos no mesmo ciclo. As gonadotrofinas atuam nas células da granulosa disparando a síntese de estradiol, fatores de crescimento e de receptores hormonais, cuja ação sinérgica torna o ambiente folicular mais adequado para o desenvolvimento de oócitos viáveis <sup>15,21</sup>.

As células da teca possuem receptores para o LH que estimulam a produção de andrógenos (a partir do colesterol) aromatizados em estrogênio nas células da granulosa modificando a resposta ao FSH. As células da granulosa são as únicas que possuem receptores para o FSH, no entanto, alguns receptores de LH devem estar ocupados para que ocorra a esteroidogênese adequada que estimula o crescimento folicular <sup>15,21</sup>.

Apesar dos avanços obtidos para o aumento do número de folículos complicações como os fenômenos tromboembólicos decorrentes da hemoconcentração, desconforto abdominal com retenção de líquido, escotomas visuais, aumento na incidência de gestações múltiplas

e casos de síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS – *Ovarian Hyperstimulation Syndrome*) e o alto custo das drogas foram observados <sup>7,26</sup>.

Estudos incentivam cada vez mais o uso de protocolos “leves” para indução da ovulação, que fornecem vantagens significativas como a redução do custo, melhor tolerabilidade e, principalmente, menor risco de complicações mórbitas <sup>26,27,28,29,30,31,32</sup>. Dessa forma são mais simples de utilização clínica além da diminuição do desconforto relatado pela paciente devido a uma resposta fisiológica melhor resultando na diminuição de anormalidades cromossômicas e mosaicismo genético e, conseqüentemente, melhor qualidade embrionária <sup>28,30</sup>.

A estimulação ovariana leve é definida como a administração de baixas doses de gonadotrofinas exógenas em ciclos co-tratados com antagonista de GnRH <sup>33</sup>, ou em combinação com agonista e outros compostos por via oral (anti-estrogênios ou inibidores de aromatase) <sup>31</sup>. O termo “estimulação leve” abrange outros como “estimulação simpática, mínima ou suave”. Surgiu da percepção de que a abordagem convencional era agressiva e intensa, sendo impulsionada pelo desejo de resultados maximizados por medicamentos.

Verberg et al. (2009) <sup>30</sup>, relatam a hipótese de que a estimulação leve permitiria uma interferência qualitativa sobre a seleção natural dos oócitos de boa qualidade. O uso de doses mais “leves” de gonadotrofinas na fase folicular média só poderá atuar sobre os folículos mais maduros, dando assim origem a oócitos de melhor qualidade.

Segundo a *International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction* (ISMAAR) o número de oócitos colhidos varia de 2 a 7, de acordo com a experiência clínica e a resposta ovariana de cada paciente <sup>29,33</sup>. A estimulação leve exerce um efeito favorável sobre a taxa de implantação melhorando a receptividade do endométrio ao embrião.

A percepção do que constitui a estimulação ovariana “leve” varia entre diferentes autores e centros clínicos <sup>26,27</sup> e a padronização do melhor protocolo é dificultada pela confusão na metodologia e variação na formação clínica ou prática dos especialistas em TRA <sup>28,32,33,34</sup>. A variedade de protocolos demonstra a busca pela alternativa mais eficaz visando melhorar os resultados. A escolha do esquema que produza a melhor resposta folicular de maneira mais fisiológica possível é o objetivo, contudo, a definição do melhor protocolo ainda é uma incógnita.

A resposta ovariana não é a mesma para todas as pacientes e depende de fatores como idade, reserva ovariana, taxa metabólica basal, doenças como ovários policísticos, a presença de endometriose e características sócio-econômicas <sup>32</sup>. Há vários fatores que

podem prever a resposta ovariana à estimulação e, portanto, a probabilidade de sucesso<sup>30,35</sup>. Embora nenhum fator antecipe a resposta ainda assim são utilizados na tentativa de aperfeiçoar o protocolo de estimulação ovariana, e para minimizar possíveis complicações. A idade é o fator mais importante na determinação de taxas de sucesso, já que a diminuição da fertilidade com a idade parece ser uma consequência da depleção do número de oócitos e da qualidade reduzida dos mesmos<sup>25</sup>.

A depleção folicular acarreta na diminuição da produção de estradiol (E<sub>2</sub>) e inibina-B e aumento gradual da concentração de FSH. Os níveis basais de E<sub>2</sub> e inibina-B são valores limitantes pra prever má resposta e baixa taxa de sucesso<sup>32,36</sup>.

O nível basal de FSH é um marcador habitualmente usado para reserva ovariana, embora sua avaliação seja dependente do dia do ciclo menstrual<sup>36</sup>. A dosagem do hormônio anti-Mülleriano (AMH – *Anti-Müllerian Hormone*) é cada vez mais utilizada para prever reserva ovariana que esta correlacionada com o número de folículos antrais e do número de oócitos recuperados<sup>37</sup>, e não depende do dia do ciclo menstrual além de prever a possibilidade de OHSS. A contagem dos folículos antrais também é um bom preditor da reserva ovariana realizada no segundo e quarto dia do ciclo<sup>32,36</sup>.

Em relação à obesidade, medida através do Índice de Massa Corporal (IMC kg/m<sup>2</sup>), os efeitos secundários sobre a resistência a insulina e hiperandrogenismo podem afetar a fertilidade<sup>38</sup>. Hábitos pessoais como tabagismo, etilismo, consumo elevado de cafeína também são fatores de impacto negativo. A herança genética como variantes anormais dos receptores de FSH, mutação no gene que codifica o LH e receptores de LH também são fatores que podem restringir a resposta ovariana<sup>23,31,32</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nem sempre será possível prever a resposta mesmo avaliando esses fatores. Muitas vezes o resultado do primeiro protocolo para estimulação ovariana torna-se importante na determinação de como ajustar o tratamento subsequente<sup>4,20,35,39</sup>.

Na prática, mesmo durante a IOC, respostas inadequadas poderão ser observadas. A variabilidade de resposta pode ser devida ao mecanismo biológico inerente em relação a diferenças no número de folículos recrutáveis, sensibilidade dos folículos ao FSH e a farmacodinâmica.

Apesar de muitos preditores da resposta ovariana estudos sobre a utilização destes nem sempre são comparáveis, devido às diferenças nas características do assunto <sup>32</sup>.

O estudo prospectivo randomizado de Popovic-Todorovic et al. (2003) <sup>39</sup> que testaram pacientes normais da Dinamarca, comparando a dose individual a partir de 100–250UI/dia, com base nos fatores preditores, e dose padrão de 150UI/dia. Os parâmetros considerados foram idade, contagem de folículos antrais, volume ovariano e hábitos como tabagismo. Os resultados mostraram que o regime de dosagem individual aumenta a proporção de resposta ovariana adequada e diminui a incidência de alteração na dose durante a IOC.

A otimização da dose inicial de FSH é a chave para o sucesso da IOC. Doses iniciais de 150UI apresentam menos cancelamentos e preço mais acessível. Evidências recentes também apontam para o papel do LH. Embora as células da granulosa dos folículos antrais precoces respondam apenas ao FSH, a dos folículos maduros são responsivos ao FSH e LH (possuindo receptores de ambas as gonadotrofinas, células que produzem as duas moléculas). Apesar de uma pequena quantidade de LH ser necessária para a estimulação ideal, o nível elevado de LH na fase folicular tardia pode ser prejudicial para o resultado da FIV <sup>32</sup>.

Como as pacientes respondem de forma diferente ao mesmo tipo de estimulação, a abordagem individualizada é fundamental para um resultado bem sucedido. Os fatores preditivos para estimulação ovariana são importantes, mas ainda não há consenso a esse respeito. O principal objetivo da IOC é um único bebê saudável, nenhum risco de saúde para a mãe e custo mínimo do tratamento <sup>40</sup>.

## Referências

- 1 Cuperschmid EM, Campos TPR. Os curiosos xenoimplantes glandulares do doutor Voronoff. *Hist cienc saude-Manguinhos*. 2007;14:737-760.
- 2 Rohden F. O império dos hormônios e a construção da diferença entre os sexos. *Hist cienc saude-Manguinhos*. 2008;15(supl.):133-152.
- 3 Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet*. 1965;2:926-929.
- 4 Edwards RG. Introduction: the beginnings of human in vitro fertilization. In: Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z editors. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques, Laboratory and Clinical Perspectives*. 2nd ed. 2004.
- 5 Edwards RG, Gates AH. Timing of the stages of the maturation divisions, ovulation, fertilization, and the first cleavage of eggs of adult mice treated with gonadotrophins. *J Endocrinol*. 1959;18:292-304.
- 6 Johnson MH. Robert Edwards: Nobel laureate in physiology or medicine. Nobel Lecture/Nobel Prize Symposium in Honour of Robert G. Edwards, December 7, 2010.

- 7 Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev.* 2006;27(2):170-207.
- 8 Papanikolaou EG, Polyzos NP, Humaidan P, Pados G, Bosch E, Tournaye H, Tarlatzis B. Aromatase inhibitors in stimulated IVF cycles. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9:85.
- 9 Homburg R. Clomiphene citrate - end of an era? A mini- review. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2043-51.
- 10 Messinis IE. Ovulation induction: a mini review. *Hum Reprod.* 2005;20(10):2688-97.
- 11 d'Alva CB, Serafini P, Motta E, Latronico AC, Mendonça BB. FSH receptor polymorphisms and iatrogenic ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(8):4978.
- 12 Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2(8085):366.
- 13 Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides.* 1999;20(10):1247-62.
- 14 Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas. *Indian J Endocrinol Metab.* 2011;15(4):261-67.
- 15 Lunenfeld B. GnRH analogs in human reproduction. Taylor & Francis, United Kingdom. 2005.
- 16 Fauser BC. Developments in human recombinant follicle stimulating hormone technology: are we going in the right direction? *Hum Reprod.* 1998;suppl 3:36-46; discussion 47-51.
- 17 Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies In: WHO – World Health Organization. Current practices and controversies in assisted reproduction. 2002.
- 18 ASRM – American Society for Reproductive Medicine. Induction of ovarian follicle development and ovulation with exogenous gonadotropins. Practice Committee Report. A technical Bulletin Birmingham, Alabama, USA; June 1998.
- 19 ASRM – American Society for Reproductive Medicine. Infertility: an overview. A guide for patients”, American Society for Reproductive Medicine. 2003.
- 20 Daya S, Ledger W, Auray JP, Duru G, Silverberg K, Wikland M, Bouzayen R, Howels CM, Beresniak A. Cost-effectiveness modeling of recombinant FSH versus urinary FSH in assisted reproduction techniques in the United Kingdom. *Hum Reprod.* 2001;16:2563-69.
- 21 Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update.* 2004;10(6):453-67.
- 22 Bliss SP, Navratil AM, Xie J, Roberson MS. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Front Neuroendocrinol.* 2010;31(3):322-40.
- 23 Fan QR, Hendrickson WA. Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature.* 2005;433(7023):269-77.
- 24 Figueiredo H. A procriação medicamente assistida e as gerações futuras, Gráfica de Coimbra, Coimbra, 2005.
- 25 Yovich JL. A clinician's personal view of assisted reproductive technology over 35 years. *Reprod Biol.* 2011;11 Suppl 3:31-42.
- 26 Siristatidis C, Trivella M, Chrelias C, Sioulas VD, Vrachnis N, Kassanos D. A short narrative review of the feasibility of adopting mild ovarian stimulation for IVF as the current standard of care. *Arch Gynecol Obstet.* 2012; 286(2):505-10.
- 27 Holzer H, Casper R, Tulandi T. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril.* 2006;85(2):277-84.

- 28** Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, Van Opstal, Beckers NG, Verhoeff A, Macklon NS, Fauser BC. Milder ovarian stimulation for in vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2007;22(4):980-88.
- 29** Heijnen EM, Eijkemans MJ, De Klerk C, Polinder S, Beckers NG, Klinkert ER, Broekmans FJ, Passchier J, Te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. A mild treatment strategy for in vitro fertilization: a randomized non-inferiority trial. *Lancet.* 2007;369(9563):743-49.
- 30** Verberg MF, Eijkemans MJ, Macklon NS, Heijnen EM, Baart EB, Hohmann FP, Fauser BC, Broekmans FJ. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum Reprod. Update* 2009;15(1):5-12.
- 31** Fauser BC, Nargund G, Andersen AN, Norman R, Tarlatzis B, Boivin J, Ledger W. Mild ovarian stimulation for IVF: 10 years later. *Hum Reprod.* 2010;25:2678-84.
- 32** Sinha SP. Optimization of ovarian stimulation to improve success rate in “ART”. *Apollo Medicine.* 2012;9(3):228-38.
- 33** Nargund G, Fauser BC, Macklon NS, Ombet W, Nygren K, Frydman R, Rotterdam ISMAAR Consensus Group on Terminology for Ovarian Stimulation for IVF. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2007;22(11):2801-04.
- 34** Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2011;26(10):2742-49.
- 35** Edwards RG, Lobo RA, Bouchard P. Why delay the obvious need for milder forms of ovarian stimulation? *Hum Reprod.* 1997;12(2):399-401.
- 36** Castro EC, Florencio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. Folículos antrais como marcadores da reserve ovariana. *Reprod Clim.* 2010;26(1):7-11.
- 37** Fleming R, Deshpande N, Traynor I, Yates RW. Dynamics of FSH-induced follicular growth in subfertile women: relationship with age, insulin resistance, oocyte yield and antimüllerian hormone. *Hum Reprod.* 2006;21(6):1436-41.
- 38** Tang T, Glanville J, Hayden CJ, White D, Barth JH, Balen AH. Combined lifestyle modification and metformin in obese patients with polycystic ovary syndrome. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicentre study. *Hum Reprod.* 2006;21(1):80-9.
- 39** Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsbo S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in ‘standard’ IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod.* 2003;18(4):781-87.
- 40** Sharma S, Mittal S, Aggarwal P. Management of infertility in low resource countries. *BJOG.* 2009;116 suppl 1:77-83.

## Artigo 2

### Submetido ao *JBRA Assisted Reproduction*

Comparison GnRH agonist short protocol and GnRH antagonist in Brazilian normoresponder patients undergoing their first cycle of controlled ovarian stimulation

*Comparação do protocolo curto do GnRH agonista e GnRH antagonista em pacientes brasileiras normo-respondedoras submetidas ao primeiro ciclo de estimulação ovariana controlada*

GnRH agonist versus GnRH antagonist

Jalsi Tacon Arruda; Mário Silva Approbato; Mônica Canêdo Silva Maia; Tatiana Moreira da Silva; Carolina Rodrigues de Mendonça; Marisa de Sousa Ramos; Shirley Ribeiro Rodrigues; Maria Zélia Pires Brito; Coracy Coelho de Aguiar

Human Reproduction Laboratory; Clinical Hospital; Federal University of Goias, Goiania, Brazil.

Email: jalsitacon@gmail.com

Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás.

1ª Avenida, s/n, Setor Universitário, Goiânia, GO, Brasil. CEP 74605-020

Fone: (62) 3269-8278

Competing interests:

The authors report no financial or commercial conflicts of interest.

Authors contributions:

J.T.Arruda and M.S.Approbato were responsible for designing, coordinating the study, and for the statistical work. All authors were responsible for data collection, data analysis, and approved the final manuscript. J.T.Arruda was responsible for reviewing the manuscript and correspondences.

## ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the results of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-ag) and gonadotropin-releasing hormone antagonist (GnRH-ant) using daily dose fixed of rFSH, in Brazilian normoresponder patients undergoing their first *in vitro* fertilization or intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) cycle. **Methods:** a total 50 women were included in this retrospective comparative study. Patients were stimulated with standard 150 IU/day recombinant FSH (follitropin alfa). In group GnRH-ag a daily dose of leuprolide acetate (1 mg short protocol) was administered starting on day 1 of the cycle till the day of hCG injection. In GnRH-ant group a daily dose of cetrorelix acetate (0.25 mg) was administered when follicles reached a diameter of  $\geq 14$  mm. Recombinant human chorionic gonadotropin (250  $\mu$ g rhCG) was administered when at least three follicles of 18 mm in diameter were observed. Stimulation characteristics and outcome of both protocols were compared. **Results:** stimulation days with rFSH (11.0 vs. 9.24;  $p=0.0091$ ), total doses of rFSH (2094 vs. 1365 IU;  $p<0.0001$ ), GnRH using days (12.0 vs. 3.6;  $p<0.0001$ ), and total doses of GnRH (1.2 vs. 0.9 mg;  $p=0.0001$ ) was shorter in GnRH-antagonist group. The number of follicles ( $\geq 16$  mm) on day rhCG (6.76 vs. 4.64;  $p=0.04$ ) was higher in GnRH-ag group. There was no difference in the other parameters, nevertheless, the number oocytes retrieved (5.92 vs. 4.16;  $p=0.06$ ) was higher in GnRH-agonist group, but the fertilization rate (40.1 vs. 54.4 %;  $p=0.29$ ) was higher in GnRH-antagonist group. The rates of chemical and clinical pregnancy were similar in two groups. **Conclusion:** controlled ovarian stimulation plays a major role in human reproduction and, it is well known that, even in normoresponders patients, the first treatment cycle exposes patients to a risk of either a low or an excessive ovarian response. In this study GnRH-ag and GnRH-ant provide comparable results, but antagonist protocol was shorter period of stimulation.

**Keywords:** GnRH agonist, GnRH antagonist, normal ovarian response, infertility.

## RESUMEN

**Objetivo:** evaluar los resultados de la hormona liberadora de gonadotropina agonista (GnRH-ag) y de la hormona liberadora de gonadotropina antagonista (GnRH-ant), utilizando dosis diaria fija del FSH recombinante en pacientes normo-respondedoras brasileñas sometidas a su primer ciclo de fertilización *in vitro* o inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI). **Métodos:** un total de 50 mujeres fueron incluidas en este estudio retrospectivo comparativo. Las pacientes fueron estimuladas con 150 UI/día de FSH recombinante (folitropina alfa). En el grupo GnRH-ag se administró una dosis diaria de acetato de leuprolida (protocolo corto 1 mg) a partir del día 1 del ciclo hasta el día de la inyección de hCG. En el grupo GnRH-ant se administró una dosis diaria de acetato de cetrorelix (0,25 mg) cuando los folículos alcanzaron un diámetro de  $\geq 14$  mm. Gonadotropina coriónica humana recombinante (250  $\mu$ g rhCG) fue administrada cuando se observaron al menos tres folículos de 18 mm de diámetro. Se compararon las características de estimulación y los resultados de ambos los protocolos. **Resultados:** días de estimulación con FSH recombinante (11,0 vs. 9,24;  $p=0,0091$ ), dosis total de FSH recombinante (2.094 vs. 1.365 UI;  $p<0,0001$ ), días usando GnRH (12,0 vs. 3,6;  $p<0,0001$ ), y las dosis totales del GnRH (1,2 vs. 0,9 mg;  $p=0,0001$ ) fueron más cortas en el grupo antagonista de GnRH. El número de folículos ( $\geq 16$  mm) en el día del rhCG (6,76 vs. 4,64;  $p=0,04$ ) fue mayor en el grupo GnRH-ag. No hubo diferencias en los otros parámetros, sin embargo, el número de ovocitos recuperados (5,92 vs. 4,16;  $p=0,06$ ) fue mayor en el grupo de agonista de GnRH, pero la tasa de fertilización (40,1 vs. 70,8%;  $p=0,29$ ) fue mayor en el grupo antagonista de GnRH. Las tasas del embarazo químico o clínico fueron similares en ambos los grupos. **Conclusión:** la estimulación ovariana controlada tiene un papel importante en la reproducción humana y, es bien sabido que, en pacientes normo-respondedoras, el primer ciclo de tratamiento expone las pacientes a un riesgo de ser una respuesta ovárica baja o excesiva. En este estudio GnRH-ag y GnRH-ant proporcionaran resultados comparables, pero el protocolo antagonista fue más corto el período de estimulación.

**Palabras-clave:** agonista GnRH, antagonista GnRH, respuesta ovárica normal, infertilidad.

## RESUMO

**Objetivo:** avaliar os resultados do agonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-ag) e do antagonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-ant), utilizando dose diária fixa de FSH recombinante em pacientes brasileiras normo-respondedoras submetidas ao primeiro ciclo fertilização *in vitro* ou injeção intracitoplasmática de espermatozóides (FIV / ICSI). **Métodos:** um total de 50 mulheres foram incluídas neste estudo retrospectivo comparativo. As pacientes foram estimuladas com 150 UI/dia de FSH recombinante (folitropina alfa). No grupo de GnRH-ag foi administrada uma dose diária de acetato de leuprolide (protocolo curto 1 mg) desde o dia 1 do ciclo até ao dia da injeção de hCG. No grupo de GnRH-ant foi administrada uma dose diária de acetato de cetorelix (0,25 mg) quando os folículos atingiram um diâmetro de  $\geq 14$  mm. Recombinante da gonadotrofina coriônica humana (250  $\mu$ g rhCG) foi administrada quando havia pelo menos três folículos de 18 mm de diâmetro. Foram comparadas as características da estimulação e os resultados de ambos os protocolos. **Resultados:** dias de estimulação com FSH recombinante (11,0 vs. 9,24;  $p=0,0091$ ), dose total de FSH recombinante (2,094 vs. 1,365 UI;  $p<0,0001$ ), dias utilizando GnRH (12,0 vs. 3,6;  $p<0,0001$ ), e dose total de GnRH (1,2 vs. 0,9 mg;  $p=0,0001$ ) foi menor no grupo antagonista do GnRH. O número de folículos ( $\geq 16$  mm) no dia da rhCG (6,76 vs. 4,64;  $p=0,04$ ) foi maior no GnRH-ag. Não houve diferenças nos outros parâmetros, no entanto, o número de oócitos recuperados (5,92 vs. 4,16;  $p=0,06$ ) foi maior no grupo do agonista do GnRH, mas a taxa de fertilização (49,1 vs. 70,8%;  $p=0,29$ ) foi maior no antagonista do GnRH. As taxas de gravidez química e clínica foram semelhantes em ambos os grupos. **Conclusão:** a estimulação ovariana controlada tem um papel importante na reprodução humana e sabe-se que, em pacientes normo-respondedoras, o primeiro ciclo de tratamento expõe a paciente a um risco de uma resposta baixa ou excessiva. Neste estudo GnRH-ag e GnRH-ant proporcionaram resultados comparáveis, mas no protocolo antagonista foi menor o período de estimulação.

**Palavras-chave:** GnRH agonista, GnRH antagonista, resposta ovariana normal, infertilidade.

## INTRODUCTION

After the first success of the assisted reproductive techniques (ART), major advancements have been made in the treatment of infertility in the last thirty-five years. Despite these developments the ideal protocol is still controversial and the age is the most important prognostic factor for response to controlled ovarian stimulation (COS) and for pregnancy outcome (Daya, 2000; Cheung et al., 2005; Pu et al., 2011; Orvieto & Patrizio, 2013). During the assisted reproduction event, an optimal hormonal profile may exist that could lead to follicular aspiration of fully competent oocytes. A wide variety of ovarian hyperstimulation and ovulation induction protocols have been developed, in which gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues (agonists or antagonists) are used in conjunction with gonadotropins to induce ovulation and consequently blocking the natural release of LH by the positive feedback of estradiol ( $E_2$ ) in the brain (Fauser et al., 2008; Al-Inany et al., 2011; Bodri et al., 2011).

GnRH agonist (GnRH-ag) long protocol has been a usual standard COS method since it was introduced in assisted reproduction in the late 1980's (Daya, 2000). However, suppression necessitates an increase in the dosage of gonadotropins and in the duration of treatment (Kim et al., 2011). GnRH antagonist (GnRH-ant) since the late 1990's been used as part of the therapeutic in the assisted reproduction (Bodri et al., 2011). The GnRH-ant acts by directly binding the GnRH receptors and block them in a competitive manner (Cheung et al., 2005). The development of GnRH-ant capable of blocking the pituitary receptors offered a new therapeutic option. Consequently, GnRH-ant reduces the dosage and length of the exogenous gonadotropin treatment.

Comparative studies between the two analogues have suggested that the use of antagonists is associated with a shorter duration of the ovulatory stimulus and a decreased incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS); however, the rates of pregnancy and live birth do not appear to be significantly affected, depending on the type of GnRH analogue used (Fauser et al., 2008; Hayden, 2008; Firouzabadi et al., 2010; Griesinger et al., 2010; Pu et al., 2011; Maldonado et al., 2013; Orvieto & Patrizio, 2013). Multiple follicular development is achieved by extending the period during which the concentration of FSH remains above the FSH threshold necessary to stimulate single-follicular growth. Studies about pharmacology have suggesting that the time lag between FSH administration and follicular growth was at least 4 days long (Yong et al., 2003; Xavier et al., 2005; Hsieh et

al., 2008; Aygum & Kahraman, 2010; Firouzabadi et al., 2010). Daily Fixed doses protocols of gonadotropins to compare efficacy of treatment like length, the total dose of gonadotropins, as well as the number of oocytes recovered are pitfalls because frequently are necessary to adjust doses during treatment.

The aim of this study was to compare the effect of using a short-term GnRH agonist protocol with the GnRH antagonist in ovarian stimulation with a fixed dose of recombinant FSH, for assisted reproductive treatment in women with normal ovarian response undergoing their first *in vitro* fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle.

## **METHODS**

This was a retrospective comparative study performed at the Human Reproduction Laboratory of the Clinical Hospital of the Federal University of Goiás (LabRep–HC–UFG) and approved by our Institutional Review Board (CEP/HC-UFG n°007/2011).

Included in the study were women aged  $\leq 40$  years undergoing their first IVF/ICSI cycle performed from January 2009 to December 2012; body mass index (BMI) between 19 and 30 kg/m<sup>2</sup>; basal FSH < 10 mIU/mL; E<sub>2</sub> level of < 60 pg/mL; regular menses and both ovaries present. Patients with polycystic ovary syndrome or who received another type of controlled ovulation stimulation protocol were excluded. Patients with these criteria were allocated to one of the study groups according to the analogue used for the ovarian stimulation. Hormonal profiles (serum levels of basal FSH, LH, and E<sub>2</sub>) and the number of basal antral follicle in ultrasound were measured on the 2nd or 3rd day of menstruation in all patients. In order to synchronize the cycles, all the patients received oral contraceptives pill (*Gynera*<sup>®</sup>; Bayer HealthCare Pharmaceuticals) before controlled ovarian stimulation.

### **Ovarian stimulation**

#### **1. GnRH-agonist group** – short protocol or so-called “flare-up” (n= 25)

Women in this group received leuprolide acetate (Lupron<sup>®</sup>; Abbott) at a dose of 1 mg/day starting on day 1 of the cycle till the day of rhCG injection. The ovaries were then stimulated with dose of 150 IU/day recombinant FSH (rFSH; follitropin alfa Gonal F<sup>®</sup>; Serono) started on day 3 of the menstrual cycle, for a variable period according to each patient. Follicular development was monitored by transvaginal ultrasound.

## **2. GnRH-antagonist group (n= 25) (Figueiredo et al., 2012)**

Clomiphene citrate (100 mg/day) was given during the cycle on days two through six. The ovaries were then stimulated with dose of 150 IU/day recombinant FSH (rFSH; follitropin alfa Gonal F<sup>®</sup>; Serono) started on day 3 of the menstrual cycle, for a variable period according to each patient. GnRH antagonist cetrorelix (Cetrotide<sup>®</sup>; Serono) was started at a dose of 0.25 mg/day during the late follicular phase when at least one follicle of  $\geq 14$  mm was observed by ultrasound.

To induce the final oocyte maturation in both groups (GnRH-ag and GnRH-ant), 250  $\mu$ g of recombinant hCG (rhCG, Ovidrel<sup>®</sup>; Serono) was injected to induce follicular maturation when one or more follicles reached a mean diameter of  $\geq 18$  mm. Oocyte retrieval was performed 34 to 36 hours after rhCG injection by transvaginal aspiration under ultrasound guidance. Standard IVF or ICSI was applied as indicated. One to four embryos were transferred into the uterus on day 3 of culture under ultrasound guidance. The luteal phase was supported by transvaginal micronized progesterone 200mg three times per day (Uterogestan<sup>®</sup>; Besins Iscovesco). A serum beta HCG measurement was ordered two weeks after embryo transfer. In case of positive pregnancy test result, an ultrasound was performed four weeks afterwards for confirm the clinical pregnancy by the presence of a gestational sac with fetal cardiac activity on ultrasound.

Demographic, clinical and laboratorial outcome parameters were compared between the two groups. Analysis of data was carried out using SPSS 20.0 statistical analysis software (Statistical Packages for the Social Sciences, USA). Descriptive statistics for continuous variables were reported as means  $\pm$  standard deviation (SD). Categorical variables were described using frequency distributions and are presented as frequency (%). The Mann-Whitney U-test for independent samples was used as appropriate to compare continuous variables. The  $\chi^2$  test was used to compare categorical variables. A P value  $< 0.05$  was considered to be statistically significant.

## **RESULTS**

A total of 50 patients who underwent ART with both GnRH agonist and antagonist protocols were evaluated regarding cycle characteristics and treatment outcome. The overall mean age for women was  $34.12 \pm 4.39$  years (range 23-40) and BMI was  $23.6 \pm 3.91$ kg/m<sup>2</sup>. The mean duration of infertility was  $3.1 \pm 1.80$  years. The causes of infertility

were tubal factor (56.6%), endometriosis (32.1%) and other cause of infertility (11.3%). Basic demographic characteristics such as age, BMI, fertility characteristics and hormonal profiles were not significantly different ( $p>0.05$ ) between the groups. These data are summarized in Table 1.

The results of the ovarian stimulation are show in Table 2. The stimulation days with rFSH ( $p=0.0091$ ), total doses of gonadotropins ( $p<0.0001$ ), days use and total doses of GnRH analogues was significantly higher in GnRH–agonist group ( $p<0.0001$  and  $p=0.0001$ , respectively). A total of 252 oocytes were obtained ( $5.04 \pm 3.84$ , range 1-23): 148 from the GnRH–ag group and 104 from the GnRH–ant. Statistically significant difference was found between the two stimulation protocols for the number of follicles ( $\geq 16$  mm) on day rhCG, considerably higher in GnRH–ag group ( $p=0.04$ ). However, oocytes retrieved, in MII, with 2PN, cleaved and transferred embryos were similar between the groups (show in Table 2). No cycle was cancelled before oocyte retrieval because of premature LH surge in this study, so all patients had oocyte retrieval, and no patients developed ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS).

## DISCUSSION

The present study evaluated the results of GnRH agonist (leuprolide short protocol) compared with GnRH antagonist (cetorelix); using dose of 150 IU/day rFSH (follitropin alfa) for ovarian stimulation, in Brazilian normoresponder patients undergoing their first IVF/ICSI cycle. There is a debate regarding the best stimulation protocol which should be the first choice in a normoresponder woman. The statistically significant differences observed in the number of stimulation days with rFSH, total doses of gonadotropins, days use and total doses of GnRH, and the number of follicles ( $\geq 16$  mm) on day rhCG were higher in GnRH–ag group.

Yong et al., (2003) was the first comparative study of two different doses of the rFSH (Gonal-F<sup>®</sup>) in a fixed-dose regime and their results show a dose-dependent increase in ovarian response to COS, as evidenced by the degree of follicular recruitment and the number of oocytes retrieved. This was achieved with a shorter duration of stimulation, but at the expense of an increased total rFSH dose. We used a daily fixed dose of rFSH in this study and found that the GnRH–ag group required more days of use increasing the total dosage used of the gonadotropin.

Cochrane review (Van Wely et al., 2003) and Hompes et al., (2008) propose the importance of use more uniform procedures, such as a fixed gonadotropin dosage to minimize the variability. This is especially important in studies where investigators theoretically could introduce a bias by selectively adapting the dosage of gonadotropin. On the other hand, a strict fixed dose also has disadvantages and could may not be ideal for evaluating pregnancy rates where the outcomes would be conditioned by the proportion of patients who responded to the dose selected (Hompes et al., 2008).

Human reproduction centers use oral contraceptive pill (OCP) to schedule the patients to meet the organizational needs with practical implications. Griesinger et al., (2008) in a systematic review and meta-analysis summarizes data from four randomized clinical trials on OCP pretreatment in ovarian stimulation for IVF to schedule the start of gonadotropin stimulation using GnRH antagonists showed that the consumption of gonadotropins and the duration of ovarian stimulation was significantly increased after OCP pretreatment.

We also observed that the stimulation days increased in the GnRH agonist group, but the total dose of the gonadotropin, consequently, also increased in the same group. Furthermore, it is evident that the use of OCP will increase the overall treatment duration and the total financial cost. These drawbacks should to be observed by clinicians and patients considering the benefits associated with treatment scheduling.

Xavier et al., (2005) in Portuguese women without OCP, showed statistically significant differences only two parameters: the duration of stimulation (using 150–450 IU/day rFSH) and the duration of suppression in the agonist group (using 0.6 mg of busereline long protocol). However, the total dose of the rFSH was higher in the antagonist group (with 0.25 mg cetrorelix) and the number of follicles ( $\geq 15$  mm) on day hCG were higher in GnRH agonist group, but no was difference statistically significant. We also observe that the total dose increased in the GnRH–ag group, but using a fixed dose of rFSH. Hsieh et al., (2008) in Asian normoresponder patients, compared different dosage protocols for cetrorelix (0.25, 0.2 and 0.15 mg/day), leuprolide (0.5 mg/day long protocol) and leuprolide depot (1.88 mg) with rFSH (follitropin alfa) 150–225 IU/day in younger patients (< 34 years) and in older patients ( $\geq 34$ -39 years) were administered 225–300 IU/day; without the use of OCP. These authors verified that the number of oocytes retrieved was higher in group with 0.25 mg cetrorelix than those in other groups and also produced better qualities of embryos and oocytes.

Current consensus is that a higher dose leads to the retrieval of more oocytes but similar pregnancy rates in standard patients (younger than 40 years of age, having two ovaries, a normal menstrual cycle and a normal basal FSH level) (Fauser et al., 2008; Hayden, 2008). Firouzabadi et al., (2010) recommended dose of rFSH was 100 to 250 IU/day in the agonist protocol and 150 or 200 IU/day in the GnRH antagonist cycles.

Kolibianakis et al., (2006) propose that the stimulation duration was shorter and there was less usage of rFSH used GnRH antagonist protocol as an advantage when compared with agonist treatment, and Huang et al., (2011) showed some advantages of the GnRH antagonist protocol. Aygun & Kahraman, (2010) concluded that GnRH antagonist (using 0.25 mg cetrorelix) protocol might be considered as comparable and even better compared with agonist (using 0.5 mg leuprolide long protocol) in a Turkish normoresponder woman. Therefore, they suggest that in patients in the first attempt, the other one might be considered safely for the next treatment cycle instead of giving the same protocol again. The result of the studies of Tehraninejad et al., (2011) reported that duration of stimulation days was significantly longer in agonist group, using starting dose 150-225 IU/day rFSH in Iranian normoresponder patients. This same study showed greater number of MII oocyte in agonist group.

We not found a study with same protocols of this (leuprolide short protocol or cetrorelix GnRH analogue and follitropin alfa rFSH daily fixed dose). In our observation the antagonist protocol resulted in a reduction in the duration of stimulations days with rFSH and diminish the amount of gonadotropin administered. This shortened the duration of GnRH analogue therapy, when compared with GnRH-ag protocol. Many studies showed that it is more patient-friendly protocol because patients are likely to prefer shorter cycles with reduced number of injections and side effects among other benefits (Xavier et al., 2005; Younis et al., 2010; Orvieto & Patrizio, 2013).

Hsieh et al., (2008) demonstrated that GnRH antagonist protocol was effective, although a slight reduction in pregnancy rate may be rectified by developing flexible regimens designed for individual patients. The corpus luteum function seems to be impaired with GnRH antagonist. However, is associated with elevated progesterone levels in the late follicular phase and accelerated endometrial maturation in the subsequent luteal phase. Maldonado et al., (2013) also observed that duration of GnRH was significantly reduced the mean number of injections from 20 to 6.6 compared with the long agonist schedule. These authors showed that down-regulation with a GnRH-ag (tryptorelin 0.1 mg) on alternate

days is significantly less costly than the GnRH-ant treatment, in Brazilian normal-responding patients stimulated with rFSH (starting 225 IU/day) and rhCG microdoses.

In this study there was no difference in the oocytes retrieved, MII oocytes, 2PN oocytes, and cleaved and transferred embryos. Though higher, the number oocytes retrieved in GnRH-ag group was not significant, but the fertilization rate was higher in GnRH-ant group, nevertheless with more miscarriages. The rates of chemical and clinical pregnancy were similar in two groups. The rate of abortion was bigger in GnRH-ant group, but this was not statistically significant in present study. Bahceci et al., 2009 reported that the rate of early pregnancy loss was higher in antagonist protocol.

After a decade of doubts and hesitation, GnRH antagonist protocols have become extremely popular and are widely used during COS (Bahceci et al., 2009; Devroey et al., 2009; Younis et al., 2010; Huang et al., 2011; Kim et al., 2011; Tehraninejad et al., 2011). A recent Cochrane review meta-analysis (Al-Inany et al., 2011), which was comparing GnRH antagonist versus the long agonist protocol has apparently settled the ongoing debate on the place of GnRH antagonists in infertility treatment. Johnston-MacAnanny et al. (2011), in a retrospective review of patients undergoing their first IVF cycle and good responders, showed that clinical and ongoing pregnancy rates and implantation rates were similar in 755 patients in GnRH agonist and 378 in a GnRH antagonist protocol. Orvieto & Patrizio, (2013) reported that multiple meta-analyses comparing GnRH agonist long with GnRH antagonist protocols have yielded conflicting results for pregnancy rate and argues that the equivalence of these two protocols is not as clear as it has been presented.

Controlled ovarian stimulation plays a major role in reproductive medicine and represents a fundamental step on the way to a pregnancy using assisted reproductive techniques. In conventional ovarian stimulation for IVF/ICSI, it is well known that, even in normoresponders patients, the first treatment cycle exposes patients to a risk of either a low or an excessive ovarian response. Our data indicates that GnRH-ag short protocol appears to be slightly more effective than the GnRH-ant protocol, but shows statistically no significant difference in pregnancy rate.

GnRH antagonists provide significant advantages in terms of fewer injections, fewer days, and avoidance of the adverse effects of the agonist, including an immediate mode of action, flexibility of use and reversibility of action as soon as the analogue is discontinued, making the antagonist protocols an attractive modern approach for ovarian stimulation and

probably the analogue of first choice for pituitary down-regulation (Copperman & Benadiva, 2013).

In conclusion, a shorter duration of rFSH stimulation and administration of GnRH-ant (with a lower probability of OHSS), and an insignificant difference in the rate of live births compared with GnRH-ag. The retrospective design of the study prevents us from drawing firm conclusions regarding the effect of GnRH analogues in normoresponders. Furthermore studies, as well as randomized clinical trials, are required to knowledge of the better protocol for to use in normoresponder women undergoing ART.

## REFERENCES

1. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(5):CD001750.
2. Aygum BK, Kahraman S. Comparison of GnRH agonist long and antagonist protocols in the same normoresponders patient undergoing assisted reproductive treatment. *Firat Tıp Dergisi* 2010;15(3):123-27.
3. Bahceci M, Ulug U, Sismanoglu A, Tosun S, Cengiz B. Early pregnancy loss rate were different among singleton gestations conceived by ICSI using GnRH agonist and antagonist. *J Asist Reprod Genet* 2009;26(4):227-29.
4. Bodri D, Sunkara SK, Coomarasamy A. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists for controlled ovarian hyperstimulation in oocyte donors: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2011;95(1):164-69.
5. Cheung LP, Lam PM, Lok IH, Chiu TT, Yeung SY, Tjer CC, Haines CJ. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005;20(3):616-21.
6. Copperman AB, Benadiva C. Optimal usage of the GnRH antagonists: a review of the literature. *Reprod Biol Endocrinol* 2013;11:20.
7. Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in *in vitro* fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD001299.
8. Devroey P, Aboulghar M, Garcia-Velasco J, Griesinger G, Humaidan P, Kolibianakis E, Ledger W, Tomás C, Fauser BC. Improving the patient's experience of IVF/ICSI: a

proposal for an ovarian stimulation protocol with GnRH antagonist co-treatment. Hum Reprod 2009;24(4):764-74.

9. Fauser BC, Diedrich K, Devroey P, Evian Annual Reproduction Workshop Group 2007. Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation. Hum Reprod Update 2008;14(1):1-14.

10. Figueiredo JBP, Nastri CO, Vieira ADD, Martins WP. Clomiphene combined with gonadotropins and GnRH antagonist versus conventional controlled ovarian hyperstimulation without clomiphene in women undergoing assisted reproductive techniques: systematic review and meta-analysis. Arch Gynecol Obstet 2013;287(4):779-90.

11. Firouzabadi RD, Ahmadi S, Oskouian H, Davar R. Comparing GnRH agonist long protocol and GnRH antagonist protocol in outcome the first cycle of ART. Arch Gynecol Obstet 2010;281(1):81-85.

12. Griesinger G, Kolibianakis EM, Venetis C, Diedrich K, Tarlatzis B: Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin releasing hormone antagonist cycles: an updated meta-analysis. Fertil Steril 2010, 94:2382-2384.

13. Griesinger G, Venetis CA, Marx T, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM. Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril 2008;90(4):1055-63.

14. Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. Eur J Endocrinol 2008;(159 Suppl 1):S17-25.

15. Hompes PG, Broekmans FJ, Hoozemans DA, Schats R, FIRM group. Effectiveness of highly purified human menopausal gonadotropin vs. recombinant follicle-stimulating hormone in first-cycle *in vitro* fertilization-intracytoplasmic sperm injection patients. Fertil Steril 2008;89(6):1685-93.

16. Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Comparisons of different dosages of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist, short-acting form and single, half-dose, long-acting form of GnRH agonist during controlled ovarian hyperstimulation and *in vitro* fertilization. Taiwan J Obstet Gynecol 2008; 47(1):66-74.

17. Huang SY, Huang HY, Yu HT, Wang HS, Chen CK, Lee CL, Soong YK. Low-dose GnRH antagonist protocol is as effective as the long GnRH agonist protocol in unselected

patients undergoing *in vitro* fertilization and embryo transfer. Taiwan J Obstet Gynecol 2011;50(4):432-35.

18. Johnston-MacAnanny EB, DiLuigi AJ, Engmann LL, Maier DB, Benadiva CA, Nulsen JC. Selection of first *in vitro* fertilization cycle stimulation protocol for good prognosis patients: gonadotropin releasing hormone antagonist versus agonist protocols. J Reprod Med 2011;56(1-2):12-16.

19. Kim CH, You RM, Kang HJ, Ahn JW, Jeon I, Lee JW, Kim SH, Chae HD, Kang BM. GnRH antagonist multiple dose protocol with oral contraceptive pill pretreatment in poor responders undergoing IVF/ICSI. Clin Exp Reprod Med 2011;38(4):228-33.

20. Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH-analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2006;12(6):651-71.

21. Maldonado LG, Franco Jr JG, Setti AS, Iaconelli Jr A, Borges Jr E. Cost-effectiveness comparison between pituitary down-regulation with gonadotropin-releasing hormone agonist short regimen on alternate days and an antagonist protocol for assisted fertilization treatments. Fertil Steril 2013;99(6):1615-22.

22. Orvieto R, Patrizio P. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: an ongoing debate. Reprod Biomed Online 2013;26(1):4-8.

23. Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. Hum Reprod 2011;26(10):2742-49.

24. Tehraninejad E, Nezamabadi AG, Rashidi B, Sohrabi M, Bagheri M, Haghollahi F, Nekoo EA, Jafarabadi M. GnRH antagonist versus agonist in normoresponders undergoing ICSI: a randomized clinical trial in Iran. Iran J Reprod Med 2011;9(3):171-76.

25. Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. Cochrane Database Syst Rev 2003;(1):CD003973.

26. Xavier P, Gamboa C, Calejo L, Silva J, Stevenson D, Nunes A, Martinez-de-Oliveira J. A randomised study of GnRH antagonist (cetrotrelix) versus agonist (busereline) for controlled ovarian stimulation: effect on safety and efficacy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2005;120(2):185-89.

27. Yong PY, Brett S, Baird DT, Thong KJ. A prospective randomized clinical trial comparing 150 IU and 225 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F<sup>®</sup>) in a

fixed-dose regimen for controlled ovarian stimulation in *in vitro* fertilization treatment. *Fertil Steril* 2003;79(20):308-15.

28. Younis JS, Soltsman S, Izhaki I, Radin O, Bar-Ami S, Ben-Ami M. Early and short follicular gonadotropin-releasing hormone antagonist supplementation improves the meiotic status and competence of retrieved oocytes in *in vitro* fertilization–embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 2010;94(4):1350-55.

Table 1. Characteristics for patients who received different protocols of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) for pituitary suppression during controlled ovarian stimulation. LabRep–HC–UFG, 2012.

	<b>Agonist</b>	<b>Antagonist</b>	<b>P</b>
<b>Physical characteristics</b>			
Cycles analyzed	25	25	
Age (years)	33.76 ± 4.30	34.48 ± 4.54	0.46 <sup>c</sup>
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	24.30 ± 2.90	23.50 ± 2.70	0.86 <sup>c</sup>
<b>Fertility characteristics</b>			
Duration infertility (years)	3.3 ± 1.60	3.0 ± 1.20	0.53 <sup>c</sup>
<b>Infertility</b>			
Primary	44% (11)	28% (07)	0.37 <sup>d</sup>
Secondary	56% (14)	72% (18)	
<b>Aetiology</b>			
Tubal factor	52% (13)	60% (15)	0.9 <sup>d</sup>
Endometriosis	48% (12)	20% (05)	
Other cause	0% (0)	20% (05)	
<b>Basal female hormonal <sup>a</sup></b>			
FSH (mUI/mL)	6.04 ± 2.13	5.53 ± 1.45	0.34 <sup>c</sup>
LH (mUI/mL)	3.44 ± 1.46	3.68 ± 1.50	0.79 <sup>c</sup>
Estradiol (pg/mL)	37.35 ± 25.23	58.06 ± 58.17	0.12 <sup>c</sup>
Antral follicle count <sup>b</sup>	4.37 ± 3.60	4.81 ± 2.60	0.59 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> on cycle day 3

<sup>b</sup> ≥ 3 follicles

<sup>c</sup> Mann-Whitney

<sup>d</sup> x<sup>2</sup> test

Values expressed as mean ± SD or % (number)

Table 2. Controlled ovarian stimulation and laboratory outcomes for patients who received different protocols of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) for pituitary suppression during controlled ovarian stimulation. LabRep–HC–UFG, 2012.

	<b>Agonist</b>	<b>Antagonist</b>	<b>P</b>
<b>Ovarian stimulation</b>			
Days of rFSH (150 IU/day)	11.0 ± 1.77	9.24 ± 2.22	0.0091 <sup>a*</sup>
Total dose of rFSH required (IU)	2094 ± 352.39	1365 ± 293.68	<0.0001 <sup>a*</sup>
<b>Pituitary down-regulation</b>			
Duration of suppression (days)	12 ± 1.63	3.60 ± 1.22	<0.0001 <sup>a*</sup>
Total dose of GnRH (mg)	1.2 ± 0.16	0.90 ± 0.30	0.0001 <sup>a*</sup>
<b>Clinical outcomes</b>			
Follicles ≥ 16 mm (rhCG day)	6.76 ± 4.57	4.64 ± 3.21	0.04 <sup>a*</sup>
<b>Laboratory outcomes</b>			
Oocytes retrieved	5.92 ± 4.58	4.16 ± 2.76	0.06 <sup>a</sup>
MII oocytes	4.48 ± 4.02	3.16 ± 2.21	0.27 <sup>a</sup>
2PN oocytes	2.20 ± 2.08	2.24 ± 2.31	0.91 <sup>a</sup>
Embryos cleaved	2.04 ± 2.0	2.16 ± 2.24	0.94 <sup>a</sup>
Embryos transferred (day 3)	1.80 ± 1.29	1.72 ± 1.40	0.83 <sup>a</sup>
Fertilization rate	40.1% (45/112)	54.4% (43/79)	0.29 <sup>b</sup>
Implantation rate	13.3% (06/45)	9.3% (04/43)	0.42 <sup>b</sup>
Pregnancy per cycle	24% (06/25)	16% (04/25)	0.41 <sup>b</sup>
Miscarriages	10% (01/10)	20% (02/10)	0.53 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Mann-Whitney

<sup>b</sup>  $\chi^2$  test

MI – metaphase II

2PN – two pronucleus

Values expressed as mean ± SD or % (number)

## 6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram concluir que:

- As pacientes que utilizaram agonista do GnRH (protocolo curto) apresentaram ligeira diferença nos seguintes resultados laboratoriais: maior número de oócitos ( $\geq 16$  mm) no dia do rHCG, oócitos recuperados e em metáfase II. Contudo, não houve diferença estatisticamente significativa.
- Não houve diferença na taxa de gravidez quando os grupos foram comparados.
- O protocolo com antagonista do GnRH proporcionou menor duração da estimulação, dose total de gonadotrofina exógena e também da quantidade total do antagonista utilizado.

Embora não tenha havido diferenças significativas nos resultados analisados, o uso do protocolo flexível com antagonista para indução ovariana apresenta algumas vantagens sobre o protocolo com agonista. Facilita a manipulação pela paciente usuária e possibilita o uso de doses menores tanto de gonadotrofinas quanto do próprio antagonista, reduzindo o custo do tratamento quando comparado ao protocolo com agonista do GnRH. E em relação aos riscos de síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS), a probabilidade de evitar tal intercorrência durante a indução da ovulação controlada proporciona segurança ao tratamento e diminui a chance de complicações.

A literatura não evidencia o protocolo ideal a ser utilizado no primeiro ciclo de indução da ovulação controlada de pacientes normo-respondedoras. No entanto, o protocolo com antagonista proporcionou melhor custo-

benefício em relação à diminuição da duração da estimulação e no número de injeções tornando-o atraente as pacientes submetidas ao tratamento de infertilidade.

Novos estudos, principalmente ensaios clínicos randomizados, deverão ser realizados para elucidar o protocolo ideal para mulheres normo-respondedoras submetidas ao primeiro ciclo de reprodução assistida.

Nesse sentido, o protocolo com antagonista tornou-se a primeira escolha no serviço do Laboratório de Reprodução Humana (LabRep-HC-UFG), sendo o protocolo com agonista reservado para casos de má resposta ovariana entre outras particularidades.

## 7. REFERÊNCIAS

---

\_\_\_\_. Imagem da recepção do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <http://labrep.hc.ufg.br/pages/41804> Acesso em: 20 de maio de 2013.

Abreu LG, Vireque AA, Santos JC, Poli Neto OB, Silva ACJSR, Sá MFS. Análogos do GnRH: bases moleculares e aplicações em reprodução assistida. *Fêmina*. 2006; 34(6):401-07.

Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod*. 2002;17(4):874-85.

Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(5):640-49.

Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(5):CD001750.

Approbato FC, Approbato MS, Florencio R, Maia MCS, Silva TM. Razão de chance elevada para gravidez ectópica em pacientes com obstrução tubária atendidas em clínicas de fertilização assistida. *JBRA Assist Reprod*. 2011;16(1):32-34.

Approbato MS. *Manual Prático de Metodologia Científica*. Goiânia: FUNAPE, 2010.

Arruda JT, Maia MCS, Silva TM, Approbato MS. Técnicas de reprodução assistida – revisão histórica. *JBRA Assit Reprod*. 2012;16(5):282-85.

ASRM – American Society for Reproductive Medicine. Induction of ovarian follicle development and ovulation with exogenous gonadotropins. Practice Committee Report. A technical Bulletin Birmingham, Alabama, USA; June 1998.

ASRM – American Society for Reproductive Medicine. Infertility: an overview. A guide for patients”, American Society for Reproductive Medicine. 2003.

Aygum BK, Kahraman S. Comparison of GnRH agonist long and antagonist protocols in the same normoresponders patient undergoing assisted reproductive treatment. *Firat Tıp Dergisi*. 2010;15(3):123-27.

Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, Van Opstal, Beckers NG, Verhoeff A, Macklon NS, Fauser BC. Milder ovarian stimulation for in vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2007;22(4):980-88.

Bahceci M, Ulug U, Sismanoglu A, Tosun S, Cengiz B. Early pregnancy loss rate were different among singleton gestations conceived by ICSI using GnRH agonist and antagonist. *J Asist Reprod Genet.* 2009;26(4):227-9.

Barmat LI, Chantilis SJ, Hurst BS, Dickey RP. A randomized prospective trial comparing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist/recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) versus GnRH-agonist/rFSH in women pretreated with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2005;83(2):321-30.

Bliss SP, Navratil AM, Xie J, Roberson MS. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Front Neuroendocrinol.* 2010;31(3):322-40.

Bloch M, Azem F, Aharonov I, Ben Avi I, Yagil Y, Schreiber S, Amit A, Weizman A. GnRH-agonist induced depressive and anxiety symptoms during in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2011;95(1):307-9.

Bodri D, Sunkara SK, Coomarasamy A. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists for controlled ovarian hyperstimulation in oocyte donors: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2011;95(1):164-9.

Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1506-12.

Castro EC, Florencio RS, Monteiro Filho G, Amaral WN. Folículos antrais como marcadores da reserva ovariana. *Reprod Clim.* 2010;26(1):7-11.

Cavagna M, Maldonado LG, de Souza Bonetti TC, de Almeida Ferreira Braga DP, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Supplementation with a recombinant human chorionic gonadotropin microdose leads to similar outcomes in ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone using either a gonadotropin-releasing hormone agonist or antagonist for pituitary suppression. *Fertil Steril.* 2010;94(1):167-72.

Cheung LP, Lam PM, Lok IH, Chiu TT, Yeung SY, Tjer CC, Haines CJ. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2005;20(3):616-21.

Copperman AB, Benadiva C. Optimal usage of the GnRH antagonists: a review of the literature. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:20.

Cuperschmid EM, Campos TPR. Os curiosos xenoimplantes glandulares do doutor Voronoff. *Hist Cienc Saude Manguinhos.* 2007;14(3):737-60.

d'Alva CB, Serafini P, Motta E, Latronico AC, Mendonça BB. FSH receptor polymorphisms and iatrogenic ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(8):4978.

Daya S, Ledger W, Auray JP, Duru G, Silverberg K, Wikland M, Bouzayen R, Howels CM, Beresniak A. Cost-effectiveness modeling of recombinant FSH versus urinary FSH in assisted reproduction techniques in the United Kingdom. *Hum Reprod.* 2001;16:2563-69.

Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in *in vitro* fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001299.

Devroey P, Aboulghar M, Garcia-Velasco J, Griesinger G, Humaidan P, Kolibianakis E, Ledger W, Tomás C, Fauser BC. Improving the patient's experience of IVF/ICSI: a proposal for an ovarian stimulation protocol with GnRH antagonist co-treatment. *Hum Reprod.* 2009;24(4):764-74.

Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(2):84-90.

Devroey P, Pellicer A, Nyboe Andersen A, Arce JC, Menopur in GnRH Antagonist cycles with single embryo transfer trial group. A randomized assessor-blind trial comparing highly purified hMG and recombinant FSH in a GnRH antagonist cycle with compulsory single-blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2012;97(3):561-71.

Edwards RG, Gates AH. Timing of the stages of the maturation divisions, ovulation, fertilization, and the first cleavage of eggs of adult mice treated with gonadotrophins. *J Endocrinol.* 1959;18:292-304.

Edwards RG, Lobo RA, Bouchard P. Why delay the obvious need for milder forms of ovarian stimulation? *Hum Reprod.* 1997;12(2):399-401.

Edwards RG. Introduction: the beginnings of human *in vitro* fertilization. In: Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z editors. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques, Laboratory and Clinical Perspectives.* 2nd ed. 2004.

Edwards RG. Maturation *in vitro* of human ovarian oocytes. *Lancet.* 1965;2:926-929.

Fan QR, Hendrickson WA. Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature.* 2005;433(7023):269-77.

Fauser BC, Alper MM, Ledger W, Schoolcraft WB, Zandvliet A, Mannaerts BM, Engage Investigators. Pharmacokinetics and follicular dynamics of corifollitropin alfa versus recombinant FSH during ovarian stimulation for IVF. *Reprod Biomed Online.* 2011;22(suppl 1):s23-31.

Fauser BC, Devroey P. Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization so slow? *Fertil Steril.* 2005;83(6):1607-11.

Fauser BC, Diedrich K, Devroey P, Evian Annual Reproduction Workshop Group 2007. Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*. 2008;14(1):1-14.

Fauser BC, Nargund G, Andersen AN, Norman R, Tarlatzis B, Boivin J, Ledger W. Mild ovarian stimulation for IVF: 10 years later. *Hum Reprod*. 2010;25(11):2678-84.

Fauser BC. Developments in human recombinant follicle stimulating hormone technology: are we going in the right direction? *Hum Reprod*. 1998;suppl 3:36-46; discussion 47-51.

FEBRASGO - Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetria. Manual de Orientação Reprodução Humana. 2011.

Figueiredo H. A procriação medicamente assistida e as gerações futuras, Gráfica de Coimbra, Coimbra, 2005.

Firouzabadi RD, Ahmadi S, Oskouian H, Davar R. Comparing GnRH agonist long protocol and GnRH antagonist protocol in outcome the first cycle of ART. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;281(1):81-85.

Fleming R, Deshpande N, Traynor I, Yates RW. Dynamics of FSH-induced follicular growth in subfertile women: relationship with age, insulin resistance, oocyte yield and antimüllerian hormone. *Hum Reprod*. 2006;21(6):1436-41.

Franco JG Jr, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, Cornicelli J, Cavagna M, Oliveira JB. GnRH agonist versus GnRH antagonist in poor ovarian responders: a metaanalysis. *Reprod Biomed Online*. 2006;13(5):618-27.

Griesinger G, Felberbaum R, Diedrich K. GnRH antagonists in ovarian stimulation: a treatment regimen of clinicians' second choice? Data from the German National IVF Registry. *Hum Reprod*. 2005;20(9):2373-75.

Griesinger G, Kolibianakis EM, Venetis C, Diedrich K, Tarlatzis B. Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin releasing hormone antagonist cycles: an updated meta-analysis. *Fertil Steril*. 2010, 94(6):2382-84.

Griesinger G, Schultz L, Bauer T, Broessner A, Frambach T, Kissler S. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a 'freeze-all' strategy: a prospective multicentric study. *Fertil Steril*. 2011;95(6):2029-33.

Griesinger G, Venetis CA, Marx T, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolibianakis EM. Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2008;90(4):1055-63.

Gurunath S, Pandian Z, Anderson RA, Bhattacharya S. Defining infertility – a systematic review of prevalence studies. *Hum Reprod.* 2011;17(5):575-88.

Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *Eur J Endocrinol.* 2008;159(suppl 1):S17-25.

Heijnen EM, Eijkemans MJ, De Klerk C, Polinder S, Beckers NG, Klinkert ER, Broekmans FJ, Passchier J, Te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. A mild treatment strategy for in vitro fertilization: a randomized non-inferiority trial. *Lancet.* 2007;369(9563):743-49.

Holzer H, Casper R, Tulandi T. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril.* 2006;85(2):277-84.

Homburg R. Clomiphene citrate - end of an era? A mini- review. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2043-51.

Hompes PG, Broekmans FJ, Hoozemans DA, Schats R, FIRM group. Effectiveness of highly purified human menopausal gonadotropin vs. recombinant follicle-stimulating hormone in first-cycle *in vitro* fertilization-intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil Steril.* 2008;89(6):1685-93.

Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Comparisons of different dosages of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist, short-acting form and single, half-dose, long-acting form of GnRH agonist during controlled ovarian hyperstimulation and in vitro fertilization. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2008; 47(1):66-74.

Huang SY, Huang HY, Yu HT, Wang HS, Chen CK, Lee CL, Soong YK. Low-dose GnRH antagonist protocol is as effective as the long GnRH agonist protocol in unselected patients undergoing *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2011;50(4):432-35.

Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies In: WHO – World Health Organization. Current practices and controversies in assisted reproduction. 2002.

Huirne JA, Homburg R, Lambalk CB. Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF? *Hum Reprod.* 2007;22(11):2805-13.

Johnson MH. Robert Edwards: Nobel laureate in physiology or medicine. Nobel Lecture/Nobel Prize Symposium in Honour of Robert G. Edwards, December 7, 2010.

Johnston-MacAnanny EB, DiLuigi AJ, Engmann LL, Maier DB, Benadiva CA, Nulsen JC. Selection of first *in vitro* fertilization cycle stimulation protocol for good prognosis patients: gonadotropin releasing hormone antagonist versus agonist protocols. *J Reprod Med.* 2011;56(1-2):12-6.

Kim CH, You RM, Kang HJ, Ahn JW, Jeon I, Lee JW, Kim SH, Chae HD, Kang BM. GnRH antagonist multiple dose protocol with oral contraceptive pill

pretreatment in poor responders undergoing IVF/ICSI. *Clin Exp Reprod Med.* 2011;38(4):228-33.

Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH-analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):651-71.

Kolibianakis EM, Venetis CA, Kalogeropoulou L, Papanikolaou E, Tarlatzis BC. Fixed versus flexible gonadotropin-releasing hormone antagonist administration in in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2011;95(2):558-62.

Kotecki JA. Desempenho de protocolos de estimulação ovariana para inseminação artificial. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas. 2004.

Lainas TG, Sfontouris IA, Papanikolaou EG, Zorzovilis JZ, Petsas GK, Lainas GT, Kolibianakis EM. Flexible GnRH antagonist versus flare-up GnRH agonist protocol in poor responders treated by IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2008;23(6):1355-58.

Lainas TG, Sfontouris IA, Zorzovilis IZ, Petsas GK, Lainas GT, Alexopoulou E, Kolibianakis EM. Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT). *Hum Reprod* 2010;25(3):683-89.

Lavorato HL, Petersen CG, Oliveira JB, Mauri AL, Massaro FC, Cavagna M, Baruffi RLR, Franco Jr JG. Agonistas do GnRH, antagonistas do GnRH e a reprodução assistida. *JBRA Assist Reprod.* 2012;16(3):91-6.

Lunenfeld B. GnRH analogs in human reproduction. Taylor & Francis, United Kingdom. 2005.

Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update.* 2004;10(6):453-67.

Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev.* 2006;27(2):170-207.

Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas. *Indian J Endocrinol Metab.* 2011;15(4):261-67.

Maheshwari A, Gibreel A, Siristatidis CS, Bhattacharya S. Gonadotropin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011(8):CD006919.

Maia MCS, Approbato MS, Florencio RS, Silva TM, Approbato FC. Chlamydia trachomatis: consequências na saúde reprodutiva da mulher. JBRA Assist Reprod. 2011;15(6):30-35.

Makuch MY, Petta CA, Osis MJ, Bahamondes L. Low priority level for infertility services within the public health sector: a Brazilian case study. Hum Reprod. 2010;25(2):430-35.

Makuch MY, Simônia de Padua K, Petta CA, Duarte Osis MJ, Bahamondes L. Inequitable access to assisted reproductive technology for the low-income Brazilian population: a qualitative study. Hum Reprod. 2011;26(8):2054-60.

Maldonado LG, Franco Jr JG, Setti AS, Iaconelli Jr A, Borges Jr E. Cost-effectiveness comparison between pituitary down-regulation with gonadotropin-releasing hormone agonist short regimen on alternate days and an antagonist protocol for assisted fertilization treatments. Fertil Steril. 2013; pii:S0015-0282(13)00138-6. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.01.095. [Epub ahead of print].

Marieb EN. Essentials of Human Anatomy & Physiology. 7th Edition. San Francisco Benjamin Cummings. 580p. Copyright© Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc. 2002.

Messinis IE. Ovulation induction: a mini review. Hum Reprod. 2005;20(10):2688-97.

Montenegro IS. Avaliação da estimulação ovariana com uso de análogos do GnRH. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. 2012.

Moraloglu O, Kilic S, Karayalçin R, Yuksel B, Tasdemir N, Isik A, Ugur M. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. Adv Ther. 2008;25(3):266-73.

MS – Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Reprodução Humana Assistida. 2005. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/sas/mac/area.cfm?id\\_area=832](http://portal.saude.gov.br/portal/sas/mac/area.cfm?id_area=832)> Acesso em: 10 de novembro de 2012.

Nargund G, Fauser BC, Macklon NS, Ombelet W, Nygren K, Frydman R, Rotterdam ISMAAR Consensus Group on Terminology for Ovarian Stimulation for IVF. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. Hum Reprod. 2007;22(11):2801-04.

Nikolaou D. How old are your eggs? Curr Opin Obstet Gynecol. 2008;20(6):540-44.

Orvieto R, Nahum R, Rabinson J, Gemer O, Anteby EY, Meltzer S. Ultrashort flare GnRH agonist combined with flexible multidose GnRH antagonist for patients with repeated IVF failures and poor embryo quality. Fertil Steril. 2009;91(4 suppl):1398-400.

Orvieto R, Patrizio P. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: an ongoing debate. *Reprod Biomed Online*. 2013;26(1):4-8.

Papanikolaou EG, Polyzos NP, Humaidan P, Pados G, Bosch E, Tournaye H, Tarlatzis B. Aromatase inhibitors in stimulated IVF cycles. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:85.

Polyzos NP, Devos M, Humaidan P, Stoop D, Ortega-Hrepich C, Devroey P, Tournaye H. Corifollitropin alfa followed by rFSH in a GnRH antagonist protocol for poor ovarian responder patients: an observational pilot study. *Fertil Steril*. 2013;99(2):422-26.

Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standard' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod*. 2003;18(4):781-87.

Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod*. 2011;26(10):2742-49.

Pundir J, Sunkara SK, El-Toukhy T, Khalaf Y. Meta-analysis of GnRH antagonist protocols: do they reduce the risk of OHSS in PCOS? *Reprod Biomed Online*. 2012;24(1):6-22.

Redlara – Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Glossário revisado da terminologia das técnicas de reprodução assistida (TRA). Comitê Internacional para normatização da Tecnologia Reprodutiva Assistida (ICMART) e Organização Mundial da Saúde (OMS). 2010.

Rodini GP. Análise da prevalência dos polimorfismos N680S e T307A do gene que sintetiza o receptor do hormônio folículo estimulante (FSH) em mulheres com endometriose e infertilidade. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. 2010.

Rohden F. O império dos hormônios e a construção da diferença entre os sexos. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2008;15(suppl):133-52.

Rossin-Amar B. How to improve IVF results from a clinical point of view? *Gynecol Obstet Fertil*. 2006;34(9):774-80.

Schally AV, Baba Y, Nair RM, Bennett CD. The amino acid sequence of a peptide with growth hormone-releasing activity isolated from porcine hypothalamus. *J Biol Chem*. 1971;246(21):6647-50.

Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides*. 1999;20(10):1247-62.

Sharma S, Mittal S, Aggarwal P. Management of infertility in low resource countries. *BJOG*. 2009;116(suppl 1):77-83.

Silva TM, Approbato MS, Maia MCS, Arruda JT, Approbato FC, Mendonça CR. Antioxidantes e infertilidade masculina. *JBRA Assit Reprod.* 2012;16(3):91-94.

Sinha SP. Optimization of ovarian stimulation to improve success rate in "ART". *Apollo Medicine.* 2012;9(3):228-38.

Siristatidis C, Trivella M, Chrelas C, Sioulas VD, Vrachnis N, Kassanos D. A short narrative review of the feasibility of adopting mild ovarian stimulation for IVF as the current standard of care. *Arch Gynecol Obstet.* 2012; 286(2):505-10.

Stephoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2(8085):366.

Tang T, Glanville J, Hayden CJ, White D, Barth JH, Balen AH. Combined lifestyle modification and metformin in obese patients with polycystic ovary syndrome. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicentre study. *Hum Reprod.* 2006;21(1):80-9.

Tannus S, Weissman A, Boaz M, Horowitz E, Ravhon A, Golan A, Levrant D. The effect of delayed initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist in a flexible protocol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2013;99(3):725-30.

Tehranejad E, Nezamabadi AG, Rashidi B, Sohrabi M, Bagheri M, Haghollahi F, Nekoo EA, Jafarabadi M. GnRH antagonist versus agonist in normoresponders undergoing ICSI: a randomized clinical trial in Iran. *Iran J Reprod Med.* 2011;9(3):171-6.

Tehranejad ES, Nasiri R, Rashidi B, Haghollahi F, Ataie M. Comparison of GnRH antagonist with long GnRH agonist protocol after OCP pretreatment in PCOs patients. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;282(3):319-25.

Terres LF. Homogenização da coorte folicular pela administração de estradiol em ciclos de estimulação ovariana controlada com antagonista de GnRH (protocolo de doses múltiplas). Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina. 2005.

Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD003973.

Verberg MF, Eijkemans MJ, Macklon NS, Heijnen EM, Baart EB, Hohmann FP, Fauser BC, Broekmans FJ. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum Reprod. Update* 2009;15(1):5-12.

WHO – World Health Organization. Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting on "Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction". 2002. Disponível em:

<http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/9241590300.pdf> Acesso em: 01 de maio de 2013.

WHO – World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interactions. 4th ed., University of Cambridge Press Syndicate, Cambridge, UK. 1999.

Xavier P, Gamboa C, Calejo L, Silva J, Stevenson D, Nunes A, Martinez-de-Oliveira J. A randomised study of GnRH antagonist (cetorelix) versus agonist (busereline) for controlled ovarian stimulation: effect on safety and efficacy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;120(2):185-9.

Yong PY, Brett S, Baird DT, Thong KJ. A prospective randomized clinical trial comparing 150 IU and 225 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F®) in a fixed-dose regimen for controlled ovarian stimulation in *in vitro* fertilization treatment. *Fertil Steril.* 2003;79(20):308-15.

Younis JS, Soltsman S, Izhaki I, Radin O, Bar-Ami S, Ben-Ami M. Early and short follicular gonadotropin-releasing hormone antagonist supplementation improves the meiotic status and competence of retrieved oocytes in *in vitro* fertilization–embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2010;94(4):1350-5.

Yovich JL. A clinician's personal view of assisted reproductive technology over 35 years. *Reprod Biol.* 2011;11(Suppl 3):31-42.

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S, International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology, World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril.* 2009;92(5):1520-24.

## **ANEXOS**

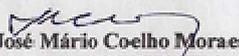
---

**Anexo 1** – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**Anexo 2** – Segundo Melhor Pôster apresentado durante o 2º Congresso Goiano de Ginecologia e Obstetrícia – Sociedade Goiana de Ginecologia e Obstetrícia

**Anexo 3** – Normas para publicação no *JBRA Assisted Reproduction*

## ANEXO 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

	 MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS HOSPITAL DAS CLÍNICAS	 CONHECIMENTO SEMPRE PRESENTE
<b>PROTOCOLO CEP/HC/UFG Nº007/2011</b>		<b>Goiânia, 17/03/2011</b>
<b>INVESTIGADOR RESPONSÁVEL:</b> <i>Dra. Jalsi Tacon Arruda</i> <b>ORIENTADOR:</b> <i>Dr. Mário Silva Approbato</i>		
<b>TÍTULO:</b> <i>Avaliação da resposta à indução da ovulação em pacientes inférteis submetidos à FIV ou ICSI com estimulação mínima</i>		
<b>Área Temática:</b> <i>Grupo I – Reprodução Humana</i>		
<b>Local de Realização:</b> <i>Hospital das Clínicas/UFG- Laboratório de Reprodução Humana</i>		
<p>Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa <u>analisou e aprovou</u> o projeto de Pesquisa acima referido, <b>juntamente com os documentos apresentados</b> e estes foram considerados em acordo com os princípios éticos vigentes.</p>		
<p>Informamos que <u>não há</u> necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa. O projeto pertence ao Grupo I (Reprodução Humana), porém, de acordo com a Resolução 303/2000 MS/CNS item II, não será enviado para a CONEP.</p>		
<p>❖ Após o início da pesquisa, o pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/HC/UFG, relatórios semestrais do andamento da pesquisa, data de encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).</p>		
<p>O CEP/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (<i>Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa – Item 13</i>)</p>		
 <b>Farm. José Mário Coelho Moraes</b> Coordenador do CEP/HC/UFG		

**ANEXO 2 – Segundo Melhor Pôster apresentado durante o 2º Congresso Goiano de Ginecologia e Obstetrícia – Sociedade Goiana de Ginecologia e Obstetrícia**



## **ANEXO 3 – Normas para publicação no *JBRA Assisted Reproduction***

### **Instruções para Autores**

1. O JBRA Assisted Reproduction (JBRA Assist. Reprod) é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA – [www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br)) e da Rede Latinoamericana de Reprodução Assistida ([www.redlara.com](http://www.redlara.com)) para conteúdos científicos, com periodicidade quadrimestral. É dirigido a especialistas e pesquisadores em saúde, particularmente ginecologistas, andrologistas, biólogos, urologistas e embriologistas. São aceitos para avaliação estudos básicos e clínicos nas áreas de reprodução assistida, infertilidade, genética reprodutiva, imunologia reprodutiva, andrologia, microbiologia reprodutiva, laboratório em reprodução assistida e endocrinologia ginecológica, sob a forma de artigos originais, artigos de revisão, artigos de atualização e relatos de caso (conforme detalhamento a seguir). Os artigos podem ser submetidos nos idiomas português, espanhol ou inglês. Autores interessados em traduzir seu artigo para inglês podem solicitar um orçamento de tradução ao J Bras Rep Assist.
2. Artigos submetidos ao JBRA Assisted Reproduction devem ser inéditos, isto é, não devem ter sido publicados nem submetidos para análise por outras revistas, no todo ou parcialmente. Em casos de figuras já publicadas, autorização deve ser obtida e a fonte deve ser citada. Uma vez publicados, os artigos passam a ser de propriedade da SBRA.
3. As Instruções para Autores do JBRA Assisted Reproduction incorporam as recomendações dos Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. A versão completa do texto está disponível em [www.icmje.org](http://www.icmje.org). Manuscritos que estiverem em desacordo com as instruções aqui apresentadas serão devolvidos para a incorporação de ajustes antes da avaliação pelo Conselho Editorial.
4. Todo artigo publicado no JBRA Assisted Reproduction passa pelo processo de revisão por especialistas (peer review). Os artigos submetidos são primeiramente encaminhados aos editores para uma avaliação inicial quanto ao escopo do trabalho e às exigências editoriais do Jornal. Se a avaliação é positiva, o artigo é enviado a dois revisores especialistas na área pertinente. Todo o processo é anônimo, ou seja, os revisores são cegos quanto à identidade dos autores e seu local de origem e vice-versa. Após a avaliação do artigo pelos revisores, os artigos podem ser aceitos sem modificações, recusados ou devolvidos aos autores com sugestões de modificações, sendo que cada artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e modificações, sem que isso implique necessariamente a aceitação futura do trabalho.
5. O número de autores de cada manuscrito fica limitado a seis. O conceito de co-autoria implica contribuição substancial na concepção e planejamento do trabalho, análise e interpretação dos dados e redação ou revisão crítica do texto. Contribuições significativas feitas ao estudo, mas que não se enquadram nesses critérios pode ser citado na seção de agradecimentos.
6. Artigos de pesquisas clínicas (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de Ensaio Clínico validados pelos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors (por exemplo, [www.actr.org.au](http://www.actr.org.au), [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), [www.ISRCTN.org](http://www.ISRCTN.org), [www.umin.ac.jp/ctr/index/htm](http://www.umin.ac.jp/ctr/index/htm) e [www.trialregister.nl](http://www.trialregister.nl)). O número de identificação do estudo deverá ser apresentado ao final do resumo.
7. Para textos que forem aceitos para publicação, uma declaração, assinada por todos os autores deverá ser enviada à revista, contendo as seguintes informações: a) o manuscrito é original; b) o manuscrito não foi publicado nem submetido a outra revista, nem o será se vier a ser publicado no JBRA Assisted Reproduction; c) todos os autores participaram ativamente na elaboração do estudo e aprovaram a versão final do texto; d) situações de potencial conflito de interesse (financeiro ou de outra natureza) estão sendo informadas; e) foi obtida aprovação do estudo pelo comitê de ética da instituição à qual o trabalho está vinculado (para artigos que relatam dados de pesquisa experimental); f) foi obtido consentimento informado dos pacientes incluídos no estudo (quando aplicável). As informações sobre a aprovação do estudo por comitê de ética e a obtenção de consentimento informado também devem constar na seção Métodos do artigo.
8. Antes da publicação dos artigos aceitos, os autores correspondentes receberão, via e-mail, em arquivo PDF, o artigo editorado para aprovação. Nessa fase, as correções devem limitar-se a erros tipográficos, sem alteração do conteúdo do estudo. Os autores deverão devolver as provas aprovadas via e-mail ou fax até 48 horas após o recebimento da mensagem.

### **Tipos de artigos publicados**

Artigos originais. Trabalhos resultantes de pesquisa científica que apresentam dados originais sobre aspectos experimentais ou observacionais de caráter médico, biológico, bioquímico e psicossocial e incluem análise estatística descritiva e/ou inferências de dados próprios. Esses artigos têm prioridade para publicação. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto (dividido nas seções Introdução, Métodos, Resultados, Discussão ou equivalentes, Conclusões), agradecimentos (se aplicável), lista de referências (máximo de 40), tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Artigos de revisão. Trabalhos que têm por objetivo resumir, analisar, avaliar ou sintetizar trabalhos de investigação já publicados em revistas científicas. Devem incluir síntese e análise crítica da literatura levantada e não ser confundidos com artigos de atualização. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, lista de referências, tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Artigos de atualização ou opinião. Trabalhos que relatam informações geralmente atuais sobre tema de interesse para determinadas especialidades (por exemplo, uma nova técnica ou método). Têm características distintas de um artigo de revisão, visto que não apresentam análise crítica da literatura. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, lista de referências, tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Relatos de caso. Artigos que representam dados descritivos de um ou mais casos, explorando um método ou problema através de exemplo(s). Os casos escolhidos devem ser de grande interesse, com doença ou evolução incomuns ou submetidos a tratamentos inusitados ou alternativos. Podem envolver humanos ou animais e devem apresentar as características do indivíduo estudado (sexo, idade, etc.). Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto (dividido nas seções Introdução, Descrição do caso e Discussão ou equivalentes), lista de referências, legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Cartas ao leitor. Cartas ao editor comentando, discutindo ou criticando os artigos publicados no JBRA Assisted Reproduction serão bem recebidas e publicadas desde que aceitas pelo Conselho Editorial. Devem ser compostas de: título, nome do autor, identificação da publicação que está sendo comentada e lista de referências (se houver). Recomenda-se um máximo de 500 palavras, incluindo referências. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada juntamente com a carta.

### **Preparação dos originais**

Utilize preferencialmente o processador de texto Microsoft Word®. Os trabalhos devem ser digitados em fonte Times New Roman tamanho 12, espaço simples, alinhados à esquerda, iniciando cada seção em página nova, na seguinte ordem: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, agradecimentos, lista de referências, tabelas, legendas de figuras e figuras. Todas as páginas devem ser numeradas.

Os trabalhos deverão ser estruturados e incluir as seguintes partes:

- A. Página Inicial: deverá conter o título do trabalho (não abreviar ou utilizar maiúsculas), nomes dos autores, identificação dos autores (título, cargo, instituição onde trabalha, cidade e país), instituição onde o trabalho foi realizado, dados para contato.
- B. Introdução: deverá ser informativa e curta, esclarecendo como o trabalho foi conduzido.
- C. Materiais e Métodos: indicar o local, número e tipo de “sujeitos”, principais procedimentos, ensaios, testes ou tratamentos realizados;
- D. Resultados/Discussão: confirmar ou não a hipótese apresentada, com embasamento em estatísticas, se for o caso.
- E. Conclusões: informar as principais descobertas do estudo e especificar quais destes complementam os já existentes.
- F. Abreviações: são permitidas, desde que acompanhe de definição prévia.
- G. Gráficos, tabelas e imagens: serão aceitos, porém serão contados como caracteres.
- H. Palavras-chave: Mencionar de 2 a 5 palavras-chave.
- I. Referências: identificar no texto com número entre parênteses, de forma seqüencial.

Quantidade máxima de palavras: Trabalho completo: 2.000 (duas mil), Resumo: 250. (As diferentes partes do trabalho - introdução, materiais e métodos, resultados/discussão, conclusões - deverão estar em negrito).

Formatação: Times New Roman ou Arial nº 12, espaço duplo.

Siglas devem ser definidas por extenso na primeira ocorrência no texto; após a primeira ocorrência, somente a sigla deverá ser utilizada. No resumo, o uso de siglas deve ser evitado.

Substâncias devem ser apresentadas utilizando seu nome genérico. Se relevante, o nome comercial da substância e o fabricante podem ser informados entre parênteses.

A apresentação de unidades de medida deve seguir o sistema internacional (SI).

Genes de animais devem ser apresentados em itálico com inicial maiúscula (exemplo: Sox2); genes de seres humanos também devem ser apresentados em itálico, porém com todas as letras maiúsculas (exemplo: SOX2). Proteínas devem seguir o mesmo padrão de maiúsculas/minúsculas, porém sem itálico.

### **Página de rosto**

A página de rosto deve conter:

- Título conciso e explicativo, representando o conteúdo do trabalho, em português, espanhol e inglês.
- Título resumido (máximo de 40 caracteres)
- Nomes dos autores
- Afiliação dos autores, indicando departamento/unidade, instituição e região geográfica

- Nome da instituição onde o trabalho foi executado
- Informações sobre auxílios recebidos sob a forma de financiamento, equipamentos ou medicamentos
- Congressos onde o estudo foi apresentado
- Nome, endereço, telefone, fax e email do autor correspondente

#### **Resumo e abstract**

Todos os trabalhos devem apresentar um resumo em português e um abstract em inglês. Trabalhos escritos em espanhol devem apresentar, além do resumo no idioma original, também um resumo em português e um abstract em inglês. O conteúdo dos textos deve ser idêntico, e não deve ultrapassar 250 palavras. Para artigos originais, o resumo deve ser estruturado como segue: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Para relatos de caso, artigos de revisão e artigos de atualização, o resumo não deve ser estruturado. Deve-se evitar o uso de abreviações no resumo, e não devem ser citadas referências.

Logo após o resumo/abstract/resumen, deverão ser apresentadas de três a seis palavras-chave que sejam integrantes da lista de Descritores em Ciências da Saúde (<http://decs.bvs.br>).

#### **Agradecimentos**

Esta seção é dedicada a reconhecer o trabalho de pessoas que tenham colaborado intelectualmente, mas cuja contribuição não justifica co-autoria, ou de pessoas ou instituições que tenham dado apoio material.

#### **Referências**

No texto, as citações serão identificadas entre parênteses, pelo sobrenome do autor seguido do ano de publicação. Exemplos: um autor (Steptoe, 1978), dois autores (Edwards & Steptoe, 1980), mais de dois autores (Van Steirteghem et al., 1988).

A lista de referências deve ser apresentada em ordem alfabética (último sobrenome de cada autor seguido das duas primeiras iniciais), e não deve ser numerada. Trabalhos do mesmo autor devem ser ordenados cronologicamente; trabalhos de mesmo autor e ano devem ser identificados com letras após o ano (2000a, 2000b, etc.). A apresentação das referências seguirá os modelos propostos nos Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (ver exemplos a seguir). Todas as referências citadas na lista devem ser mencionadas no texto e vice-versa.

##### 1. Artigo de periódico

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

##### 2. Livro

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

##### 3. Capítulo de livro

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

##### 4. Artigo de revista eletrônica

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs [revista eletrônica].* 2002 Jun [citado 2002 ago 12];102(6):[aproximadamente 3 p.]. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

##### 5. Artigo publicado na Internet:

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-web-based interventions: a meta-analysis of behavioral change outcomes. *J Med Internet Res.* 2004;6(4):e40. Disponível em: <http://www.jmir.org/2004/4/e40/>. Acessado: 29/11/2004.

##### 6. Site

OncoLink [site na Internet]. Philadelphia: University of Pennsylvania; c1994-2006. [atualizado 2004 set 24; citado 2006 mar 14]. Disponível em: <http://cancer.med.upenn.edu/>.

##### 7. Software

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

#### **Tabelas e figuras**

Tabelas e figuras (gráficos, fotografias, etc.) devem ser numeradas em algarismos arábicos conforme a ordem de aparecimento no texto e devem ter legendas individuais, apresentadas ao final do trabalho. Cada tabela e figura devem ser submetidas em folha separada.

Nas tabelas, deverão ser utilizadas apenas linhas horizontais, e cada dado deverá constar em uma célula independente. Explicações sobre itens das tabelas devem ser apresentadas em notas de rodapé identificadas pelos seguintes símbolos, nesta seqüência: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡, §§.

Figuras em geral (gráficos, fotografias, etc.) serão publicadas em preto e branco. Despesas com a eventual reprodução de fotografias em cor serão de responsabilidade do autor.

Figuras podem ser submetidas eletronicamente, nas extensões .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi (para possibilitar uma impressão nítida), ou por correio (ver instruções de envio mais adiante). Todas as figuras enviadas pelo correio devem ser identificadas no verso com o uso de etiqueta colante contendo o nome do primeiro autor, o número da figura e uma seta indicando o lado para cima.

Fotografias escaneadas não serão aceitas; fotografias em papel devem ser encaminhadas pelo correio. Fotografias de pacientes não devem permitir sua identificação.

Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões.

Figuras já publicadas e incluídas em artigos submetidos devem indicar a fonte original na legenda e devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos (editora ou revista).

#### **Envio/submissão de artigos**

Os artigos devem ser submetidos preferencialmente por email (journalsbra@cmb.com.br). Texto e figuras devem ser enviados como um anexo à mensagem. Figuras (exclusivamente gráficos e fotografias digitais) podem ser enviadas nas extensões .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi e tamanho máximo total (do conjunto de figuras) de 3 MB.

Se a submissão por email não for possível, duas cópias do texto e figuras devem ser enviadas para o endereço a seguir:

Profa. Dra. Maria do Carmo Borges de Souza

Editora do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida

Centro Médico BarraShopping

Av. das Américas, 4666, salas 312/313

CEP 22649-900 – Rio de Janeiro, RJ

Fone: (21) 2430.9060

Fax: (21) 2430.9070

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