

Hiperestimulação Ovariana em Ciclos de Reprodução Assistida

Clinica Pró-Criar/Mater Dei

Introdução

Os esquemas de indução da ovulação para reprodução assistida são denominados de superovulação ou hiperovulação pois têm como objetivo estimular os ovários para se obter um número maior de óvulos e conseqüentemente de embriões, o que irá ser um fator determinante na chance de gravidez com o tratamento.

Os esquemas de hiperestimulação ovariana utilizados para técnicas de reprodução assistida de alta complexidade empregam doses elevadas de gonadotrofinas, tendo como objetivo recrutar um número maior de folículos no início do ciclo e, mantendo este estímulo, evitar o processo natural de seleção do folículo dominante, fazendo com que vários folículos atinjam o estágio pré-ovulatório. A utilização dos análogos de GnRH em ciclos hiperestimulados marca o início da abordagem moderna na reprodução assistida pois, além de reduzir para menos de 2% a incidência dos picos endógenos de LH, possibilitou o aumento do número de folículos pré-ovulatórios, do número de oócitos obtidos e, como consequência, melhor eficácia da FIV. Outra vantagem importante da utilização dos análogos é a praticidade de se programar os ciclos e as punções ovarianas.

Existem vários esquemas de indução multifolicular, dependendo da gonadotrofina utilizada: hMG, FSH puro urinário ou FSH recombinante. Os análogos também podem ser usados de diversas maneiras, dosagens e vias. Os esquemas utilizados são: protocolo longo; protocolo curto e ultra-curto (flare-up). A seguir procuramos discutir as evidências da literatura em relação aos seguintes aspectos:

1. O tipo de gonadotrofina
2. O tipo de análogo do GnRH e a maneira de utilizá-los
3. Dosagens das gonadotrofinas, esquemas "step up" e "step down"

1. Tipo de Gonadotrofina

As formulações disponíveis contém o FSH em combinação com o LH ou o FSH isoladamente. Ambas as formulações podem ser obtidas através da urina de mulheres na menopausa, enquanto aquelas contendo apenas o FSH podem ser derivadas também da tecnologia do DNA recombinante. O FSH recombinante (FSHr) tem como vantagens sobre as gonadotrofinas urinárias uma menor variabilidade entre diferentes lotes da medicação e maior grau de pureza, permitindo a administração por via subcutânea pela própria paciente. Diversos estudos compararam a eficácia dessas formulações no que diz respeito ao desenvolvimento folicular e às taxas de gravidez.

HMG X FSHu

Uma metanálise realizada por Daya *et al.* (1995) comparando os resultados obtidos com a utilização de HMG e FSHu demonstrou maior taxa de gravidez clínica com a utilização do FSHu.

FSHu X FSHr

Um grande estudo multicêntrico, prospectivo e randomizado (Out *et al.*, 1995) comparou os resultados obtidos com a utilização do FSH urinário (FSHu) ou do FSHr. Um maior número de oócitos foi obtido das pacientes que receberam o FSHr, as quais utilizaram também uma dose total menor de FSH e apresentaram um período de tratamento mais curto. As pacientes que receberam FSHr obtiveram também um maior número de embriões de boa qualidade, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos com relação às taxas de implantação e gravidez. Uma metanálise que incluiu três estudos multicêntricos, prospectivos e randomizados (Out *et al.*, 1997), demonstrou que a incidência de gestações com mais de 12 semanas por ciclo iniciado foi significativamente maior no grupo que utilizou FSHr (22,9%) em relação ao grupo que utilizou FSHu (17,9%).

Bergh *et al.* (1997), em um estudo prospectivo e randomizado, demonstraram que a utilização do FSHr é mais efetiva que a utilização do FSH urinário ultra-puro, no que diz respeito ao recrutamento folicular, ao número de oócitos captados e ao número de embriões transferidos. Além disso, o número de ampolas de FSH e o número de dias de tratamento foram menores no grupo que utilizou o FSHr. Entretanto, também não houve diferença significativa com relação às taxas de gravidez por ciclo iniciado e por transferência embrionária: 45% e 48%, respectivamente, no grupo que utilizou o FSHr; 37% e 47%, respectivamente, no grupo que utilizou o FSHu HP.

Um estudo randomizado duplo-cego realizado por Frydman *et al.* (1998) demonstrou maior número de oócitos captados e embriões obtidos, menor número de ampolas e menor período de estimulação no grupo que utilizou FSHr em relação ao grupo que utilizou FSHu HP. Entretanto, também não houve diferença nas taxas de gravidez.

Outro estudo randomizado duplo-cego (Franco *et al.*, 1999) demonstrou maior taxa de gravidez clínica com a utilização do FSHr, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

Uma recente metanálise (Daya & Gunby, 1999) demonstrou que as taxas de gravidez com a utilização do FSHr são 20% mais altas em relação à utilização do FSHu (OR 1,2, 95% IC 1,1-1,5).

Segundo Out *et al.* (1995), uma dose de 50 UI de FSHr (Puregon) equivaleria à dose de 75 UI de FSHu. Entretanto, Jacob *et al.* (1998) realizaram um estudo onde se adotou esta equivalência e demonstraram melhores resultados com a utilização do FSHu.

Os resultados destes estudos demonstram maior eficácia do FSHr em relação ao FSHu em esquemas de hiperestimulação ovariana para ciclos de fertilização assistida, com obtenção de maior número de oócitos e embriões

utilizando-se uma dose total menor. Como não se demonstrou diferença nas taxas de gravidez, a opção pelo tipo de gonadotrofina a ser utilizado dependerá da relação custo/benefício. Devido à maior probabilidade de se obter um número maior de embriões utilizando-se o FSHr, deve-se dar preferência a esse tipo de gonadotrofina nos serviços que dispõem de técnicas de criopreservação e quando este for o desejo da paciente, ou quando a opção for pela transferência de blastocistos, pois obtendo-se um número maior de embriões haverá maior chance de se obter blastocistos para transferência. Por outro lado, em pacientes com hipogonadismo hipogonadotrófico, deve-se dar preferência às formulações contendo também LH, pois este hormônio é indispensável para a produção de androgênios pela teca, os quais são convertidos em estrogênios sob influência do FSH através da aromatase, sistema classicamente conhecido como “teoria das duas células”. O FSHr parece ter uma potência maior em relação ao FSHu, embora a dose de 50 UI de FSHr parece não se equivaler à dose de 75 UI de FSHu.

2. Tipo de Análogo do GnRH

A utilização de análogos do GnRH (GnRHa) é praticamente mandatória em ciclos de fertilização assistida, estando associada a uma menor incidência de ciclos cancelados, pois impede a ocorrência do pico endógeno do LH, a um maior número de oócitos captados e a maiores taxas de gravidez por ciclo e por transferência (Hughes *et al.*, 1992; Tan *et al.*, 1994). Os análogos podem ser administrados diariamente, por via subcutânea ou intranasal, ou em dose única por via subcutânea, através das formulações de depósito.

Dose e Via de Administração

As doses utilizadas para a dessensibilização hipofisária em ciclos de fertilização assistida são derivadas de protocolos originalmente designados para o tratamento do câncer de próstata. Estudos têm demonstrado que a utilização de uma dose menor evitaria o efeito direto dos análogos sobre os ovários e oócitos, além de reduzir o custo final do tratamento, pois esta menor dessensibilização implicaria em menor gasto de gonadotrofinas.

Janssens *et al.* (1998), em um estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego, demonstrou que doses reduzidas de triptorelina (de até 15 µg) foram suficientes para impedir o pico prematuro de LH. Este estudo também demonstrou uma dose-resposta estatisticamente significativa com relação ao número de oócitos, taxa de fertilização, número de embriões e taxa de implantação, sendo que o grupo que utilizou a maior dose do análogo necessitou de uma dose total maior de FSH e de um período mais longo de estimulação.

Em um estudo com pacientes má-responderas, Scott & Navott (1994) utilizaram 20 µg de acetato de leuprolida (AL) a cada 12 horas, que corresponde a 2% da dose habitual, posteriormente à utilização de um contraceptivo hormonal oral (CHO) durante um mês. O AL era iniciado no dia 2 do ciclo e mantido até o

dia da administração do HCG. No quarto dia do ciclo as pacientes recebiam gonadotrofinas exógenas. A grande maioria das pacientes demonstrou uma melhor resposta ovariana, representada por um maior pico de estradiol nos dias 2 e 3 da estimulação e no dia do HCG, maior número de folículos maduros e maior número de oócitos captados. Além disso, houve uma diminuição significativa no número de dias de indução e no número de ampolas de gonadotrofinas utilizado. Não se detectou pico prematuro de LH em nenhuma das pacientes. Por fim, houve um maior número de embriões transferidos nessas pacientes, com obtenção de 4 gestações clínicas em 30 transferências.

Uma metanálise realizada por Daya (1997) não demonstrou diferença significativa utilizando-se o GnRHa em administrações diárias ou na forma de depósito. Entretanto, alguns estudos mostram melhores resultados utilizando-se administrações diárias (Valthier & Lefebvre, 1989; Devreker *et al.*, 1996).

Frydman *et al.* (1998) observaram em seu estudo que o grupo de pacientes que utilizou o GnRHa *depot* necessitou de maior número de ampolas de FSHr em relação ao grupo que utilizou o GnRH em administrações diárias. Além disso, após ocorrida a supressão hipofisária, há uma redução na dose necessária para se manter esta supressão, e esta redução não é possível utilizando-se as formulações de depósito.

Protocolo Curto X Longo

Os protocolos curtos de hiperestimulação ovariana têm como objetivo aproveitar o efeito estimulatório inicial dos GnRHa sobre a secreção de gonadotrofinas (efeito *flare-up*) que ocorre previamente à dessensibilização hipofisária. As gonadotrofinas podem ser administradas 2 a 3 dias após o início do análogo ou juntamente ao análogo no dia 3 do ciclo, com o objetivo de potencializar o efeito das gonadotrofinas sobre o recrutamento e crescimento foliculares. Os protocolos curtos apresentam como vantagens um período mais curto de estimulação e menor dose total de gonadotrofinas, tendo como consequência uma redução do custo final do tratamento.

Os protocolos longos de hiperestimulação ovariana têm como objetivo promover uma dessensibilização hipofisária previamente à estimulação com gonadotrofinas. A administração do análogo pode ser iniciada no 1º dia do ciclo ou no 21º dia do ciclo prévio à estimulação. A administração deve se iniciar no 1º dia do ciclo quando a paciente é anovulatória.

Uma metanálise realizada por Hughes *et al.* (1992) demonstrou resultados similares entre os dois protocolos. Em outra metanálise, Daya (1997) demonstrou que os resultados de gravidez utilizando-se o protocolo longo são superiores aos obtidos com a utilização do protocolo curto de estimulação. Entretanto, quando se comparou apenas os resultados de estudos que utilizaram o protocolo longo iniciado na fase lútea com os resultados obtidos com o protocolo curto, não houve diferença estatisticamente significativa. É interessante notar que nesta metanálise também não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos com o protocolo longo iniciado na fase lútea ou folicular.

Uma possível explicação para os melhores resultados obtidos com o protocolo longo seria o efeito deletério do aumento do LH no início da estimulação

promovido pelo efeito *flare-up* do GnRHa que ocorre nos protocolos curtos. Este efeito pode levar a um resgate do corpo lúteo e aumento na síntese de androgênios tecais, os quais prejudicariam a foliculogênese (Filicori *et al.*, 1996). Entretanto, a utilização de um anticoncepcional oral previamente à estimulação impediria a ocorrência de ovulação no ciclo anterior, evitando assim este efeito indesejável (Scott & Navott, 1994). Cramer *et al.* (1999) realizaram um estudo multicêntrico comparando os dois protocolos e demonstraram maior número de folículos e oócitos captados e maior taxa de gravidez no grupo que utilizou o protocolo longo. Entretanto, a avaliação só foi possível em um dos 3 centros participantes, onde 53,9% das pacientes que utilizaram o protocolo curto tinham idade acima de 35 anos, enquanto que esta porcentagem foi de 44,4% no grupo que utilizou o protocolo longo, fato que pode ter influenciado os resultados do estudo. Por outro lado, houve um maior gasto de ampolas de gonadotrofinas no grupo que utilizou o protocolo longo.

Portanto, deve-se dar preferência à administração diária dos GnRHa, a qual permite uma redução da dose após o início da administração de gonadotrofinas. A dose rotineiramente utilizada parece ser excessiva para a supressão hipofisária, podendo inclusive provocar efeitos deletérios sobre os ovários e oócitos. A utilização de doses menores de GnRHa implica em um menor gasto de gonadotrofinas por ciclo, mas estudos são necessários para se estabelecer a dose mínima necessária para o bloqueio hipofisário. Parece haver melhores resultados com a utilização do protocolo longo em relação ao protocolo curto, embora não haja um consenso na literatura. Protocolos curtos de estimulação devem ser reservados às pacientes com tendência à má resposta à estimulação ovariana, devendo-se sempre utilizar um anticoncepcional no ciclo prévio à estimulação.

3. Step-up e Step-down

Se discute muito nos dias de hoje os possíveis efeitos deletérios das altas concentrações de estradiol alcançados nos ciclos de hiperestimulação ovariana para FIV. A comparação entre os resultados de implantação de pacientes que se submeteram à FIV e aquelas que realizaram programas de doação de oócitos com reposição hormonal mostra taxas de implantação e de gravidez melhores neste último grupo. Pressupõe-se que as taxas supra-fisiológicas de estradiol e a relação alterada estradiol/progesterona estejam associadas a uma diminuição da receptividade endometrial e, conseqüentemente diminuição das taxas de gravidez. Foi demonstrado que níveis séricos de estradiol acima de 3.000 pg/ml no dia do hCG alteram a receptividade endometrial sem alterar a qualidade embrionária (Simon *et al.*, 1995). Com o objetivo de se diminuir as taxas de estradiol durante a fase de implantação foi desenvolvido o protocolo de estimulação denominado “step-down” que se baseia na utilização de doses decrescentes de gonodotrofina em contrapartida ao protocolo “step-up” ou “standard”.

O princípio do protocolo “step-down” é diminuir o período em que a “janela” de recrutamento folicular permanece “aberta” impedindo, assim, o recrutamento de folículos em momentos diferentes. As doses crescentes de gonodotrofinas elevam o limiar do FSH e aumentam a “janela” de recrutamento folicular. Desta forma, o pool folicular apresentará folículos maiores que alcançaram a dominância, mas

também folículos pequenos que produzirão mais estradiol. Diminuindo-se a dose de gonodotrofinas e conseqüentemente a janela de recrutamento, o número de folículos será relativamente menor mas os folículos menores irão se atresiar. Este processo tenta mimetizar o que ocorre naturalmente. O objetivo hipotético final é obter taxas de estradiol mais baixas que não interfiram no processo de implantação.

Esquema “Step-Down” (Gonodotrofinas em unidades):

Dia do ciclo:	1	2	3	4	5	6	7
Unidades:	300	225	150	150	110	110	75

Esquema “standard” (Gonodotrofinas em unidades):

Dia do ciclo:	1	2	3	4	5	6	7
Unidades:	300	300	150	150	150	150	150

Referências Bibliográficas:

1. Bergh C, Howles CM, Borg K, et al. Recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH; Gonal-F®) versus highly purified urinary FSH (Metrodin® HP): results of a randomized comparative study in women undergoing assisted reproductive techniques. *Human Reprod* 1997;12:2133-9.
2. Daya S, Gunby J, Hughes EG, et al. Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin for *in vitro* fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1995;64:347-54.
3. Daya S. Optimal protocol for gonadotropin releasing hormone agonist use in ovarian stimulation. In: *In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction* (Gomel V, Cheung PCK, eds). Bologna (Italy): Monduzzi Editore, 1997:405-15.
4. Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Human Reprod* 1999;14:2207-15.
5. Devreker F, Govaerts I, Bertrand E, Van den Bergh M, Gervy C, Englert Y. The long-acting gonadotropin-releasing hormone analogues impaired the implantation rate. *Fertil Steril* 1996;65:122-6.
6. Fauser BCJM, Donderwinkel P, Schoot DC. The step-down principle in gonadotropin treatment and the role of GnRH analogues. *Baillière’s Clin Obstet Gynaecol* 1993; 7: 309-330.
7. Filicori M, Flamigni C, Cognigni GE, et al. Different gonadotropin and leuprorelin ovulation induction regimens markedly affect follicular hormone levels and folliculogenesis. *Fertil Steril* 1996;65:387-93.

8. Franco JG, Baruffi RLR, Coelho J, et al. A prospective and randomized study of ovarian stimulation for ICSI with recombinant FSH versus highly purified urinary FSH. *Abstract Book of the 11th World Congress on In Vitro Fertilization and Human Reproductive Genetics*, 89 (abstract O-055).
9. Frydman R, Avril C, Camier B, et al. A double blind, randomised study comparing the efficacy of recombinant human follicle stimulating hormone (r-hFSH/Gonal-F®) and highly purified urinary FSH (u-hFSH HP/Metrodin® HP) in inducing superovulation in women undergoing Assisted Reproductive Techniques (ART). *14th Annual Meeting of the European Society for Human Reproduction and Embryology*, Gothenburg, 1998:Abstract.
10. Hughes EG, Fedorkow DM, Daya S, et al. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 1992;58:888-96.
11. Jacob S, Drudy L, Conroy R, Harrison RF. Outcome from consecutive in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection attempts in the final group treated with recombinant follicle stimulating hormone. *Human Reprod* 1998;13:1783-7.
12. Janssens RMJ, Lambalk CB, Vermeiden JPW, Schats R, Schoemaker J. Dose-finding study of triptorelin-acetate for prevention of premature LH surge: a prospective, randomised, double blind, placebo controlled study. *Human Reprod* 1998;14 (suppl 1).
13. Out HJ, Driessen SGAJ, Mannaerts BMJL, Coelingh Bennick HJT. Recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin beta, Puregon®) yields higher pregnancy rates in in vitro fertilization than urinary gonadotropins. *Fertil Steril* 1997;68:138-42.
14. Out HJ, Mannaerts BMJL, Driessen SGAJ, et al. A prospective, randomized, assessor-blind, multicentre study comparing recombinant and urinary follicle-stimulating hormone (Puregon versus Metrodin) in *in vitro* fertilization. *Human Reprod* 1995;10:3102-6.
15. Scott RT, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994;61:880-5.
16. Simon C, Cano F, Valbuena D, Remohi J, Pellicer A. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptivity of high serum estradiol levels in high and normal responder patients. *Hum Reprod* 1995; 10: 2432-2437.
17. Simón C, Garcia Velasco JJ, Valbuena D, Peinado JA, Moreno C, Remohí J, Pellicer A. Increasing uterine receptivity by decreasing estradiol levels during the

preimplantation period in high responders with the use of a follicle-stimulating hormone step-down regimen. *Fertil Steril* 1998; 70:2, 234-239

18. Tan SL, Maconochie N, Doyle P, et al. Cumulative conception and live-birth rates after in vitro fertilization with and without the use of long, short and ultra-short regimens of the gonadotropin-releasing hormone agonist buserelin. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:513-20.

19. Valthier D, Lefebvre G. The use of gonadotropin-releasing hormone analogs for in vitro fertilization: comparison between the standard form and long-acting formulation of D-Trp-6-luteinizing hormone-releasing hormone. *Fertil Steril* 1989;51:100-4.