

Oscar Barbosa Duarte Filho

**FOLITROPINA DELTA ASSOCIADA À MENOTROPINA NA
ESTIMULAÇÃO OVARIANA CONTROLADA EM MULHERES DE ALTO
RISCO PARA RESPOSTA OVARIANA POBRE DURANTE CICLOS DE
FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*: um estudo clínico prospectivo**

Tese a ser apresentada à Faculdade Israelita
de Ciências da Saúde Albert Einstein para
obtenção do Título de Doutor em Ciências da
Saúde.

São Paulo

2024

Oscar Barbosa Duarte Filho

**FOLITROPINA DELTA ASSOCIADA À MENOTROPINA NA
ESTIMULAÇÃO OVARIANA CONTROLADA EM MULHERES DE ALTO
RISCO PARA RESPOSTA OVARIANA POBRE DURANTE CICLOS DE
FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*: um estudo clínico prospectivo**

Tese a ser apresentada à Faculdade Israelita
de Ciências da Saúde Albert Einstein para
obtenção do Título de Doutor em Ciências da
Saúde.

Orientador: Dr. Sérgio Podgaec

São Paulo

2024

Duarte Filho, Oscar Barbosa

Folitropina delta associada à menotropina na estimulação ovariana controlada em mulheres de alto risco para resposta ovariana pobre durante ciclos de fertilização *in vitro* : um estudo clínico prospectivo / Oscar Barbosa Duarte Filho. -- São Paulo, 2024. xi, 38 f.

Tese (Doutorado) – Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein. Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Título em inglês: *Follitropin delta combined with menotropin in controlled ovarian stimulation for women at high risk of poor ovarian response during in vitro fertilization cycles: a prospective clinical study.*

1. Fertilização in vitro. 2. Indução da ovulação. 3. Hormônio foliculoestimulante. 4. Menotropinas. 5. Reserva ovariana.

Elaborada pelo Sistema Einstein Integrado de Bibliotecas

FACULDADE ISRAELITA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE ALBERT EINSTEIN

Coordenador do curso de pós-graduação: Prof. Dr. Luciano Cesar Pontes de Azevedo

Oscar Barbosa Duarte Filho

**FOLITROPINA DELTA ASSOCIADA À MENOTROPINA NA
ESTIMULAÇÃO OVARIANA CONTROLADA EM MULHERES DE ALTO
RISCO PARA RESPOSTA OVARIANA POBRE DURANTE CICLOS DE
FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*: um estudo clínico prospectivo**

Presidente da banca: Dr. Sérgio Podgaec

BANCA EXAMINADORA

Membros titulares:

Prof. Dr. José Maria Soares Júnior

Prof. Dr. Pedro Augusto Araújo Monteleone

Prof. Dr. Gustavo Schvartsman

Membros suplentes:

Dr. Eduardo Zlotnik

Prof. Dr. Émerson Barchi Cordts

Aprovada em: 19/08/2024.

Dedicatória

Dedico esta Tese às todas as pessoas que sofrem com a dificuldade de engravidar e que enfrentam caminhos, por vezes longos e árduos, para formarem suas famílias. Saber que uma parte delas conseguiu dar vida aos seus sonhos através desta pesquisa faz tudo fazer muito mais sentido.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus.

À minha família de origem, que me criou e me formou como pessoa: meu pai Oscar, minha mãe Nely e os irmãos com quem convivi em minha feliz infância e juventude no interior de Minas Gerais, José Reinaldo e Andréa.

À família que construí, e que é o motivo de tudo que faço: minha esposa Cynthia e meus amados filhos Arthur, Alice e Nicholas. Perdão por cada segundo que me ausentei em função deste projeto acadêmico.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Podgaec, fonte inesgotável de inspiração e conhecimento. Impossível ser mais acessível e generoso.

À toda equipe das Clínicas VidaBemVinda e do LabForLife, onde este estudo foi realizado. Menção especial aos amigos e colegas, Dr. Eduardo Miyadahira, Dra. Larissa Matsumoto, Dr. Lucas Yamakami e Dr. Renato Tomioka, coautores da primeira publicação oriunda desta Tese. Não posso deixar de agradecer nominalmente aos profissionais diretamente envolvidos na execução do estudo, como a enfermeira Syllene Américo e as biomédicas Beatriz Coelho, Fabiane Lima, Gabriela Rondinelli e Larissa Almeida.

À equipe do Núcleo de Apoio ao Pesquisador do Hospital Israelita Albert Einstein, em especial às estatísticas Isabella Castro e Elivane Victor por toda ajuda.

À companhia farmacêutica Ferring Pharmaceuticals, que viabilizou financeira e tecnicamente a realização deste estudo, nominalmente aos gerentes médicos da equipe do Brasil: Dr. Rodrigo Rodrigues e Dr. Rogério Sayão e à gerente médica científica Grazielle Arronqui.

"Somos feitos da matéria de que são feitos os sonhos, e nossa
pequena vida é cercada pelo sono."
(Próspero, em "A Tempestade", Ato 4, Cena 1. William Shakespeare. 1623)

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos.....	vi
Lista de tabelas	ix
Lista de abreviaturas	x
Resumo	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos.....	5
2 MÉTODOS	6
2.1 Desenho, local de realização e desfechos do estudo.....	6
2.2 Critérios de inclusão e exclusão	7
2.3 Dinâmica do estudo	10
2.4 Aspectos e procedimentos éticos envolvidos	11
2.5 Análises estatísticas	12
2.6 Cálculo amostral	12
3 RESULTADOS	13
3.1 Características do grupo prospectivo incluído no estudo	13
3.2 Comparação entre os grupos: características demográficas e clínicas	13
3.3 Comparação entre os grupos: desfechos de eficácia e segurança	15
4 DISCUSSÃO	20
5 CONCLUSÕES	26
6 APRESENTAÇÃO DO ARTIGO	27
7 MÉTRICAS	28
8 ANEXO	33
9 REFERÊNCIAS	34
Abstract	
Apêndice	

Lista de tabelas

Tabela 1. Comparação dos grupos quanto às características da amostra	14
Tabela 2. Comparação entre os grupos para os desfechos de estimulação ovariana ..	16
Tabela 3. Comparação entre os grupos para os desfechos de embriologia	17
Tabela 4. Comparação entre os grupos para os desfechos clínicos de segurança	18
Tabela 5. Comparação entre os grupos para os desfechos gestacionais	18

Lista de abreviaturas

AFC	Contagem de folículos antrais
AMH	Hormônio antimulleriano
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
FOI	Índice folículo-oócito
FSH	Hormônio foliculoestimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
ICSI	Injeção intracitoplasmática de espermatozoides
LH	Hormônio luteinizante
mcg	Microgramas
PGT	Teste genético pré-implantacional
SHO	Síndrome de hiperestimulação ovariana
TRA	Técnicas de reprodução assistida
UI	Unidades internacionais

Resumo

Introdução: O uso do algoritmo definidor de dose proposto pelo fabricante da folitropina delta limita a dose máxima diária da droga a 12mcg para o primeiro ciclo de estimulação ovariana para fertilização *in vitro*. Essa dose pode ser insuficiente para pacientes com níveis séricos de hormônio antimulleriano inferiores a 2,1ng/mL. **Objetivo:** Avaliar se 150UI de menopina combinada com folitropina delta melhoram a resposta à estimulação ovariana em ciclos de fertilização *in vitro* em mulheres com níveis séricos de hormônio antimulleriano inferiores a 2,1ng/mL. **Métodos:** Este estudo envolveu um grupo intervenção prospectivo de 44 mulheres que receberam 12mcg de folitropina delta combinada com 150UI de menopina desde o início da estimulação e um grupo controle retrospectivo de 297 mulheres que receberam 12mcg de folitropina delta isoladamente durante o estudo de fase 3 desta droga. Os critérios de inclusão e exclusão e demais protocolos de tratamento e acompanhamento nos dois grupos foram semelhantes. A supressão hipofisária foi conseguida por meio da administração de um análogo antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). O desencadeamento da ovulação foi feito com gonadotrofina coriônica humana ou agonista de GnRH e a opção pela transferência a fresco de embriões ou utilização da estratégia de congelamento de todos os embriões foram feitas de acordo com o risco de desenvolver síndrome de hiperestimulação ovariana. **Resultados:** Mulheres que receberam folitropina delta combinada com menopina apresentaram níveis mais elevados de estradiol no dia da deflagração da ovulação (2150 *versus* 1373pg/mL, $p<0,001$), mais blastocistos (3,1 *versus* 2,4, $p=0,003$) e mais blastocistos de alta qualidade (1,8 *versus* 1,3, $p=0,017$). Não houve diferença nas taxas de gravidez, implantação, aborto espontâneo e nascidos-vivos após a primeira transferência de embriões. Embora a incidência da síndrome de hiperestimulação ovariana não tenha diferido entre os grupos, as medidas para sua prevenção foram mais frequentes no grupo intervenção (13,6 *versus* 0,6%, $p<0,001$). **Conclusões:** Em mulheres com níveis séricos de hormônio antimulleriano inferiores a 2,1ng/mL, a administração de 150UI de menopina combinada com 12mcg de folitropina delta melhorou a resposta ovariana. Isso a torna uma opção terapêutica válida em situações em que o uso de análogos agonistas do GnRH para deflagrar a ovulação e o congelamento de todos os embriões possam ser usados rotineiramente.

Identificador ReBEC: U1111-1247-3260

Descritores: Fertilização *in vitro*; Indução da ovulação; Hormônio foliculoestimulante; Menopinas; Reserva ovariana

1 INTRODUÇÃO

A infertilidade é uma doença que se caracteriza pela falha em conseguir gravidez após 12 meses de relações sexuais frequentes e desprotegidas ou pela incapacidade da pessoa em se reproduzir como indivíduo ou com seu parceiro.⁽¹⁾

Dados do Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC), para o ano de 2020, apontam que 19% dos casais cujas mulheres têm entre 15 e 49 anos têm infertilidade. Entre as causas que os levam à infertilidade, citam-se as masculinas como a varicocele, os distúrbios hormonais e as alterações genéticas e, entre as femininas, as disfunções ovarianas, tubárias, a endometriose e as anormalidades uterinas.⁽²⁾ Até 30% dos casais após a investigação da infertilidade podem não encontrar a causa que os leva à infertilidade, sendo classificados como portadores de infertilidade inexplicada.⁽³⁾ É importante ressaltar que a prevalência e as causas da infertilidade podem variar entre as populações em função de fatores ambientais, culturais e de acesso à saúde.⁽⁴⁾

O tratamento da infertilidade depende de diversos fatores, como a causa da infertilidade, a idade da mulher, a disponibilidade de recursos terapêuticos e questões regulatórias locais.^(5,6) As técnicas de reprodução assistida (TRA) envolvem a manipulação de óvulos e espermatozoides ou embriões, em laboratório, com o objetivo de obter gestação. A fertilização *in vitro* (FIV) é um tipo de TRA que consiste numa sequência de procedimentos que envolve a fertilização extracorpórea de gametas por inseminação *in vitro* convencional (exposição do ovócito à múltiplos espermatozoides) ou por injeção de um espermatozoide no citoplasma do ovócito (ICSI).⁽⁷⁾

Dentre as TRA, a FIV é a mais utilizada atualmente. Uma vez que os casais estejam preparados para o início do tratamento, ele engloba habitualmente os seguintes passos e aspectos:

- Estimulação ovariana: medicamentos (antiestrogênicos por via oral e/ou gonadotrofinas injetáveis) são iniciados para estimular o crescimento de múltiplos folículos ovarianos;⁽⁸⁾
- Bloqueio hipofisário: medicamentos (análogos agonistas ou antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofinas [GnRH] ou progestagênicos) são administrados para suprimir o ciclo menstrual natural e regular negativamente a hipófise;^(9,10)

- Controle: após os medicamentos estimuladores ovarianos serem iniciados, o monitoramento (ultrassonográfico e/ou hormonal) é realizado em intervalos para avaliar o crescimento dos folículos;⁽⁷⁾

- Gatilho da ovulação: quando os folículos atingem um tamanho apropriado, o próximo passo envolve a administração de medicamentos como a gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou análogos agonistas do GnRH para provocar deflagração e maturação final dos óvulos;⁽⁷⁾

- Aspiração folicular de óvulos: realizada com uma sonda de ultrassom transvaginal para guiar a coleta;⁽⁷⁾

- Obtenção do sêmen: por ejaculação ou congelados de origem própria ou doados. Em alguns casos de infertilidade masculina em que não há espermatozoides no ejaculado (azoospermia), a recuperação cirúrgica de espermatozoides pode ser realizada;⁽¹¹⁾

- Fertilização *in vitro* propriamente dita: que geralmente é completada por inseminação *in vitro* convencional ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), como previamente descritos;⁽⁷⁾

- Cultivo embrionário: utilizando meios de cultura próprio, em incubadoras com condições laboratoriais controladas;⁽¹²⁾

- Destino dos embriões: os embriões formados podem ser colocados no útero, procedimento conhecido como transferência embrionária, ou podem ser congelados. Questões relevantes incluem o melhor momento para a transferência de embriões (no mesmo ciclo em que foram formados, conhecida como transferência a fresco, ou *a posteriori*, em outro ciclo, conhecida como transferência de embriões descongelados), o tipo de preparo do endométrio para receber os embriões descongelados (natural ou artificial) e quantos embriões transferir;^(13,14)

- Suporte da fase lútea: a fim de aumentar as chances de implantação embrionária e evolução da gravidez. Há várias opções disponíveis, incluindo administração de formulações contendo progestagênios, estrogênios e hCG;⁽¹⁵⁾

- Efeitos adversos: o mais frequente é a síndrome de hiperestimulação ovariana (SHO), cuja frequência descrita em literatura varia de 20 a 33% para as formas leves e de 5 a 8% para as formas moderadas e graves. A descrição e classificação da síndrome mais aceita está detalhada na tabela adicional 1 na seção Anexo. Dentre os fatores de risco para sua ocorrência estão a presença de marcadores

de reserva ovariana aumentados (contagem de folículos antrais [AFC]) superior a 14 e nível sérico de hormônio antimulleriano (AMH) superior a 3,36ng/mL), o uso de gonadotrofinas exógenas para estimulação ovariana e níveis de estradiol acima de 5000pg/mL no dia da deflagração da ovulação. O gatilho para ocorrência das formas mais graves e duradouras da síndrome é a exposição ao hCG, exógeno ou endógeno. Assim, dentre as medidas para sua prevenção, destacam-se a deflagração da ovulação com análogos agonistas do GnRH e o congelamento de todos os embriões para transferência em ciclo subsequente.^(16,17)

Dentre os passos listados acima, destaca-se a estimulação ovariana controlada. Ela possibilita o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos e conseqüentemente a possibilidade de múltiplos óvulos e embriões serem obtidos no mesmo ciclo. Isso possibilita a seleção embrionária, aumentando as chances de gravidez por transferência, e permite repetidos ciclos de transferência embrionária, aumentando as chances cumulativas de gravidez por ciclo de FIV iniciado.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

Dentre os fármacos mais utilizados para esse propósito estão as folitropinas alfa e beta, que são gonadotrofinas recombinantes produzidas por linhagem celular de *hamster* chinês com atividade de hormônio foliculoestimulante (FSH). Ambas são glicoproteínas que têm a mesma sequência de aminoácidos da gonadotrofina humana e apresentam resultados clínicos satisfatórios em termos de número de óvulos recuperados e taxas de cancelamento de ciclo.^(8,21)

As doses utilizadas de folitropinas no primeiro ciclo de estimulação ovariana para FIV são determinadas frequentemente pela experiência clínica do prescritor e por protocolos institucionais que podem levar em conta a idade, o peso e os testes de reserva ovariana como AMH e AFC, medidas sabidamente associadas a resposta ovariana à estimulação.^(22,23)

Em 2017 foi aprovada para uso clínico a folitropina delta, gonadotrofina recombinante com atividade FSH. Ela tem três particularidades em relação às demais folitropinas recombinantes. A primeira é ser produzida por linhagem de células de retina fetal humana. Essa origem celular humana faz com que, diferentemente das gonadotrofinas de origem celular animal, a folitropina delta tenha não só a mesma sequência de aminoácidos como também o mesmo padrão de glicosilação e estrutura espacial do FSH, tornando-a idêntica àquela produzida pelas mulheres.⁽²⁴⁾ Isso resulta em características farmacocinéticas diferentes, com depuração mais lenta, meia-vida mais longa e concentração sérica máxima mais elevada.^(24,25) A segunda é ter a dose

ajustada em microgramas (mcg) e não em unidades internacionais (UI), o que faz mais sentido no contexto da medicina de precisão por ser uma medicação preenchida por massa e não por ensaios de bioequivalência.⁽²⁶⁾ E a terceira é que ela permite o ajuste da dose de FSH a ser prescrita utilizando um algoritmo eletrônico que leva em consideração o peso e os níveis de AMH levando a melhor individualização do tratamento.

O objetivo do ajuste de dose pelo algoritmo é obter a resposta ovariana considerada alvo (de 8 a 14 óvulos), reduzindo a frequência de respostas ovarianas pobre (menos de 4 óvulos), hiporresposta ovariana (de 4 a 7 óvulos) e resposta ovariana alta (15 ou mais óvulos) que possam comprometer a eficácia e a segurança do tratamento.^(10,27-29)

Em mulheres sob risco para hiporresposta ovariana e resposta ovariana pobre, no entanto, o algoritmo apresenta duas limitações: a primeira é que a dose máxima para a primeira estimulação ovariana é de 12mcg. No estudo multicêntrico de fase 3, conhecido como ESTHER-1, todas as mulheres com AMH menor do que 2,1ng/mL (15pmol/L) utilizaram 12mcg por dia de folitropina delta e 11,8% delas tiveram resposta ovariana pobre.⁽²⁷⁾ De acordo com o estudo de Arce et al., 12mcg equivalem a cerca de 180UI de FSH.⁽³⁰⁾ Essa pode ser uma dose insuficiente considerando uma revisão sistemática prévia demonstrando que doses de gonadotrofina de 300 a 450UI aumentam o número de óvulos recuperados em mulheres com resposta ovariana pobre.⁽³¹⁾ A segunda limitação do algoritmo é não contemplar o uso de hormônio luteinizante (LH). Estudos prévios demonstraram que protocolos utilizando FSH e LH combinados, na forma de LH recombinante ou na forma de menotropina (gonadotrofina purificada a partir da urina de mulheres menopausadas com atividade FSH e LH em proporções iguais) podem melhorar a resposta ovariana durante os ciclos de FIV em mulheres com risco de resposta ovariana pobre.⁽³²⁻³⁶⁾ O mecanismo aventado por esses estudos está ligado a uma atividade direta do LH sobre as células da teca ovariana, aumentando a produção de testosterona, que será convertida em estradiol, no conhecido mecanismo das “duas células”.^(37,38) O estradiol, por sua vez, é um agente importante no desenvolvimento folicular, e seus níveis séricos têm uma associação qualitativa e quantitativa com a resposta ovariana.⁽³⁹⁾ Outra possível explicação pela qual o LH pode melhorar a resposta ovariana é pelo aumento dos receptores de membrana para o FSH nas células da granulosa ovariana, aumentando assim a sensibilidade dos ovários ao

FSH e, dessa forma, melhorando a resposta ovariana, o chamado mecanismo das “duas gonadotrofinas”.⁽⁴⁰⁾

A hipótese do presente estudo é que a associação da folitropina delta com menopina para estimulação ovariana durante ciclos de FIV em mulheres com níveis de AMH inferior a 2,1ng/mL aumenta a resposta ovariana em comparação ao uso da folitropina delta isoladamente.

1.1 Objetivos

1. Avaliar o número de óvulos obtidos;
2. Avaliar o nível de estradiol no dia da deflagração da ovulação;
3. Avaliar a incidência de resposta ovariana pobre;
4. Avaliar a taxa de fertilização;
5. Avaliar o número de zigotos formados, o número e qualidade dos embriões obtidos, o número de embriões transferidos e o número de embriões supranumerários congelados;
6. Avaliar a frequência de teste de gravidez positivo, a frequência de gestação clínica, a frequência de gestação evolutiva, a frequência de gestação múltipla, a frequência de abortamento e a frequência de nascido-vivo;
7. Avaliar a taxa de implantação e a taxa de implantação evolutiva;
8. Avaliar a frequência de medidas preventivas para síndrome de hiperestimulação ovariana e a frequência da síndrome de hiperestimulação ovariana.

2 MÉTODOS

2.1 Desenho, local de realização e desfechos do estudo

Trata-se de um estudo clínico prospectivo não-randomizado controlado. O Grupo Intervenção foi constituído de 44 mulheres de 18 a 40 anos com dosagem sérica de AMH menor que 2,1ng/mL e que realizaram o primeiro ciclo de estimulação ovariana para FIV em uma clínica privada de reprodução humana em São Paulo (VidaBemVinda) entre os anos de 2020 e 2021. Todas as mulheres deste estudo utilizaram folitropina delta associada a menotropina. O Grupo Controle foi constituído por 297 mulheres com dosagem sérica de AMH menor que 2,1ng/mL que fizeram parte do estudo de fase 3 multicêntrico da folitropina delta (ESTHER-1), realizado em 37 centros de 11 países entre os anos de 2013 e 2015, no qual se utilizou a folitropina delta isoladamente para estimulação da ovulação.⁽²⁷⁾ Os dados foram armazenados na plataforma REDCap® e analisados no Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein. O desfecho primário foi composto pelas seguintes variáveis de resposta ovariana: número de óvulos obtidos, ocorrência de resposta ovariana pobre (menos de 4 óvulos) e nível sérico de estradiol no dia da deflagração da ovulação. Os desfechos secundários foram: taxa de fertilização, número de zigotos formados, número e qualidade dos embriões obtidos, número de embriões transferidos, número de embriões supranumerários congelados, frequência de ocorrência de teste de gravidez positivo, de gestação clínica (presença de saco gestacional na ultrassonografia obstétrica de primeiro trimestre), de gestação evolutiva (presença de batimentos cardíacos na ultrassonografia obstétrica de primeiro trimestre), de gestação múltipla (presença de mais de um saco gestacional ou de mais de um embrião na ultrassonografia obstétrica de primeiro trimestre), de abortamento (perda gestacional antes de 22 semanas completas de gestação), de nascido-vivo (produto conceptual com mais de 22 semanas completas de gestação apresentando sinais de vida após a expulsão ou extração do organismo materno), taxas de implantação (número de sacos gestacionais visualizados na ultrassonografia de primeiro trimestre dividido pelo número de embriões transferidos), taxa de implantação evolutiva (número de batimentos cardíacos visualizados na ultrassonografia de primeiro trimestre dividido pelo número de embriões transferidos), frequência de ocorrência de medidas preventivas para SHO (uso de

análogos agonistas do GnRH para deflagração da ovulação e adiamento da transferência a fresco com congelamento de todos os embriões) e de SHO (resposta sistêmica exagerada à estimulação ovariana caracterizada por um amplo espectro de sintomas clínicos e manifestações laboratoriais). A SHO é considerada precoce quando ocorre até 9 dias após a coleta de óvulos ou tardia quando ocorre após 9 dias, já em vigência da gravidez estabelecida. Em relação aos graus, pode ser classificada como leve, moderada ou grave de acordo com o grau de distensão abdominal, aumento ovariano, problemas respiratórios, hemodinâmicos e complicações metabólicas apresentadas. Os critérios para diagnóstico e classificação da SHO utilizados nesta pesquisa estão descritos na tabela adicional 1 (Anexo 1).

2.2 Critérios de inclusão e exclusão

A fim de tornar os resultados mais comparáveis, os critérios de inclusão e exclusão do Grupo Intervenção foram os mesmos daqueles utilizados no Grupo Controle retrospectivo oriundo do estudo de fase 3 da folitropina delta (ESTHER-1).⁽²⁷⁾

Os critérios de inclusão foram:

1. Consentimento informado assinado antes de iniciar o ciclo de tratamento;
2. Boa saúde física e mental;
3. Mulheres no menacme com no mínimo 18 anos e no máximo 40 anos completos de idade quando assinaram o termo de consentimento e quando iniciaram o ciclo de tratamento, nessa ordem;
4. Mulheres inférteis diagnosticadas com infertilidade de causa tubária, inexplicada, endometriose estágio I/II ou cujos parceiros tivessem fator masculino e fossem elegíveis para FIV ou ICSI usando sêmen fresco ou congelado do parceiro ou doado;
5. Infertilidade de no mínimo um ano de duração antes do início do estudo para mulheres com até 37 anos e por no mínimo 6 meses para mulheres com 38 anos ou mais (não aplicável se houvesse fator tubário ou masculino já conhecido);
6. O ciclo incluído foi o primeiro ciclo de estimulação ovariana controlada do indivíduo para FIV;

7. Ciclos menstruais regulares durando entre 24 e 35 dias, presumidamente com ovulação;

8. Histerossalpingografia, histeroscopia, histerossonografia ou ultrassonografia transvaginal documentando útero com anatomia compatível com gestação (isto é, sem evidências de miomas uterinos submucosos ou intramurais maiores que três centímetros, pólipos ou anomalias congênitas que estivessem associados a chances reduzidas de gravidez, dentro de um ano antes do início do estudo);

9. Ultrassonografia transvaginal documentando presença de ambos os ovários em posição acessível para coleta de óvulos, sem evidências claras de outras normalidades (isto é, endometriomas maiores do que três centímetros ou ovários de volume muito aumentado que contraindicasse o uso de gonadotrofinas) e anexos normais (isto é, sem hidrossalpinge), dentro de um ano antes do início do estudo;

10. Níveis de FSH sérico em fase folicular precoce (do segundo ao quarto dia do ciclo) entre 1 e 15UI/L, obtidos dentro de três meses do início do estudo;

11. Sorologias negativas para HIV, HTLV, hepatite B (antígeno de superfície e anti-core), hepatite C e sífilis, dentro de 6 meses do início do estudo e de Zika vírus no mês do início do ciclo. Durante o estudo passou a ser exigido também teste de PCR para SARS-CoV-2, de acordo com as notas técnicas e resoluções publicadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil durante o período da pandemia da COVID-19;

12. Índice de massa corpórea entre 17,5 e 32kg/m² (incluindo os dois valores) no início do estudo;

13. Disponibilidade em aceitar transferência de até dois blastocistos originados do ciclo do estudo em até um ano depois da inclusão.

Os critérios de exclusão foram:

1. Endometriose estágio III/IV conhecida (diagnóstico cirúrgico ou radiológico);

2. Um ou mais folículos maiores ou iguais a 10mm no dia de iniciar a estimulação;

3. História de abortamento de repetição (três perdas consecutivas antes de 24 semanas, excluindo-se gravidez ectópica);

4. Cariótipo anormal da mulher ou do parceiro ou do doador de sêmen. Em casos em que a análise seminal apontasse concentração abaixo de um milhão de espermatozoides por mL, pesquisa de microdeleção do cromossomo Y com resultado normal era obrigatória;

5. Qualquer doença clínica sistêmica significativa (por exemplo, diabetes insulino-dependente);

6. Qualquer trombofilia hereditária ou adquirida conhecida;

7. Tromboembolismo arterial ou venoso ativos ou tromboflebite grave, ou histórico desses eventos;

8. Porfiria conhecida;

9. Qualquer doença endócrino-metabólica (hipófise, adrenal, fígado, pâncreas e rim) que pudesse comprometer a participação no estudo, com exceção de tireoidopatia bem controlada;

10. Presença de anticorpos anti-FSH conhecida (baseada na história e exames prévios e não em exames realizados durante esse estudo);

11. Tumores conhecidos de ovário, mama, útero, adrenal, hipófise ou hipotálamo que contraindicassem o uso de gonadotrofinas;

12. Função renal ou hepática comprometidas;

13. Lactante atual;

14. Sangramento vaginal anormal sem causa definida;

15. Citologia oncótica cervical anormal dentro de três anos do início do estudo (exceto já tratada e resolvida);

16. Achados de exames ginecológicos que reduzissem a chance de gravidez (malformações uterinas congênitas e dispositivos intrauterinos retidos);

17. Gravidez corrente (teste de gravidez negativo foi documentado antes do início do ciclo) ou contraindicação para gravidez;

18. Doença inflamatória pélvica corrente (diagnóstico clínico e/ou laboratorial);

19. Uso de modificadores de fertilidade no início do estudo como DHEA, pílulas, progestagênios ou estrogênios;

20. Uso de medicamentos hormonais (exceto para tireoide);

21. História conhecida de quimioterapia (exceto para neoplasia trofoblástica gestacional) ou radioterapia;

- 22. Abuso corrente ou passado de drogas e álcool, dentro de um ano do início do estudo (ingestão de mais de 14 unidades de álcool por semana);
- 23. Tabagismo corrente ou passado, dentro de três meses do início do estudo (mais de 10 cigarros por dia);
- 24. Hipersensibilidade a qualquer dos insumos utilizados no estudo;
- 25. Já ter participado do estudo;
- 26. Uso de medicamentos ainda não registrados, dentro de três meses do estudo.

2.3 Dinâmica do estudo

Avaliamos o peso e AMH das mulheres até seis meses antes do início do ciclo de FIV deste estudo e inserimos as informações no algoritmo eletrônico fornecido pelo fabricante (disponível em: <https://www.dosedelta.ferring.com>). Todas as mulheres incluídas utilizaram a dose diária de 12mcg de folitropina delta (Rekovel®[®], Ferring) associada a 150UI de menotropina (Menopur®[®], Ferring), a partir do segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual. Ambas as medicações continuaram sem aumento de dose até o final da estimulação. No sexto dia de estímulo, o análogo antagonista de GnRH foi iniciado (acetato de cetrorelix - Cetrotide®[®], Merck ou de ganirelix - Orgalutran®[®], MSD) na dose de 0,25mg/d para bloqueio hipofisário. As mulheres foram monitorizadas durante todo o ciclo de estimulação com ultrassonografia transvaginal seriada e o ciclo poderia ser cancelado por baixa resposta (falha de pelo menos três folículos atingirem 17mm) ou por alta resposta (mais de 35 folículos iguais ou maiores do que 12mm). Quando três ou mais folículos atingiram 17mm de diâmetro médio, a ovulação foi deflagrada com coriogonadotrofina recombinante 250mcg (Ovidrel®[®], Merck) ou acetato de triptorrelina (Gonapeptyl Daily®[®], Ferring) em casos de alto risco para desenvolvimento de SHO (25 a 35 folículos ≥ 12 mm na última ultrassonografia antes da deflagração da ovulação). Os níveis séricos de estradiol e progesterona foram dosados nesse dia. Em casos de risco de SHO todos os embriões serão congelados (estradiol sérico ≥ 3000 pg/mL). Caso três ou mais folículos não atingissem 17mm ou mais em até 20 dias de estimulação (ou antes, a critério do pesquisador) o ciclo foi cancelado por ausência de resposta. A partir desse ponto, não houve mais intervenções relacionadas ao estudo e as condutas seguiram os protocolos habituais da clínica VidaBemVinda utilizados em todos os ciclos de FIV,

descritas a seguir. A coleta de óvulos foi realizada entre 34 e 38 horas após a ovulação ser deflagrada. Os óvulos foram inseminados por ICSI. O número de zigotos formados foi avaliado 24 horas depois que os óvulos foram inseminados. O número e qualidade dos embriões em clivagem (número de blastômeros, sua simetria, sua fragmentação e presença ou não de multinucleação) foram avaliados no terceiro dia. O número de blastocistos, o grau de expansão (de 1 até 6), a qualidade da massa celular interna e do trofoectoderma (de A até C) foram avaliados entre o quinto e sétimo dia. A transferência de embriões em estágio de blastocisto fresco ou descongelado, o uso de teste genético pré-implantacional (PGT) e o número de embriões a serem transferidos foram definidos em comum acordo pela equipe da clínica e o casal. Nos casos em que todos os embriões foram congelados, o preparo endometrial foi realizado com adesivos de estradiol transdérmico (Estradot®) na dose de 100 a 200mcg a cada 48 horas.

O suporte de fase lútea foi feito com progesterona natural micronizada em cápsulas de 100mg aplicadas três vezes por dia (Utrogestan®, Besins), na dose total de 300mg para os ciclos com transferência a fresco e de 600mg para os ciclos com transferência de descongelados. O teste de gravidez foi realizado 14 dias após a coleta de óvulos ou após o início do suporte de fase lútea em ciclos descongelados. Nos com o hCG positivo, as ultrassonografias obstétricas foram realizadas com seis e com 11 semanas de gestação.

Todos os resultados dos ciclos foram reportados para o Relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões (SisEmbrio) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e para a Rede Latino-Americana de Reprodução Assistida (RedLara).

Os casos de SHO e qualquer outra medida tomada para prevenção da SHO (como uso de análogos agonistas do GnRH para deflagração da ovulação, adiamento da transferência e congelamento de todos os embriões, cancelamento de ciclo) foram reportados.

2.4 Aspectos e procedimentos éticos envolvidos

Foi aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição (CAAE: 19795519.4.0000.0071) para todos os indivíduos e casais antes do início do estudo. Este estudo foi registrado no

Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos previamente ao seu início (ReBEC número: U1111-1247-3260, disponível em: ensaiosclinicos.gov.br).

2.5 Análises estatísticas

A amostra foi caracterizada por meio de média e desvio padrão, mínimo e máximo, mediana e quartis para variáveis quantitativas e frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas.⁽⁴¹⁾

As comparações entre os grupos foram verificadas usando testes de Mann-Whitney para resultados quantitativos e testes qui-quadrado ou exato de Fisher para resultados qualitativos. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, gráficos *boxplot*, histogramas e gráficos de comparação de quantis. As análises foram realizadas no R e no *Statistical Package for the Social Sciences*, v.26.0, com nível de significância de 5%.⁽⁴²⁻⁴⁴⁾

Os dados do estudo foram coletados e gerenciados por meio das ferramentas eletrônicas de captura de dados REDCap® hospedadas no Hospital Israelita Albert Einstein.

2.6 Cálculo amostral

Definimos a obtenção de três óvulos a mais no Grupo Intervenção como resultado clinicamente relevante, pois seria suficiente para obter mais um embrião e aumentar as chances de gravidez. Esse número de três óvulos foi estimado tendo como referência uma taxa média de fertilização por óvulo injetado de 75% e uma taxa de formação de blastocisto por zigoto de 50%, com base no Consenso de Viena sobre o desempenho dos laboratórios de FIV e nos resultados do nosso centro.⁽⁴⁵⁾ Considerando o número médio de óvulos obtidos no estudo de fase 3 para esse grupo de mulheres com AMH menor que 2,1 ng/mL de 7,54 (desvio padrão de 4,57) e uma resposta ovariana com três óvulos a mais, calculamos que 44 mulheres seriam suficientes para demonstrar uma diferença estatisticamente significativa a favor da intervenção com poder de 90% e erro alfa de 5%. (NCSS L. PASS 14 *Power Analysis and Sample Size Software*. 2015. ncss.com/software/pass).

3 RESULTADOS

3.1 Características do grupo prospectivo incluído no estudo

A amostra do Grupo Intervenção foi composta de 44 mulheres com mediana de idade de 36,7 anos. As causas de infertilidade mais frequentes foram a tubária (52,8%, n=19) e o fator masculino (44,4%, n=16). O tipo de sêmen utilizado mais frequentemente foi a amostra colhida a fresco no dia da fertilização pelo parceiro (93,2%, n=41). Os outros três casos (6,8%) utilizaram sêmen congelado de doador. O tempo mediano de infertilidade foi de 48 meses. O nível sérico mediano de AMH foi de 1,3ng/mL, variando de 0,2 a 2ng/mL.

O peso médio das mulheres foi de 70,4Kg, variando de 51 a 92Kg. A estatura média das mulheres foi de 164,6cm, variando de 150 a 180cm. A média de IMC das mulheres foi de 25,9Kg/m², variando de 19,5 a 31,6Kg/m². Das 44 mulheres, 59,1% (n=26) eram brancas e 36,4% (n=16) eram pardas ou pretas. Todas as mulheres eram casadas ou viviam em união estável. O nível de escolaridade mais frequente entre as mulheres foi ensino superior completo (59,1%, n=26). A maior parte das mulheres tinha renda familiar de 4 a 10 salários-mínimos (59,1%, n=26). A descrição completa das características da amostra está apresentada no apêndice desta tese, na tabela adicional 1.

3.2 Comparação entre os grupos: características demográficas e clínicas

A tabela 1 apresenta as características demográficas e clínicas das mulheres dos dois grupos. Como pode-se ver, os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto à etnia, ao peso, ao IMC, à causa da infertilidade, a AFC e às dosagens hormonais basais (FSH, estradiol, progesterona, TSH). No Grupo Intervenção as mulheres podiam ser classificadas em mais de uma causa da infertilidade, quando havia fatores associados. Para todas as demais variáveis, não encontramos evidências de diferenças entre os grupos.

A idade e a dosagem de AMH não diferiram entre os grupos.

Tabela 1. Comparação dos grupos quanto às características da amostra

	Grupo Intervenção (n=44)	Grupo Controle (n=297)	Valor-p
Idade à coleta (anos)			0,051 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	35,8 (3,4)	34,3 (3,70)	
Mínimo - Máximo	24,8 - 39,6	22 - 40	
Mediana [quartis]	36,7 [34,2; 38,6]	35 [32; 37]	
Distribuição das idades, n (%)			
<35 anos	15 (34,1)	147 (49)	0,120 ^a
35 – 37 anos	14 (31,8)	83 (28)	
38 – 40 anos	15 (34,1)	67 (23)	
Etnia, n (%)			<0,001^b
Branca	26 (59,1)	287 (96,6)	
Parda ou preta	16 (36,4)	2 (0,7)	
Amarela	2 (4,5)	8 (2,7)	
Peso			<0,001^c
Média (desvio padrão), n (%)	70,4 (11,5)	64,9 (10,2)	
Mínimo - Máximo	51 - 92	44,5 - 102	
Mediana [quartis]	69,5 [60,5;81]	63,3 [57,1; 70,8]	
IMC			<0,001^c
Média (desvio padrão), n (%)	25,9 (3,2)	23,7 (3,35)	
Mínimo - Máximo	19,5 - 31,6	17,6 - 32,6	
Mediana [quartis]	25,8 [23,6;28,5]	23,1 [21,2; 26]	
Tempo de infertilidade (em meses)			<0,001^c
Média (desvio padrão), n (%)	58,2 (38,2)	37,2 (27,2)	
Mínimo - Máximo	6 - 180	2 - 192	
Mediana [quartis]	48 [30;78]	4 [3; 5]	
Causa, n (%)			<0,001^b
Tubária	19 (52,8)	41 (13,8)	
Inexplicada	8 (18,2)	125 (42,1)	
Endometriose estágio I/II	5 (13,9)	11 (3,7)	
Fator masculino	16 (44,4)	118 (39,7)	
Outra	0 (0)	2 (0,7)	
AFC – Contagem de folículos no 1º US			0,007^c
Média (desvio padrão), n (%)	9,52 (3,89)	11,5 (5,06)	
Mínimo - Máximo	4 - 23	3 - 40	
Mediana [quartis]	9 [7; 12]	11 [8; 14]	
Dosagem de AMH (em ng/mL)			0,495 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	1,2 (0,5)	1,18 (0,50)	
Mínimo - Máximo	0,2 - 2	0 - 1,96	
Mediana [quartis]	1,3 [0,7;1,6]	1,12 [0,84; 1,68]	
Estradiol basal (pg/mL)			0,024^c
Média (desvio padrão), n (%)	54,4 (24,9)	47,4 (21,36)	
Mínimo - Máximo	18,6 - 136,4	9,51 - 190,41	
Mediana [quartis]	49,9 [36,1; 65,9]	43,58 [33,23; 55,30]	
Progesterona (ng/mL)			<0,001^c
Média (desvio padrão), n (%)	1,05 (0,79)	0,59 (0,82)	
Mínimo - Máximo	0,2 - 4,52	0,25 - 13,11	

continua...

...continuação

Mediana [quartis]	0,85 [0,59; 1,22]	0,53 [0,25; 0,71]	
FSH basal (UI/L)			0,003^c
Média (desvio padrão), n (%)	7,4 (2,5)	9,17 (3,56)	
Mínimo - Máximo	2,4 - 13,2	2,6 - 34,9	
Mediana [quartis]	7,1 [5,9;8,9]	8,53 [6,95; 10,6]	
TSH (mUI/L)			0,005^c
Média (desvio padrão), n (%)	1,9 (0,8)	1,72 (1,08)	
Mínimo - Máximo	0,3 - 3,8	0,01 - 9,25	
Mediana [quartis]	1,8 [1,3;2,4]	1,52 [1,13; 2,07]	

^aTeste qui-quadrado; ^bTeste exato de Fisher; ^cTeste de Mann-Whitney.

3.3 Comparação entre os grupos: desfechos de eficácia e segurança

As tabelas 2 a 5 apresentam as comparações entre os grupos em relação aos desfechos de eficácia (estimulação ovariana, embriologia e gestacionais) e de segurança (risco de SHO e SHO).

Na tabela 2, observamos que a duração da estimulação foi maior entre as mulheres do Grupo Intervenção e essa diferença foi significativa (mediana = 10 *versus* 8 dias; valor- $p < 0,001$). As mulheres desse grupo também utilizaram maior dose de folitropina delta, sendo a mediana de 120 *versus* 96mcg (valor- $p < 0,001$). Encontramos evidências de diferenças entre o número de folículos entre 12 e 16mm (valor- $p < 0,001$) e folículos maiores que 16mm (valor- $p = 0,009$) na última ultrassonografia, sendo esse número maior no Grupo Controle. O resultado do estradiol colhido no dia da deflagração da ovulação também apresentou diferença significativa, sendo maior no Grupo Intervenção (valor- $p < 0,001$).

Tabela 2. Comparação entre os grupos para os desfechos de estimulação ovariana

	Grupo Intervenção (n=44)	Grupo Controle (n=297)	Valor-p
Duração da estimulação (em dias)			<0,001 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	9,95 (1,48)	8,69 (1,63)	
Mínimo - Máximo	8 - 15	5 - 14	
Mediana [quartis]	10 [9; 10,5]	8 [8; 10]	
Dose total de folitropina delta utilizada (em mcg)			<0,001 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	119,45 (17,73)	104 (20,2)	
Mínimo - Máximo	96 - 180	12 - 168	
Mediana [quartis]	120 [108; 126]	96 [96; 120]	
Número de folículos entre 12 e 16mm na última ultrassonografia			<0,001 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	4,18 (3,45)	8,38 (4,32)	
Mínimo - Máximo	0 - 16	1 - 26	
Mediana [quartis]	3 [2; 5]	8 [5; 11]	
Número de folículos maiores que 16mm na última ultrassonografia			0,009 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	3,27 (1,72)	4,35 (2,23)	
Mínimo - Máximo	0 - 8	0 - 17	
Mediana [quartis]	3 [2; 4]	4 [3; 5]	
Estradiol colhido na deflagração da ovulação			<0,001 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	2150,25 (1093,38)	1372,8 (741,7)	
Mínimo - Máximo	547,6 - 4758	67,63 - 547,6	
Mediana [quartis]	1812 [1416,2; 2718]	1282,0 [850,3; 1831,2]	
Espessura endometrial no último ultrassom (mm)			0,652 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	10,22 (2,36)	10,1 (1,99)	
Mínimo - Máximo	6 - 15	4,20 - 19	
Mediana [quartis]	10,1 [8,3; 12,1]	10 [8,90; 11,1]	

^cTeste de Mann-Whitney.

Na tabela 3, observamos diferenças entre o Grupo Intervenção e o Grupo Controle quanto ao número de zigotos (média 5,1 *versus* 4,2; valor-p=0,040), à taxa de fertilização (média 85,6 *versus* 56,7%; valor-p<0,001), número de embriões em clivagem de boa qualidade (média 2,41 *versus* 3,09; valor-p=0,033), número de blastocistos (média 3,1 *versus* 2,42; valor-p=0,040) e número de blastocistos de boa qualidade (média 1,8 *versus* 1,37; valor-p=0,017). Encontramos também evidências de diferenças entre os grupos para o número de blastocistos transferidos, frescos ou descongelados (valor-p<0,001), sendo que 25% (n=11) das mulheres do Grupo Intervenção tiveram dois blastocistos transferidos *versus* 5,05% (n=15) do Grupo Controle.

Ainda na tabela 3, observa-se maior número de óvulos coletados, menor frequência de resposta ovariana pobre e de hiporresposta ovariana no Grupo Intervenção, porém sem significância estatística.

Tabela 3. Comparação entre os grupos para os desfechos de embriologia

	Grupo Intervenção (n=44)	Grupo Controle (n=297)	Valor-p
Número total de óvulos coletados			0,058 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	9,07 (5,56)	7,54 (4,57)	
Mínimo - Máximo	0 - 25	0 - 33	
Mediana [quartis]	8 [5; 12]	7 [5; 10]	
Número de zigotos			0,040^c
Média (desvio padrão), n (%)	5,1 (3,05)	4,20 (3,10)	
Mínimo - Máximo	0 - 14	0 - 19	
Mediana [quartis]	4 [3; 7]	4 [2; 6]	
Taxa de fertilização			<0,001^c
Média (desvio padrão), n (%)	0,859 (0,158)	0,567 (0,254)	
Mínimo - Máximo	0,444 - 1	0 - 1	
Mediana [quartis]	0,866 [0,764; 1]	0,571 [0,40; 0,714]	
Número de embriões em clivagem			0,186 ^c
Média (desvio padrão)	4,8 (3,31)	4,13 (3,09)	
Mínimo - Máximo	0 - 16	0 - 19	
Mediana [quartis]	4 [3; 7]	4 [2; 5]	
Número de embriões em clivagem de boa qualidade			0,033^c
Média (desvio padrão), n (%)	2,41 (2,34)	3,09 (2,57)	
Mínimo - Máximo	0 - 10	0 - 13	
Mediana [quartis]	2 [1; 4]	3 [1; 4]	
Número de blastocistos congelados excedentes			0,486 ^c
Média (desvio padrão), n (%)	1 (1,53)	1,03 (1,17)	
Mínimo - Máximo	0 - 5	0 - 3	
Mediana [quartis]	0 [0; 2]	1 [0; 2]	
Número total de blastocistos			0,030^c
Média (desvio padrão), n (%)	3,1 (2,66)	2,42 (2,22)	
Mínimo - Máximo	0 - 10	0 - 13	
Mediana [quartis]	2 [1; 5]	2 [1; 3]	
Indivíduos com blastocistos criopreservados, n (%)			0,291 ^a
Não	16 (38,1)	143 (48,1)	
Sim	26 (61,9)	154 (51,9)	
Número de blastocistos transferidos (frescos ou descongelados), n (%)			<0,001^b
0	7 (15,9)	50 (16,84)	
1	26 (59,1)	232 (78,11)	
2	11 (25)	15 (5,05)	
Número de blastocistos de boa qualidade			0,017^c
Média (desvio padrão), n (%)	1,8 (2,01)	1,37 (1,71)	
Mínimo - Máximo	0 - 7	0 - 11	
Mediana [quartis]	1 [0; 3]	1 [0; 2]	
Resposta ovariana, n (%)			0,276 ^b
Resposta ovariana pobre (<4 óvulos)	6 (13,6)	47 (16)	
Hiporrepuesta ovariana (<8 óvulos)	16 (36,4)	118 (40,1)	
Resposta ovariana alvo (8-14 óvulos)	16 (36,4)	110 (37,4)	
Resposta ovariana alta (≥15 óvulos)	6 (13,6)	19 (6,5)	

^aTeste qui-quadrado; ^bTeste exato de Fisher; ^cTeste de Mann-Whitney.

A tabela 4 mostra que o uso de medidas preventivas para SHO foi mais prevalente no Grupo Intervenção (13,6 *versus* 0,6%). Não houve diferença estatisticamente significativa nas frequências de ocorrência de SHO (precoce e total) entre os grupos.

Tabela 4. Comparação entre os grupos para os desfechos clínicos de segurança

	Grupo intervenção (n=44)	Grupo controle (n=297)	Valor-p
Medidas preventivas para SHO (deflagração da ovulação com GnRHa e/ou congelamento de todos os embriões), n (%)			<0,001^b
Não	38 (86,4)	296 (99,7)	
Sim	6 (13,6)	2 (0,6)	
SHO precoce (até 9 dias após a deflagração da ovulação), n (%)			0,082 ^b
Não	42 (95,5)	295 (99,3)	
Sim	2 (4,5)	2 (0,7)	
Houve síndrome de hiperestimulação ovariana, n (%)			0,174 ^b
Não	42 (95,5)	293 (98,7)	
Sim	2 (4,5)	4 (1,3)	

^bTestes exato de Fisher.

A tabela 5 apresenta as comparações entre os grupos quanto aos resultados de gravidez. Observamos maior prevalência de gestações múltiplas no Grupo Intervenção comparado ao Controle (16,7 *versus* 0%; p=0,014). Não houve diferença em relação dos demais desfechos.

Tabela 5. Comparação entre os grupos para os desfechos gestacionais

	Grupo Intervenção (n=44)	Grupo Controle (n=297)	Valor-p
Primeiro hCG sérico, n (%)			0,361 ^a
Negativo	27 (61,4)	188 (63,3)	
Positivo	17 (38,6)	109 (36,7)	
Gravidez clínica, n (%)			0,465 ^a
Não	29 (65,9)	199 (67,0)	
Sim	15 (34,1)	98 (33,0)	
Gravidez evolutiva, n (%)			0,739 ^a
Negativa	32 (72,7)	213 (71,7)	
Positiva	12 (27,3)	84 (28,3)	
Número de fetos com batimento cardíaco visualizado, n (%)			0,014^b
Um	10 (83,3)	84 (100,0)	
Dois	2 (16,7)	0 (0,0)	
Nascido-vivo, n (%)			>0,999 ^a
Não	32 (72,7)	215 (72,4)	
Sim	12 (27,3)	82 (27,6)	

continua...

...continuação

Abortamento, n (%)			0,550 ^b
Não	12 (70,6)	84 (77,1)	
Sim	5 (29,4)	25 (22,9)	
Implantação, n (%)			0,901 ^a
Não	29 (60,4)	164 (62,6)	
Sim	19 (39,6)	98 (37,4)	
Implantação evolutiva, n (%)			0,820 ^a
Não	34 (70,8)	178 (67,9)	
Sim	14 (29,2)	84 (32,1)	

^aTeste qui-quadrado; ^bTeste exato de Fisher.

4 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os efeitos da combinação de 150UI de menopina com folitropina delta na resposta ovariana durante a estimulação ovariana para FIV em mulheres com AMH menor que 2,1ng/mL. Embora a administração de folitropina delta combinada com menopina já tenha sido descrita em estudos controlados e não controlados de vida real,^(46,47) dentro do nosso melhor conhecimento este é o primeiro estudo controlado a testar a folitropina delta combinada com a menopina nessas doses e para esse grupo específico de mulheres.

Em nosso estudo, os níveis séricos de estradiol foram maiores nas mulheres utilizando menopina associada a folitropina delta (2150 *versus* 1372pg/mL, $p<0,001$), indicando uma resposta ovariana mais alta no Grupo Intervenção. Embora a frequência de ocorrência de resposta ovariana pobre e o número de óvulos não tenham diferido entre os grupos, as mulheres utilizando o protocolo combinado tiveram significativamente mais blastocistos e mais blastocistos de boa qualidade para transferir, um importante desfecho para o sucesso da FIV. Dessa forma, consideramos que a combinação testada neste estudo é uma opção terapêutica válida para melhorar a resposta ovariana em situações nas quais medidas preventivas para a síndrome de hiperestimulação ovariana, como a deflagração da ovulação com análogo agonista do GnRH e o congelamento de todos os embriões, possam ser usadas rotineiramente.

Para desenvolver esta pesquisa, utilizamos dados dos estudos de fase 1 e 2 com folitropina delta, a partir dos quais inferimos que 12mcg do medicamento seriam equivalentes a cerca de 150 a 200UI de atividade FSH.^(25,48,49) Esta inferência foi confirmada *a posteriori* por um estudo de equivalência de dose publicado em 2020, que mostrou que 10mcg de folitropina delta equivalem a aproximadamente 150UI de FSH.⁽³⁰⁾ Portanto, a dose máxima diária de 12mcg de folitropina delta para um primeiro ciclo de FIV determinada pelo algoritmo equivale a aproximadamente 180UI de FSH. Essa dose pode ser insuficiente para mulheres de alto risco para resposta ovariana pobre. Uma revisão sistemática publicada pela Biblioteca Cochrane em 2018 demonstrou que mulheres más respondedoras utilizando doses diárias de 300 a 450UI de FSH recombinante obtiveram mais óvulos comparadas àquelas utilizando 150UI.⁽³¹⁾ Portanto, do ponto de vista biológico, é plausível que a melhora na resposta ovariana que observamos em muitas participantes desta pesquisa possa ter ocorrido devido à adição

de 150UI de atividade FSH, totalizando dose diária de aproximadamente 330UI de FSH no Grupo Intervenção em comparação a 180UI no Grupo Controle.

É possível que mulheres com reserva ovariana muito baixa, com AMH inferior a 0,5ng/mL, possam se beneficiar do uso de menores doses de gonadotrofinas do que as utilizadas neste estudo, como a estimulação ovariana mínima e leve, ou mesmo ciclos naturais e naturais modificados, amplamente discutidos na literatura sob o conceito do “menos é mais”.⁽⁵⁰⁻⁵³⁾ Em nosso estudo, 60% das mulheres com AMH inferior a 0,5ng/mL tiveram seu ciclo cancelado por falta de crescimento folicular, ausência de óvulos maduros ou de embriões viáveis para transferência. Apesar de ser um subgrupo pequeno de apenas cinco mulheres, não descartamos a possibilidade de que elas possam se beneficiar de baixas doses de gonadotrofinas para estimulação ou mesmo do ciclo natural, caso optem por usar seus próprios óvulos para FIV. Esta estratégia poderia reduzir não só a sobrecarga física imposta pelo tratamento (menor uso de medicamentos injetáveis, por exemplo), como também os efeitos colaterais e os custos. A hipótese de que mulheres com reserva ovariana muito baixa, com AMH inferior a 0,5ng/mL, não se beneficiariam do aumento da dose de gonadotrofinas não foi testada neste estudo, mas pesquisas futuras poderiam examiná-la e estabelecer um valor de corte de AMH abaixo do qual não há benefício do protocolo utilizado no Grupo Intervenção deste estudo.

Um estudo publicado por Bosch et al. em 2019 relatou que o uso de doses mais altas de folitropina delta no segundo e terceiro ciclos de FIV (doses diárias médias de $12,0 \pm 3,6$ mcg e $14,6 \pm 5,1$ mcg, respectivamente) melhoraram a resposta ovariana em mulheres com número de óvulos inferior a oito no primeiro ciclo, indicando claramente que há espaço para administrar doses maiores do que 12mcg de folitropina delta (ou 180UI de FSH) em mulheres de alto risco para resposta ovariana pobre e hiporresposta ovariana.⁽⁵⁴⁾ Nesta pesquisa poderíamos simplesmente ter administrado doses mais altas de folitropina delta, como no estudo supracitado. Contudo, acreditamos que o benefício da combinação com a menotropina para a resposta ovariana não é apenas em função da atividade FSH adicionada, mas também porque esta droga contém atividade LH, o que seria uma vantagem em relação ao simples aumento da dose de folitropina delta. Foi sugerido que a adição de LH ao FSH melhora a resposta ovariana em mulheres com baixa reserva ovariana.⁽³²⁻³⁴⁾ O mecanismo parece envolver tanto um aumento na responsividade ovariana ao FSH induzido pelo LH como um aumento na produção de esteroides ovarianos.^(34,38,55)

Nosso estudo também demonstrou melhores taxas de fertilização, número de blastocistos e de blastocistos de boa qualidade no Grupo Intervenção, o que pode ter sido resultado da adição da atividade do LH ao protocolo de estimulação. Um estudo canadense publicado em 2021 por Bissonnette et al. mostrou que a folitropina delta combinada com a menotropina aumentou o número e a qualidade dos blastocistos obtidos.⁽⁴⁶⁾ Esse estudo, diferentemente do nosso, incluiu mulheres da população geral sem restrições nos níveis de AMH. Além disso, a dose de menotropina foi variável de acordo com a dose de folitropina delta e o peso. Estudos anteriores demonstraram um benefício qualitativo da adição de LH à resposta ovariana em mulheres com baixa reserva ovariana (AMH menor que 1,2ng/mL) e naquelas com mais de 35 anos de idade.^(33,34,40) Em ambos os estudos, no de Bissonnette et al. e no nosso, a melhora na quantidade e qualidade dos blastocistos obtidos pode ter sido devido à adição do LH contido na menotropina. No estudo canadense, por exemplo, 50% das mulheres tinham mais de 35 anos. Em nosso estudo, 54% tinham mais de 35 anos e 47% das mulheres tinham AMH menor que 1,2ng/mL. Embora este efeito benéfico do LH sobre a competência reprodutiva dos óvulos seja plausível para explicar as melhores taxas de fertilização, de formação de blastocistos e de blastocistos de boa qualidade, não se pode descartar como causa para esses achados uma diferença de desempenho entre os laboratórios de FIV do estudo multicêntrico de fase 3 do qual se originou nosso Grupo Controle Histórico e o desempenho do laboratório de FIV utilizado para o Grupo Intervenção deste estudo. Outras possibilidades para explicar as diferenças de resultados nos desfechos de embriologia podem ter sido: o uso de ICSI em 100% dos casos no Grupo Intervenção, o que não aconteceu no Grupo Controle, além dos fatos já citados sobre não randomização e Grupo Controle Histórico.

Em relação à resposta ovariana, encontramos um aumento estatisticamente significativo no uso de medidas preventivas para SHO no Grupo Intervenção, como uso de análogos agonistas do GnRH para deflagração da ovulação, adiamento da transferência à fresco e congelamento de todos os embriões. À luz da literatura, podemos inferir que a administração de uma dose mais elevada de gonadotrofinas, um conhecido fator de risco para respostas ovarianas elevadas e SHO, provavelmente pode ter sido a causa dessa resposta ovariana alta apresentada por algumas mulheres deste estudo.^(16,56,57) Todos os casos com resposta ovariana alta (15 ou mais óvulos) ou muito alta (20 ou mais óvulos) apresentaram níveis de AMH acima de 1,0 e de 1,5ng/mL, respectivamente. Portanto, considerar o uso de doses diárias mais

baixas de menopausa, como 112,5 ou 75UI, para mulheres com níveis de AMH entre 1,0 e 2,1ng/mL, poderia ser uma boa alternativa em cenários em que a transferência embrionária a fresco seja uma prioridade.

Cabe ressaltar que em nosso meio o uso do agonista do GnRH para deflagrar a ovulação, o adiamento da transferência a fresco e o congelamento de todos os embriões são práticas clínicas não só frequentes e bem aceitas, como rotineiras, não só para a prevenção da SHO. O congelamento de todos os embriões também é indicado em função do PGT, o qual requer o congelamento dos embriões até que se tenha o resultado da análise genética embrionária, e como estratégia para aumentar a receptividade endometrial e reduzir complicações obstétricas, como demonstrado anteriormente na literatura.⁽⁵⁸⁻⁶⁰⁾ Portanto, na decisão clínica entre transferir embriões a fresco ou ter o maior número possível de óvulos, este último pode ser mais desejável no contexto da medicina reprodutiva privada em nosso país. Cabe lembrar que o Grupo Intervenção obteve mais blastocistos (3,1 *versus* 2,42, $p=0,030$) e mais blastocistos de melhor qualidade (1,8 *versus* 1,37, $p=0,017$) disponíveis para transferência, embora isso não tenha aumentado as taxas de gravidez após a primeira transferência de embriões. Contudo, não podemos excluir um aumento nas taxas cumulativas de gravidez após duas ou mais transferências de embriões, desfecho muito relevante para os casais que buscam os tratamentos de reprodução assistida. A tabela adicional 2 localizada no apêndice desta tese traz os resultados da segunda e terceira transferências feitas com os embriões excedentes: o Grupo Intervenção teve mais 11 transferências embrionárias, resultando em 8 gestações, com três nascidos-vivos e uma evolutiva em andamento, até fevereiro de 2024. Essas gestações obtidas pelas pacientes após a segunda e terceira transferências ilustram como obter mais óvulos e mais embriões são um fator importante quando se leva em consideração a taxa cumulativa de gravidez de um ciclo de FIV.

Nosso estudo não foi desenhado para demonstrar possíveis diferenças nos resultados de gravidez, implantação, aborto espontâneo e nascidos-vivos. O único desfecho gestacional com diferença foram as gestações gemelares (16,7 *versus* 0%, $p=0,014$), devido ao maior número de casais que optaram pela transferência de dois blastocistos no Grupo Intervenção (25 *versus* 5,05%, $p<0,001$). Compreendemos aqueles que defendem o uso de nascido-vivo único a termo como desfecho primário ideal em estudos de reprodução assistida.^(61,62) Esse, entretanto, pode não ser o desfecho mais apropriado ou mesmo viável para avaliar intervenções sobre a estimulação ovariana, como a deste estudo. Existem argumentos racionais para isso: (i) entre a

estimulação ovariana e o nascimento do bebê existem muitas variáveis que em nada dependem da estimulação, como a qualidade seminal, as condições do laboratório de FIV, a intenção do casal de transferir dois ou mais embriões, de fazer PGT e até as condições de assistência pré-natal; (ii) o número de indivíduos a serem alocados por grupo para demonstrar diferenças no resultado de nascidos-vivos numa população de baixa reserva pode chegar a 2.000.⁽⁶³⁾ Para ilustrar o quão difícil pode ser realizar pesquisas com esse tamanho amostral em reprodução assistida, o ensaio multicêntrico de fase 3 financiado pela indústria farmacêutica e que serviu como Grupo Controle para este estudo teve 297 mulheres com AMH menor que 2,1ng/mL. Considerando que evidências robustas indicam que a recuperação de mais óvulos após a estimulação ovariana aumenta as taxas de gravidez, o uso de parâmetros de resposta ovariana, como o número de óvulos, é uma estratégia válida e apropriada para evitar as dificuldades listadas acima. Sunkara et al. estudaram mais de 400.000 ciclos de FIV com transferências de embriões a fresco e demonstraram que quanto mais óvulos obtidos entre 1 e 15, independentemente da idade, maiores foram as chances de se obter nascido-vivo.⁽¹⁹⁾ De acordo com os achados de Law et al., com mais de 220.000 ciclos de FIV, e de Polyzos et al., com aproximadamente 15.000 ciclos de FIV, considerando todas as transferências de embriões originadas da mesma estimulação e não apenas a transferência a fresco, quanto mais óvulos foram obtidos, independentemente do número, maiores são as chances de se obter nascido-vivo, em todas as faixas etárias maternas.^(64,65)

Avaliar a relação custo-eficácia de qualquer intervenção médica é um ponto crucial a se discutir. Considerando o cenário brasileiro, estimamos que o custo adicional por paciente no grupo intervenção (medicamentos para estimulação e preparo endometrial devido à estratégia de adiar a transferência e congelar todos os embriões) foi de aproximadamente 6208 reais. Se considerarmos que os casos com embriões excedentes congelados foram mais frequentes no grupo de intervenção (61,9 *versus* 51,9% no braço controle), poderia haver uma redução de custos de cerca de 1.500 reais por paciente devido aos ciclos de FIV que não seriam necessários no caso de não se atingir a gravidez após a primeira transferência. Portanto, a inclusão apenas dos custos supracitados levou a uma despesa adicional no Grupo Intervenção de aproximadamente 4.708 reais por paciente. Contudo, não se pode ignorar a grande carga física e emocional atrelada à realização de um novo ciclo de FIV por mulheres que não tiveram embriões excedentes (48,1% no Grupo Controle *versus* 38,1% no Grupo Intervenção) e que não

engravidaram ou que engravidaram, mas planejavam ter mais de um filho. Esse último cenário, envolvendo planejamento familiar para mais de um filho, poderia levar a economia futura de recursos no Grupo Intervenção. No entanto, cálculos desse tipo são um desafio, dado o envelhecimento ovariano que ocorre dentro de dois anos ou mais a espera para se fazer um novo ciclo de FIV após o término do primeiro ciclo bem-sucedido. Por exemplo, quando as mulheres incluídas neste estudo, que atualmente têm em média 36 anos de idade, retornarem para um novo tratamento, a ausência de embriões congelados e a necessidade de se realizar uma nova estimulação ovariana em um cenário previsivelmente mais desfavorável em função da idade tornam o cenário de cálculo muito complexo. Quanto de recursos a serem despendidos no futuro poderiam ser economizados com uma melhor resposta ovariana no presente?

Nosso estudo apresenta limitações. A primeira é o fato de não ter sido randomizado, o que aumenta o risco da introdução de variáveis de confusão nas análises comparativas entre eles. Utilizamos um grupo controle histórico retrospectivo. Não foi realizado pareamento caso a caso, em função de limitações éticas que limitaram o acesso aos dados do estudo de fase 3 do qual o Grupo Controle foi oriundo, o que fez com que as comparações entre os grupos fossem realizadas de maneira agrupada. Embora tenhamos utilizado os mesmos critérios de inclusão e exclusão do estudo de fase 3 do qual se originou o Grupo Controle, o Grupo Intervenção teve uma AFC menor que o Grupo Controle (9,5 *versus* 11,5, $p=0,007$), o que é relevante para uma estudo sobre estimulação e resposta ovarianas. Assim, uma forma de melhorar a comparação entre as respostas é utilizar índices que relativizem o número de óvulos obtidos em função dos folículos antrais iniciais. Um índice sugerido em publicação prévia por Alviggi et al., é o índice folículo-oócito (FOI = número de óvulos maduros x 100 dividido pelo número de folículos antrais), sendo considerado normal um FOI superior a 50%.⁽⁶⁶⁾ Em nosso estudo, o Grupo Controle Histórico teve um FOI médio de 66%, enquanto o Grupo Intervenção teve um FOI médio de 94%, uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,001$), o que reforça o efeito positivo da intervenção estudada na resposta ovariana.

5 CONCLUSÕES

1. O número de óvulos obtidos foi similar;
2. O nível sérico de estradiol foi mais elevado no Grupo Intervenção;
3. A incidência de resposta ovariana pobre foi similar;
4. A taxa de fertilização foi maior no Grupo Intervenção;
5. O número de zigotos formados foi maior no Grupo Intervenção;
6. Os números de blastocistos, de blastocistos de boa qualidade formados, e de blastocistos transferidos foram maiores no Grupo Intervenção;
7. O número de embriões supranumerários congelados foi similar;
8. As frequências de ocorrência de teste de gravidez positivo, gestação clínica, e de gestação evolutiva foram similares;
9. A frequência de ocorrência de gestação múltipla foi maior no Grupo Intervenção;
10. As frequências de ocorrência de abortamento e de nascido-vivo foram similares;
11. As taxas de implantação e implantação evolutiva foram similares;
12. A frequência de ocorrência de medidas preventivas para prevenção da síndrome de hiperestimulação ovariana foi maior no Grupo Intervenção;
13. A frequência de ocorrência da síndrome de hiperestimulação ovariana foi similar.

6 APRESENTAÇÃO DO ARTIGO

Duarte-Filho OB, Miyadahira EH, Matsumoto L, Yamakami LYS, Tomioka RB, **Podgaec S**. Follitropin delta combined with menotropin in patients at risk for poor ovarian response during in vitro fertilization cycles: a prospective controlled clinical study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2024;22(1):7. doi: 10.1186/s12958-023-01172-9.

7 MÉTRICAS

7.1 Métricas do periódico

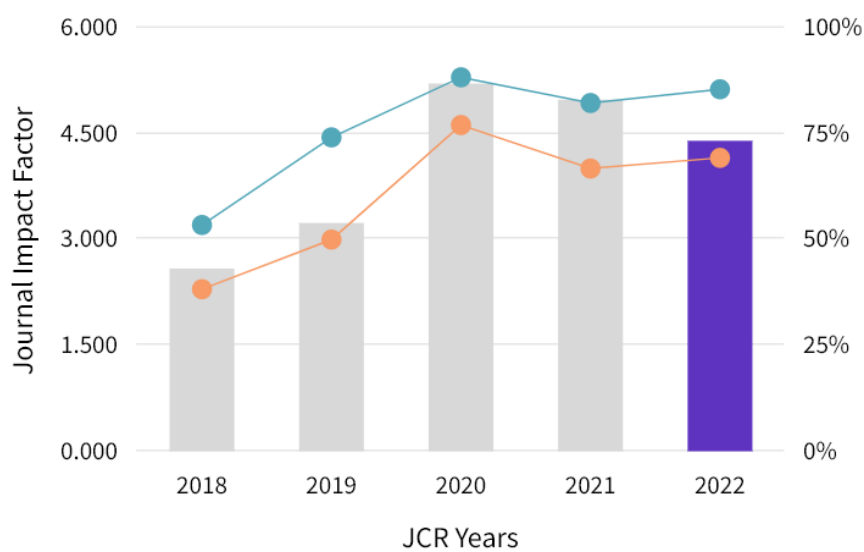
Métricas do periódico nos últimos cinco anos.

7.1.1 Fator de impacto

Periódico: Reproductive Biology and Endocrinology

ISSN: 1477-7827

Fator de impacto 2022: 4.4



Fonte: *Journal Citation Reports*.

7.2 Métricas do artigo

7.2.1 Citações

Há 0 citação para o artigo nas bases de dados *Scopus*, *Web of Science* e *Google Scholar*, e 0 citação em capítulos de livros.

Avaliação realizada em 7 de maio de 2024.

7.2.2 Altimetria

Dados altmétricos coletados em 7 de maio de 2024.

Escore	Variáveis	Quantidade
	Menções em rede	
	X user	1
	Origem das menções	
	Members of the public	1
	Leituras	
	Mendeley	10

7.3 Métricas do autor

7.3.1 Redes científicas

Participação do autor nas redes científicas e seus respectivos endereços eletrônicos, onde o autor registra e disponibiliza suas publicações.

Rede científica	Link para acesso ao perfil
ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8577-6470
Lattes	http://lattes.cnpq.br/6205349644643064
ScopusID	https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57210843806#
Publons/ResearcherID	https://www.webofscience.com/wos/author/record/53905550
ResearchGate	https://www.researchgate.net/profile/Oscar-Duarte-Filho

7.3.2 Trabalhos publicados

Trabalhos publicados e indexados na base de dados referencial *Web of Science*.

Publicações				
Ano	FI	Categoria	Referência	Citações
2024	4.4	Article	Duarte-Filho OB , Miyadahira EH, Matsumoto L, Yamakami LY, Tomioka RB, Podgaec S . Follitropin delta combined with menotropin in patients at risk for poor ovarian response during in vitro fertilization cycles: a prospective controlled clinical study. <i>Reprod Biol Endocrinol</i> . 2024;22(1):7.	0
2021	6.7	Meeting abstract	Yamakami L, Massaia IS, Tomioka R, Lo Turco EG, Duarte OB , Bernarde FR, et al. The secretome of the euploid embryo implantation. <i>Fertil Steril</i> . 2021;116(3):E146-7.	0
2021	1.4	Article	Duarte-Filho OB , Podgaec S . Freeze-all policy for in vitro fertilization in women with normal response to ovarian stimulation. <i>Einstein (Sao Paulo)</i> . 2021;19:eAO6290.	2
2019	1.2	Article	Duarte-Filho OB , Bianchi PH, Lobel AL, Peregrino PF, Piccinato CA, Podgaec S . Assisted reproductive technologies in Latin America and Europe: a comparative analysis of reported databases for 2013. <i>Rev Bras Ginecol Obstet</i> . 2019;41(8):493-9.	1

7.3.3 Mediana do fator de impacto dos trabalhos publicados

Fator de impacto das publicações	Mediana
4.4	2.9
6.7	
1.4	
1.2	

7.3.4 Citações recebidas

Publicações x Citações		
Ano	Publicações	Citações
2024	1	0
2021	2	2
2019	1	1
Total	4	3

7.3.5 H-index e m-quociente

Cálculo do h-index	
Tópicos	Dados
Quantidade de publicações	4
Soma do número de citações	3
Artigos que receberam citações	2
Média de citações por item	0,75
h-index	2

Cálculo do m-quociente		
h-index	2	0,66
Número de anos de publicação	3	

Publicações				
Ano	FI	Categoria	Referência	Citações
2019	1.2	Article	Duarte-Filho OB , Bianchi PH, Lobel AL, Peregrino PF, Piccinato CA, Podgaec S . Assisted reproductive technologies in Latin America and Europe: a comparative analysis of reported databases for 2013. Rev Bras Ginecol Obstet. 2019;41(8):493-9.	1
2021	1.4	Article	Duarte-Filho OB , Podgaec S . Freeze-all policy for in vitro fertilization in women with normal response to ovarian stimulation. einstein (São Paulo). 2021;19:eAO6290.	2
2024	4.4	Article	Duarte-Filho OB , Miyadahira EH, Matsumoto L, Yamakami LY, Tomioka RB, Podgaec S . Follitropin delta combined with menotropin in patients at risk for poor ovarian response during in vitro fertilization cycles: a prospective controlled clinical study. Reprod Biol Endocrinol. 2024;22(1):7.	0
2021	6.7	Meeting abstract	Yamakami L, Massaia IS, Tomioka R, Lo Turco EG, Duarte OB , Bernarde FR, et al. The secretome of the euploid embryo implantation. Fertil Steril. 2021;116(3):E146-7.	0

8 ANEXO

Anexo 1. Classificação da síndrome de hiperestimulação ovariana

Tabela adicional 1. Classificação da síndrome de hiperestimulação ovariana

Categoria	Descrição
Leve	
Grau 1	Distensão e desconforto abdominal
Grau 2	Grau 1 + náusea, vômito e/ou diarreia Diâmetro dos ovários entre 5 e 12cm
Moderada	
Grau 3	Grau 2 + sinais de ascite na ultrassonografia
Grave	
Grau 4	Grau 3 + ascite clínica ou hidrotórax ou dispneia
Grau 5	Grau 4 + hipovolemia, hemoconcentração, coagulopatia, alteração de perfusão/ função renal

Fonte: Traduzido e adaptado de Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. Obstet Gynecol Surv. 1989;44(6):430-40.⁽⁶⁷⁾

Golan A, Weissman A. Symposium: update on prediction and management of OHSS. A modern classification of OHSS. Reprod Biomed Online. 2009;19(1):28-32.⁽⁶⁸⁾

9 REFERÊNCIAS

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020;113(3):533-5.
2. Center for Disease Control and Prevention. Reproductive health: infertility. Center for Disease Control and Prevention; 2024 [cited 2024 Mar 30]. Available from: <https://www.cdc.gov/reproductivehealth/infertility/>
3. Ray A, Shah A, Gudi A, Homburg R. Unexplained infertility: an update and review of practice. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(6):591-602.
4. Leke RJ, Oduma JA, Bassol-Mayagoitia S, Bacha AM, Grigor KM. Regional and geographical variations in infertility: effects of environmental, cultural, and socioeconomic factors. *Environ Health Perspect*. 1993;101 Suppl 2:73-80.
5. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and management of infertility: a review. *JAMA*. 2021;326(1):65-76.
6. Palomba S, Viganò P, Chamayou S, Donarelli Z, Costantini MP, Marci R, et al.; and the SIRU Working Group on Italian Guideline for Infertility. Diagnosis and management of infertility: NICE-adapted guidelines from the Italian Society of Human Reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2024;22(1):9.
7. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Hum Reprod*. 2017;32(9):1786-801.
8. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev*. 2006;27(2):170-207.
9. Smits J, Devroey P, Braeckmans P, Camus M, Khan I, Staessen C, et al. Management of failed cycles in an IVF/GIFT programme with the combination of a GnRH analogue and HMG. *Hum Reprod*. 1987;2(4):309-14.
10. Huirne JA, Lambalk CB, van Loenen AC, Schats R, Hompes PG, Fauser BC, et al. Contemporary pharmacological manipulation in assisted reproduction. *Drugs*. 2004;64(3):297-322.
11. Farquhar C, Marjoribanks J. Assisted reproductive technology: an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;8(8):CD010537.
12. Goldberg JM, Falcone T, Attaran M. In vitro fertilization update. *Cleve Clin J Med*. 2007;74(5):329-38.
13. Shi W, Zhang S, Zhao W, Xia X, Wang M, Wang H, et al. Factors related to clinical pregnancy after vitrified-warmed embryo transfer: a retrospective and multivariate logistic regression analysis of 2313 transfer cycles. *Hum Reprod*. 2013;28(7):1768-75.
14. Shi Y, Sun Y, Hao C, Zhang H, Wei D, Zhang Y, et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med*. 2018;378(2):126-36. Erratum in: *N Engl J Med*. 2021;385(19):1824.
15. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2015(7):CD009154.

16. 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.
17. Mourad S, Brown J, Farquhar C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;1(1):CD012103.
18. Zhou J, Wang B, Hu Y, Sun H. Association between the number of oocytes retrieved and cumulative live birth rate in women aged 35-40 years undergoing long GnRH agonist IVF/ICSI cycles. *Arch Gynecol Obstet*. 2017;296(5):1005-12.
19. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2011;26(7):1768-74.
20. Hillier SG, Afnan AM, Margara RA, Winston RM. Superovulation strategy before in vitro fertilization. *Clin Obstet Gynaecol*. 1985;12(3):687-723.
21. Kamath MS, Maheshwari A, Bhattacharya S, Lor KY, Gibreel A. Oral medications including clomiphene citrate or aromatase inhibitors with gonadotropins for controlled ovarian stimulation in women undergoing in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;11(11):CD008528.
22. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update*. 2014;20(1):124-40.
23. Caillon H, Fréour T, Bach-Ngohou K, Colombel A, Denis MG, Barrière P, et al. Effects of female increased body mass index on in vitro fertilization cycles outcome. *Obes Res Clin Pract*. 2015;9(4):382-8.
24. Koechling W, Plaksin D, Croston GE, Jeppesen JV, Macklon KT, Andersen CY. Comparative pharmacology of a new recombinant FSH expressed by a human cell line. *Endocr Connect*. 2017;6(5):297-305.
25. Olsson H, Sandström R, Grundemar L. Different pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) derived from a human cell line compared with rFSH from a non-human cell line. *J Clin Pharmacol*. 2014;54(11):1299-307.
26. Leão RB, Esteves SC. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69(4):279-93.
27. Nyboe Andersen A, Nelson SM, Fauser BC, García-Velasco JA, Klein BM, Arce JC; ESTHER-1 study group. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. *Fertil Steril*. 2017;107(2):387-96.e4.
28. Iliodromiti S, Salje B, Dewailly D, Fairburn C, Fanchin R, Fleming R, et al. Non-equivalence of anti-Müllerian hormone automated assays-clinical implications for use as a companion diagnostic for individualised gonadotrophin dosing. *Hum Reprod*. 2017;32(8):1710-5.
29. Doroftei B, Ilie OD, Dabuleanu AM, Diaconu R, Maftei R, Simionescu G, et al. Follitropin delta as a state-of-the-art incorporated companion for assisted reproductive procedures: a two year observational study. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(4):379.
30. Arce JC, Larsson P, García-Velasco JA. Establishing the follitropin delta dose that provides a comparable ovarian response to 150 IU/day follitropin alfa. *Reprod Biomed Online*. 2020;41(4):616-22.

31. Lensen SF, Wilkinson J, Leijdekkers JA, La Marca A, Mol BWJ, Marjoribanks J, et al. Individualised gonadotropin dose selection using markers of ovarian reserve for women undergoing in vitro fertilisation plus intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2(2):CD012693. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2024;1:CD012693.
32. Alviggi C, Clarizia R, Mollo A, Ranieri A, De Placido G. Who needs LH in ovarian stimulation? *Reprod Biomed Online*. 2011;22 Suppl 1:S33-41.
33. Polyzos NP, De Vos M, Corona R, Vloeberghs V, Ortega-Hrepich C, Stoop D, et al. Addition of highly purified HMG after corifollitropin alfa in antagonist-treated poor ovarian responders: a pilot study. *Hum Reprod*. 2013;28(5):1254-60.
34. Papaleo E, Vanni VS, Viganò P, La Marca A, Pagliardini L, Vitrano R, et al. Recombinant LH administration in subsequent cycle after "unexpected" poor response to recombinant FSH monotherapy. *Gynecol Endocrinol*. 2014;30(11):813-6.
35. Mochtar MH, Danhof NA, Ayeleke RO, Van der Veen F, van Wely M. Recombinant luteinizing hormone (rLH) and recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;5(5):CD005070.
36. Gizzo S, Andrisani A, Noventa M, Manfè S, Oliva A, Gangemi M, et al. Recombinant LH supplementation during IVF cycles with a GnRH-antagonist in estimated poor responders: a cross-matched pilot investigation of the optimal daily dose and timing. *Mol Med Rep*. 2015;12(3):4219-29.
37. Shimon I, Rubinek T, Bar-Hava I, Nass D, Hadani M, Amsterdam A, et al. Ovarian hyperstimulation without elevated serum estradiol associated with pure follicle-stimulating hormone-secreting pituitary adenoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3635-40.
38. Liu YX, Hsueh AJ. Synergism between granulosa and theca-interstitial cells in estrogen biosynthesis by gonadotropin-treated rat ovaries: studies on the two-cell, two-gonadotropin hypothesis using steroid antisera. *Biol Reprod*. 1986;35(1):27-36.
39. Mannaerts B, de Leeuw R, Geelen J, Van Ravestein A, Van Wezenbeek P, Schuurs A, et al. Comparative in vitro and in vivo studies on the biological characteristics of recombinant human follicle-stimulating hormone. *Endocrinology*. 1991;129(5):2623-30.
40. Hillier SG, Whitelaw PF, Smyth CD. Follicular oestrogen synthesis: the 'two-cell, two-gonadotrophin' model revisited. *Mol Cell Endocrinol*. 1994;100(1-2):51-4.
41. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 1950;3(1):32-5.
42. Wan X, Wang W, Liu J, Tong T. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:135.
43. Wright TC Jr, Stoler MH, Behrens CM, Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206(1):46.e1-46.e11.
44. Wickham H. *Ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer: New York; 2009.
45. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):494-510.

46. Bissonnette F, Minano Masip J, Kadoch IJ, Librach C, Sampalis J, Yuzpe A. Individualized ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, open label, exploratory study with a mixed protocol of follitropin delta and highly purified human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril*. 2021;115(4):991-1000.
47. Blockeel C, Griesinger G, Rago R, Larsson P, Sonderegger YL, Rivière S, et al. Prospective multicenter non-interventional real-world study to assess the patterns of use, effectiveness and safety of follitropin delta in routine clinical practice (the PROFILE study). *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:992677.
48. Arce JC, Andersen AN, Fernández-Sánchez M, Visnova H, Bosch E, García-Velasco JA, et al. Ovarian response to recombinant human follicle-stimulating hormone: a randomized, antimüllerian hormone-stratified, dose-response trial in women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2014;102(6):1633-40.e5.
49. Bosch E, Nyboe Andersen A, Barri P, García-Velasco JA, de Sutter P, Fernández-Sánchez M, et al. Follicular and endocrine dose responses according to anti-Müllerian hormone levels in IVF patients treated with a novel human recombinant FSH (FE 999049). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;83(6):902-12.
50. Alper MM, Fauser BC. Ovarian stimulation protocols for IVF: is more better than less? *Reprod Biomed Online*. 2017;34(4):345-53.
51. Blumenfeld Z. Why more is less and less is more when it comes to ovarian stimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(12):1713-9.
52. Borges E Jr, Zanetti BF, Setti AS, Braga DP, Figueira RC, Iaconelli A Jr. FSH dose to stimulate different patient' ages: when less is more. *JBRA Assist Reprod*. 2017;21(4):336-42.
53. Pal L, Jindal S, Witt BR, Santoro N. Less is more: increased gonadotropin use for ovarian stimulation adversely influences clinical pregnancy and live birth after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008;89(6):1694-701.
54. Bosch E, Havelock J, Martin FS, Rasmussen BB, Klein BM, Mannaerts B, et al.; ESTHER-2 Study Group. Follitropin delta in repeated ovarian stimulation for IVF: a controlled, assessor-blind Phase 3 safety trial. *Reprod Biomed Online*. 2019;38(2):195-205.
55. Sperduti S, Paradiso E, Anzivino C, Lazzaretti C, Limoncella S, D'Alessandro S, et al. LH increases the response to FSH in granulosa-lutein cells from sub/poor-responder patients in vitro. *Hum Reprod*. 2023;38(1):103-12.
56. D'Angelo A, Amso N. "Coasting" (withholding gonadotrophins) for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(3):CD002811. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(2):CD002811.
57. Nardo LG, Bosch E, Lambalk CB, Gelbaya TA. Controlled ovarian hyperstimulation regimens: a review of the available evidence for clinical practice. Produced on behalf of the BFS Policy and Practice Committee. *Hum Fertil (Camb)*. 2013;16(3):144-50.
58. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012;98(2):368-77.e1-9.

59. Levi Setti PE, Albani E, Morengi E, Morreale G, Delle Piane L, Scaravelli G, et al. Comparative analysis of fetal and neonatal outcomes of pregnancies from fresh and cryopreserved/thawed oocytes in the same group of patients. *Fertil Steril*. 2013;100(2):396-401.
60. Moreno-Sepulveda J, Espinós JJ, Checa MA. Lower risk of adverse perinatal outcomes in natural versus artificial frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2021;42(6):1131-45.
61. Barnhart KT. Live birth is the correct outcome for clinical trials evaluating therapy for the infertile couple. *Fertil Steril*. 2014;101(5):1205-8.
62. Wang R, Chen ZJ, Vuong LN, Legro RS, Mol BW, Wilkinson J. Large randomized controlled trials in infertility. *Fertil Steril*. 2020;113(6):1093-9.
63. Wang Z, Cantineau AE, Hoek A, van Eekelen R, Mol BW, Wang R. Live birth is not the only relevant outcome in research assessing assisted reproductive technology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2023;86:102306.
64. Law YJ, Zhang N, Venetis CA, Chambers GM, Harris K. The number of oocytes associated with maximum cumulative live birth rates per aspiration depends on female age: a population study of 221 221 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2019;34(9):1778-87.
65. Polyzos NP, Drakopoulos P, Parra J, Pellicer A, Santos-Ribeiro S, Tournaye H, et al. Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including ~15,000 women. *Fertil Steril*. 2018;110(4):661-70.e1.
66. Alviggi C, Conforti A, Esteves SC, Vallone R, Venturella R, Staiano S, et al. Understanding ovarian hypo-response to exogenous gonadotropin in ovarian stimulation and its new proposed marker-the follicle-to-oocyte (FOI) index. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:589.
67. Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv*. 1989;44(6):430-40.
68. Golan A, Weissman A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. A modern classification of OHSS. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(1):28-32.

Abstract

Introduction: The use of the dose-defining algorithm proposed by the manufacturer of follitropin delta limits the maximum daily dose of the drug to 12 mcg for the first cycle of ovarian stimulation for in vitro fertilization. This dose may be insufficient for patients with serum anti-müllerian hormone levels below 2.1 ng/mL. **Purpose:** This study aimed to assess whether 150IU of menotropin combined with follitropin delta improves the ovarian response to stimulation in women in in vitro fertilization cycles with serum antimüllerian hormone levels less than 2.1ng/mL. **Methods:** This study involved a prospective Intervention Group of 44 women who received 12mcg of follitropin delta combined with 150IU of menotropin from the beginning of stimulation and a retrospective Control Group of 297 women who received 12mcg of follitropin delta alone during the phase 3 study of this drug. The inclusion and exclusion criteria and other treatment and follow-up protocols in the two groups were similar. The pituitary suppression was achieved by administering a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist. Ovulation triggering with human chorionic gonadotropin or GnRH agonist and the option of transferring fresh embryos or using freeze-all strategy were made according to the risk of developing ovarian hyperstimulation syndrome. **Results:** Women who received follitropin delta combined with menotropin had higher estradiol levels on trigger day (2150 *versus* 1373pg/mL, $p<0.001$), more blastocysts (3.1 *versus* 2.4, $p=0.003$) and more top-quality blastocysts (1.8 *versus* 1.3, $p=0.017$). No difference was observed in pregnancy, implantation, miscarriage, and live birth rates after the first embryo transfer. The incidence of ovarian hyperstimulation syndrome did not differ between the groups. However, preventive measures for the syndrome were more frequent in the group using both drugs than in the Control Group (13.6 *versus* 0.6%, $p<0.001$). **Conclusions:** In women with serum antimüllerian hormone levels less than 2.1ng/mL, the administration of 150IU of menotropin combined with 12µg of follitropin delta improved the ovarian response, making it a valid therapeutic option in situations where ovulation triggering with a GnRH agonist and freeze-all embryos strategy can be used routinely.

ReBEC Identifier: U1111-1247-3260

Keywords: Fertilization in vitro; Ovulation induction; Follicle stimulating hormone; Menotropins; Ovarian reserve

Apêndice

Apêndice 1. Descrição completa das características da amostra

Tabela adicional 1. Características da amostra

Caraterísticas da amostra	n (%)
Idade à coleta (anos)	
Média (desvio padrão)	35,8 (3,4)
Mínimo - Máximo	24,8 - 39,6
Mediana [Quartis]	36,7 [34,2;38,6]
Distribuição das idades	
<35 anos	15 (34,1)
35 – 37 anos	14 (31,8)
38 – 40 anos	15 (34,1)
Causa da infertilidade	
Tubária	19 (52,8)
Inexplicada	8 (18,2)
Endometriose estágio I/II	5 (13,9)
Fator masculino	16 (44,4)
Tipo de sêmen utilizado	
Coleta à fresco (parceiro)	41 (93,2)
Congelado (parceiro)	0 (0)
Congelado (doador)	3 (6,8)
Tempo de infertilidade (em meses)	
Média (desvio padrão)	58,2 (38,2)
Mínimo - Máximo	6 - 180
Mediana [Quartis]	48 [30;78]
Dosagem de AMH (ng/mL)	
Média (desvio padrão)	1,2 (0,5)
Mínimo - Máximo	0,2 - 2
Mediana [Quartis]	1,3 [0,7;1,6]
Peso (Kg)	
Média (desvio padrão)	70,4 (11,5)
Mínimo - Máximo	51 - 92
Mediana [Quartis]	69,5 [60,5;81]
Estatura (cm)	
Média (desvio padrão)	164,6 (6,5)
Mínimo - Máximo	150 - 180
Mediana [Quartis]	165 [160,5;169]
IMC (Kg/m ²)	
Média (desvio padrão)	25,9 (3,2)
Mínimo - Máximo	19,5 - 31,6
Mediana [Quartis]	25,8 [23,6;28,5]
Etnia	
Branca	26 (59,1)
Parda ou preta	16 (36,4)

continua...

...continuação

Amarela	2 (4,5)
Estado civil	
Casado ou união estável	44 (100)
Solteiro	0 (0)
Separado	0 (0)
Divorciado	0 (0)
Viúvo	0 (0)
Escolaridade (fundamental: 1ª a 9ª série; médio: 1º ao 3º ano)	
Analfabeto	1 (2,3)
Ensino fundamental incompleto	0 (0)
Ensino fundamental completo	1 (2,3)
Ensino médio incompleto	1 (2,3)
Ensino médio completo	13 (29,5)
Ensino superior incompleto	2 (4,5)
Ensino superior completo	26 (59,1)
Pós-graduação	0 (0)
Renda familiar (em salários-mínimos):	
Até 2	1 (2,3)
De 2 a 4	6 (13,6)
De 4 a 10	26 (59,1)
De 10 a 20	9 (20,5)
Acima de 20	2 (4,5)

n=44.

Tabela adicional 2. Desfechos das transferências embrionárias subsequentes

ID	Número total de transferências embrionárias	Data da segunda transferência embrionária	Número de blastocistos transferidos	Número de blastocistos de boa qualidade transferidos	Teste de gravidez	Saco gestacional	Batimento cardíaco	Desfecho da gravidez	Data da terceira transferência embrionária	Número blastocistos transferidos	Número de blastocistos de boa qualidade transferidos	Teste de gravidez	Saco gestacional	Batimento cardíaco	Desfecho da gravidez
2	3	17/11/2020	2	2	Positivo	Não	-	Bioquímica	05/05/2021	2	2	Positivo	Sim	Sim	Nascido-vivo
6	2	16/09/2022	1	1	0	-	-	Negativo	-	-	-	-	-	-	-
18	3	02/01/2021	2	2	0	-	-	Negativo	08/04/2021	2	0	Positivo	Não	-	Bioquímica
20	2	27/11/2020	1	1	Positivo	Não	-	Bioquímica	-	-	-	-	-	-	-
21	2	14/04/2023	2	2	Positivo	Sim	Sim	Nascido-vivo	-	-	-	-	-	-	-
24	2	21/02/2022	2	2	Positivo	Sim	Sim	Nascido-vivo	-	-	-	-	-	-	-
36	2	28/08/2021	1	1	0	-	-	Negativo	-	-	-	-	-	-	-
82	2	13/08/2022	1	1	Positivo	Sim (2)	Sim (2)	Abortamento	-	-	-	-	-	-	-
97	2	28/09/2023	1	1	Positivo	Sim	Sim	Evolutiva	-	-	-	-	-	-	-

Atualizado em fevereiro de 2024.