

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO OVARIANA COM USO DE ANÁLOGOS DO
GNRH

IVAN SERENO MONTENEGRO

Porto Alegre

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

AVALIAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO OVARIANA COM USO DE ANÁLOGOS DO
GNRH

IVAN SERENO MONTENEGRO

Orientador: Eduardo Pandolfi Passos

Dissertação apresentada ao

Programa de Pós-Graduação em

Medicina: Ciências Médicas, UFRGS,

como requisito para obtenção do título de

Mestre

Porto Alegre

2012

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Montenegro, Ivan Sereno

Avaliação da estimulação ovariana com uso de análogos do gnrh. / Ivan Sereno Montenegro. -- 2012. 50 f.

Orientador: Eduardo Pandolfi Passos.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Reprodução humana. 2. Infertilidade. 3. Ginecologia. I. Passos, Eduardo Pandolfi, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu avó Walter, onde quer que ele esteja.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre me escutar em minhas preces.

Nunca imaginei que fosse tão difícil morar longe da minha família, mesmo tendo a experiência de morar sozinho desde 18 anos de idade. Antes de vir para Porto Alegre, a maior distância que me separou de minha família foi a de 127 quilômetros, a exata distância da cidade do Rio de Janeiro a Volta Redonda, a cidade onde nasci e cresci. O desafio de vir para o Rio Grande do Sul colocou-me frente a esta grande dificuldade: ir para um local onde não teria referências, nem familiares, sequer amigos. Tenho, então, que agradecer às pessoas que me receberam e acolheram-me desde 2010.

Sou grato aos profissionais que compõem o serviço de Ginecologia e Obstetrícia e aos que trabalham na Zona 6; aos professores da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial aos da equipe de DST, Climatério e Reprodução Humana: Professora Adriani, Professora Maria Celeste, Professor Freitas, Professor Naud e Professor Passos.

Gostaria de fazer uma menção especial a todos os amigos que trabalharam comigo nesse período no Laboratório de Embriologia e Diferenciação Celular e na Equipe de Reprodução Humana. Agradeço à Professora Elizabeth Obino Cirne Lima, às embriologistas Ana, Paula e Isabel, às técnicas de enfermagem do CCA Mari e Cris, à enfermeira Suzana e sua incansável busca por atender cada vez melhor as pacientes que necessitam de nossa ajuda . Agradeço também aos colegas que trabalharam comigo na clínica SEGIR: Dr. Paulo Augusto Peres Fagundes, Dra. Isabel Cristina Amaral de Almeida e, é claro, ao Professor Eduardo Pandofi Passos.

Não posso me esquecer das pessoas que me deram um suporte familiar durante esta jornada e acolheram-me como membro de suas famílias. E novamente não posso esquecer-me do Professor Eduardo, da Dra. Cristina, de suas filhas Marianna e Laura e de todos de sua família que me receberam em seu lar. Agradeço à família Palma e à família Kuhl que me acolheram com carinho e como um familiar querido nas suas comemorações e em seu dia a dia. Obrigado, Professor Gabriel, Dra Isabel, Gabi, Léo. Muito obrigado, Cris, que esteve comigo em todos os momentos e deu-me apoio incondicional em minhas decisões e esteve ao meu lado nos momentos de ansiedade e de nervosismo, na redação final dessa dissertação. Muito obrigado a minha “mãe gaúcha”, Dona Elisa e minha “irmã” Vivi e a todos que, através delas, me acolheram como amigo e parte da família. Tenho certeza de que sem vocês duas seria muito mais difícil.

Por fim, meu muito obrigado a minha família que, mesmo de longe, me apoiou e acompanhou neste período. Muitos puderam vir me visitar e alegrar-me com uma conversa familiar, mesmo que apenas para um jantar. Um muito obrigado ao meu irmão, que me acompanhou em minha mudança para Porto Alegre, numa viagem longa de carro em 2010, pelo carinho, e aos meus pais Ivan e Bernadete, que sempre estiveram comigo, acreditaram e investiram na ideia de que seria possível construir um melhor profissional, um melhor cidadão e um melhor filho, com educação de primeira qualidade, com amor e com carinho.

Muito Obrigado!

“A curiosidade é mais importante do que o conhecimento.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Introdução: Novos medicamentos trouxeram um considerável aumento na chance de gravidez no momento em que a estimulação ovariana controlada permitiu aumentar o número de oócitos a serem recuperados e, conseqüentemente, um maior número de embriões para serem transferidos. Os análogos de hormônio liberador de gonadotrofina, em associação com gonadotrofinas, trouxeram a solução para um dos problemas da estimulação ovariana controlada: o pico precoce de hormônio luteinizante, que prejudicava a coleta de oócitos em torno de 20% dos casos. Rotineiramente, usamos o protocolo com agonista, mas a possibilidade do uso de antagonistas resulta em maior facilidade de manuseio pelo usuário, envolve um único menstrual ciclo e dispensa orientação para uso de drogas, no final do ciclo anterior. Assim, buscamos avaliar o uso dos dois protocolos e analisar seus resultados. **Objetivos:** Análise e comparação de dados entre dois protocolos de indução (longo com agonista e flexível com antagonista) em pacientes submetidas a técnicas de reprodução assistida na SEGIR – Serviço de Ecografica, Genética e Reprodução Assistida – Porto Alegre. **Métodos:** Estudo transversal comparando os resultados intermediários com o uso de dois diferentes protocolos de estimulação ovariana com de agonista versus antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina para técnicas de reprodução assistida. A análise estatística dos dados recuperados (idade, índice de massa corpórea, número de oócitos recuperados, número de oócitos fertilizados, número de oócitos clivados, dose total de FSH utilizada e ocorrência de síndrome do hiperestímulo ovariano) foi realizada através de teste t de Student para dados paramétricos e análise de covariância para as variáveis dependentes, calculados com o programa SPSS 16.0. **Resultados:** Um total de 50 pacientes preencheram os critérios para inclusão no estudo entre janeiro

e março no ano de 2010, sendo 25 em cada grupo. Houve diferença estatística apenas na idade média entre os grupos ($p=0,031$). Não houve diferença estatística para os demais dados analisados (índice de massa corpórea, número de oócitos recuperados, número de oócitos fertilizados, número de oócitos clivados e dose de FSH utilizada) entre os grupos. Não houve casos de síndrome do hiperestímulo ovariano. **Conclusão:** Ambos protocolos os são iguais em termos de resultados. O agonista tem vantagens sobre o agendamento do procedimento, mas leva muito tempo para começar a estimulação e tem a possibilidade de iniciar a medicação em uma paciente grávida. Somado a isso, temos a possibilidade de ter síndrome do hiperestímulo ovariano como complicação. No grupo antagonista, está claro a maior facilidade de uso da medicação e o início mais rápido da estimulação ovariana.

PALAVRAS-CHAVE:

Resultado de fertilização *in vitro*/estimulação ovariana controlada/análogo do GnRH/agonista do GnRH/antagonista do GnRH

ABSTRACT

Background: New medications have brought a considerable increase in the chance of pregnancy at the time that controlled ovarian stimulation allowed an increase in the number of oocytes to be recruited and, consequently, a greater number of embryos to be transferred. The gonadotropin-releasing hormone analogues, in association with gonadotropins, brought the solution to one of the controlled ovarian stimulation's problems: the early peak of luteinizing hormone, which harmed the oocytes collection around 20% of the cases. We, routinely, used the agonist protocol, but the possibility of antagonists usage results in greater ease of handling by the user, involves a single menstrual cycle and dispensation guidance for drug use, at the end of the previous cycle. Thus we seek to evaluate the use of the two protocols and analyze their results. **Objective:** Analysis and compare data between two induction protocols (long agonist and flexible antagonist) in patients submitted an assisted reproduction technique in SEGIR – Serviço de Ecografia Genética e Reprodução assistida – Porto Alegre. **Methods:** Cross-sectional study comparing the intermediate results with the use of two different ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone agonist versus antagonist to assisted reproductive techniques. The statistical analysis of the retrieved data (age, body mass index, number of oocytes recovered, number of fertilized oocytes, number of oocytes cleaved, total dose of FSH used and occurrence of ovarian hyperstimulation syndrome) was performed by Student *t* test for parametric data and analysis of covariance for the dependent variables, calculated with the program SPSS 16.0. **Results:** A total of 50 patients, 25 in each group, met the criteria for inclusion in the study between January and March in the year 2010. There was statistically significant difference only in the middle ages between the groups ($p = 0.031$). There was no statistical difference for

the remaining data analyzed (body mass index, number of oocytes recovered, number of fertilized oocytes, number of oocytes cleaved and dose of FSH utilized) between the groups. There were no cases of ovarian hyperstimulation syndrome.

Conclusion: Both protocols are equal in terms of results. The agonist has advantages about scheduling of the procedure, but it takes too long to start the stimulation and have possibility to start medication in a pregnant patient. Added to this, we have the possibility of getting the ovarian hyperstimulation syndrome as complication. In the antagonist group, is clear the ease-of-use of the medication and the fastest start of the ovarian stimulation.

KEYWORDS

IVF outcome/controlled ovarian stimulation/GnRH analogue/GnRH agonist/GnRH antagonist

LISTA DE TABELAS

Quadro 1 -	Características dos estudos excluídos	22
Table 1 -	Patient demographic data for the GnRH-antagonist and GnRH-agonist groups	41
Table 2 -	Patient IVF outcomes	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática dos métodos de pesquisa
e seleção de artigos

21

LISTA DE ABREVIATURAS

FIV	fertilização <i>in vitro</i> ou <i>in vitro</i> fertilization
IOC	indução ovariana controlada
FSH	hormônio folículo estimulante ou follicle-stimulating hormone
RA	reprodução assistida
rFSH	FSH recombinante
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofina
EHHO	hipotálamo-hipófise-ovário
SOP	síndrome dos ovários policísticos
LH	hormônio luteinizante ou luteinizing hormone
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
SciELO	Scientific Electronic Library Online
PubMed	U.S. National Library of Medicine, U.S. National Institutes of Health
SHEO	síndrome de hiperestímulo ovariano
hCG	gonadotrofina coriônica
COS	controlled ovarian stimulation
OHSS	ovarian hyperstimulation syndrome
ICSI	intracytoplasmic sperm injection
IUI	intrauterine insemination
BMI	body mass index
ANCOVA	analysis of covariance

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 HISTÓRICO DA REPRODUÇÃO ASSISTIDA	17
1.2 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANÁLOGOS DO GNRH	19
OS AGONISTAS DO GNRH	19
OS ANTAGONISTAS DO GNRH	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 MÉTODOS DE PESQUISA E SELEÇÃO DE ARTIGOS	20
2.2 RESULTADOS	22
DURAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO OVARIANA	22
DOSE DE FSH NECESSÁRIA	23
ESTRADIOL SÉRICO NO DIA DO HCG	23
OÓCITOS RECUPERADOS	23
FERTILIZAÇÃO	24
CLIVAGEM	24
CANCELAMENTO	24
GESTAÇÕES	24
ABORTOS	24
NASCIMENTOS	24
SÍNDROME DA HIPERESTIMULAÇÃO OVARIANA	24
3 MARCO TEÓRICO	26
4 JUSTIFICATIVA	27
5. OBJETIVOS	28
5.1 OBJETIVO PRINCIPAL	28
5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	28

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO E DA REVISÃO	29
7 ARTIGO EM INGLÊS	34
COMPARISON OF OVARIAN STIMULATION WITH GNRH	
ANALOGUES USE	35
AUTHORS	35
ABSTRACT	35
KEYWORDS	36
RESUMO	36
PALAVRAS-CHAVE:	38
INTRODUCTION	38
MATERIALS AND METHODS	40
RESULTS	40
DISCUSSION	41
REFERENCES	455
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO DA REPRODUÇÃO ASSISTIDA

O tratamento reprodutivo para os casais inférteis tem evoluído rapidamente desde o nascimento de Louise Brown, o primeiro bebê nascido de uma fertilização *in vitro* (FIV) e realizado por Steptoe e Edwards em 1978 (1). Novas técnicas de tratamento, novas tecnologias utilizadas em laboratório e novas medicações compõem um arsenal de opções nesses casos e têm ajudado no tratamento desses casais. As novas medicações trouxeram um aumento considerável da chance de gestação no momento em que a indução ovariana controlada (IOC) possibilitou um aumento do número de oócitos a serem recrutados e, conseqüentemente, maior número de embriões (2).

Um maior número de medicações passou a ser disponibilizado aos usuários para este processo. No início dos anos 50, a administração de Citrato de Clomifeno, um fármaco antiestrogênico desenvolvido para ser usado em pacientes com câncer de mama, promoveu o retorno dos ciclos menstruais em pacientes que já se encontravam em amenorréia (3). Posteriormente, começou a ser utilizado para IOC e, desde então, tornou-se o indutor de ovulação mais utilizado em pacientes com amenorréia e é largamente empregado, ainda hoje, para técnicas de reprodução humana assistida de baixa complexidade.

O Citrato de Clomifeno age aumentando os níveis séricos do hormônio folículo estimulante (FSH). Ele bloqueia o feedback negativo para secreção de FSH, causado pelo aumento do estrogênio sérico produzido pelo folículo dominante no ovário, em nível hipofisário. Esse mecanismo provoca maior liberação de FSH na corrente sanguínea e, por conseqüência, o desenvolvimento folicular (4).

No anos 80, as gonadotrofinas (FSH e LH), isoladas da urina de mulheres menopausadas, começaram a ser utilizadas comercialmente para IOC, em casos de FIV. Essas gonadotrofinas permitiram o desenvolvimento de maior quantidade de folículos ovarianos e o aumento das taxas de sucesso em Reprodução Assistida (RA). Suas formulações iniciais possuíam uma grande quantidade de proteínas contaminantes e foi necessário o aprimoramento de técnicas de purificação, que produziram uma formulação com menor quantidade de proteínas não ativas e, posteriormente, a purificação do FSH urinário com o uso de anticorpos monoclonais (3).

Já na década de 90, devido ao aumento da demanda por gonadotrofinas, foram criadas novas formulações, através da técnica de recombinação do DNA, na qual genes de humanos foram transferidos para ramsters chinesas que passaram a produzir FSH em larga escala. A essa nova apresentação deu-se o nome de FSH recombinante (rFSH) (5).

Os primeiros análogos do GnRH surgiram a partir de substituição de aminoácidos na molécula original, descoberta em 1971 por Schally *et al* (6, 7). Inicialmente era principalmente utilizado devido a suas capacidades anti-reprodutivas, bloqueando o eixo hipotálamo-hipófise-ovário (EHHO) e também em patologias ginecológicas como a endometriose, a adenomiose, em casos de miomas uterinos, na síndrome dos ovários policísticos (SOP) e, mais recentemente, em patologias oncológicas entre outras (6, 8). Em RA, sua utilização em associação às gonadotrofinas exógenas trouxe a solução para um dos problemas da IOC: o pico precoce do hormônio luteinizante (LH), que prejudicava a coleta de oócitos em torno de 20% dos casos (9, 10).

1.2 MECANISMO DE AÇÃO DOS ANÁLOGOS DO GNRH

OS AGONISTAS DO GNRH

Os agonistas atuam ocupando os receptores específicos de GnRH na hipófise, causando uma dessensibilização dos mesmos. Inicialmente essa medicação, ao ocupar esses receptores hipofisários, libera o FSH já produzido e armazena-os em grânulos para, em seguida, ocorrer um bloqueio da produção e liberação dos hormônios hipofisários (FSH e LH) (8). O efeito inicial de liberação do FSH acumulado é chamado de efeito “*flare-up*” e também pode ser usado com estímulo inicial de IOC já que esse hormônio é liberado na corrente sanguínea e pode ser aproveitado no início da indução. O bloqueio hipofisário inicial ocorre entre 3 e 4 semanas após o início do uso da medicação e seu efeito é duradouro, podendo persistir por algumas semanas, após a interrupção do uso (8). Tal bloqueio impede a liberação precoce de LH, possibilitando um controle maior do estímulo, sendo idealizado sua utilização a partir do vigésimo dia do ciclo precedente (protocolo longo). Também é descrita sua utilização a partir do início do ciclo (protocolo curto) com resultados menores de gestação, comparativamente com protocolo longo. Sendo assim, o primeiro passou a ser padronizado como forma de utilização (11).

OS ANTAGONISTAS DO GNRH

O advento dos antagonistas trouxe outra perspectiva de manuseio, pois seu uso passa a ser realizado no próprio ciclo de IOC. Essa medicação atua na hipófise através de um bloqueio competitivo dos receptores de GnRH e sua ação é dose dependente. Ele ocupa os receptores sem estimular a secreção de gonadotrofinas e o efeito final é a não liberação dos hormônios hipofisários, especialmente o LH. O

início de ação é imediato e a duração do efeito dura em torno de 34 horas. (6, 12, 13).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MÉTODOS DE PESQUISA E SELEÇÃO DE ARTIGOS

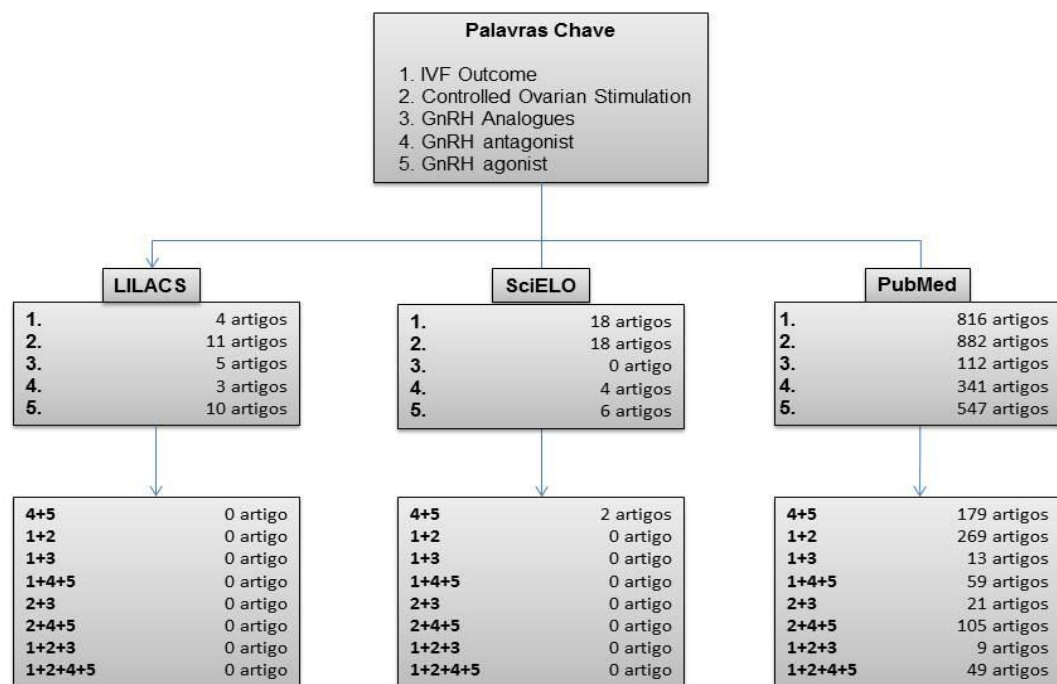
A revisão sistemática da literatura foi realizada no dia 06 de junho de 2012 a partir das bases de dados *on-line* LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), SciELO (Scientific Electronic Library Online) e PubMed (U.S. National Library of Medicine, U.S. National Institutes of Health), e foram utilizadas as seguintes palavras-chave em inglês: “*IVF outcome*”, “*controlled ovarian stimulation*”, “*GnRH analogue*”, “*GnRH agonist*” e “*GnRH antagonist*”, sendo adicionados os filtros de seleção de: tempo de publicação (até 10 anos), tipos de artigo (metanálise, ensaio clínico randomizado e revisão sistemática) e língua de publicação (inglês e português). O filtro de seleção “tipos de artigo” não pode ser aplicado às bases de dados *on-line* LILACS e SciELO, sendo a seleção “tipo de artigo” realizada manualmente.

A revisão foi ampliada por meio da busca a referências bibliográficas de revisões sistemáticas anteriores e de estudos relevantes, solicitação de estudos publicados, ou não, a especialistas e busca em outras fontes. O total de artigos resultantes da busca, conforme as palavras-chave utilizadas, para cada base de dados pode ser observado na figura 1.

Estudos foram selecionados em um processo de duas etapas. Em primeiro lugar, os títulos e resumos de pesquisas eletrônicas foram analisados por dois revisores independentemente (ISM e EPP) e foram obtidos os artigos completos de todas as citações que eram susceptíveis de satisfazer os seguintes critérios de

seleção: serem ensaios clínicos randomizados (ECR), revisões sistemáticas ou metanálises; comparar os dois protocolos selecionados de IOC (longo com agonista e flexível com antagonista); e possuir como desfecho primário os resultados em FIV (taxa de gestação ou taxa de natalidade). A duração da estimulação ovariana, a dose de FSH necessária, o número de oócitos recuperados, o número de oócitos fertilizados, o número de embriões clivados, a taxa de síndrome de hiperestímulo ovariano (SHEO) moderada e grave e a taxa de abortamento foram considerados como desfechos secundários. Em segundo lugar, as decisões de inclusão ou de exclusão final foram feitas após a leitura dos artigos completos. Em caso de publicação duplicada, selecionaram-se as versões mais recentes ou completas. Quaisquer divergências sobre inclusão foram resolvidas por consenso .

Figura 1 – Representação esquemática dos métodos de pesquisa e seleção de artigos



2.2 RESULTADOS

Um total de 22 artigos foram selecionados atendendo a esses critérios, sendo 17 ECR e 5 metanálises. Foram excluídos dessa seleção 07 artigos (14-20) e os motivos da exclusão encontram-se no quadro 1.

DURAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO OVARIANA

Dos artigos selecionados, 10 deles mostraram um menor tempo duração de estímulo ovariano com uso de análogos antagonistas do GnRH (21-30), significando que o objetivo da estimulação ovariana é alcançado em menor tempo com o uso desses protocolos. Outros 2 artigos não mostraram diferença entre os dois protocolos (31, 32) e apenas 1 apresentou uma maior duração no tempo do estímulo com uso de antagonistas (33), entretanto, no desenho do estudo, um incremento na dose de gonadotrofinas já estava programado nas pacientes que procederam a IOC no grupo com antagonistas, justificando esse achado.

Quadro 1 - Características dos estudos excluídos

Artigo	Motivo da exclusão
Firouzabadi <i>et al.</i> (2010)	Protocolo fixo com antagonista.
Kim <i>et al.</i> (2009)	Artigo não encontrado na íntegra.
Sunkara <i>et al.</i> (2007)	Artigo não encontrado na íntegra.
Sunkara <i>et al.</i> (2007)	Artigo não encontrado na íntegra.
Pabuccu <i>et al.</i> (2007)	Artigo não avaliou os desfechos analisados.
Prapas <i>et al.</i> (2005)	Protocolo fixo com antagonista.
Check <i>et al.</i> (2004)	Artigo não encontrado na íntegra.

DOSE DE FSH NECESSÁRIA

A quantidade de FSH necessária para o estímulo ovariano foi avaliada em 8 dos estudos selecionados, sendo que em 5 deles a dose total necessária durante a IOC foi menor no grupo com antagonista (21, 24-26, 28); em outros 2 não houve diferença entre as doses utilizadas (23, 32) e em apenas 1 estudo foi necessária uma maior dose de FSH no grupo antagonista quando comparado com o agonista (33). Este último, o mesmo que apresentou um maior tempo de indução neste grupo, ou seja, apresentou um protocolo de indução diferenciado, com uma maior dose de FSH no grupo com antagonista.

ESTRADIOL SÉRICO NO DIA DO HCG

O nível sérico de estradiol no dia da aplicação da gonadotrofina coriônica (hCG) foi contabilizado como desfecho em 6 artigos. A maioria deles não apresentou diferença estatística entre os protocolos utilizados (21, 24, 29-31) e em apenas 1 estudo (27) o nível de estradiol foi menor no grupo de indução com antagonistas.

OÓCITOS RECUPERADOS

O número de oócitos recuperados foi definido como um medida indireta do sucesso da IOC e pode ser utilizado com método de comparação dos resultados intermediários em protocolos de indução para reprodução humana. Nove trabalhos mostraram que não houve diferença entre os protocolos, se analisarmos este parâmetro (21-24, 27, 28, 30, 31, 33), 3 mostraram um menor número de óocitos reuperados (29, 32, 34) e em 1 estudo o número de oócitos foi maior no grupo com uso de antagonistas (31, 35).

FERTILIZAÇÃO

Em todos artigos os que possuíam a taxa de fertilização o número de oócitos fertilizados como desfecho, não houve diferença entre os grupos analisados (24, 27, 28, 30-33).

CLIVAGEM

Apenas 1 estudo fez a avaliação de clivagem dos embriões e não mostrou diferença entre o uso de agonistas e antagonistas (28).

CANCELAMENTO

O número de cancelamentos foi igual em 5 dos trabalhos selecionados (21, 22, 27, 30, 35).

GESTAÇÕES

O total de gestações foi significativamente maior no grupo antagonista em apenas 1 estudo (31); enquanto que em outros 13 não houve diferença entre os grupos na taxa ou no número de gestações (21-28, 30, 32-35).

ABORTOS

Nos quatro artigos que avaliaram o número de abortos não houve diferenças entre as taxas de aborto de agonistas e de antagonistas (21, 28, 31, 34).

NASCIMENTOS

Somente 1 artigo conseguiu avaliar o número de nascimentos e não mostrou diferença entre os análogos agonistas e antagonistas (29).

SÍNDROME DA HIPERESTIMULAÇÃO OVARIANA

Uma das grandes vantagens de se utilizar os antagonistas é a possibilidade de evitar a SHEO e 5 dos 8 artigos que avaliaram este desfecho mostraram uma menor incidência de SHEO (21, 24, 25, 29, 31), enquanto que em outros 3 não

houve diferença (23, 27, 30). Nenhum artigo mostrou uma maior taxa de SHEO no grupo dos antagonistas.

3 MARCO TEÓRICO

A multiplicidade de protocolos de estimulação ovariana existentes demonstram a busca por uma melhor alternativa visando melhorar os resultados em procedimentos de reprodução assistida. A definição de um melhor protocolo ainda é uma incógnita e os vários centros têm utilizado a facilidade de uso para equipe como parâmetro de escolha de esquema medicamentoso.

A incorporação dos antagonistas trouxe a possibilidade de menor uso de medicação e uma segurança de que a paciente não está gestando no início da IOC.

Nosso objetivo é a avaliar o número de oócitos e o percentual de clivagem obtidos para que possamos comparar os dois protocolos de IOC mais utilizados, o longo com agonista e o flexível com antagonista.

4 JUSTIFICATIVA

Com o desenvolvimento farmacológico e maior conhecimento da fisiologia do ciclo menstrual, foram idealizados protocolos de estimulação ovariana visando ao recrutamento de um maior número de oócitos para manuseio laboratorial, em procedimentos de FIV. Temos, então, estabelecido dois protocolos de uso de análogos na estimulação ovariana: estimulação ovariana com uso de análogos agonistas (protocolo longo) e outro com uso de antagonistas (protocolo flexível). Ambos os protocolos têm sido utilizados pelos mais variados serviços. No Hospital de Clínicas de Porto Alegre, rotineiramente, o primeiro protocolo tem sido utilizado, porém a possibilidade de uso de análogos antagonistas resulta numa maior facilidade de manuseio pelo usuário, envolve um único ciclo menstrual e dispensa a orientação para uso de drogas no final do ciclo precedente. Sendo assim, passamos a utilizar o protocolo com antagonistas e, desta forma, procuramos avaliar a utilização dos dois protocolos para análise de seus resultados. Somado a isto, o fato de não haver um estudo que faça essa comparação na nossa população, torna necessário o desenvolvimento e a análise de dados comparativos com a perspectiva de comparar os dois protocolos de indução e saber se a literatura internacional se aplica à realidade brasileira, do Rio Grande do Sul e de Porto Alegre.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Comparar resultados intermediários em reprodução humana assistida, através da taxa de recuperação de oócitos, entre as pacientes que utilizaram o protocolo longo de IOC com agonistas do GnRH, com as que usaram o protocolo flexível de IOC com antagonista do GnRH.

5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Comparar as taxas de fertilização entre os dois grupos.
2. Comparar as taxas de clivagem entre os dois grupos.
3. Comparar as taxas de gravidez entre os dois grupos.
4. Comparar a dose de FSH utilizada para IOC entre os dois grupos.
5. Comparar as taxas de desenvolvimento de síndrome do hiperestímulo ovariano nos dois grupos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO E DA REVISÃO

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978 Aug 12;2(8085):366.
2. Yovich JL. A clinician's personal view of assisted reproductive technology over 35 years. *Reprod Biol*. 2011 Dec;11 Suppl 3:31-42.
3. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev*. 2006 Apr;27(2):170-207.
4. Papanikolaou EG, Polyzos NP, Humaidan P, Pados G, Bosch E, Tournaye H, et al. Aromatase inhibitors in stimulated IVF cycles. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:85.
5. Fauser BC. Developments in human recombinant follicle stimulating hormone technology: are we going in the right direction? *Hum Reprod*. 1998 Jun;13 Suppl 3:36-46; discussion 7-51.
6. Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides*. 1999;20(10):1247-62.
7. 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 Nov;246(21):6647-50.
8. Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas. *Indian J Endocrinol Metab*. 2011 Oct;15(4):261-7.
9. Ashkenazi J, Dicker D, Feldberg D, Goldman GA, Yeshaya A, Goldman JA. The value of GnRH analogue therapy in IVF in women with unexplained infertility. *Hum Reprod*. 1989 Aug;4(6):667-9.

10. Neveu S, Hedon B, Bringer J, Chinchole JM, Arnal F, Humeau C, et al. Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1987 Apr;47(4):639-43.
11. Madani T, Ashrafi M, Yeganeh LM. Comparison of different stimulation protocols efficacy in poor responders undergoing IVF: A retrospective study. *Gynecol Endocrinol*. 2012 Feb;28(2):102-5.
12. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011(5):CD001750.
13. Gilliam ML. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol*. 2011 Sep;118(3):706-7.
14. Check ML, Check JH, Choel JK, Davies E, Kiefer D. Effect of antagonists vs agonists on in vitro fertilization outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2004;31(4):257-9.
15. 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 Jan;281(1):81-5.
16. Kim CH, Jeon GH, Cheon YP, Jeon I, Kim SH, Chae HD, et al. Comparison of GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pill pretreatment and GnRH agonist low-dose long protocol in low responders undergoing IVF/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2009 Nov;92(5):1758-60.
17. Pabuccu R, Onalan G, Kaya C. GnRH agonist and antagonist protocols for stage I-II endometriosis and endometrioma in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*. 2007 Oct;88(4):832-9.

18. Prapas N, Prapas Y, Panagiotidis Y, Prapa S, Vanderzwalmen P, Schoysman R, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in oocyte donation cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2005 Jun;20(6):1516-20.
19. Sunkara SK, Coomarasamy A, Khalaf Y, Braude P. A three-arm randomised controlled trial comparing Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH) agonist long regimen versus GnRH agonist short regimen versus GnRH antagonist regimen in women with a history of poor ovarian response undergoing in vitro fertilisation (IVF) treatment: Poor responders intervention trial (PRINT). *Reprod Health.* 2007;4:12.
20. Sunkara SK, Tuthill J, Khairy M, El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khalaf Y, et al. Pituitary suppression regimens in poor responders undergoing IVF treatment: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2007 Nov;15(5):539-46.
21. 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 Jan;24(1):6-22.
22. Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2011 Oct;26(10):2742-9.
23. 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 Jan;95(1):164-9.
24. Tehraninejad 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 Sep;282(3):319-25.

25. Lainas TG, Sfontouris IA, Zorzovilis IZ, Petsas GK, Lainas GT, Alexopoulou E, et al. 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 Mar;25(3):683-9.
26. Tazegul A, Gorkemli H, Ozdemir S, Aktan TM. Comparison of multiple dose GnRH antagonist and minidose long agonist protocols in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet.* 2008 Nov;278(5):467-72.
27. Moraloglu O, Kilic S, Karayalcin R, Yuksel B, Tasdemir N, Isik A, et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther.* 2008 Mar;25(3):266-73.
28. Kurzawa R, Ciepiela P, Baczkowski T, Safranow K, Brelik P. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet.* 2008 Aug;25(8):365-74.
29. 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 Nov-Dec;12(6):651-71.
30. Xavier P, Gamboa C, Calejo L, Silva J, Stevenson D, Nunes A, et al. A randomised study of GnRH antagonist (cetrotorelix) versus agonist (busereline) for controlled ovarian stimulation: effect on safety and efficacy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 Jun 1;120(2):185-9.
31. Hosseini MA, Aleyasin A, Saeedi H, Mahdavi A. Comparison of gonadotropin-releasing hormone agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of

polycystic ovarian syndrome patients. *J Obstet Gynaecol Res.* 2010 Jun;36(3):605-10.

32. 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 Feb;83(2):321-30.

33. Loutradis D, Stefanidis K, Drakakis P, Milingos S, Antsaklis A, Michalas S. A modified gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist protocol failed to increase clinical pregnancy rates in comparison with the long GnRH protocol. *Fertil Steril.* 2004 Nov;82(5):1446-8.

34. Depalo R, Lorusso F, Palmisano M, Bassi E, Totaro I, Vacca M, et al. Follicular growth and oocyte maturation in GnRH agonist and antagonist protocols for in vitro fertilisation and embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 2009 May;25(5):328-34.

35. Franco JG, Jr., Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, Cornicelli J, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in poor ovarian responders: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2006 Nov;13(5):618-27.

7 ARTIGO EM INGLÊS

COMPARISON OF OVARIAN STIMULATION WITH GNRH ANALOGUES USE

AUTHORS: Ivan Sereno Montenegro^{1,3}, Isabel Cirne Lima¹, Paula Barros

Terraciano¹, Ana Helena Paz¹, Suzana Zachia¹, Elizabeth Obino Cirne Lima²,

Mariana Faller³, Isabel Cristina Amaral de Almeida³, Eduardo Pandolfi Passos^{1,2,3}

¹ Gynecology and Obstetrics service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Assisted Reproductive Sector.

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

³ SEGIR- Serviço de Ecografia, Genética e Reprodução Humana.

ABSTRACT

Background: New medications have brought a considerable increase in the possibility of pregnancy at the time that controlled ovarian stimulation allowed an increase in the number of oocytes to be recruited and, consequently, a greater number of embryos to be transferred. The gonadotropin-releasing hormone analogues, in association with gonadotropins brought the solution to one of the controlled ovarian stimulation's problems: the early peak of luteinizing hormone, which harmed the oocytes collection around 20% of the cases. We, routinely, used the agonist protocol, but the possibility of antagonists usage results in greater ease of handling by the user, involves a single menstrual cycle and dispensation guidance for drug use at the end of the previous cycle. Thus we seek to evaluate the use of the two protocols and analyze their results. **Objective:** Analysis and compare data between two induction protocols (long agonist and flexible antagonist) in patients submitted an assisted reproduction technique in SEGIR – Serviço de Ecografia Genética e Reprodução assistida – Porto Alegre. **Methods:** Cross-sectional study comparing the intermediate results with the use of two different ovarian stimulation

protocols with gonadotropin-releasing hormone agonist versus antagonist to assisted reproductive techniques. The statistical analysis of the retrieved data (age, body mass index, number of oocytes recovered, number of fertilized oocytes, number of oocytes cleaved, total dose of FSH used and ovarian hyperstimulation syndrome) was performed by student t test for parametric data and analysis of covariance for the dependent variables, calculated with the program SPSS 16.0. **Results:** A total of 50 patients, 25 in each group, met the criteria for inclusion in the study between January and March in the year 2010. There was statistically significant difference only in the middle ages between the groups ($p = 0.031$). There was no statistical difference for the remaining data analyzed (body mass index, number of oocytes recovered, number of fertilized oocytes, number of oocytes cleaved and dose of FSH utilized) between the groups. There were no cases of ovarian hyperstimulation syndrome. **Conclusion:** Both protocols are equal in terms of results. The agonist has advantages about scheduling of the procedure, but it takes too long to start the stimulation and have possibility to start medication in a pregnant patient. Added to this, we have the possibility of getting the ovarian hyperstimulation syndrome as complication. In the antagonist group, is clear the ease-of-use of the medication and the fastest start of the ovarian stimulation.

KEYWORDS

IVF outcome/controlled ovarian stimulation/GnRH analogue/GnRH agonist/GnRH antagonist

RESUMO

Introdução: Novos medicamentos trouxeram um considerável aumento na chance de gravidez no momento em que a estimulação ovariana controlada permitiu

aumentar o número de oócitos a serem recuperados e, conseqüentemente, um maior número de embriões para serem transferidos. Os análogos de hormônio liberador de gonadotrofina, em associação com gonadotrofinas, trouxeram a solução para um dos problemas da estimulação ovariana controlada: o pico precoce de hormônio luteinizante, que prejudicava a coleta de oócitos em torno de 20% dos casos. Rotineiramente, usamos o protocolo com agonista, mas a possibilidade do uso de antagonistas resulta em maior facilidade de manuseio pelo usuário, envolve um único menstrual ciclo e dispensa orientação para uso de drogas no final do ciclo anterior. Assim, buscamos avaliar o uso dos dois protocolos e analisar seus resultados. **Objetivos:** Análise e comparação de dados entre dois protocolos de indução (longo com agonista e flexível com antagonista) em pacientes submetidas a técnicas de reprodução assistida na SEGIR – Serviço de Ecografica, Genética e Reprodução Assistida – Porto Alegre. **Métodos:** Estudo transversal comparando os resultados intermediários com o uso de dois diferentes protocolos de estimulação ovariana, com de agonista versus antagonista do GnRH para técnicas de reprodução assistida. A análise estatística dos dados recuperados (idade, índice de massa corpórea, número de oócitos recuperados, número de oócitos fertilizados, número de oócitos clivados, dose total de FSH utilizada e síndrome do hiperestímulo ovariano) foi realizada através de teste *t* de Student para dados paramétricos e análise de covariância para as variáveis dependentes, calculados com o programa SPSS 16.0. **Resultados:** Um total de 50 pacientes preencheram os critérios para inclusão no estudo entre janeiro e março no ano de 2010, sendo 25 em cada grupo. Houve diferença estatística apenas na idade média entre os grupos ($p=0,031$). Não houve diferença estatística para os demais dados analisados (índice de massa corpórea, número de oócitos recuperados, número de oócitos fertilizados, número de

oócitos clivados e dose de FSH utilizada) entre os grupos. Não houveram casos de síndrome do hiperestímulo ovariano. **Conclusão:** Ambos os protocolos são iguais em termos de resultados. O agonista tem vantagens sobre o agendamento do procedimento, mas leva muito tempo para começar a estimulação e tem a possibilidade de iniciar a medicação em uma paciente grávida. Somado a isso, temos a possibilidade de ter síndrome do hiperestímulo ovariano como complicação. No grupo antagonista, está claro a maior facilidade de uso da medicação e o início mais rápido da estimulação ovariana.

PALAVRAS-CHAVE:

Resultado de fertilização *in vitro*/estimulação ovariana controlada/análogo do GnRH/agonista do GnRH/antagonista do GnRH

INTRODUCTION

The reproductive treatment for infertile couples has evolved rapidly since the birth of Louise Brown, the first baby born from in-vitro fertilization (IVF), performed by Steptoe and Edwards in 1978 (1). New treatment techniques, new technologies used in the laboratory and new medications make up an arsenal of options in these cases and have helped in the treatment of these couples. The new medications have brought a considerable increase in the chance of pregnancy at the time controlled ovarian stimulation (COS) allowed an increase in the number of oocytes to be recruited and, consequently, greater number of embryos (2).

The gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogues (agonist and antagonist), in association with exogenous gonadotropins brought the solution to one of the COS's problems: the early peak of luteinizing hormone (LH), which harmed the oocytes collection around 20% of the cases (3, 4). The GnRH agonists' analogues

act occupying the GnRH receptors in the pituitary gland causing desensitization. Initially, this medication releases ever follicle-stimulating hormone (FSH) produced and stored in granules, to then, block the production of the pituitary hormones (FSH and LH) (5). The initial pituitary lock occurs between 3 and 4 weeks after the start of the use of the medication and its effect is long-lasting, and may persist for a few weeks after the discontinuation of use (5). Such use prevents the early release of LH, enabling greater control of the stimulus and it is most used in the middle of the luteal phase of the previous cycle (long protocol) (6). The advent of antagonist brought another perspective of handling because its use happens to be held at COS cycle itself. The antagonists act in the pituitary gland through a competitive blocking at GnRH receptors and its action is dose dependent. It occupies the receptors without stimulating the secretion of gonadotropins and the final effect is not to release of pituitary hormones, especially the LH. The onset of action is immediate and the duration of the effect lasts around 34 hours. (7-9).

The most recent studies result that two induction protocols are equivalent in terms of retrieved oocytes, embryos fertilized, pregnancy and birth rates. However, they reveal that the protocol that uses antagonist appears to be safer due to the lower occurrence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), and it ensures that the patient is not pregnant when the beginning of the use of medicines. Still, the literature has shown a greater need for gonadotropins use with the agonist protocol, resulting in higher cost for patients in addition to the risk of OHSS. (7, 8, 10-13).

In our service routinely has been used the agonist protocol, but the possibility of antagonists usage results in greater ease of handling by the user, involves a single menstrual cycle and dispensation guidance for drug use at the end of the previous cycle. Thus, we use the protocol with antagonists and, in this way, we seek

to evaluate the use of the two protocols and analyze their results. Added to this, the fact that there is no study that make this comparison in our population.

MATERIALS AND METHODS

The study constitutes a cross-sectional cohort comparing the intermediate results in assisted reproduction between the GnRH agonist long protocol (group 1) and flexible GnRH antagonist protocol (group 2), in patients undergoing IVF and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) procedure in the year 2010. Were excluded patients with indication of intrauterine insemination (IUI) and ICSI of testicular biopsy. The data were extracted from electronic medical records, being analyzed: date of birth, date of the procedure (ovarian puncture), COS protocol, body mass index (BMI), number of oocytes retrieved, number of fertilized oocytes, number of oocytes cleaved, units of FSH (uFSH) necessary to proceed COS and occurrence of OHSS.

Whereas a difference of up to 3 oocytes as equal among the groups studied, and a standard deviation of 2.7 and 3.2 respectively and each group according to found in the previous study (8) were needed at least 34 fertilization cycles, being 17 in each group. Then, for statistical analysis, we used the Student's "t" Test, Analysis of Covariance (ANCOVA) or Chi-Square Test when appropriate, calculated with the program SPSS 16.0. The work was submitted and approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre's committee of ethics in Research.

RESULTS

We selected the first fifty patients' files who underwent do IVF/ICSI procedures in 2010 (between January and March), being 25 in each group. The average age of the Group 1 was 36.88 years, statistically greater than group 2, which was 33.96 ($p <$

0.05) (table 1). There was no difference between the averages BMI between the groups.

Table 1

Patient demographic data for the GnRH-antagonist and GnRH-agonist groups.

	Group 1	Group 2	
Included Patients	Agonist Long Protocol	Antagonist Flexible Protocol	
(n = 50)	(n = 25)	(n = 25)	p^a
Age (years)	33,96 ± 5.00	36,88 ± 4.26	.031
BMI (kg/m ²)	23.05 ± 2.96	24.70 ± 2.80	.722

Note: Data listed as mean ± standard derivation (SD).

BMI – Body Mass Index

^a Student's t-test.

Fixing up by age, with the ANCOVA, the comparison of averages oocytes recovered, fertilized oocytes, embryos cleaved and uFSH necessary to proceed COS (table 2). There were no cases of OHSS in both groups.

DISCUSSION

As already established in the literature, both protocols are similar (7, 8, 10, 11, 13-21). We found the same results in our study.

As demonstrated in this study, there is no difference in oocytes retrieval between these two protocols in recent metanalysis (11, 14-16) and randomized controlled trials (18-22). Differently, some reports showed a less number of oocyte retrieval in the antagonist protocol (23-25). Our results could be discussed in another

way when we decide to use minor dose of gonadotropin. We could say: minor dose, less oocyte, less complication. We are getting more reliable lab results so that we do

Table 2

Assisted reproduction outcomes.

	Group 1		Group 2		p
	Agonist Protocol	Long Antagonist Protocol	Antagonist Protocol	Flexible	
Included Patients (n = 50)	(n = 25)	(n = 25)	(n = 25)		
Oocyte Retrieval	5.39 ± 0,976		6.89 ± 0,976		.288 ^a
Fertilized Oocytes	3.28 ± 0.551		3.08 ± 0.551		.803 ^a
Cleaved Embryos	3.00 ± 0.449		2.56 ± 0,449		.549 ^a
uFSH	1449.77 ± 33.704		1432.23 ± 33.704		.719 ^a

Note: Data listed as mean ± Standard error (SE) corrected by age with ANCOVA.

uFSH – units of FSH.

^a ANCOVA

not want much cryopreserved embryos. In this way we think that a friendly stimulation with a sufficient oocyte to have embryo to be transferred and a little to be cryopreserved should be routine, and, in a future, it should be fertilized only a

minimal necessary oocyte and cryopreserve oocyte. Our results demonstrate a more number of oocyte in the antagonist protocol with no significant difference between both groups.

We found no difference in the fertilized oocyte in both groups. We do know the quality of the oocyte is import for the lab results (26) so that in both protocols our operator demonstrates an accuracy of decision in terms of puncture day. Concerning the lab, we could say that we advanced in the last years so that even with some immature we could find good results (27, 28). It is interesting that all lab results are almost equal in terms of percentage of fertilization and cleavage. So, we could say it depends on the operator experience in the use of those protocols. We do know the more antagonists, the less we get LH so that we should think in a mean LH level in terms of results. Recently, Papanikolaou et al. published a correlation between progesterone levels and pregnancy rates with no difference between protocols but an interesting data in terms of progesterone level, that we got no results because had no routine relating to this data (29).

The antagonist protocol is protective concerning OHSS because even with this probably situation we could trigger with agonist and prevent this important complication (30, 31). This fact is of utmost importance specially if we are leading with younger patients. The major age of the patients was a primary indication for the use of antagonist protocol. Anyway we found this aspect of no importance because our data showed the same number of oocyte collected and no cases of OHSS, probably because our sample was not calculated to find difference in OHSS cases or because we had just one case of polycystic ovary syndrome among the cases studied.

The agonist is more comfortable for the organization of the oocyte retrieval day but it should be used on the previous cycle and could get patients that might be pregnant (32). In our study we found no problem about this fact because of the routine imposed but it should be discussed with the group about the facility of some flexible puncture date. Tremellen and Lane showed in an article demonstrating that we could use more antagonist to postpone the puncture day with no adverse results (33).

After corrected by age, our study shows a minor dose of uFSH in antagonist protocol, but with no significant difference when compared to agonist protocol. Some reports evidence that a less amount of uFSH is needed in antagonist protocol (14, 16, 19, 22, 34) and other papers shows no difference between protocols (11, 25). The small need of uFSH determine a more friendly stimulation with less risk of OHSS and a greater compliance of our patients in treatment.

Finally we should say both protocols are equal in terms of results (35, 36). The agonist has advantages concerning the mobility but it get to long to start the stimulation and, even, could get a pregnant patient and adjunctive the possibility of getting the OHSS as complication (35, 37). In the antagonist group, it is clear the facility of usage and the faster stimulation cycle as it start in the same puncture cycle (35). The idea of impossibility of mobility was not a compliance of our group and should be discussed the possibility of use of more antagonist in case of discomfort of schedule but implicate in a more costs in protocol. It is expected that the availability of evidence-based information on the optimal use of GnRH antagonists will enhance the probability of pregnancy associated with their application in ovarian stimulation (20). In addition to the flexible antagonist protocol be safer in terms of less likelihood of OHSS and the patient could not be pregnant at the beginning of the cycle (7, 35),

we also consider that the fact of the shorter duration of the stimulus and the least amount of FSH units required are economic factors that also influence the therapeutic decision of the human reproduction team. The smallest amount of gonadotropins directly decreases the costs of treatment, since, in this case, you will need to acquire the least amount of medication to the induction cycle. Already the smallest stimulus duration decreases treatment costs indirectly, as decrease transportation costs to the place of treatment, the shortest time of absence at work and other indirect expenses that are difficult to calculate.

REFERENCES

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978 Aug 12;2(8085):366.
2. Yovich JL. A clinician's personal view of assisted reproductive technology over 35 years. *Reprod Biol*. 2011 Dec;11 Suppl 3:31-42.
3. Neveu S, Hedon B, Bringer J, Chinchole JM, Arnal F, Humeau C, et al. Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1987 Apr;47(4):639-43.
4. Ashkenazi J, Dicker D, Feldberg D, Goldman GA, Yeshaya A, Goldman JA. The value of GnRH analogue therapy in IVF in women with unexplained infertility. *Hum Reprod*. 1989 Aug;4(6):667-9.
5. Magon N. Gonadotropin releasing hormone agonists: Expanding vistas. *Indian J Endocrinol Metab*. 2011 Oct;15(4):261-7.
6. Madani T, Ashrafi M, Yeganeh LM. Comparison of different stimulation protocols efficacy in poor responders undergoing IVF: a retrospective study. *Gynecol Endocrinol*. 2012 Feb;28(2):102-5.

7. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011(5):CD001750.
8. Gilliam ML. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol*. 2011 Sep;118(3):706-7.
9. Schally AV. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides*. 1999;20(10):1247-62.
10. Aletebi F. Comparing gonadotrophin-releasing hormone agonists or gonadotrophin-releasing hormone antagonists in poor responder in IVF. *Middle East Fertility Society Journal*. [Research Article]. 2007 2007 January 15;12(2):5.
11. 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 Jan;95(1):164-9.
12. Del Gadillo JC, Siebzehnrubl E, Dittrich R, Wildt L, Lang N. Comparison of GnRH agonists and antagonists in unselected IVF/ICSI patients treated with different controlled ovarian hyperstimulation protocols: a matched study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2002 May 10;102(2):179-83.
13. Prapas N, Prapas Y, Panagiotidis Y, Prapa S, Vanderzwalmen P, Schoysman R, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in oocyte donation cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod*. 2005 Jun;20(6):1516-20.
14. 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 Jan;24(1):6-22.

15. Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2011 Oct;26(10):2742-9.
16. Tehraninejad 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 Sep;282(3):319-25.
17. Hosseini MA, Aleyasin A, Saeedi H, Mahdavi A. Comparison of gonadotropin-releasing hormone agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of polycystic ovarian syndrome patients. *J Obstet Gynaecol Res.* 2010 Jun;36(3):605-10.
18. Moraloglu O, Kilic S, Karayalcin R, Yuksel B, Tasdemir N, Isik A, et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther.* 2008 Mar;25(3):266-73.
19. Kurzawa R, Ciepiela P, Baczkowski T, Safranow K, Brelik P. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet.* 2008 Aug;25(8):365-74.
20. Xavier P, Gamboa C, Calejo L, Silva J, Stevenson D, Nunes A, et al. 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 Jun 1;120(2):185-9.
21. Loutradis D, Stefanidis K, Drakakis P, Milingos S, Antsaklis A, Michalas S. A modified gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist protocol failed to increase clinical pregnancy rates in comparison with the long GnRH protocol. *Fertil Steril.* 2004 Nov;82(5):1446-8.

22. Tazegul A, Gorkemli H, Ozdemir S, Aktan TM. Comparison of multiple dose GnRH antagonist and minidose long agonist protocols in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet.* 2008 Nov;278(5):467-72.
23. Depalo R, Lorusso F, Palmisano M, Bassi E, Totaro I, Vacca M, et al. Follicular growth and oocyte maturation in GnRH agonist and antagonist protocols for in vitro fertilisation and embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 2009 May;25(5):328-34.
24. 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 Nov-Dec;12(6):651-71.
25. 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 Feb;83(2):321-30.
26. Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod.* 1997 Aug;12(8):1750-5.
27. Borini A, Bianchi V. Oocyte Cryopreservation
Fertility Preservation. In: Seli E, Agarwal A, editors.: Springer New York; 2012. p. 89-105.
28. Krisher RL. The effect of oocyte quality on development. *J Anim Sci.* 2004;82 E-Suppl:E14-23.
29. Papanikolaou EG, Pados G, Grimbizis G, Bili E, Kyriazi L, Polyzos NP, et al. GnRH-agonist versus GnRH-antagonist IVF cycles: is the reproductive outcome

affected by the incidence of progesterone elevation on the day of HCG triggering? A randomized prospective study. *Hum Reprod.* 2012 Jun;27(6):1822-8.

30. Humaidan P, Papanikolaou EG, Kyrou D, Alsbjerg B, Polyzos NP, Devroey P, et al. The luteal phase after GnRH-agonist triggering of ovulation: present and future perspectives. *Reprod Biomed Online.* 2012 Feb;24(2):134-41.

31. Papanikolaou EG, Humaidan P, Polyzos N, Kalantaridou S, Kol S, Benadiva C, et al. New algorithm for OHSS prevention. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9:147.

32. Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *Eur J Endocrinol.* 2008 Dec;159 Suppl 1:S17-25.

33. Tremellen KP, Lane M. Avoidance of weekend oocyte retrievals during GnRH antagonist treatment by simple advancement or delay of hCG administration does not adversely affect IVF live birth outcomes. *Hum Reprod.* 2010 May;25(5):1219-24.

34. Lainas TG, Sfontouris IA, Zorzovilis IZ, Petsas GK, Lainas GT, Alexopoulou E, et al. 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 Mar;25(3):683-9.

35. Depalo R, Jayakrishnan K, Garruti G, Totaro I, Panzarino M, Giorgino F, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Reprod Biol Endocrinol.* 2012 Apr 13;10(1):26.

36. Luna M, Vela G, McDonald CA, Copperman AB. Results with GnRH antagonist protocols are equivalent to GnRH agonist protocols in comparable patient populations. *J Reprod Med.* 2012 Mar-Apr;57(3-4):123-8.

37. Zorn JR, Boyer P, Guichard A. Never on a Sunday: programming for IVF-ET and GIFT. *Lancet.* 1987 Feb 14;1(8529):385-6.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora sem diferença nos resultados, o uso do protocolo flexível com antagonista para indução ovariana nos parece ter algumas vantagens sobre o protocolo longo com agonistas.

Sabemos que este protocolo com antagonista é de fácil manuseio pela usuária, trazendo benefícios e maior entendimento no momento da prescrição, e a dose total de hormônios (gonadotrofinas) para aplicação é menor, fazendo com que o custo do tratamento seja diminuído, quanto comparado com o protocolo com agonistas. Já o cuidado com relação à prevenção do SHEO é evidente e o fato de podermos evitar tal intercorrência no curso de uma IOC nos traz a segurança de um tratamento com risco diminuído para complicações.

Nesse sentido, passamos a utilizar o protocolo com antagonista em nosso serviço, e reservamos o protocolo com agonista para casos especiais de má resposta ovariana e para treinamento de equipe e de residentes.