

MARCO ANTÔNIO BARRETO MELO

**UTILIZAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA PROGESTERONA NO DIA DA
ADMINISTRAÇÃO DO hCG NA PREDIÇÃO DA QUALIDADE OOCITÁRIA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

BELO HORIZONTE

2006

MARCO ANTÔNIO BARRETO MELO

**UTILIZAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA PROGESTERONA NO DIA DA
ADMINISTRAÇÃO DO hCG NA PREDIÇÃO DA QUALIDADE OOCITÁRIA**

**Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação do Departamento
de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito
à obtenção do título de Doutor em Medicina na
Área de Concentração em Reprodução Humana.**

**Orientadores: Prof. Dr. João Lúcio dos Santos Júnior (Brasil)
Prof. Dr. José Remohí (Espanha)**

**BELO HORIZONTE
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia
Faculdade de Medicina da Universidade
Federal de Minas Gerais
2006**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR: Ronaldo Tadeu Pena

VICE-REITORA: Heloísa Maria Murgel Starling

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

PRÓ-REITOR: Mauro Mendes Braga

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR: Prof. Francisco José Penna

VICE-DIRETOR: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

CORDENADOR: Prof. João Lúcio dos Santos Júnior

DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

CHEFE: Prof. João Gilberto de Castro e Silva

SUMÁRIO

LISTAS

RESUMO

1. INTRODUÇÃO E LITERATURA	10
2. OBJETIVO	14
2. PACIENTES E MÉTODOS	16
- APROVAÇÃO INSTITUCIONAL	17
- DESENHO E DEFINIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO	17
- DOADORAS VOLUNTÁRIAS DE OÓCITOS	20
- RECEPTORAS	21
- ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
3. RESULTADOS	25
4. DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
7. APÊNDICE- DOCUMENTAÇÃO	48
8. TABELAS E FIGURAS	
- Tabela 1: Parâmetros observados nos ciclos de estimulação ovariana das doadoras de oócitos pertencentes ao estudo, de acordo com os níveis de P ₄ no dia da administração do hCG; Grupo 1 (< 1,2 ng/ mL) e 2 (≥ 1,2 ng/ mL).	26
- Tabela 2: Parâmetros estudados nos ciclos de doação de oócitos de acordo com os níveis da P ₄ no dia da administração do hCG; Grupo 1 (< 1,2 ng/ mL) e 2 (≥ 1,2 ng/ mL). * Significa significância estatística (p<0.05).	28
- Figura 1: Desenho do estudo.	19
- Figura 2: Área abaixo da curva- curva ROC para taxa de gestação e níveis séricos de P ₄ entre as doadoras no dia da administração do hCG. A área abaixo da curva ROC foi de 0,530 (95% I.C., 0,471 a 0,703), sem significado estatístico.	30

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPc	Adenosina-monofosfato cíclico
β -HCG	Fração beta da gonadotrofina coriônica humana
E ₂	Estradiol
FIV	Fertilização in vitro
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio regulador das gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
hMG	Gonadotrofina menopausal humana
HOC	Hiperestimulação ovariana controlada
IMC	Índice de massa corporal
IVI	Instituto Valenciano de Infertilidade
LH	Hormônio luteinizante
LP	Luteinização precoce
P ₄	Progesterona
ROC	Receiver Operating Characteristic
TRA	Técnicas de Reprodução Assistida
TRH	Terapia de Reposição Hormonal

LISTA DE UNIDADES DE MEDIDA

kg **Quilograma**

m² **Metro quadrado**

mg **Miligrama**

mL **Mililitro**

mm **Milímetro**

ng **Nanograma**

pg **Picograma**

RESUMO

Várias evidências indicam que altos níveis séricos da progesterona (P_4) no dia da administração do hCG possam afetar os resultados de ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). O objetivo do presente estudo foi verificar o possível papel da concentração final da P_4 na predição da qualidade oocitária de mulheres submetidas à hiperestimulação ovariana controlada (HOC), após bloqueio hipofisário (protocolo longo), em ciclos de FIV. Analisamos retrospectivamente 240 ciclos de doação oocitária nos quais 120 mulheres realizaram dois ciclos consecutivos, com intervalo de três meses, de forma que em seu primeiro ciclo foi constatada a presença de $P_4 < 1,2$ ng/ mL e no outro de $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL. Desta forma, a doadora funcionou como seu próprio controle. Baseados neste valor, dois grupos foram criados: Grupo 1 (n= 120)- ciclos em que se utilizaram oócitos de doadoras que apresentaram $P_4 < 1,2$ ng/ mL, ao dia da administração do hCG; Grupo 2 (n= 120)- ciclos em que os óvulos eram provenientes de doadoras com $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL. Ambos os grupos foram comparados de acordo com os parâmetros clínicos e laboratoriais dos ciclos de HOC das doadoras e dos resultados dos ciclos de FIV de suas respectivas receptoras. Não encontramos diferenças na taxa de gravidez entre os grupos (54,4% vs. 55,7%, respectivamente). O número de oócitos aspirados ($18,2 \pm 0,6$ vs. $20,8 \pm 0,6$; $p = 0,003$) e de oócitos maduros ($16,9 \pm 0,6$ vs. $19,4 \pm 0,6$; $p = 0,005$) foram superiores quando a $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL no dia da administração do hCG. Não houve diferenças entre os grupos segundo as taxas de fertilização, de clivagem, de número de blastômeros no dia 3 de evolução embrionária, de formação de blastocisto e de fragmentação. Também não encontramos diferenças no número de embriões transferidos ou criopreservados, nem na taxa de implantação e de abortamento entre os

grupos. Diante disto, nossos resultados demonstram que os níveis séricos da P₄ não apresentam correlação e não podem ser utilizados na predição da qualidade oocitária, em mulheres submetidas ao protocolo longo de estimulação ovariana.

PALAVRAS-CHAVES: doação de oócitos, fertilização in vitro, indução da ovulação, luteinização, progesterona, taxa de gravidez.

INTRODUÇÃO

Vários estudos relacionam os níveis séricos finais da progesterona (P₄) aos resultados obtidos em ciclos de Fertilização *in vitro* (FIV) (Edelstein *et al.*, 1990; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Fanchin *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1994; Ubaldi *et al.*, 1995). Considera-se como luteinização precoce (LP) a presença de concentração plasmática de P₄ ≥ 0,9 ng/ mL, no dia da administração do hCG. É uma alteração hormonal específica de ciclos de estimulação ovariana para técnicas de reprodução assistida (TRA), uma vez que não acontece em ciclos ovarianos naturais. Relaciona-se com o surgimento precoce da P₄ provocado pelo processo prematuro de luteinização folicular, antes da administração do hCG (Schoolcraft *et al.*, 1991).

Apesar da supressão das gonadotrofinas endógenas pelos agonistas do hormônio regulador das gonadotrofinas (GnRHa), até 30% dos ciclos de hiperestimulação ovariana controlada (HOC) apresentam níveis de P₄ compatíveis com a LP (Edelstein *et al.*, 1990; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Fanchin *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1994; Ubaldi *et al.*, 1995). Várias hipóteses têm sido propostas para explicar este fenômeno: (1) níveis séricos crescentes de E₂ podem induzir à secreção do LH suficiente para estimular as células da granulosa a produzir a P₄, mas insuficiente para desencadear a ovulação (Peluso, 1990; Ubaldi *et al.*, 1995); (2) o aumento da sensibilidade das células da granulosa ao LH devido à elevação do E₂, assim como o número de folículos com diâmetro médio maior ou igual a 17mm (Peluso, 1990; Filicori *et al.*, 2002; Bosch *et al.*, 2003; Glamoclija *et al.*, 2005); além de (3) um possível efeito do LH exógeno proveniente das medicações empregadas para a HOC (Peluso, 1990).

Os resultados obtidos em ciclos de FIV têm sido relatados como sendo inversamente relacionados aos níveis séricos da P₄ no dia da administração do hCG (Hamori *et al.*, 1987; Edelstein *et al.*, 1990; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Kagawa *et al.*, 1992; Mio *et al.*, 1992; Fanchin *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1994; Check *et al.*, 1994; Mio & Terakawa, 1995; Bosch *et al.*, 2003; Ozcakilir *et al.*, 2004). Entretanto, as conseqüências da LP nos resultados de ciclos de FIV permanecem controversas (Fanchin *et al.*, 1995; Shulman *et al.*, 1996; Fanchin *et al.*, 1997b).

Atualmente, existem duas hipóteses que tentam explicar tal acontecimento. Alguns autores defendem a idéia de que os altos níveis séricos da P₄ possam afetar a qualidade oocitária, repercutindo negativamente sobre o processo de maturação oocitária, fertilização e clivagem embrionária precoce- **efeito ovariano** (Fanchimont *et al.*, 1989; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Fanchin *et al.*, 1993; Fanchin *et al.*, 1997a). Por outro lado, existe uma linha de estudos que aponta a um acometimento da qualidade endometrial- **efeito endometrial**. Estes autores não verificaram uma pior qualidade embrionária, mas sim piores taxas de implantação e de gravidez, que foram atribuídas a uma prematura decidualização endometrial (Garcia *et al.*, 1984; Forman *et al.*, 1989; Sharma *et al.*, 1990; Silverberg *et al.*, 1991; Mio *et al.*, 1992; Legro *et al.*, 1993; Hofmann *et al.*, 1993; Burns *et al.*, 1994; Check *et al.*, 1994; Silverberg *et al.*, 1994; Bustillo *et al.*, 1995; Yovel *et al.*, 1995; Fanchin *et al.*, 1996; Hofmann *et al.*, 1996; Borman *et al.*, 2004).

Com o objetivo de estudar um possível envolvimento da coorte oocitária, vários autores utilizaram o programa de doação de oócitos (Hofmann *et al.*, 1993; Legro *et al.*, 1993; Check *et al.*, 1994; Fanchin *et al.*, 1996) e de transferência de embriões criopreservados (Silverberg *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1994) como modelos de investigação para individualizar possíveis efeitos negativos provocados pela P₄. O presente trabalho apresenta como inovação e vantagem sobre os demais estudos realizados até o momento, a utilização de uma mesma doadora de oócitos em dois ciclos consecutivos, onde se verificou, em um primeiro ciclo de HOC, níveis considerados como normais de P₄ e em outro, elevados. Desta forma, a doadora atuou como seu próprio controle.

OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi verificar a possível correlação da P₄ no dia da administração do hCG e a qualidade oocitária de mulheres submetidas a HOC, após bloqueio hipofisário (protocolo longo), em ciclos de FIV.

PACIENTES E MÉTODOS

APROVAÇÃO INSTITUCIONAL

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto Valenciano de Infertilidade (IVI) e está de acordo com as Leis Espanholas de Técnicas de Reprodução Assistida (35/ 1988).

DESENHO E DEFINIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

Diferentes valores da P_4 têm sido utilizados na literatura para a definição de LP e, conseqüentemente, como ponto de corte para realização de estudos que visam relacioná-los à qualidade oocitária/ embrionária e resultados de ciclos de FIV (Fanchimont *et al.*, 1989; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Fanchin *et al.*, 1993; Fanchin *et al.*, 1997a). No presente estudo, consideramos como valor de referência $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL, baseando-nos em um estudo prévio desenvolvido no IVI- Valência, quando, através da realização de análise de regressão, foi constatada a correlação entre níveis séricos da P_4 , no dia da administração do hCG, e resultados obtidos em ciclos de FIV (Bosch *et al.*, 2003).

O presente estudo consiste em uma análise retrospectiva de 2384 ciclos de doação de oócitos realizados entre Janeiro de 2003 e Dezembro de 2004. Destes ciclos, encontramos $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL em 525 (22%); entretanto, somente 240 (45,7%) preencheram nosso critério de inclusão, que consistiu em ciclos de doação de oócitos provenientes de doadoras (n= 120) em que em uma primeira HOC apresentaram $P_4 < 1,2$ ng/ mL, no dia da administração do hCG, e, em

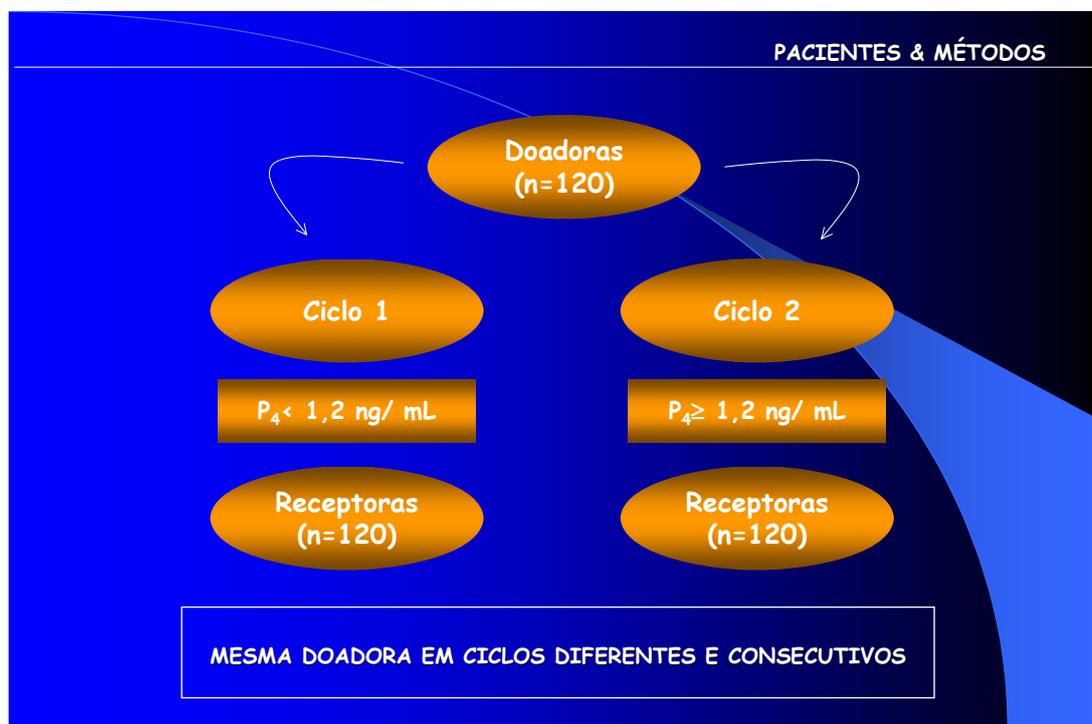
uma nova estimulação, realizada após um intervalo de três meses, $P_4 \geq 1,2$ ng/mL. Desta forma, a mesma doadora funcionou como seu próprio controle para a avaliação da qualidade da coorte oocitária, evitando uma possível variabilidade inter-paciente (Figura 1). Baseados nisto, esses ciclos foram divididos da seguinte forma:

GRUPO 1 (n= 120)- ciclos de doação de oócitos provenientes de doadoras que apresentaram $P_4 < 1,2$ ng/ mL, no dia da administração do hCG.

GRUPO 2 (n= 120)- ciclos de doação de oócitos provenientes de doadoras que apresentaram $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL, no dia da administração do hCG.

Ambos os grupos foram comparados com respeito aos parâmetros verificados no ciclo de HOC (dose de gonadotrofina, dias de estimulação, E_2 sérico no dia do hCG, número de oócitos aspirados e número de oócitos maduros) e aos resultados obtidos após FIV (taxa de fertilização, clivagem, divisão embrionária, taxa de formação de blastocisto, grau de fragmentação, número de embriões transferidos e número de embriões criopreservados, além das taxas de implantação, de gravidez e de abortamento).

Figura 1- Desenho do Estudo. Foram estudados 240 ciclos de doação de oócitos os quais selecionamos 120 doadoras que apresentaram em seu primeiro ciclo $P_4 < 1,2 \text{ ng/ mL}$ e em um ciclo seguinte $P_4 \geq 1,2 \text{ ng/ mL}$.



DOADORAS VOLUNTARIAS DE OÓCITOS

Todas as doadoras de oócitos incluídas no presente estudo assinaram termo de consentimento pós-informado, tendo cumprido todos os critérios de inclusão (Soares *et al.*, 2005). Resumidamente, as voluntárias tinham entre 18 e 34 anos de idade e foram submetidas a exame médico seletivo, que incluía anamnese completa (história reprodutiva, história familiar, história de patologias prévias, exposição a substâncias tóxicas ou radioativas) e exame clínico-ginecológico. Todas as candidatas à doação de oócitos apresentaram exame físico e ginecológico normais, ausência de história familiar de doenças hereditárias e cromossômicas, cariótipo normal e *screening* negativo para doença sexualmente transmissível (Garrido *et al.*, 2002).

Para a HOC, somente ciclos de protocolo longo (com GnRHa) foram selecionados para o presente estudo. Resumidamente, foram administrados 0,5 mg/ dia, via sub-cutânea, de acetato de leuprolide (Procrin ®; Abbott: Madri, Espanha) na fase lútea média do ciclo anterior (dias 21 a 23 do ciclo), até o dia em que houvesse o sangramento de deprivação, fosse constatado o bloqueio hipofisário ($E_2 < 50$ pg/ mL) e a ausência de cistos ovarianos, à ecografia endovaginal. A partir deste dia, a dose do GnRHa foi reduzida à metade (0,25 mg/ dia) e mantida até o dia da administração do hCG. A dose inicial das gonadotrofinas variou entre 150 e 300 UI/ dia, via sub-cutânea, de FSH recombinante (Gonal-F ®; Serono: Madri, Espanha; ou Puregon; Organon: Barcelona, Espanha) e gonadotrofina menopausal humana- hMG (Menopur ®; Ferring: Madri, Espanha) durante os primeiros 2 a 5 dias de HOC, de acordo

com a idade, índice de massa corporal (IMC) e resposta em ciclos anteriores. As doses das gonadotrofinas foram ajustadas baseando-se nos achados ecográficos e níveis séricos de E₂ (Garrido *et al.*, 2004).

Quando três ou mais folículos alcançaram 18mm de diâmetro médio, o hCG (Ovitrelle ®, 250 µg; Serono: Madri, Espanha) foi administrado, por via sub-cutânea, e a punção ovariana foi realizada 36 horas mais tarde. Os níveis séricos de E₂ e P₄ foram medidos na manhã do dia da administração do hCG. As amostras de sangue foram analisadas por meio de imunoensaio de micropartículas enzimáticas AxSYM System (Abbott Científico S.A.: Madri, Espanha). O kit para quantificação enzimática do E₂ sérico apresentava uma sensibilidade de 28 pg/ mL e um coeficiente de variação intra e interobservador de 6,6% e 7,7%, respectivamente. O kit para a quantificação da P₄ sérica tinha uma sensibilidade de 0,2 ng/ mL, com um coeficiente de variação intra e interobservador de 9,6% e 3,9%, respectivamente.

RECEPTORAS

As receptoras (n= 240) foram incluídas no programa de doação de oócitos por causa de baixa resposta, 80 (33,3%); menopausa prematura, 72 (30%); menopausa fisiológica, 36 (15%); idade avançada feminina (≥ 42 anos), 34 (14,2%); e desordens genéticas ou cromossômicas, 18 (7,5%). Casos com fator uterino de infertilidade (mioma submucoso ou intramural com diâmetro superior a 2,0cm, pólipos endometriais, sinéquias endometriais, adenomiose ou

defeitos müllerianos), abortamento habitual e fator masculino grave (< 5 milhões de espermatozoides/ mm³, < 5% de formas normais e/ ou azoospermia não-obstrutiva) não foram incluídos no presente estudo.

O protocolo de preparo endometrial utilizado foi previamente descrito (Remohí *et al.*, 1995). Resumidamente, uma ecografia endovaginal foi realizada para estudo da anatomia uterina e ovariana. Para todas as pacientes com ciclo menstrual, a supressão hipofisária foi realizada por meio da injeção intramuscular de 3,75 mg de triptorelina (Decapeptyl®; Ipsen Pharma: Barcelona, Espanha), administrados na fase lútea média (entre os dias 21 e 23 do ciclo). Para aquelas já sem função ovariana, não se procedeu ao bloqueio hipofisário, restringindo à ecografia endovaginal a função de excluir a presença de afecções uterinas e/ ou ovarianas. A terapia de reposição hormonal (TRH), visando ao preparo endometrial, foi iniciada entre os dias 1 e 3 do ciclo seguinte por meio de valerato de estradiol (Progynova ®; Schering: Madri, Espanha) de acordo com o esquema: 2 mg/ dia, via oral, até o oitavo dia de preparo, seguidos por 4 mg/ dia por três dias e, por fim, 6 mg/ dia até o dia do teste de gravidez. No décimo - quinto dia de TRH, uma ecografia endovaginal foi realizada para avaliar a espessura endometrial. No dia seguinte à doação oocitária, 800 mg/ dia de P₄ micronizada intravaginal (Progeffik ®; Effik: Madri, Espanha) foram acrescentados à TRH. A transferência embrionária ecoguiada foi realizada nos dias 2, 3 e 5 de desenvolvimento embrionário.

Os embriões foram classificados de acordo com o número de células, simetria e grau de fragmentação (Alikani *et al.*, 2000). A fração β da

gonadotrofina coriônica humana (β -hCG) foi medida nas receptoras dezesseis dias após a transferência embrionária. Gravidez clínica foi confirmada duas semanas após o teste sanguíneo por ecografia endovaginal, quando se visualizava a presença de embrião com frequência cardíaca positiva. A taxa de gravidez foi considerada como sendo a porcentagem de pacientes submetidas à transferência embrionária que apresentava um ou mais embriões com frequência cardíaca positiva, à ecografia de controle. A taxa de implantação foi obtida pela divisão do número de sacos gestacionais vistos à ecografia pelo número de embriões transferidos. A taxa de abortamento foi definida pela porcentagem de gestações interrompidas espontaneamente antes de se completar 20 semanas (Soares *et al.*, 2005).

Análise Estatística

Os cálculos estatísticos prévios ao estudo revelaram que 200 casos (100 ciclos/ grupo) seriam necessários para se detectar uma alteração de 15% na taxa de gravidez com 80% de poder de predição e 5% de nível de significância. A análise estatística foi realizada utilizando-se testes e métodos específicos. As diferenças das médias de todas as variáveis estudadas foram avaliadas por meio do teste t de Student. As comparações estatísticas foram realizadas pelo teste qui-quadrado ou, quando apropriado, pelo teste exato de Fischer. Além disso, foi realizada análise de regressão multivariada (ANOVA) para a avaliação de uma possível relação entre a P_4 e as diversas variáveis estudadas.

Análise da curva ROC (Receiver Operating Characteristic) entre os níveis séricos de P₄ e gravidez também foi realizada. Determinamos a área abaixo da curva, além da especificidade e sensibilidade deste valor, sua capacidade de predição de gravidez.

Adotou-se o nível de significância de 5% em todas as análises estatísticas realizadas, sendo determinados intervalos de confiança de 95%.

A análise estatística foi realizada por meio dos programas Statistical Package for the Social Sciences for Windows, versão 11.0 (SPSS: Chicago, IL) e MedCalc Software (Ghent: Mariakerke, Bélgica).

RESULTADOS

Não verificamos diferenças estatísticas com relação aos parâmetros avaliados referentes à HOC (dose de gonadotrofina, dias de estimulação e níveis de E₂ no dia da administração do hCG) entre os grupos, exceto com relação ao número total de oócitos aspirados e o de oócitos maduros, que foram maiores nos ciclos onde a P₄ encontrava-se mais alta- P₄ ≥ 1,2 ng/ mL (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros observados nos ciclos de estimulação ovariana das doadoras de oócitos pertencentes ao estudo, de acordo com os níveis de P₄ no dia da administração do hCG; Grupo 1 (< 1,2 ng/ mL) e 2 (≥ 1,2 ng/ mL).

	P ₄ <1,2 ng/ mL (n= 120)	P ₄ ≥1,2 ng/ mL (n= 120)	valor p
Idade (anos)	24,7 ± 1,0	25,3 ± 0,8	0,413
Gonadotrofinas (UI)	2250 ± 82	2356 ± 71	0,131
Dias de estimulação	10,7 ± 0,1	10,6 ± 0,1	0,393
E ₂ no dia do hCG (pg/ mL)	2630,4 ± 100,4	2869,2 ± 108,5	0,269
Nº oócitos aspirados	18,2 ± 0,6	20,8 ± 0,6*	0,003
Nº oócitos maduros	16,9 ± 0,6	19,4 ± 0,6*	0,005

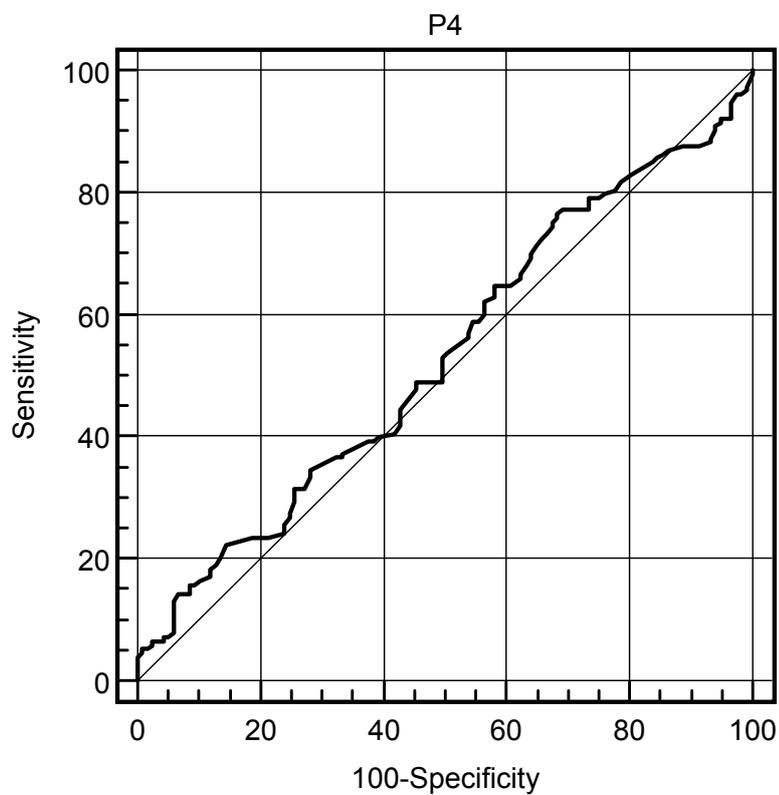
As características das receptoras e de seus ciclos de preparo endometrial não diferiram entre os grupos: idade ($39,5 \pm 5,0$ vs. $40,3 \pm 4,4$ anos, $p= 0,431$), tempo de espera ($29,3 \pm 3,1$ vs. $30,1 \pm 2,1$ dias, $p= 0,357$) e espessura endometrial ($8,7 \pm 1,5$ vs. $8,2 \pm 1,1$ mm, $p= 0,269$). Os resultados dos ciclos de FIV se encontram resumidos na Tabela 2. O número de oócitos recebidos por paciente e as características do sêmen também foram comparados e não foram encontradas diferenças entre os grupos. Além disto, não foram verificadas diferenças significativas com relação às taxas de fertilização e de clivagem, número de células no dia 3 de desenvolvimento embrionário, taxa de formação de blastocisto e grau de fragmentação embrionária. O número de embriões transferidos e criopreservados, taxas de implantação, de gravidez e de abortamento foram semelhantes entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros estudados nos ciclos de doação de oócitos de acordo com os níveis de P₄ no dia da administração do hCG; Grupo 1 (< 1,2 ng/ mL) e 2 (≥ 1,2 ng/ mL).

	P ₄ <1,2 ng/ mL (n= 120)	P ₄ ≥1,2 ng/ mL (n= 120)	valor p	r
Óvulos recebidos	11,4 ± 0,3	11,7 ± 0,3	0,421	-0,082
Fertilização (%)	69,2 ± 2,1	68,2 ± 1,9	0,275	-0,071
Clivagem (%)	90,6 ± 2,4	89,7 ± 2,3	0,789	-0,086
Fragmentação embrionária (%)	7,9 ± 0,6	8,1 ± 0,6	0,337	0,045
Formação de blastocisto (%)	65,9 ± 13,3	65,7 ± 10,3	0,0,979	-0,180
Embriões transferidos	1,9 ± 0,02	2,0 ± 0,03	0,175	-0,045
Embriões criopreservados	1,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,293	0,024
Implantação (%)	26,6	24,0	0,118	-0,229
Gestação (%)	65/120 (54,4)	67/120 (55,7)	0,861	-0,122
Abortamento (%)	5/65 (7,5)	8/67 (12,1)	0,123	-0,237

A análise de regressão não evidenciou a presença de correlação entre níveis de P₄ e os diversos parâmetros estudados (Tabela 2). A realização da área abaixo da curva (curva ROC) também verificou que os níveis séricos finais de P₄ não apresentam adequado poder de predição de gravidez em ciclos de FIV de mulheres submetidas a HOC em protocolos longos. O valor ROC foi de 0,530 (I.C.: 95%, 0,425 a 0,789), com o ponto de corte de 0,68 ng/ mL mostrando uma sensibilidade de 76,5% e uma especificidade de 31,6% (Figura 2).

Figura 2. Área abaixo da curva- curva ROC para taxa de gestação e níveis séricos de P₄ entre as doadoras no dia da admistração do hCG. A área abaixo da curva ROC foi de 0,530 (95% I.C., 0,471 a 0,703), sem significado estatístico.



DISCUSSÃO

Os agonistas do GnRH vêm sendo utilizados com sucesso, há muitos anos, em ciclos de HOC para FIV, com o objetivo de promover a supressão hipofisária, obtendo um crescimento folicular regular e com baixas possibilidades de que surja um pico do LH na fase folicular média, capaz de desencadear a ovulação e a luteinização folicular. Entretanto, vários autores verificaram a presença de níveis séricos da P₄ elevados no dia da administração do hCG em até 30% dos ciclos com a utilização dos agonistas (Edelstein *et al.*, 1990; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Fanchin *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1994). No presente estudo, verificamos uma incidência desta anormalidade em 22% dos ciclos. Acreditamos que este fato se deva não somente às concentrações séricas supra-fisiológicas de E₂ observadas em ciclos de HOC, como também ao maior número de folículos maduros, com diâmetro médio maior ou igual a 17mm (Peluso, 1990; Filicori *et al.*, 2002; Bosch *et al.*, 2003; Glamoclija *et al.*, 2005), teoria válida também para explicar o maior número de oócitos obtidos em mulheres onde a P₄ foi superior a 1,2 ng/ mL.

Com relação às gonadotrofinas, não verificamos relação entre a dose total administrada e os níveis da P₄ ao final da estimulação, fato também observado por outros autores (Mio *et al.*, 1992; Burns *et al.*, 1995). Independentemente da gonadotrofina exógena utilizada durante a fase de HOC, o surgimento individual de uma maior sensibilidade e de um maior número de receptores para o LH nas células da granulosa de algumas pacientes seriam suficientes para desencadear a produção prematura da P₄ (Peluso, 1990). Curiosamente, apesar de encontrar um maior número de

folículos e de oócitos maduros aspirados nestas mulheres, não houve diferença significativa entre os grupos com respeito aos níveis séricos do E₂, fato também verificado em um estudo recentemente publicado (Bosch *et al.*, 2003). Pensamos que este efeito seja decorrido da luteinização precoce das células da granulosa, responsáveis pela produção de tal hormônio. Desta forma, a produção individual folicular de E₂ estaria reduzida em comparação aos folículos não luteinizados, que explicaria níveis séricos mais altos, porém não significativamente diferentes. Esta hipótese encontra respaldo no estudo desenvolvido por Glamoclija *et al.*, que estudaram a função das células da granulosa de folículos luteinizados, verificando que, uma vez luteinizadas, estas células apresentam um desvio do seu metabolismo, diminuindo a produção do E₂ e incrementando a da P₄ (Glamoclija *et al.*, 2005).

Muitos grupos têm relatado um declínio nas taxas de gravidez associado a uma elevação súbita dos níveis séricos da P₄ no dia da administração do hCG (Hamori *et al.*, 1987; Edelstein *et al.*, 1990; Schoolcraft *et al.*, 1991; Silverberg *et al.*, 1991; Kagawa *et al.*, 1992; Mio *et al.*, 1992; Check *et al.*, 1992; Fanchin *et al.*, 1993; Givens *et al.*, 1994; Mio & Terekawa, 1995; Bosch *et al.*, 2003, Ozcakir *et al.*, 2004). Apesar desta relação negativa, o mecanismo fisiopatológico permanece incerto. Forman *et al.* (1989), Sharma *et al.* (1990) e Silverberg *et al.* (1991) sugeriram que a P₄ poderia provocar uma maturação endometrial acelerada, que prejudicaria o processo de implantação embrionária.

Existe uma série de evidências clínica e experimental que demonstra o papel crucial da P₄ na promoção e manutenção da decidualização endometrial. Entretanto, a transformação decidual é primeiramente observada cerca de dez dias após a ovulação e do surgimento deste hormônio (Brar *et al.*, 2001), indicando que a expressão gênica decídua-específica não esteja sob o estímulo do receptor progestágeno ativado. Além do mais, sabe-se hoje que a P₄ isolada é um fraco indutor da decidualização, necessitando da presença de uma via regulada pela adenosina-monofosfato cíclico (AMPC), que potencializa seus estímulos sobre o genoma das células endometriais necessários para que se desencadeie alterações celulares presentes no endométrio decidualizado (Gellersen & Brosens, 2003).

Baseados neste raciocínio e acreditando que os níveis de P₄ encontrados em pacientes portadoras do quadro de “luteinização precoce” seriam insuficientes para desencadear o processo de decidualização, vários estudos foram realizados nos quais a terapia de suporte da fase lútea (100 mg de progesterona administrada por via intra-muscular) foi iniciada no dia da administração do hCG. Estes autores não verificaram qualquer efeito negativo sobre as taxas de gravidez (Howles *et al.*, 1988; Mahadevan *et al.*, 1988; Ben-Nun *et al.*, 1990; Hassiakos *et al.*, 1990), fato que nos leva a crer que seria muito difícil uma influencia negativa de tão baixas concentrações séricas de P₄, como os que descritos até então na literatura médica, sobre o processo de implantação embrionária.

Além do mais, em um ciclo padrão de FIV, torna-se muito difícil separar os possíveis efeitos deletérios da P₄ sobre a qualidade oocitária e endometrial, uma vez que ambas variáveis estão expostas a ela (Tang & Gurpide, 1993). O modelo de doação de oócitos oferece uma ferramenta poderosa para o discernimento entre ambos fatores. Escolhendo este modelo de estudo, afastamos um possível acometimento da qualidade ovocitária envolvida com a infertilidade. As doadoras de oócitos são jovens e férteis, tendendo a apresentar uma resposta ovariana com grande número de folículos e de oócitos de boa qualidade. Além do mais, com este modelo, o endométrio da receptora, onde ocorrerá a implantação, está isolado de qualquer potencial efeito da P₄ ou da medicação utilizada para a estimulação ovariana.

Hofmann *et al.* (1993) estudaram 68 ciclos de doação de oócitos de doadoras com e sem altos níveis séricos de P₄. Concluíram que o impacto negativo da P₄ sobre os resultados de ciclos de FIV não seria devido a um acometimento da qualidade oocitária e embrionária. Legro *et al.* (1993) analisaram 114 ciclos consecutivos de doação de oócitos e encontraram maiores taxas de gestação entre as receptoras que receberam oócitos de mulheres com P₄ ≥ 1,2 ng/ mL. Eles sugeriram que a P₄ em ciclos de estimulação ovariana possa ser simplesmente um marcador da função ovariana. Afirmaram ainda que a LP poderia ser uma classificação errônea, onde os altos níveis de P₄ se devam à produção deste hormônio por vários folículos em pequena quantidade, de forma que não ocorreria a luteinização efetiva de nenhum folículo. Fanchin *et al.* (1996) analisaram 162 ciclos de doação de oócitos de 102 doadoras férteis e também verificaram os mesmos

resultados. Nossos resultados também não evidenciaram qualquer efeito deletério da P_4 sobre a qualidade oocitária e embrionária. Acreditamos que os maiores níveis de P_4 se deveram ao maior número de folículos maduros verificado nestas mulheres, onde a pequena e inexpressiva produção de P_4 por cada folículo não retrate uma pior qualidade metabólica folicular, não guardando correlação com a qualidade oocitária.

O presente estudo oferece uma maior casuística para tentar aclarar os resultados conflitantes existentes na literatura, uma vez que apresenta um número de casos que alcança a 80% de poder estatístico para o desenho que se baseia no estudo da taxa de gestação. Para afastar qualquer viés proveniente das receptoras, analisamos os parâmetros de caracterização destas pacientes e verificamos que não houve diferenças entre os grupos de estudo, tratando-se de uma amostra homogênea e comparável. Além do mais, analisamos os resultados obtidos com as doadoras em ciclos diferentes, afastando a variabilidade interpaciente. Cada doadora funcionou como seu próprio controle, quando comparamos seus resultados obtidos em um ciclo com $P_4 \geq 1,2$ ng/ mL e outro sem dita alteração, fato inovador, até então.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, nossos resultados demonstram que a elevação súbita da P₄ no dia da administração do hCG, durante ciclos de HOC em protocolo longo, não apresenta impacto negativo sobre a qualidade oocitária e o desenvolvimento embrionário, não devendo ser utilizado como critério de predição da qualidade oocitária e de resultados de FIV.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

1. Alikani, M; Calderón, G; Tomkin, G; Garrisi, J; Kokos, M; Cohen J (2000) Cleavage anomalies in early human embryos and survival after prolonged culture in vitro. **Hum Reprod** 15, 2634- 2643.
2. Ben-Nun, I; Ghetler, Y; Jaffe, R; Siegal, A; Kaneti, H; Fejgin, M (1990) The effect of preovulatory progesterone administration on the endometrial maturation and implantation rate after in vitro fertilisation and embryo transfer. **Fertil Steril** 60, 276- 281.
3. Borman, SM; Chaffin, CL; Schinof, KM; Stouffer, RL; Zelinski- Wooten, MB (2004) Progesterone promotes oocyte maturation, but not ovulation, in nonhuman primate follicles without a gonadotropin surge. **Biol Reprod** 71, 366- 373.
4. Bosch, E; Valencia, I; Escudero, E; Crespo, J; Simon, C; Remohí, J; Pellicer, A (2003) Premature luteinization during gonadotropin- releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilisation outcome. **Fertil Steril** 80, 1444- 1449.
5. Brar, RM; Handwerger, S; Kessler, CA; Aronow BJ (2001) Gene induction and categorical reprogramming during in vitro human endometrial fibroblast decidualization. **Physiological Genomics** 7, 135- 148.
6. Burns, WN; Witz, CA; Klein, NA; Silverberg, KM; Schnken, RS (1994) Serum progesterone concentrations on the day after human chorionic gonadotropin administration and progesterone/ oocyte ratios predict in vitro fertilisation/ embryo transfer outcome. **J Assist Reprod Genet** 11, 17- 23.

7. Bustillo, M; Stern, JJ; Coulam, CB (1995) Serum progesterone at the time of human chorionic gonadotrophin does not predict pregnancy in in-vitro fertilisation and embryo transfer. **Hum Reprod** 10, 2862- 2867.
8. Check, JH; Hourahi, C; Choe, JK; Callan, C; Adelson, HG (1994) Pregnancy rates in donors versus recipients according to the serum progesterone level at the time of human chorionic gonadotropin in a shared oocyte program. **Fertil Steril** 61, 262- 264.
9. Edelstein, MC; Seltman, HJ; Cox, BJ; Robinson, SM; Shaw, RA; Muasher, SJ (1990) Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in cycles with gonatropin- releasing hormone agonist suppression are not predictive of pregnancy outcome. **Fertil Steril** 54, 853- 857.
10. Fanchimont, P; Hazee-Hagelstein, MT; Hazout, A; Frydman, R; Scatz, B; Demerle, F (1989) Correlation between follicular fluid content and the results of in vitro fertilisation and embryo transfer. **Fertil Steril** 52, 1006- 1011.
11. Fanchin, R; de Ziegler, D; Taieb, J; Hazout, A; Frydman, R (1993) Premature elevation of plasma progesterone alters pregnancy rates of in vitro fertilisation and embryo transfer. **Fertil Steril** 59, 1090- 1094.
12. Fanchin, R; de Ziegler, D; Castracane, VD; Taieb, J; Frydman, R (1995) Physiopathology of premature progesterone elevation. **Fertil Steril** 64, 796- 801.
13. Fanchin, R; Righini, C; Olivennes, F; de Ziegler, D; Selva, J; Frydman, R (1996) Premature progesterone elevation does not alter oocyte quality in in vitro fertilisation. **Fertil Steril** 65, 1178- 1183.

14. Fanchin, R; Hourvitz, A; Olivennes, F; Taieb, J; Hazout, A; Frydman, R (1997a) Premature progesterone elevation spares blastulation but not pregnancy rates in in vitro fertilisation with coculture. **Fertil Steril** 68, 648- 652.
15. Fanchin, R; Righini, C; Olivennes, F; Ferreira, AL; de Ziegler, D; Frydman, R (1997b) Consequences of premature progesterone elevation on the outcome of in vitro fertilisation: insights into a controversy. **Fertil Steril** 68, 799- 805.
16. Filicori, M; Cognigni, GE; Pocognoli, P; Tabarelli, C; Spettoli, D; Taraborrelli, S; Ciampaglia, W (2002) Modulation of folliculogenesis and steroidogenesis in women by graded menotrophin administration. **Hum Reprod** 17, 2009- 2015.
17. Forman, RG; Eychenne, B; Nessmann, C; Frydman, R; Robel, P (1989) Assessing the early luteal phase in vitro fertilisation cycles: relationships between plasma steroids, endometrial receptors, and endometrial histology. **Fertil Steril** 51, 310- 316.
18. Garcia, JE; Acosta, AA; Hsiu, JG; Jones, HW (1984) Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotrophin/ human chorionic gonadotrophin for in vitro fertilisation. **Fertil Steril** 41, 31- 35.
19. Garrido, N; Zuzuarregui, JL; Meseguer, M; Simon, C; Remohi, J; Pellicer, A (2002) Sperm and oocyte selection and management: experience of a 10 year follow-up of more than 2100 candidates. **Hum Reprod** 17, 3142- 3147.

20. Garrido, N; Meseguer, M; Bellver, J; Remohi, J; Simon, C; Pellicer, A (2004) Report of the results of a 2 years programme of sperm wash and ICSI treatment for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus serodiscordant couples. **Hum Reprod** 19, 2581- 2586.
21. Gellersen, B & Brosens, J (2003) Cyclic AMP and progesterone receptor cross-talk in human endometrium: a decidualization affair. **J Endocrinol** 178, 357- 372.
22. Givens, CR; Schriock, ED; Dandekar, PV; Martin, MC (1994) Elevated serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration do not predict outcome in assisted reproduction cycles. **Fertil Steril** 62, 1011- 1017.
23. Glamoclija, V; Vilovic, K; Saraga- Babic, M; Baranovic, A; Sapunar, D (2005) Apoptosis and active caspase-3 expression in human granulosa cells. **Fertil Steril** 83, 426- 431.
24. Hamori, M; Stuckensen, JA; Rumpf, D; Kniewald, T; Kniewald, A; Kurtz, CS (1987) Premature luteinization of follicles during ovarian stimulation of in vitro fertilisation. **Hum Reprod** 2, 639- 643.
25. Hassiakos, D; Toner, JP; Muasher, SJ; Jones, HW (1990) Implantation and progesterone profiles in cycles with and without the use of gonadotropin- releasing hormone agonist suppression. **Hum Reprod** 5, 1004- 1008.
26. Hofmann, GE; Bergh, PA; Guzman, I; Masuku, S; Navot, D (1993) Premature luteinization is not eliminated by pituitary desensitization with leuprolide acetate in women undergoing gonadotropin stimulation who

- demonstrated premature luteinization in a prior gonadotropin- only cycle.
Hum Reprod 8, 695- 698.
- 27.Hofmann, GE; Khoury, J; Johnson, CA; Thie, J; Scott, RT (1996)
Premature luteinization during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilisation- embryo transfer has no impact on pregnancy outcome.
Fertil Steril 66, 980- 986.
- 28.Howles, CM; Macnamee, MC; Edwards, RG (1988) Progesterone supplementation in the late follicular phase of an in vitro fertilisation cycle: a natural way to time oocyte recovery? **Hum Reprod** 3, 409- 412.
- 29.Kagawa, T; Yamano, S; Nishida, S; Murayama, S; Aono, T (1992)
Relationship among serum levels of luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during follicle stimulation and results of in vitro fertilisation and embryo transfer (IVF- ET). **J Assist Reprod Genet** 9, 106- 112.
- 30.Legro, RS; Ary, BA; Paulson, RJ; Stanczyk, FZ; Sauer, MV (1993)
Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilisation. **Hum Reprod** 8, 1506- 1511.
- 31.Mahadevan, MM; Fleetham, J; Taylor, PJ (1988) Effects of progesterone on luteinizing hormone release and estradiol/ progesterone ratio in the luteal phase of women superovulated for in vitro fertilisation and embryo transfer. **Fertil Steril** 50, 935- 937.
- 32.Mio, Y; Sekijima, A; Iwabe, T; Onohara, Y; Harada, T; Terakawa, N (1992) Subtle rise in serum progesterone during the follicular phase as a predictor of the outcome of in vitro fertilisation. **Fertil Steril** 58, 159- 166.

33. Mio, Y & Terakawa, N (1995) Reduced implantation rate associated with a subtle rise in serum progesterone concentration during the follicular phase of cycles stimulated with a combination of gonadotrophin-releasing hormone agonist and gonadotrophin. **Hum Reprod** 10, 1060-1064.
34. Ozcakir, HT; Levi, R; Tavmergen, E; Goker, EN (2004) Premature luteinization defined as progesterone estradiol ratio > 1 on hCG administration day seems to adversely affect clinical outcome in long gonadotropin-releasing hormone agonist cycles. **J Obstet Gynaecol Res** 30, 100- 104.
35. Peluso, JJ (1990) Role of the amplitude of the gonadotropin surge in the rat. **Fertil Steril** 53, 150- 154.
36. Remohi, J; Gutiérrez, A; Cano, F; Ruiz, A; Simon, C; Pellicer, A (1995) Long estradiol replacement in an 289 oocyte donation programme. **Hum Reprod** 10, 1387- 1391.
37. Schoolcraft, W; Sinton, E; Schlenkar, T; Huynh, D; Hamilton, F; Meldrum, D (1991) Lower pregnancy rate with premature luteinization during pituitary suppression with leuprolide acetate. **Fertil Steril** 55, 563- 566.
38. Sharma, V; Whitehead, M; Mason, B; Pryse- Davies, J; Ryder, T; Dowsett, M; Campbell, S; Collins, W (1990) Influence of superovulation on endometrial and embryonic development. **Fertil Steril** 53, 822- 829.
39. Shulman, A; Ghetler, Y; Beyth, Y; Ben-Nun, I (1996) The significance of an early (premature) rise of plasma progesterone in in vitro fertilisation cycles induced by a "long protocol" of gonatropin releasing hormone

- agonist and human menopausal gonadotropins. **J Assist Reprod Genet** 13, 207- 211.
40. Silverberg, KM; Burns, WN; Olive, DL; Riehl, RM; Schenken, RS (1991) Serum progesterone levels predict success of in vitro fertilisation/ embryo transfer in patients stimulated with leuprolide acetate and human menopausal gonadotropins. **J Clin Endocrinol Metab** 73, 797- 803.
41. Silverberg, KM; Martin, M; Olive, DL; Burns, WN; Schenken, RS (1994) Elevated serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in vitro fertilisation cycles do not adversely affect embryo quality. **Fertil Steril** 61, 508- 513.
42. Soares, SR; Troncoso, C; Bosch, E; Serra, V; Simon, C; Remohi, J; Pellicer, A (2005) Age and uterine receptiveness: Predicting the outcome of oocyte donation cycles. **J Clin Endocrinol Metab** 90, 4399- 4004.
43. Tang, B & Gurrpide, E (1993) Direct effect of gonadotropins on decidualization of human endometrial stromal cells. **J Steroid Biochem Mol Biol** 47, 115- 121.
44. Ubaldi, F; Smitz, J; Wisanto, A; Joris, H; Schiettecatte, J; Derde, MP; Borkham, E; Van Steirteghem, A; Devroey, P (1995) Oocyte and embryo quality as well as pregnancy rate in intracytoplasmic sperm injection are not affected by high follicular phase serum progesterone. **Hum Reprod** 10, 3091- 3096.
45. World Health Organization (1992) Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen- Cervical Mucus Interaction. Cambridge University Press, Cambridge.

46. Yovel, I; Yaron, Y; Amit, A; Peyser, MR (1995) High progesterone levels adversely affect embryo quality and pregnancy rates in in vitro fertilisation and oocyte donation programs. **Fertil Steril** 64, 128- 131.

APÊNDICE - Documentação