

# Reprodução & Climatério

A revista REPRODUÇÃO & CLIMATÉRIO, anteriormente denominada REPRODUÇÃO, é órgão oficial de divulgação da SBRH, SOBRAGE e SOBRAC. Está registrada sob nº ISSN 1413-2087, e indexada no Index Medicus Latino Americano. Sua distribuição se faz a todos os sócios das sociedades participantes e aos principais serviços universitários da América Latina.

## Editor:

*Mario Cavagna*

## Editores Associados

*Eduardo Pandolfi Passos*

*João Sabino Pinho Neto*

*Paulo Spinola*

## Editores Anteriores

Araken Irerê Pinto  
Dirceu Mendes Pereira  
Edmund Chada Baracat

Nelson Vitielo  
Nilson Donadio  
Nilson Roberto de Melo

Newton Eduardo Busso  
Rui Alberto Ferriani  
Marcos Felipe Silva de Sá

## Conselho Editorial

Aarão Mendes Pinto Neto, Campinas, SP  
Agnaldo Pereira Cedenho, São Paulo, SP  
Alberto Soares Pereira Filho, Rio de Janeiro, RJ  
Alkindar Soares, Rio de Janeiro, RJ  
Almir Antonio Urbanetz, Curitiba, PR  
Álvaro Petracco, Porto Alegre, RS  
Anaglória Pontes, Botucatu, SP  
Angela Maggio da Fonseca, São Paulo, SP  
Aroldo Fernando Camargos, Belo Horizonte, MG  
Artur Dzik, São Paulo, SP  
César Eduardo Fernandes, São Paulo, SP  
Edmund Chada Baracat, São Paulo, SP  
Eduardo Leme Alves da Motta, São Paulo, SP  
Elsimar Metzger Coutinho, Salvador, BA

Fernando Freitas, Porto Alegre, RS  
Gilberto Costa Freitas, São Paulo, SP  
Hans Wolfgang Halbe, São Paulo, SP  
Hugo Maia Filho, Salvador, BA  
João Carlos Mantese, São Paulo, SP  
José Carlos de Lima, Recife, PE  
José Mendes Aldrighi, São Paulo, SP  
Lucas Vianna Machado, Belo Horizonte, MG  
Marco Aurélio Albernaz, Goiânia, GO  
Marcos Felipe Silva de Sá, Ribeirão Preto, SP  
Maria Celeste Osório Wender, Porto Alegre, RS  
Marta Finotti, Goiânia, GO  
Maurício Simões Abrão, São Paulo, SP

Newton Eduardo Busso, São Paulo, SP  
Nilson Roberto de Melo, São Paulo, SP  
Polimara Spritzer, Porto Alegre, RS  
Ricardo Baruffi, Ribeirão Preto, SP  
Ricardo Melo Marinho, Belo Horizonte, MG  
Rogério Bonassi Machado, São Paulo, SP  
Ronald Bossemeyer, Santa Maria, RS  
Rosaly Rulli Costa, Brasília, DF  
Rui Alberto Ferriani, Ribeirão Preto, SP  
Sebastião Freitas de Medeiros, Cuiabá, MT  
Selmo Geber, Belo Horizonte, MG  
Sonia Maria Rolim Rosa Lima, São Paulo, SP  
Wagner José Gonçalves, São Paulo, SP

## Editoração e Impressão

Ponto Comunicação & Editora S/C Ltda.

Rua Pedro de Lucena, nº 64 - São Paulo - SP - Cep 03113-080

Fone: 0800-7723023 - E-mail: atendimento@pontoline.com.br



# Sociedade Brasileira de Reprodução Humana

Av. Jandira, 257 conj. 146 – CEP: 04080-001 – São Paulo - SP

Tel.: (11) 5055-6494 / 5055-2438

E-mail: sbrh@terra.com.br Site: www.sbrh.org.br

## Diretoria Biênio 2007-2008

### **Presidente**

Dr. Dirceu Henrique Mendes Pereira

### **Secretário Executivo**

Dr. Artur Dzik

### **Tesoureiro - Adjunto**

Dr. Marcelino Hofmeister Poli

### **1º Vice-Presidente**

Dr. Sebastião de Freitas Medeiros

### **Secretário Adjunto**

Dr. Claudio Barros Leal

### **Diretora Científica**

Claudete Reggiani

### **2º Vice-Presidente**

Ricardo Mello Marinho

### **Tesoureira - Geral**

Dra. Nilka Fernandes Donadio

### **Presidente do Conselho de Delegados**

Waldemar Naves do Amaral

## Delegados da SBRH – Biênio 2007-2008

AC – JULIO EDUARDO GOMES PEREIRA

AL – FABIO CASTANHEIRA

AM – LOURIVALDO RODRIGUES DE SOUSA

AP – ALJERRY DIAS DO REGO

BA – KARINA DE SÁ ADAMI GONÇALVES

CE – MARCELO BORGES CAVALCANTE

DF – HITOMI MIURANAKAGAVA

ES – JULES WHYTE SOARES SOUSA

GO – MARIO APROBATO

MA – LUCIANE MARIA OLIVEIRA BRITO

MG – TULIO TADEU MARCOLINI

MS – ALEX BORTOTTO GARCIA

MT – MARCIA MARLY WINCK YAMAMOTO

PA – NELSON LUIZ DE OLIVEIRA SANTOS

PB – RICARDO LUCENA RAMOS

PE – VILMA GUIMARÃES DE MENDONÇA

PI – JOAQUIM CASTELO BRANCO BARROS

PR – JAIME KULAK

RJ – MARIA DO CARMO BORGES DE SOUZA

RN – GEORGE DANTAS DE AZEVEDO

RO – MARINES RODRIGUES SANTOS CESAR

RR – JOSÉ ANTONIO NASCIMENTO FILHO

RS – MARIA CELESTE OSORIO WENDER

SC – UBIRATAN CUNHA BARBOSA

SE – GEORGE HAMILTON CALDAS SILVEIRA

SP – VILMON DE FREITAS

TO – ADRIANO HOHL

<b>Editorial</b>		04
------------------	--	----

---

## Atualização

<b>Acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera) e osteoporose</b>	Paulo G. Spinola	05
--	------------------	----

Medroxiprogesterone acetate (Depo-Provera) and osteoporosis

*O autor faz uma revisão sobre a osteoporose e a ação do acetato de medroxiprogesterona, analisando as conseqüências de seu emprego como contraceptivo sobre o metabolismo ósseo.*

<b>O papel do hormônio anti-Mulleriano na determinação da reserva ovariana</b>	Dirceu H. Mendes Pereira Felipe Cavagna	08
--	--	----

The role of anti-Mullerian hormone in the assessment of ovarian reserve

*Os autores revisam o papel do hormônio anti-Mulleriano na determinação da reserva ovariana.*

---

## Trabalhos Originais

<b>Comparação entre menotropina, menotropina altamente purificada e folitropina alfa para hiperestimulação ovariana controlada após supressão hipofisária nos ciclos de ICSI</b>	Sandro C. Esteves Sidney Verza Jr. Alecsandra P. Gomes Danielle T. Schneider Silval F.C. Zabaglia	10
--	---	----

A comparison of menotropin, highly-purified menotropin and follitropin alfa for controlled ovarian stimulation after pituitary down-regulation in ICSI cycles

*Os autores observam que 45,2% e 19,8% mais gonadotrofina é necessária para obter cada nascido vivo quando a estimulação ovariana é realizada com menotropina ou menotropina altamente purificada, respectivamente, em relação à folitropina alfa.*

<b>Baixa resposta ovariana: FIV convencional ou ICSI?</b>	Aparecida S. Canha Sara Nacheff Jonathas B. Soares Gilberto C. Freitas Artur Dzik Mario Cavagna	18
---	--	----

Poor ovarian response: conventional IVF or ICSI?

*Os autores comparam os resultados da FIV convencional e da ICSI em pacientes más respondedoras.*

<b>Sistema ABO e infertilidade</b>	Patrícia Carvalho Garcia Carlos Eduardo Rubio Colaúto Anaglória Pontes Eliana Milanesi Rubio	21
------------------------------------	---	----

Infertility and blood group ABO system

*A incompatibilidade ABO pode ser um fator contribuinte para a infertilidade, fato evidenciado pelo aumento significativo da incidência de casais ABO incompatíveis no grupo de casais inférteis.*

<b>Polimorfismo do gene do receptor de insulina (INSR) em pacientes com síndrome dos ovários policísticos</b>	Maria Fernanda Moreira Ferraz Priscila Daniela Ramos Cirilo Silvia Regina Rogatto Claudia Aparecida Rainho Técia Maria de Oliveira Maranhão Anaglória Pontes	24
---	---	----

Polymorphism of the insulin receptor gene (INSR) in patients with polycystic ovary syndrome

*O polimorfismo de nucleotídeo único (C/T e T/T) do gene INSR, apresenta frequência semelhante na síndrome dos ovários policísticos comparada à mulheres normais e não influencia a sensibilidade à insulina e o hiperandrogenismo .*

---

## Opinião

<b>Doação compartilhada de óvulos: reflexões bioéticas.</b>	Affonso Renato Meira	29
---	----------------------	----

Shared egg donation: bioethical reflections.

*São considerados aspectos éticos e legais da doação compartilhada de óvulos.*

---

<b>Instruções aos Autores</b>		32
-------------------------------	--	----

## O ciclo natural em reprodução assistida

Neste final de ano haverá a realização, em Londres, do primeiro Congresso Mundial de Ciclo Natural e Estimulação Mínima em FIV, patrocinado pela recém-criada ISNAR (International Society of Natural Cycle Assisted Reproduction). Vários fatores parecem contribuir para essa volta às origens, entre eles o alto custo dos procedimentos de reprodução assistida, em parte determinado pelos medicamentos estimulantes da ovulação, e a tendência favorável à transferência de embrião único, com o objetivo de se reduzir as taxas de gestação múltipla. Há, na literatura, numerosas publicações relatando a experiência com ciclo natural em FIV. Entre as dificuldades do ciclo natural, de acordo com nossa experiência de mais de 300 ciclos, citamos a monitorização adequada do ciclo, a detecção da onda endógena de LH, e a possibilidade de se realizar a aspiração folicular em horários inconvenientes. Além disso, não raras vezes, verificávamos que, por ocasião da coleta oocitária, a rotura folicular já havia ocorrido. Esses fatores sempre contribuíram para que as taxas de gravidez por ciclo iniciado fossem baixas, embora a gravidez por transferência pudesse alcançar percentuais bastante aceitáveis. O advento do emprego rotineiro dos antagonistas do GnRH veio dar novo alento ao ciclo natural, chamado então de ciclo minimamente estimulado. Utilizando-se o antagonista na vigência de um folículo dominante, e mantendo seu crescimento com dose baixa de FSH ou hMG, facilitamos a monitorização e eliminamos o problema da onda endógena do LH e da rotura inesperada do folículo dominante, sem que os custos do procedimento se alterem de modo significativo. Consideramos que as principais indicações para o ciclo natural e (ou) minimamente estimulado, estejam em pontos extremos: a primeira delas seria nas pacientes jovens, de ótimo prognóstico para gravidez, onde a transferência de um único embrião poderia levar a boas taxas de sucesso; a outra seria nas más respondedoras, onde altas doses de gonadotropinas levariam ao desenvolvimento de poucos folículos. Nesse último caso, as vantagens seriam inegáveis quando se analisa o custo/benefício do ciclo natural.

De qualquer forma, a realização de congresso internacional voltado a este tema, e a criação da ISNAR, capitaneada por um especialista do porte de René Frydman, sugerem que o ciclo natural volta a ter papel preponderante nas técnicas de reprodução assistida.

**Mario Cavagna**

# Acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera) e osteoporose

Medroxiprogesterone acetate (Depo-Provera) and osteoporosis

Paulo G. Spinola

## RESUMO

O acetato de medroxiprogesterona (DMPA) é empregado como método contraceptivo altamente eficaz e largamente disponível. Atualmente, ainda há questionamentos sobre a influência do Depo Provera sobre a densidade óssea. O autor relata que o grau de perda óssea, bem como evidências de que o tecido ósseo pode ser recuperado, e a semelhança com a perda óssea benigna associada à lactação, sugerem que o uso do DMPA não deve ser limitado por essa preocupação, e que a suplementação estrogênica não está indicada.

**UNITERMOS:** acetato de medroxiprogesterona, osteoporose.

## Introdução

Injectable contraceptives are chemical derivatives of the natural hormones progesterone, testosterone and estradiol and fulfill many of the features of an ideal contraceptive. They are highly effective, long-acting, simple to use, non-invasive, reversible, unrelated to coitus, need minimal motivation and are relatively inexpensive. It is estimated that about 16 million women worldwide use injectable contraceptives to regulate their fertility. The most widely used injectable is Depo-Provera, which is used by more than 13 million women.<sup>1</sup>

Depo-Provera was first used in humans in 1960 for the prevention of premature labour, given in doses as high as 1-4 g per injection. It was soon recognized that many women who were treated during pregnancy remained infertile for many months afterwards.<sup>2</sup> This led to the recognition of Depo Provera's contraceptive properties, and clinical contraceptive trials were started in 1963. The first reports appeared in 1966<sup>3</sup>, indicating a very high effectiveness in preventing pregnancy, and the product has since become popular as a contraceptive.

## Bone Mineral Density

Loss of bone mass with age is a universal phenomenon and is more pronounced in women than in men. Factors

influencing bone formation and resumption have been extensively studied. There is consistent evidence to support a causal relationship between estrogen deprivation and osteoporosis. Given this causal association between estrogen deficiency and rate of bone loss, a relationship between steroid contraception and bone density cannot be ruled out. Nowadays, the main controversy over Depo Provera has arisen out of its relationship to the risk of bone density. Questions have been raised about the effects of progestogen-only contraceptive use on fracture risk and bone mineral density (BMD), particularly among young women who have not yet reached peak bone mass and among perimenopausal women who may be starting to lose bone mass. Concern is greatest for women using depot-medroxiprogesterone acetate (DMPA) due to its relatively hypoestrogenic effect. A systematic review published in 2001 reviewed 10 cross-sectional and 7 longitudinal studies and concluded that mean BMD was lower in DMPA users than in non-users, but that the difference was within 1 SD from the nonusers.<sup>4</sup> Results from that review for Norplant use were conflicting. In addition to concern about bone loss, a key issue is whether women can regain sufficient bone mass after discontinuing use of progestogen-only contraceptives.

Very recently, another systemic review published in 2006 concluded that depot medroxiprogesterone acetate users have lower BMD than nonusers, but deficits are usually within 1 SD of the mean of nonusers, so the clinical significance of these findings is unclear. The differences in BMD among adults were almost completely due to decreased BMD in DMPA users; in adolescents, differences in BMD were due to decreased BMD in DMPA users as well as increased BMD in nonusers. Recovery of BMD occurs after discontinuation of DMPA, most likely at rates higher than those in nonusers. However, it is still unclear whether adult women can regain BMD to baseline levels and

Correspondência para:  
Paulo G. Spinola  
CEPARH  
Rua Caetano Moura, 35  
40.210-341 - Salvador, Bahia  
Telefone: (55-71) 2106-1043  
Fax: (55-71) 2106-1013  
e-mail: [ceparh@uol.com.br](mailto:ceparh@uol.com.br)

whether adolescents can reach peak bone mass after discontinuation of DMPA. The relationship between these changes in BMD during the reproductive years and future fracture risk is unknown. Although evidence is limited, women using other forms of progestogen-only contraceptives do not appear to have lower BMD than nonusers.<sup>5</sup>

So, according to WHO, DMPA is a highly effective and widely available method of contraception, which plays an important role in the contraceptive method mix. This is particularly so in regions with a high unmet need for contraception and where maternal morbidity and mortality are high. Any decisions regarding choice of a contraceptive method should also consider this fact.

WHO will continue to monitor research in this area and will review these recommendations as and when new evidence becomes available. WHO also encourages relevant research in this area to fill key evidence gaps.<sup>6</sup>

Recommendations of the World Health Organization with regard to bone metabolism:

- There should be no restriction on the use of DMPA, including no restriction on duration of use, among women aged 18-45 years who are otherwise eligible to use the method.
- Among adolescents (menarche to <18) and women over 45 years, the advantages of using DMPA generally outweigh the theoretical safety concerns regarding fracture risk. Since data are insufficient to determine if this is the case with long-term use among these age groups, the overall risks and benefits for continuing use of the method should be reconsidered over time with the individual user.
- Recommendations regarding DMPA use also pertain to use of NET-EN (norethisterone enanthate).
- There should be no restriction on the use of other progestogen-only contraceptive methods among women who are otherwise eligible to use these methods, including no restrictions on duration of use.
- There should be no restriction on the use of combined hormonal contraceptive methods among women who are otherwise eligible to use these methods, including no restrictions on duration of use.<sup>6</sup>

The mixed results, the degree of bone loss, some evidence that the bone loss is regained and the similarity to the benign bone loss associated with lactation, all argue that the use of DMPA should not be limited by this concern and that supplemental estrogen treatment is not indicated (and would influence and complicate compliance). This concern will require ongoing surveillance of past users. However, at the present time, in our view, this should not be a reason for avoiding this method of contraception. It is unlikely that bone loss occurs sufficiently to raise the risk of osteoporosis later in life.<sup>7</sup>

## Current Research on Injectable Contraception

Subcutaneous depot-medroxyprogesterone (DMPA-SC), a new, low-dose formulation of the currently available

DMPA, received approval from the US FDA in December 2004 under the name depo-subQ provera 104™. DMPA-SC is injected into the tissues just under the skin with a finer, shorter needle than for conventional DMPA, which is injected deep into the muscle. As a result, providers giving DMPA-SC injections require less training than is needed for conventional DMPA injections.

The new formulation provides slower and more sustained absorption of the progestin than conventional DMPA, while consistently preventing ovulation. This formulation allows for a 30% lower dose of progestin (104 mg instead of 150 mg) but with the same duration of effect as conventional DMPA. As with currently available DMPA, users of DMPA-SC have their injections every three months. Effectiveness and reported side effects also are similar.

DMPA-SC will be available only in a pre-filled Uniject syringe. In a study in Poland, women preferred home injections of DMPA-SC with the Uniject syringe over receiving their injections at a doctor's office. PATH, which developed and patented Uniject, licensed the Uniject technology to Becton Dickenson (BD) in 1996. Pfizer is currently negotiating an agreement with PATH and BD to distribute DMPA-SC in the Uniject syringe to developing countries, with USAID support.<sup>8,9</sup>

---

## ABSTRACT

Medroxyprogesterone acetate (DMPA) is a highly effective and widely available method of contraception, which plays an important role in the contraceptive method mix. Nowadays, the main controversy over Depo Provera has arisen out of its relationship to the risk of bone density. The author registers that the degree of bone loss, some evidence that the bone loss is regained and the similarity to the benign bone loss associated with lactation, all argue that the use of DMPA should not be limited by this concern and that supplemental estrogen treatment is not indicated.

**UNITERMS:** medroxyprogesterone acetate, osteoporosis.

---

## Referências Bibliográficas

1. D'Arcangues C, Snow R. Injectable Contraceptives. In: Rabe, T and Runnebaum, B, editors. Fertility Control Update and Trends. Berlin: Springer-Verlag;1999. p. 121-49.
2. World Health Organization. Injectable Contraceptives: Their Role in Family Planning Care. Geneva: WHO Booklet; 1990.
3. Coutinho EM, de Souza JC, Csapo AI. Reversible sterility induced by medroxyprogesterone injections. Fertil Steril. 1966;17:261.

4. Banks E, Berrington A, Casabonne D. Overview of the relationship between use of progestogen-only contraceptives and bone mineral density. *BJOG* 2001; 108:1214-21.
5. Curtis KM, Martins SL. Progestogen-only contraception and bone mineral density: a systematic review. *Contraception* 2006; 73:470-87.
6. WHO statement on hormonal contraception and bone health. *Commentary. Contraception* 2006; 73:443-4.
7. Speroff L, Fritz MA editors. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 7<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
8. Jain J, Dutton C, Nicosia A, Wajszczuk C, Bode F, Mishell Jr. DR. Pharmacokinetics, ovulation suppression and return to ovulation following a lower dose subcutaneous formulation of Depo-Provera. *Contraception* 70:11-18, 2004.
9. Jain J, Jakimiuk A, Bode F, Ross D, Kaunitz A. Contraceptive efficacy and safety of DMPA-SC. *Contraception* 70:269-275, 2004.



# O papel do hormônio anti-Mulleriano na determinação da reserva ovariana

The role of anti-Mullerian hormone in the assessment of ovarian reserve

Dirceu H. Mendes Pereira<sup>1</sup>, Felipe Cavagna<sup>2</sup>

## RESUMO

Os autores reafirmam a importância da determinação da reserva ovariana previamente aos procedimentos de reprodução assistida. São feitas referências a um novo método de avaliação da reserva ovariana, que é a determinação do hormônio anti-Mulleriano (AMH), ressaltando-se que a má resposta à estimulação ovariana em ciclos de TRA associa-se a concentrações diminuídas de AMH. Embora a determinação do AMH, em nosso meio, ainda não esteja incluída na rotina da avaliação da reserva ovariana, o método parece promissor e pode ter, em futuro próximo, papel relevante na investigação da função gonadal feminina, podendo ser empregado para prever a má resposta ovariana e os resultados das técnicas de reprodução assistida.

**UNITERMOS:** Reserva ovariana, Hormônio anti-Mulleriano

Um dos aspectos importantes da medicina reprodutiva é a determinação da capacidade ovariana de realizar uma foliculogênese normal, de produzir oócitos de boa qualidade e, conseqüentemente, formar embriões com adequado potencial de implantação. A diminuição do número e qualidade dos oócitos, que se associa, principalmente, à idade da mulher, é causa de dificuldades reprodutivas e de insucessos nas técnicas de reprodução assistida (TRA). A reserva ovariana, que traduz o número de folículos primordiais remanescentes nos ovários, deve ser adequadamente avaliada, particularmente em mulheres acima de 38 anos de idade, para que sejam evitadas tentativas dispendiosas e inúteis de TRA. Dispõem-se, atualmente, de vários métodos de determinação da reserva ovariana. Emprega-se, com tal finalidade, a dosagem dos níveis séricos basais de FSH, a dosagem de estradiol e de inibina B, o teste do clomifeno, o teste do estímulo com FSH (EFORT) e testes ultra-sonográficos, como a medida do volume ovariano e a contagem de folículos antrais<sup>1</sup>. Muitos serviços preconizam a associação de dois ou mais desses métodos, para que a avaliação da reserva ovariana seja mais fidedigna; entretanto, busca-se, ainda, a melhor maneira de se avaliar a reserva ovariana.

Van Rooij et al.<sup>2</sup> foram os primeiros a sugerir que a concentração sérica basal (3º dia do ciclo) do hormônio anti-Mulleriano (AMH) poderia funcionar como um marcador da função ovariana. O AMH é um fator de crescimento membro da família TGF- $\beta$ , produzido pelas células granulosas de

folículos pré-antrais e antrais. Estudos *in vivo* e *in vitro* mostram que o AMH possui efeito inibitório sobre o recrutamento dos folículos primordiais e diminui a sensibilidade folicular ao FSH<sup>3</sup>. O AMH pode ter um papel importante na avaliação da função ovariana não só em mulheres com quadro de infertilidade, mas também em pacientes submetidas a tratamento oncológico<sup>4</sup>. O AMH é expresso durante a foliculogênese inicial, da fase de folículo primordial à fase de folículo antral, de modo que seus níveis séricos podem refletir tanto a quantidade como a qualidade do “pool” folicular ovariano; comparado a outros marcadores da função ovariana, o AMH parece ser o melhor indicador do declínio da função reprodutiva que ocorre com a idade<sup>5</sup>.

Tremellen et al.<sup>6</sup> registram que os níveis plasmáticos de AMH permanecem constantes (20-25 pmol/L) entre 18 e 29 anos e idade; a partir dos 30 anos, seus níveis começam a cair rapidamente, atingindo 10 pmol/L por volta de 37 anos. Referem, ainda, que mesmo com uma queda de mais de 50% do AMH, os níveis basais de FSH praticamente não se alteram. Esses autores sugerem que um valor de corte de 8,1 pmol/L é capaz de prever a resposta em um ciclo de estimulação ovariana com uma sensibilidade de 80% e uma especificidade de 85%, e concluem que tal método mostra-se superior ao FSH basal na identificação de mulheres com reserva ovariana diminuída. Outra investigação recente, realizada por van Rooij et al.<sup>7</sup>, comparou os principais métodos de determinação da reserva ovariana, entre eles a dosagem sérica basal de FSH, dosagem de estradiol, inibina B, e a contagem ecográfica de folículos antrais. Esses autores concluíram que a determinação dos níveis séricos do AMH representa o mais eficiente método de avaliação do declínio da capacidade reprodutiva relacionado com a idade. Também recentemente, Penarrubia et al.<sup>8</sup> compararam, para a determinação do prognóstico da resposta ovariana em ciclos de TRA, a mensuração dos níveis

<sup>1</sup>Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana e Diretor da Profert – Reprodução Assistida

<sup>2</sup>Médico da Profert – Reprodução Assistida

Correspondência para:

Dirceu H. Mendes Pereira

Av. Indianópolis, 395

04063-020 – São Paulo – SP

www.profert.com.br

E-mail: profert@profert.com.br



basais de AMH (3º dia do ciclo), com os níveis de AMH no 5º dia de estimulação ovariana, referindo que estes últimos prezem, com mais segurança, a probabilidade de cancelamento do ciclo.

Muttukrishna et al.<sup>9</sup>, estudando mulheres previamente consideradas más respondedoras, verificaram que nesse grupo de pacientes a determinação sérica de AMH é o melhor marcador da resposta ovariana à estimulação com gonadotropinas, em comparação com os níveis basais de FSH e de inibina B.

Fanchin et al.<sup>10</sup> compararam os níveis séricos de AMH e de outros marcadores da reserva ovariana com o número de folículos antrais observados no 3º dia do ciclo. Verificaram que os níveis séricos de AMH relacionam-se de maneira mais consistente ao número de folículos antrais do que as concentrações basais de inibina B, estradiol, FSH e LH. Tal fato sugere que o AMH pode ser capaz de avaliar a reserva ovariana melhor do que os marcadores habitualmente utilizados para esse fim. Eldar-Geva et al.<sup>11</sup> elaboraram estudo com o objetivo de analisar as concentrações de FSH, inibina B e AMH, bem como avaliar a contagem de folículos antrais em ciclos estimulados com FSH recombinante (r-FSH) para reprodução assistida. Esses autores concluíram que a contagem de folículos antrais, a dosagem de AMH basal e de inibina B após estimulação com r-FSH, são capazes de prever a resposta ovariana; entretanto, a mensuração de AMH mostrou-se o único marcador eficaz para prever a ocorrência de gravidez. Há, também, evidências de que a produção de AMH pelas células granulosas ocorra independentemente da ação do FSH<sup>12</sup>.

Concluindo, a má resposta à estimulação ovariana em ciclos de TRA associa-se a concentrações diminuídas de AMH. Embora a determinação do AMH, em nosso meio, ainda não esteja incluída na rotina da avaliação da reserva ovariana, o método parece promissor e pode ter, em futuro próximo, papel relevante na investigação da função gonadal feminina.

## ABSTRACT

This paper reviews the importance of the assessment of ovarian reserve prior to assisted reproductive technology cycles. The authors emphasize the role of anti-Mullerian hormone (AMH) for this purpose, and register that there is evidence that AMH serum level serves as a good candidate marker of ovarian reserve. Although the assessment of AMH serum levels is not yet commonly used among us, there is evidence that there will be a role for AMH measurement in the field of reproductive medicine, for the investigation of female gonadal function. It could be used to predict poor ovarian response and the outcome of assisted reproductive technology cycles.

**UNITERMS:** Ovarian reserve, Anti-Mullerian hormone

## Referências Bibliográficas

1. Loverro G, Nappi L, Mei L, Giacomoantonio L, Carriero C, Tartagni M. Evaluation of functional ovarian reserve in 60 patients. *Reprod Biomed Online*. 2003;7:200-4.
2. Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER et al. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod*. 2002; 17:3065-71.
3. Visser JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2005; 234:81-6.
4. Bath LE, Wallace WH, Shaw MP et al. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood: detection by anti-Mullerian hormone, inhibin B and ovarian ultrasound. *Hum Reprod*. 2003; 18:2368-74.
5. La Marca A, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64:603-10.
6. Tremellen KP, Kolo M, Gilmore A, Lekamge DN. Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2005; 45:20-4.
7. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005; 83:979-87.
8. Penarrubia J, Fabregues F, Manau D et al. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod*. 2005; 20:915-22.
9. Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG*. 2004;111:1248-53.
10. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod*. 2003; 18:323-7.
11. Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, Gal M, Zylber-Haran E, Margalioth EJ. Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. *Hum Reprod*. 2005;20:3178-83.
12. Fanchin R, De Pauw K, Taieb J, Cavagna M, Feyereisen E, Dzik A. Lack of AMH response to EFORT suggests that AMH production is gonadotropin-independent in adult women. *Fertil Steril*. 2005; 84 Suppl 1:S424.

# Comparação entre menopina, menopina altamente purificada e folitropina alfa para hiperestimulação ovariana controlada após supressão hipofisária nos ciclos de ICSI

A comparison of menopin, highly-purified menopin and follitropin alfa for controlled ovarian stimulation after pituitary down-regulation in ICSI cycles

Sandro C. Esteves, Sidney Verza Jr., Alecsandra P. Gomes, Danielle T. Schneider, Silval F.C. Zabaglia

## RESUMO

**OBJETIVO:** Comparar a eficácia clínica entre três tipos de gonadotrofinas para a estimulação ovariana após a supressão hipofisária nos ciclos de ICSI.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Analisou-se retrospectivamente 865 ciclos consecutivos de ICSI envolvendo supressão hipofisária previamente à hiperestimulação ovariana controlada (HOC). A HOC foi realizada com menopina (HMG: Menogon®, Ferring; n=299), menopina altamente purificada (HMG-HP: Menopur®, Ferring; n=330) e FSH recombinante (r-hFSH: Gonal-F®, Serono; n=236). Os protocolos laboratoriais e clínicos permaneceram inalterados ao longo do tempo, os últimos diferindo apenas no tipo de gonadotrofina utilizada, que foram introduzidas seqüencialmente na prática clínica, iniciando com o HMG, seguido pelo HMG-HP, e finalmente o r-hFSH. Os parâmetros de interesse primário foram a taxa de nascidos vivos e as doses totais de gonadotrofina utilizadas por ciclo, por gestação e por nascido vivo. Análise comparativa foi realizada com ANOVA, Kruskal-Wallis e Chi-quadrado quando apropriado.

**RESULTADOS:** As taxas de nascidos vivos não foram significativamente diferentes entre os grupos HMG (26,4%), HMG-HP (34,6%) e r-hFSH (32,4%; p=0,09). A dose total de gonadotrofina utilizada por ciclo foi significativamente superior nos grupos HMG (2.685±720UI) e HMG-HP (2.903±867UI) em comparação com o r-hFSH (2.268±747UI; p<0,001). Diferenças relativas de 15,7% e 45,2%, e de 11% e 19,8% foram observadas a favor do r-hFSH em comparação ao HMG e HMG-HP, respectivamente, no que se refere às quantidades de gonadotrofina necessárias para se obter cada gestação e cada nascido vivo.

**CONCLUSÕES:** Taxas de nascidos vivos similares foram obtidas com HMG, HMG-HP e r-hFSH quando utilizadas para HOC após supressão hipofisária nos ciclos de ICSI. Doses totais significativamente menores de r-hFSH foram utilizadas por ciclo em comparação às menopinas. Para cada nascido vivo, quantidades consideravelmente maiores de menopina e menopina altamente purificada (45,2% e 19,8%, respectivamente) foram utilizadas para a HOC em relação ao r-hFSH.

**UNITERMOS:** Menopina, folitropina, injeção intracitoplasmática, gonadotrofina, estimulação ovariana controlada.

## Introdução

Na última década, alcançou-se um desenvolvimento tecnológico substancial no campo da estimulação ovariana com gonadotrofinas. Embora a gonadotrofina humana da menopausa (HMG), com hormônio luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH) na relação de 1:1, venha sendo largamente utilizada desde a década de 60, outras preparações de menopinas, que utilizam processos de purificação mais sofisticados, mas mantêm a mesma relação FSH:LH (HMG-HP), foram introduzidas no mercado mais recentemente. Na década de 80, os avanços obtidos na área da biotecnologia tornaram possível o desenvolvimento do hormônio folículo-estimulante humano com tecnologia recombi-

nante (r-hFSH), sendo a folitropina alfa a primeira a estar disponível comercialmente, logo seguida pela folitropina beta<sup>1</sup>.

Devido à eficácia e segurança, o r-hFSH desafiou a posição das menopinas urinárias como drogas de escolha para a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). Muitos estudos comparando a eficácia clínica entre as várias preparações de gonadotrofinas têm sido publicados, com resultados conflitantes<sup>2-8</sup>. Algumas meta-análises sugerem melhores resultados quando se utiliza o r-hFSH em comparação ao HMG nos ciclos de fertilização *in vitro* clássica<sup>2-4</sup>, enquanto outras não observaram diferenças em termos de taxa de gravidez e de nascidos vivos<sup>5-7</sup>. Van Wely et al.<sup>5</sup> e Al-Inany et al.<sup>6</sup> analisaram estudos clínicos randomizados comparando gonadotrofinas urinárias e recombinantes para estimulação ovariana, com e sem supressão hipofisária, e não encontraram diferenças nas chances de gravidez. Recentemente, Daya e t al.<sup>4</sup> demonstraram que a estimulação ovariana com o r-hFSH, em comparação com o HMG, oferecia melhores chances de gravidez nos ciclos de FIV clássico. Em 2004, Ludwig et al.<sup>7</sup> publicaram o maior estudo observacional até hoje conduzido, que envolveu mais de

ANDROFERT – Centro de Referência em Reprodução Masculina  
Campinas, São Paulo, Brasil  
Endereço para correspondência:  
Prof. Dr. Sandro Esteves  
Av. Dr. Heitor Penteado, 1464 – Taquaral  
Campinas – SP – Brasil – CEP 13075-460  
Tel: 19 3295-8877; FAX: 19 3294-6992  
E-mail: [s.esteves@androfert.com.br](mailto:s.esteves@androfert.com.br)

24 mil ciclos de reprodução assistida, para comparar o r-hFSH e o HMG. Esses autores concluíram que as taxas de nascidos vivos foram significativamente maiores quando o r-hFSH, ao invés do HMG, era utilizado para a estimulação ovariana em ciclos de FIV envolvendo supressão hipofisária, e que as quantidades de gonadotrofinas utilizadas para atingir cada gestação e bebê nascido eram consideravelmente menores com o r-hFSH. Por outro lado, Platteau et al.<sup>8</sup>, avaliando os dados do estudo comparativo entre menopina e r-hFSH para fertilização in vitro (MERIT), observaram que o HMG-HP oferecia taxas de nascidos vivos superiores ao r-hFSH quando utilizado para estimulação ovariana nos ciclos de FIV clássica, embora fossem igualmente eficazes nos ciclos de injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI).

Na prática clínica, fatores como eficácia, segurança, custo da medicação, facilidade de administração, disponibilidade são os determinantes primários na escolha do tipo de gonadotrofina. Dado que no Brasil, à semelhança dos outros países da América Latina, os tratamentos de reprodução assistida e os medicamentos utilizados para a estimulação ovariana não são cobertos pelos planos de saúde nem reembolsáveis, devendo ser financiados pela poupança privada dos pacientes, existe uma tendência à utilização de medicamentos de custo inferior. Tal justificativa nos motivou a utilizar as menopinas urinárias por vários anos de prática clínica, inicialmente o HMG e, subsequentemente, o HMG-HP. Mais recentemente, fatores como segurança, pureza e qualidade dos produtos recombinantes nos motivaram a substituir a prática vigente, de tal forma que o r-hFSH passou a ser utilizado como droga de eleição para a hiperestimulação ovariana controlada para ciclos de ICSI.

O objetivo do presente estudo foi auditar nossa prática clínica com o intuito de comparar a eficácia da menopina, menopina altamente purificada e folitropina alfa para a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) após supressão hipofisária nos ciclos de ICSI.

## Material e Métodos

Realizou-se análise retrospectiva dos dados clínicos e laboratoriais de 865 ciclos consecutivos de ICSI, no período de abril de 2000 a novembro de 2005, nos quais a supressão hipofisária havia sido realizada previamente à hiperestimulação ovariana controlada. Os protocolos laboratoriais e clínicos permaneceram inalterados ao longo do tempo, estes últimos diferindo apenas no tipo de gonadotrofina utilizada para a estimulação ovariana, as quais foram introduzidas sequencialmente ao longo dos anos, iniciando com a menopina (HMG; Menogon®, Ferring, Brasil), seguida pela menopina altamente purificada (HMG-HP; Menopur®, Ferring, Brasil) e, finalmente, o FSH recombinante (r-hFSH [folitropina alfa], Gonal-F®, Serono, Brasil). A coleta de dados na nossa instituição ocorre de forma sistemática, padronizada e contínua, sendo os dados inseridos num programa computacional especialmente desenvolvido para o gerenciamento do serviço de reprodução assistida (Androsys®, Androfert-UNIOESTE, Brasil), tornando possível a análise dos dados clínicos e laboratoriais sob diversos aspectos. De forma geral, os resultados do nosso programa de fertilização in vitro no período avaliado têm sido consistentes e sem desvios significativos nas taxas de sucesso, e os dados são reportados anualmente à Rede

Latinoamericana de Reprodução Assistida.

Consentimento informado para a utilização dos dados clínicos e laboratoriais é obtido de todos os pacientes envolvidos no programa de reprodução assistida da instituição. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética.

De forma geral, as indicações para ICSI no nosso programa seguem as diretrizes do II Consenso Brasileiro de Infertilidade Masculina<sup>9</sup>, onde pelo menos um dos fatores descritos a seguir deve estar presente: oligozoospermia grave (concentração espermática  $\leq 5$  milhões por mililitro de sêmen), teratozoospermia grave (formas normais  $< 4\%$  de acordo com o critério estrito de Kruger), azoospermia obstrutiva e não-obstrutiva, infertilidade masculina de causa imunológica (immunobeads direto  $> 50\%$ ), número de espermatozoides recuperados após o processamento seminal pela técnica do gradiente descontínuo coloidal  $< 2,0$  milhões, falha de fertilização ( $< 30\%$ ) num ciclo de FIV convencional ou insucessos repetidos após  $\geq 2$  ciclos de FIV convencional, mesmo que nestes casos a indicação de FIV tenha sido fator feminino isolado.

Durante o período avaliado, realizou-se a hiperestimulação ovariana controlada com menopina (HMG; Menogon®, Ferring, Brasil) em 299 ciclos, menopina altamente purificada (HMG-HP; Menopur®, Ferring, Brasil) em 330 ciclos, e FSH recombinante (r-hFSH [folitropina alfa], Gonal-F®, Serono, Brasil) em 236 ciclos.

### Estimulação ovariana

O protocolo de estimulação ovariana foi o mesmo para todos os ciclos estudados, diferindo apenas no tipo de gonadotrofina utilizada. Iniciou-se com a administração diária de 400µg via nasal do análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-a; acetato de nafarelina, Synarel®, Zodiac, Brasil), a partir do 21º dia do ciclo menstrual, mantendo-se tal posologia até o dia anterior à administração do hCG. Para a estimulação ovariana, utilizou-se doses diárias iniciais entre 150-375 UI de HMG, HMG-HP ou r-hFSH. A escolha da dose inicial da gonadotrofina ficou a cargo do médico assistente, que de forma geral levava em consideração os seguintes parâmetros clínicos e laboratoriais: idade, índice de massa corporal, níveis séricos de hormônio folículo estimulante (FSH) medido entre o 2º-3º dias do ciclo menstrual, volume ovariano medido pelo ultrassom transvaginal, e número de folículos pré-antrais medidos entre o 2º-3º dias do ciclo menstrual após a supressão hipofisária. A estimulação ovariana iniciava-se após a obtenção do bloqueio hipofisário, confirmado pelos níveis séricos de estradiol inferiores a 50ng/ml e pela ausência de folículos ovarianos maiores que 10mm de diâmetro à ultra-sonografia transvaginal. Na ecografia realizada entre o 6º e 8º dias de estimulação, avaliava-se a necessidade de ajuste da dose da gonadotrofina, sendo esta diminuída em frações de 75UI quando apropriado. Não se realizou aumento de dose de gonadotrofina durante a estimulação, mesmo nos casos de má-resposta ovariana. A gonadotrofina coriônica humana (hCG) foi administrada quando 2 ou mais folículos ovarianos atingiam diâmetro médio de 18mm. Nos ciclos com menopinas e r-hFSH, utilizou-se a gonadotrofina coriônica humana urinária (Choragon®, Ferring, Brasil) e recombinante (Ovidrel®, Serono, Brasil), respectivamente.

### Aspiração Folicular

As aspirações foliculares foram realizadas sob sedação



endovenosa com propofol e guiadas por ultrassom transvaginal, 34 a 36 horas após a administração do hCG.

### ***Identificação, denudação e classificação dos oócitos***

Após a aspiração, os tubos contendo o fluido folicular foram examinados sob estereomicroscópio para a identificação dos complexos corona-cumulus-oócito. Estes foram transferidos para uma placa com meio de cultura (Gamete®, Vitrolife, Suécia), e em seguida procedeu-se a denudação química com 40UI/mL de hialuronidase (Hyase®, Vitrolife, Suécia). Os oócitos isolados foram então transferidos para uma placa de cultura contendo microgotas (IVF®, Vitrolife, Suécia) recobertas com óleo mineral (Ovoil®, Vitrolife, Suécia), e após 1-2 horas sob atmosfera de 5,5% de CO<sub>2</sub> a 37°C, foram submetidos à denudação mecânica, classificados quanto à maturidade nuclear, e mantidos em cultura até o momento da microinjeção.

### ***Obtenção dos espermatozoides***

Os espermatozoides obtidos por ejaculação foram colhidos após um período de abstinência sexual de 48 a 72 horas. A técnica de processamento seminal aplicada foi o gradiente descontínuo coloidal de duas camadas<sup>10</sup>. Nos casos de azoospermia, os espermatozoides foram obtidos pelas técnicas de aspiração percutânea testicular (TESA) ou epididimária (PESA), ou pela biópsia microcirúrgica dirigida (micro-TESE), realizadas de forma ambulatorial sob sedação endovenosa e bloqueio anestésico do cordão espermático com xilocaína a 2%<sup>11</sup>. Nestes casos, os fragmentos contendo os túbulos seminíferos foram dissecados mecanicamente, sob estereomicroscópio, para permitir a saída dos espermatozoides, os quais eram identificados, isolados e incubados até o momento da ICSI<sup>12</sup>.

### ***Micromanipulação dos gametas***

As microinjeções foram realizadas sob platina aquecedora a 37°C (Tokay, Japão), utilizando-se um sistema composto por microscópio invertido com contraste de fase do tipo Hoffmann (Nikon, Japão) e micromanipuladores eletrohidráulicos (Narishigue, Japão). A seleção e imobilização dos espermatozoides, bem como as microinjeções foram realizadas sob magnificação de 400X<sup>13</sup>. Os oócitos injetados foram transferidos para um sistema de cultura fechado (microgotas sob óleo mineral, série II, Vitrolife, Suécia), e incubados por 16-18 horas à 37°C e 5,5% de CO<sub>2</sub> até a verificação da fertilização.

### ***Verificação da fertilização e cultivo embrionário***

A presença de fertilização foi verificada com auxílio do microscópio invertido em aumento de 200X. Observou-se o número de pronúcleos (PN), número e alinhamento dos nucléolos, bem como a ocorrência da extrusão do 2º corpúsculo polar. A fertilização foi considerada normal (2PN) quando dois pronúcleos eram vizibilizados, contendo nucléolos no seu interior. A presença de apenas um ou mais de dois pronúcleos foram considerados como fertilização anormal.

### ***Cultura embrionária e verificação da clivagem***

Os oócitos fertilizados (2PN) foram transferidos para outra placa de cultura e cultivados agrupados em microgotas de

20µL (IVF®, Vitrolife, Suécia) recobertas com óleo mineral (Ovoil®, Vitrolife, Suécia), a 37°C e 5,5% de CO<sub>2</sub>. Os zigotos foram mantidos neste sistema até o momento da transferência dos pré-embriões para a cavidade uterina, que era realizada no 3º dia de cultivo embrionário. Verificou-se a clivagem nos dias 2 e 3 (cerca de 48 e 72 horas após a ICSI, respectivamente), e anotou-se o número, simetria e expansão dos blastômeros, multinucleação, anomalias da zona pelúcida, além do grau de fragmentação citoplasmática. Os pré-embriões foram classificados como sendo de boa qualidade quando exibiam 3 a 4 blastômeros simétricos no 2º dia de cultura e 7 a 8 blastômeros simétricos no 3º dia de cultura, com ausência de multinucleação, graus I (ausência de fragmentação) ou II (até 20% do espaço vitelínico ocupado por fragmentos) de fragmentação, e ausência de alterações na zona pelúcida<sup>14</sup>.

### ***Transferência dos pré-embriões***

Foram realizadas por via transvaginal, guiadas por ultrassom abdominal, após cerca de 72 horas pós-ICSI. Utilizou-se cateter fino e delicado (Sydney® IVF embryo transfer set, Cook, Austrália), sendo que a deposição dos pré-embriões era realizada a 10-15mm do fundo uterino.

Todas as etapas do processo foram realizadas em ambientes classificados do tipo “sala limpa” e com controle da contaminação ambiental para compostos orgânicos voláteis, sendo a captação oocitária, a micromanipulação de gametas/cultivo dos pré-embriões e a transferência de pré-embriões realizadas em ambientes ISO 6, ISO 5 e ISO 7, respectivamente. (VECO, Brasil)<sup>15</sup>.

### ***Análise estatística***

No presente estudo, todos os ciclos realizados no período de análise foram incluídos, sem a utilização de critérios de inclusão ou exclusão. Por se tratar de um estudo observacional, pode ocorrer diferença entre os grupos em relação às características demográficas da população estudada. Para a análise dos parâmetros de interesse principal (taxa de nascidos vivos, dose total de gonadotrofina utilizada por ciclo, por gravidez e por nascido vivo) os dados foram estratificados de acordo com os parâmetros prognósticos comumente utilizados na medicina reprodutiva (idade, fator de infertilidade e número de ciclos). Toda a população estudada foi inicialmente analisada de forma descritiva. Assim, além dos parâmetros de interesse principal e aqueles utilizados para a estratificação, os seguintes foram também avaliados: duração da estimulação, taxa de cancelamento por má-resposta ovariana, taxa de síndrome da hiperestimulação ovariana (SHO) grave segundo os critérios de Golan<sup>16</sup>, número de oócitos aspirados, número de oócitos maduros, taxas de fertilização e de pré-embriões de ótima qualidade pós-ICSI, número de pré-embriões transferidos, taxas de implantação, de gestação clínica por transferência e de aborto espontâneo. Os parâmetros de interesse principal foram analisados tanto de forma agrupada quanto estratificada por idade, fator de infertilidade e número de tentativas de ICSI.

As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%) e as quantitativas por média e desvio padrão (DP). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a presença de distribuição normal nas variáveis numéricas. A associação entre variáveis categorizadas foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado. A comparação entre grupos quanto às variáveis quantitativas foi feita pela técnica de Análise de Variância para um

fator (Oneway ANOVA), nos casos com distribuição normal da variável dentro de cada grupo. As diferenças foram localizadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Para as variáveis sem distribuição normal dentro de cada grupo, a comparação entre grupos foi feita pela Prova de Kruskal-Wallis. As diferenças foram localizadas pelo teste de comparações múltiplas de Dunn. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ( $\alpha = 5\%$ ) e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes. Para cada grupo, a média da dose total de gonadotrofina utilizada por ciclo foi dividida pelas taxas de gestação clínica e de nascidos vivos, com o intuito de estabelecer a quantidade de gonadotrofina necessária para se obter uma gestação ou um nascido vivo. Gestações múltiplas foram consideradas como evento único. Nos casos de gestações que terminaram em um nascido vivo e um aborto, computou-se como nascido vivo. Não foi possível calcular o significado estatístico das diferenças nas doses necessárias para obtenção de cada gestação e bebê nascido entre os grupos por motivos metodológicos. Entretanto, as diferenças nas doses de gonadotrofinas utilizadas para estimulação ovariana nos subgrupos com gestação positiva e com nascidos vivos foram comparadas estatisticamente entre os grupos estudados.

## Resultados

Na tabela 1, encontra-se a distribuição dos 865 ciclos de ICSI em relação à idade feminina, indicação e número total de ciclos de tratamento. A idade média foi significativamente menor no grupo HMG em comparação aos demais, sendo que cerca de 71% das pacientes tratadas neste grupo apresentavam menos que 36 anos, em comparação a 60% dos grupos HMG-HP e r-hFSH ( $p=0,005$ ). Mesmo após a estratificação, observou-se que a média da idade das pacientes com menos de 36 anos no grupo HMG ( $29,9\pm 3,7$ ) manteve-se inferior aos grupos HMG-HP ( $30,9\pm 3,2$ ) e r-hFSH ( $30,9\pm 3,2$ ;  $p=0,004$ ). A distribuição dos ciclos de acordo com a indicação para ICSI e número de ciclos de tratamento manteve-se equilibrada entre os grupos.

**Tabela 1** - Distribuição dos 865 ciclos de ICSI envolvendo HOC com menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH) após supressão hipofisária, em relação à idade feminina, indicação e número total de ciclos de tratamento.

	HMG (n=299)	HMG-HP (n=330)	r-hFSH (n=236)	Valor de p
Idade feminina (anos)	32,5±5,3 <sup>a</sup>	34,0±4,7 <sup>b</sup>	34,3±4,8 <sup>c</sup>	<0,001 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
≤35 anos, n (%)	213 (71,2) <sup>a</sup>	198 (60,0) <sup>b</sup>	142 (60,2) <sup>c</sup>	=0,005 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
>35 anos, n (%)	86 (28,8) <sup>a</sup>	132 (40,0) <sup>b</sup>	94 (39,8) <sup>c</sup>	=0,005 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
Indicação				
Fator masculino				
isolado, n (%)	111 (37,1)	99 (30,0)	76 (32,2)	0,27
Fator misto*, n (%)	142 (47,5)	156 (47,3)	129 (54,7)	0,19
Fator feminino, n (%)	46 (15,4)	75 (22,7)	31 (13,1)	0,33
Ciclo de tratamento, n(%)				
1º ciclo, n (%)	195 (65,3)	192 (58,1)	145 (61,4)	0,49
2º ciclo, n (%)	80 (26,7)	86 (26,0)	60 (25,4)	0,83
≥3º ciclo, n (%)	24 (8,0)	52 (15,9)	31 (13,2)	0,34

\*fator misto: masculino + feminino

As variáveis clínicas e laboratoriais dos ciclos estudados estão apresentadas na Tabela 2. A duração da estimulação foi significativamente menor no grupo HMG em comparação aos demais, tanto nos valores totais quanto estratificados por idade. Por outro lado, o número de oócitos maduros nas pacientes com mais de 35 anos tratadas com HMG foi significativamente menor em relação às demais. O percentual de pré-embriões de alta qualidade disponíveis para transferência foi significativamente superior no grupo HMG-HP em comparação aos demais, tanto nos valores totais quanto no subgrupo de pacientes com menos de 36 anos. As taxas de cancelamento por má-resposta à estimulação e de síndrome da hiperestimulação ovariana (SHO) grave não foram diferentes entre os grupos.

**Tabela 2** - Parâmetros clínicos e laboratoriais dos 865 ciclos de ICSI cuja estimulação ovariana foi realizada com menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH). Valores totais e estratificados por idade.

	HMG (n=299)	HMG-HP (n=330)	r-hFSH (n=236)	Valor de p
Duração da estimulação (dias), n	9,6±1,3 <sup>a</sup>	10,0±1,3 <sup>b</sup>	10,1±1,0 <sup>c</sup>	<0,001 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
≤35 anos (n)	9,5±1,3 <sup>a</sup>	9,9±1,2 <sup>b</sup>	10,0±0,9 <sup>c</sup>	<0,001 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
>35 anos (n)	9,8±1,4 <sup>a</sup>	10,2±1,6 <sup>b</sup>	10,2±1,1 <sup>c</sup>	=0,007 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
Taxa de cancelamento, n (%)	23 (7,7)	21 (6,4)	17 (7,2)	0,80
≤35 anos, n (%)	10 (43,5)	9 (42,8)	10 (62,2)	0,50
>35 anos, n (%)	13 (56,5)	12 (57,2)	7 (37,8)	0,20
SHO grave, n (%)	7 (0,23)	6 (0,18)	2 (0,12)	0,76
≤35 anos (n)	5	4	3	—
>35 anos (n)	2	2	0	—
Número de oócitos aspirados (n)	10,9±6,8	10,7±6,5	10,8±6,7	0,97
≤35 anos (n)	12,3±6,7	11,3±5,5	11,7±6,0	0,50
>35 anos (n)	7,5±5,8	9,7±7,6	9,5±7,5	0,08
Oócitos MII (n)	8,9±5,6	8,9±5,7	8,7±5,6	0,82
≤35 anos (n)	10,1±5,5	9,4±4,8	9,1±5,0	0,20
>35 anos (n)	5,8±4,4 <sup>a</sup>	8,3±6,8 <sup>b</sup>	8,1±6,3 <sup>c</sup>	=0,01 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
Taxa de fertilização 2PN (%)	72±25	72±22	71±23	0,83
≤35 anos (%)	71±22	72±22	72±22	0,76
>35 anos (%)	73±30	72±24	70±25	0,20
Pré-embriões ótima qualidade D3 (%)	40±30 <sup>a</sup>	47±31 <sup>b</sup>	39±29 <sup>c</sup>	=0,004 <sup>b</sup> versus <sup>a,c</sup>
≤35 anos (%)	41±29 <sup>a</sup>	47±28 <sup>b</sup>	39±28 <sup>c</sup>	0,03 <sup>b</sup> versus <sup>a,c</sup>
>35 anos (%)	39±34	48±34	37±30	0,08
Número pré-embriões transferidos (n)	3,4±1,6	3,4±1,5	3,2±1,6	0,18
≤35 anos (n)	3,5±1,4	3,5±1,4	3,2±1,4	0,05
>35 anos (n)	2,9±1,9	3,1±1,6	3,2±1,8	0,50

As taxas de gestação clínica por transferência, implantação e nascidos vivos não foram estatisticamente diferentes entre os grupos (Tabela 3). Verificou-se, contudo, que as diferenças nas taxas de nascidos vivos situaram-se em níveis marginais de significância a favor dos grupos r-hFSH e HMG-HP, tanto na população total avaliada ( $p=0,09$ ) quanto no subgrupo

de pacientes com menos de 36 anos ( $p=0,08$ ; Tabela 3). Depois da estratificação pela indicação e pelo número de tentativas de ICSI, não se observou diferença nas taxas de nascidos vivos entre os grupos ( $P=0,16$ ). A ocorrência de aborto espontâneo foi significativamente maior no grupo HMG em relação ao r-hFSH e HMG-HP ( $p=0,009$ ), principalmente às custas do subgrupo de pacientes com mais de 35 anos (Tabela 3).

**Tabela 3** - Taxas de gestação clínica por transferência, implantação, aborto espontâneo e nascidos vivos nos 865 ciclos de ICSI cuja estimulação ovariana foi realizada com menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH). Valores totais e estratificados por idade.

	HMG (n=299)	HMG-HP (n=330)	r-hFSH (n=236)	Valor de p
Gestação clínica por transferência, n (%)	106 (35,5)	132 (40,0)	82 (34,7)	0,35
≤35 anos, n (%)	84 (39,4)	94 (47,5)	59 (41,5)	0,24
>35 anos, n (%)	22 (25,6)	38 (28,8)	23 (24,5)	0,74
Gestação ectópica, n (%)	1 (0,3)	6 (1,8)	2 (0,8)	—
≤35 anos (n)	1	3	1	—
>35 anos (n)	0	3	1	—
Aborto espontâneo, n (%)	33 (31,1) <sup>a</sup>	25 (18,9) <sup>b</sup>	11 (13,4) <sup>c</sup>	=0,009 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
≤35 anos, n (%)	21 (25,0)	16 (17,0)	7 (11,9)	0,12
>35 anos, n (%)	12 (54,5) <sup>a</sup>	9 (23,7) <sup>b</sup>	4 (17,4) <sup>c</sup>	=0,01 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
Nascidos vivos, n (%)	73 (26,4)	107 (34,6)	71 (32,4)	0,09
≤35 anos, n (%)	63 (31,0)	78 (41,3)	52 (39,4)	0,08
>35 anos, n (%)	10 (13,7)	29 (24,2)	19 (21,8)	0,21

A distribuição dos ciclos com bebês nascidos em relação à paridade, além da idade gestacional e do peso ao nascer, encontra-se na Tabela 4. Nascimentos únicos ocorreram em 68,5%, 63,5% e 64,8% dos ciclos com nascidos vivos nos grupos HMG, HMG-HP e r-hFSH, respectivamente. Diferenças significantes foram observadas na idade gestacional, nas três estratificações por paridade, a favor do grupo r-hFSH em relação ao HMG, e para os gemelares em relação ao HMG-HP. O peso ao nascer, no subgrupo de trigemelares, foi significativamente superior no grupo r-hFSH em relação ao HMG.

**Tabela 4** - Ciclos com bebês nascidos de acordo com a paridade, além dos parâmetros gestacionais (idade gestacional e peso) dos bebês nascidos nos 865 ciclos de ICSI cuja estimulação ovariana foi realizada com menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH). Valores totais e estratificados pela paridade.

	HMG	HMG-HP	r-hFSH	Valor de p
Ciclos com bebês nascidos, n	73	107	71	
Único, n (%)	50 (68,5)	68 (63,5)	46 (64,8)	0,57
Gemelar, n (%)	18 (24,6)	34 (31,7)	22 (30,9)	0,59
Trigemelar, n (%)	5 (6,9)	5 (4,8)	3 (4,3)	0,89
Idade gestacional (semanas)				
Único	36,5±3,6 <sup>a</sup>	38,1±2,1 <sup>b</sup>	38,3±2,3 <sup>c</sup>	0,01 <sup>a</sup> versus <sup>b,c</sup>
Gemelar	35,0±0,8 <sup>a</sup>	35,1±3,0 <sup>b</sup>	37,3±2,7 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
Trigemelar	29,3±3,5 <sup>a</sup>	31,1±3,4 <sup>b</sup>	34,0±0,0 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>
Peso (gramas)				
Único	2.882±703	3.064±470	3.024±334	0,09
Gemelar	2.352±436	2.067±614	2.230±715	0,01 <sup>a</sup> versus <sup>b</sup>
Trigemelar	1.250±329 <sup>a</sup>	1.470±448 <sup>b</sup>	1.747±196 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup> versus <sup>c</sup>

A dose de gonadotrofina utilizada por ciclo foi significativamente menor no grupo r-hFSH em relação aos demais, tanto na população geral estudada ( $p<0,001$ ), quanto nos subgrupos estratificados por idade ≤35anos ( $p<0,001$ ) e >36 anos ( $p=0,02$ ) (Tabela 5). Estas diferenças a favor do r-hFSH também se mantiveram significativas nas estratificações por fator de infertilidade (masculino e misto) e pelo número de ciclos de tratamento (Tabela 5). Levando-se em consideração apenas os ciclos com gestação clínica e com nascidos vivos, observou-se que as doses médias de gonadotrofinas foram estatisticamente inferiores a favor do r-hFSH em comparação à menopina ( $p=0,02$ ) e à menopina altamente purificada ( $p=0,009$ ) (Tabela 6).

**Tabela 5** - Doses totais de gonadotrofinas por ciclo (UI) nos 865 ciclos de ICSI cuja estimulação ovariana foi realizada com menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH). Valores totais e estratificados pela idade, indicação e número de ciclos.

	HMG (n=299)	HMG-HP (n=330)	r-hFSH (n=236)	Valor de p
Valores totais (UI)	2.685±720 <sup>a</sup>	2.903±867 <sup>b</sup>	2.268±747 <sup>c</sup>	<0,001 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
Idade:				
≤35 anos	2.558±679 <sup>a</sup>	2.678±739 <sup>b</sup>	2.062±681 <sup>c</sup>	<0,001 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
>35 anos	3.002±725 <sup>a</sup>	3.240±935 <sup>b</sup>	2.783±738 <sup>c</sup>	=0,02 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
Indicação:				
fator masculino	2.582±641 <sup>a</sup>	2.777±859 <sup>b</sup>	2.305±606 <sup>c</sup>	=0,003 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
fator misto	2.710±751 <sup>a</sup>	2.911±892 <sup>b</sup>	2.439±770 <sup>c</sup>	=0,02 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
Número de ciclos:				
=1	2.690±640 <sup>a</sup>	2.816±791 <sup>b</sup>	2.374±647 <sup>c</sup>	=0,003 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
=2	2.670±699 <sup>a</sup>	2.942±1.025 <sup>b</sup>	2.492±856 <sup>c</sup>	=0,003 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
≥3	2.601±803 <sup>a</sup>	3.071±887 <sup>b</sup>	2.486±800 <sup>c</sup>	=0,006 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>

**Tabela 6** - Doses totais de menopina (HMG), menopina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH) utilizadas por ciclo com gestação positiva (n=320) e por ciclo com nascidos vivos (n=251).

	HMG	HMG-HP	r-hFSH	Valor de p
Ciclos com gestação clínica (UI)	2.519±684 <sup>a</sup>	2.655±612 <sup>b</sup>	2.237±582 <sup>c</sup>	=0,002 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>
Ciclos com nascidos vivos (UI)	2.515±613 <sup>a</sup>	2.651±614 <sup>b</sup>	2.243±589 <sup>c</sup>	=0,02 <sup>a,b</sup> versus <sup>c</sup>

As doses de gonadotrofina necessárias para a obtenção de uma gestação e de um nascido vivo foram consideravelmente maiores nos grupos HMG e HMG-HP em comparação ao r-hFSH, tanto na população geral quanto nos subgrupos estratificados por idade. Por motivos estatísticos, não foi possível comparar a significância destas diferenças entre os grupos. Entretanto, calculou-se a diferença relativa entre o r-hFSH e as menopinas, observando-se que quantidades 15,7% e 11% maiores de HMG e HMG-HP, respectivamente, foram necessárias por gestação em relação ao r-hFSH, sendo estas diferenças ainda maiores (45,2% e 19,8%, respectivamente) por nascido vivo (Tabela 7).



**Tabela 7** - Quantidades de gonadotrofina necessárias para se obter cada gestação e cada nascido vivo, e as respectivas diferenças relativas.

	HMG	HMG-HP	r-hFSH	Diferença relativa <sup>¶</sup> (%)	Diferença relativa <sup>§</sup> (%)
Dose por gestação (UI)*	7.563	7.258	6.536	15,7	11,0
≤35 anos (UI)	7.202	6.695	5.942	21,2	12,7
>35 anos (UI)	8.456	8.100	8.020	5,4	1,0
Dose por nascido vivo (UI)*	10.170	8.390	7.000	45,2	19,8
≤35 anos (UI)	9.690	7.739	6.364	52,2	21,6
>35 anos (UI)	11.371	9.364	8.589	32,4	9,0

\* Calculada como dose média por ciclo/taxa de gestação ou taxa de nascido vivo.

¶ Entre HMG e r-hFSH

§ Entre HMG-HP e r-hFSH

## Discussão

A fertilização *in vitro* é um fenômeno altamente complexo. A ocorrência da gravidez e do nascimento do bebê depende de muitos fatores, sendo a estimulação ovariana apenas um dos muitos aspectos envolvidos. Neste contexto, torna-se crucial analisar um grande número de casos quando diferentes terapias são comparadas, a fim de que conclusões relevantes possam ser obtidas. Como regra geral, os estudos clínicos comparativos, prospectivos e randomizados são os ideais para avaliar a eficácia de uma terapia. Entretanto, tais estudos geralmente oferecem resultados limitados por não conter o número necessário de casos que permita uma análise acurada. Além disso, tais estudos possuem diversos critérios de inclusão e exclusão, e muitas vezes não representam a realidade da prática clínica. Outro aspecto importante é que a maioria dos estudos envolvendo terapias de reprodução assistida considera a gestação clínica como o parâmetro de interesse principal para avaliar a eficácia, sendo que idealmente este parâmetro deveria ser a taxa de nascidos vivos. Porém, esta última pode ser difícil de obter caso o seguimento das gravidezes não seja feito de forma sistemática e contínua.

Neste estudo, avaliamos a eficácia clínica de três tipos de gonadotrofinas utilizadas para a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) nos ciclos de ICSI. Os dados clínicos e laboratoriais dos tratamentos realizados no nosso serviço são sistemática e continuamente incorporados numa base de dados integrada a um sistema computacional especialmente desenvolvido para o gerenciamento do programa de reprodução assistida (Androsys®, Brasil). O seguimento clínico de todas as gestações é realizado quinzenalmente até o nascimento, quando são obtidos os dados relativos à idade gestacional, peso do(s) bebê(s) ao nascimento, complicações neonatais e malformações. Desta forma, tornou-se possível a análise comparativa de mais de 800 ciclos consecutivos de ICSI, realizados num único centro, cuja estimulação ovariana foi realizada com diferentes gonadotrofinas após a supressão hipofisária

com análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-a). Pelo nosso conhecimento, este é, até o presente, o mais abrangente estudo comparativo entre gonadotrofinas publicado no Brasil, e que apresenta como parâmetros de interesse principal não somente a taxa de nascidos vivos, mas também a dose de gonadotrofina necessária por ciclo, por gestação e por nascimento. Os parâmetros de interesse principal foram ainda analisados tanto de forma global quanto estratificada, levando-se em consideração os parâmetros prognósticos comumente utilizados na medicina reprodutiva, ou seja, idade, fator de infertilidade e número de tentativas. A população não-selecionada analisada é representativa da situação terapêutica encontrada na prática clínica rotineira. Entretanto, devido à natureza retrospectiva da análise dos dados, não se pode excluir com absoluta certeza a existência de desvios.

Por se tratar de um estudo observacional, cujos ciclos em cada grupo não foram incluídos de forma randomizada, mas sim seguindo a utilização terapêutica da gonadotrofina de eleição que diferiu ao longo do tempo, observou-se diferença nas características demográficas da população estudada. Em particular, observou-se que a idade do grupo cuja estimulação ovariana foi realizada com a menotropina (HMG) foi significativamente menor, e em média 1,5 anos inferior, aos demais. Além disso, mais de 70% das pacientes tratadas neste grupo apresentavam menos de 36 anos de idade, cuja proporção situou-se ao redor de 60% nos demais. Tal fato pode justificar a menor duração da estimulação observada neste grupo em relação aos grupos menotropina altamente purificada (HMG-HP) e folitropina alfa (r-hFSH). Em relação às outras variáveis demográficas, os três grupos foram comparáveis.

Taxas de nascidos vivos similares foram obtidas, independentemente da gonadotrofina utilizada para a estimulação ovariana, embora diferenças em níveis marginais de significância tenham sido observadas a favor dos grupos r-hFSH e HMG-HP, tanto na população total avaliada quanto no subgrupo de pacientes com menos de 36 anos. Ludwig e colaboradores (2004), avaliando mais de 20 mil ciclos do Registro Nacional de FIV na Alemanha de 2002, evidenciaram taxas de nascidos vivos 16,6% superiores quando o FSH recombinante era utilizado para a estimulação ovariana após supressão hipofisária, em comparação com o HMG. Neste estudo, entretanto, os autores não avaliaram os resultados estratificados pelo tipo de HMG utilizado, se convencional ou altamente purificado, embora tenham demonstrado que as diferenças encontradas a favor do r-hFSH mantiveram-se mesmo após a estratificação dos grupos de acordo com vários parâmetros prognósticos. Numa atualização recente da meta-análise previamente publicada, envolvendo mais de 2 mil mulheres, Daya et al.<sup>4</sup> observaram que as chances de gravidez foram significativamente superiores nas mulheres que recebiam r-hFSH para a estimulação ovariana nos ciclos de FIV clássico em comparação àquelas estimuladas com HMG. Por outro lado, Van Wely et al.<sup>5</sup> e Al-Inany et al.<sup>6</sup> não encontraram diferenças nas taxas de gravidez entre r-hFSH e HMG quando a estimulação ovariana foi utilizada após a supressão hipofisária com GnRH-a, enquanto Platteau et al.<sup>8</sup> observaram que o HMG-HP oferecia taxas de nascidos vivos superiores ao r-hFSH quando utilizado para estimulação ovariana nos ciclos de FIV clássico, embora fossem igualmente eficazes nos ciclos de injeção

intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI). Existem várias diferenças entre os estudos comparativos publicados, seja no desenho dos mesmos, no tipo de gonadotrofina e no método de supressão hipofisária, além dos critérios de inclusão e exclusão. Em alguns estudos, o número de pacientes avaliado foi insuficiente para a detecção de diferenças significativas nas chances de gestação e nascidos vivos<sup>5</sup>. Destas observações, torna-se evidente que ainda não há consenso sobre o assunto.

Muitos fatores combinados sabidamente influenciam os resultados da FIV, sendo as drogas utilizadas para a superovulação apenas parte deste contexto. As práticas laboratoriais são provavelmente os principais determinantes isolados no sucesso do tratamento, seguidos pelas técnicas de captação oocitária e transferência embrionária. Assim sendo, outros fatores, além da taxa de gestação e de nascidos vivos, deveriam ser levados em consideração no momento da escolha do tipo de gonadotrofina a ser utilizada. Conveniência para a administração, segurança e custo são alguns deles. No aspecto farmacológico, é inquestionável a superioridade do r-hFSH em relação às menopropinas. O r-hFSH é um produto que contém apenas um componente, sendo manufaturado segundo os melhores conceitos de biotecnologia, livre de potenciais contaminantes, e que apresenta a melhor bioatividade por massa e melhor consistência lote-a-lote<sup>17</sup>. Embora alguns especulem que a inexistência de atividade LH no r-hFSH possa ser deletéria para a qualidade oocitária, recentes meta-análises demonstram que a utilização de produtos contendo LH ou a suplementação de LH durante a estimulação não aumenta as chances de nascidos vivos, tanto nos ciclos envolvendo análogos quanto antagonistas do GnRH<sup>5,6,18</sup>. Além disso, num estudo recente, envolvendo a superovulação controlada para FIV e antagonista do GnRH, observou-se que taxas mais elevadas de gravidez e nascidos vivos foram obtidas nos ciclos cujos valores basais de LH eram reduzidos<sup>19</sup>.

No aspecto custo, o r-hFSH, no Brasil, é cerca de 40-50% mais caro do que as menopropinas urinárias, sendo este um dos argumentos a favor da escolha destas últimas para a hiperestimulação ovariana controlada na reprodução assistida. Entretanto, no presente estudo, observou-se que doses significativamente menores de folitropina alfa, em comparação às menopropinas, foram necessárias por ciclo de ICSI para a obtenção da mesma eficácia clínica. Esta observação foi válida quando a população foi analisada de forma total, e também depois da estratificação da mesma por idade, indicação e número de tentativas, em todos os níveis de estratificação avaliados. Além disso, quantidades relativamente maiores de menopropina foram necessárias para cada gestação obtida, e principalmente para cada nascido vivo (20-45% maiores), quando comparadas ao r-hFSH. Embora nosso estudo limitou-se a analisar ciclos de ICSI com supressão hipofisária prévia à hiperestimulação ovariana, outros estudos mais abrangentes ratificam tais observações<sup>7,20</sup>. Tais diferenças podem ser explicadas, ao menos em parte, pelo nível de pureza do r-hFSH, que em termos de conteúdo de FSH é substancialmente superior às menopropinas (>99% no r-hFSH versus <5% no HMG e <70% no HMG-HP)<sup>17,21</sup>. Enquanto a atividade específica de FSH no r-hFSH (folitropina alfa) é de 13.745UI por mg de pro-

teína, tais atividades na menopropina e na menopropina altamente purificada são de apenas 150UI/mg e entre 2.000-2.500UI/mg, respectivamente<sup>21</sup>. Assim sendo, quantidades entre 6-125X maiores de maiores de proteína devem ser administradas para que a mesma atividade biológica de FSH seja obtida quando as menopropinas são empregadas para a HOC, em comparação ao r-hFSH. Além disto, a variabilidade lote-a-lote do r-hFSH é de apenas 1,6%, devido à pureza do produto manufaturado e à utilização do método biofísico de preenchimento por massa de proteína, que assegura que a quantidade de FSH numa determinada amostra seja a mesma<sup>17</sup>. As menopropinas, mesmo as altamente purificadas, apresentam quantidades variáveis de proteínas contaminantes na sua composição, sendo que a determinação da atividade biológica do FSH é realizada via bioensaios in-vivo, os quais são imprecisos do ponto de vista analítico, e que de forma geral apresentam coeficiente de variação de 10-20% para cada determinação<sup>17</sup>. Assim, ampolas de gonadotrofina preenchidas com base nestes bioensaios podem conter quantidades variáveis de hormônio, e não obrigatoriamente aquelas descritas no rótulo do produto. Tais considerações são relevantes e também devem fazer parte da análise do custo global do tratamento com as gonadotrofinas quando utilizadas na reprodução assistida.

## Conclusões

Taxas de nascidos vivos similares foram obtidas com menopropina, menopropina altamente purificada e folitropina alfa quando utilizadas para hiperestimulação ovariana controlada após supressão hipofisária com GnRH-a nos ciclos de ICSI. Doses totais significativamente menores de folitropina alfa foram utilizadas por ciclo em comparação às menopropinas. Para cada nascido vivo, quantidades consideravelmente maiores de menopropina e menopropina altamente purificada (45,2% e 19,8%, respectivamente) foram utilizadas para a estimulação ovariana em relação ao r-hFSH.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To compare the clinical efficacy of three different gonadotropins used for controlled ovarian hyperstimulation (COH) in ICSI cycles.

**MATERIAL AND METHODS:** We retrospectively analyzed 865 consecutive ICSI cycles performed from April/2000 to November/2005. COH was achieved by human menopausal gonadotropin (HMG: Menogon®, Ferring; n=299), highly-purified HMG (HP-HMG: Menopur®, Ferring; n=330) or recombinant FSH (folitropin alfa [r-hFSH]: Gonal-F®, Serono; n=236) after pituitary down-regulation. Laboratory and clinical protocols remained unchanged over time, the latter differing only in the type of gonadotropin, being introduced sequentially in our practice, starting with HMG, then HP-HMG and finally r-hFSH. Data were compared statistically by ANOVA, Kruskal-

Wallis and Chi-square tests as appropriate.

**RESULTS:** Live birth rates were not significantly different in HMG (26.4%), HMG-HP (34.6%) and r-hFSH (32.4%;  $p=0.09$ ) groups. The total amount of gonadotropin per cycle was significantly higher in HMG ( $2,685\pm 720\text{UI}$ ) and HMG-HP ( $2,903\pm 867\text{UI}$ ) groups as compared to r-hFSH-group ( $2,268\pm 747\text{UI}$ ;  $p<0.001$ ). Relative differences of 15.7% and 45.2%, and of 11% and 19.8% were observed in favour of r-hFSH compared to HMG and HP-HMG, respectively, in terms of the total amount of gonadotropin required to achieve a pregnancy and a live birth.

**CONCLUSION:** Similar live birth rates were obtained with HMG, HMG-HP or r-hFSH as used for COH after pituitary down-regulation in ICSI cycles. Considerably less r-hFSH than menotropins was used per cycle. In order to achieve a live birth, substantially more menotropin or highly-purified menotropin (42.5% and 19.8%, respectively) was required as compared to r-hFSH.

**UNITERMS:** Menotropins, follitropin, intracytoplasmic sperm injection, gonadotropin, controlled ovarian hyperstimulation

## Referências bibliográficas

1. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update* 2004; 10:453-67.
2. Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2002; 77:711-4.
3. Daya S. Methodologic pitfalls in assessing the efficacy of recombinant follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotropin in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2003; 80:1100-4.
4. Daya et al. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;3:CD004830.
5. Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PMM, Van der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Review* 2003; 1.
6. Al-Inany H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G. Meta-analysis of recombinant versus urinary-derived FSH: an update. *Hum Reprod* 2003;18:305-13.
7. Ludwig M, Rabe T, Buhler K, Diedrich K, Felberbaum R. Efficacy of recombinant human FSH in comparison to urinary hMG following a long down-regulation protocol – an analysis of 24,764 ART-cycles in Germany. *Reproduktionsmed Endokrinol* 2004; 1:284-8.
8. Platteau P, Smits J, Albano C, Sorensen P, Arce J-C, Devroey P. Exogenous luteinizing hormone activity may influence the treatment outcome in in vitro fertilization but not in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2004; 81: 1401-4.
9. Marinelli CM, Borges E Jr, Antunes Jr N. Reprodução assistida e infertilidade Masculina. II Consenso Brasileiro de Infertilidade Masculina. *International Braz J Urol* 2003; 29 (suppl.5): 42-45.
10. Rhoden E, Soares JB, Esteves SC. O que o laboratório pode fazer pelo espermatozóide. II Consenso Brasileiro de Infertilidade Masculina. *International Braz J Urol* 2003; 29 Suppl 5: 50-5.
11. Esteves SC, Guidi AR, Verza Jr S. Microdissecção testicular na azoospermia não-obstrutiva. *International Braz J Urol* 2003; 29 Suppl Special: 14.
12. Esteves SC, Catafesta E, Maciel MCA. Espermatozoides provenientes de técnicas alternativas. In: Mizrahi FE, Soares JB, Wonchockier R, Glina S. I Consenso Brasileiro de Embriologia em Medicina Reprodutiva. PRONÚCLEO, 1ª. ed., 2004. pp.49-62.
13. Esteves SC, Guidi AR, Zabaglia SFC, Verza Jr S. Intracytoplasmic sperm injection: optical magnification during sperm selection and microinjection affects fertilization, cleavage, and pregnancy rates. *Fertil Steril* 2003; 80 Suppl 3: 124.
14. Veeck LL. The morphological assessment of human oocytes and early concepti. In: Keel BA, Webster BW, editors. *Laboratory diagnosis and treatment of infertility*. Boca Raton: CRC Press; 1990.
15. Esteves SC, Gomes AP, Verza Jr S. Control of air pollution in assisted reproductive technology laboratory and adjacent areas improves embryo formation, cleavage and pregnancy rates and decreases abortion rate: Comparison between a class 100 (ISO 5) and a class 1.000 (ISO 6) cleanroom for micromanipulation and embryo culture. *Fertil Steril* 2004; 82 Suppl 2: S259-S260.
16. Golan A, Ron-El R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation síndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44: 430-40.
17. Wikland M. Improving the consistency of ovarian stimulation: follitropin alfa filled by-mass. *Reprod Biomed Online* 2006; 12:663-8.
18. Cédric-Durnerin I, Grange-Dujardin D, Laffy A, Parneix I, Massin N, Galey J et al. Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2004; 19:1979-84.
19. Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Schiettecatte J, Smits J, Tournaye H, Camus M et al. Profound LH suppression after GnRH antagonist administration is associated with a significantly higher ongoing pregnancy rate in IVF. *Hum Reprod* 2004; 19:2490-6.
20. Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle-stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Review* 2002; 1.
21. van de Weijer BH, Mulders JW, Bos ES, Verhaert PD, van den Hooven HW. Compositional analyses of a human menopausal gonadotrophin preparation extracted from urine (menotropin). Identification of some of its major impurities. *Reprod Biomed Online* 2003; 7:547-57.



# Baixa resposta ovariana: FIV convencional ou ICSI?

Poor ovarian response: conventional IVF or ICSI?

Aparecida S. Canha<sup>1</sup>, Sara Nacheff<sup>1</sup>, Jonathas B. Soares<sup>1</sup>, Gilberto C. Freitas<sup>1</sup>, Artur Dzik<sup>1</sup>, Mario Cavagna<sup>1,2</sup>

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar as taxas de fertilização, clivagem e gravidez em pacientes submetidas à FIV convencional e à ICSI nos casos de má resposta ovariana.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizado estudo retrospectivo comparando-se os resultados de FIV convencional e ICSI em 55 pacientes com má resposta à estimulação ovariana. Foram comparados os seguintes parâmetros: idade, número de oócitos aspirados, taxa de fertilização, taxa de transferência, taxa de clivagem e taxa de gravidez por transferência.

**RESULTADOS:** Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0,05$ ).

**CONCLUSÕES:** Quando a estimulação ovariana e a aspiração folicular fornecerem no máximo 3 oócitos para o laboratório de reprodução assistida, a FIV convencional deve ser indicada, não havendo necessidade de se proceder à ICSI em tais situações.

**UNITERMOS:** Má resposta ovariana; FIV; ICSI.

## Introdução

Desde 1978, com o nascimento de Louise Brown, a fertilização *in vitro* (FIV) tem comprovado ser um eficiente tratamento nos casos de infertilidade conjugal, especialmente na infertilidade de causa tubárea<sup>1</sup>. Entretanto, nos casos de infertilidade por fator masculino grave, a FIV pouco representou em termos de melhora do prognóstico. Os resultados da FIV eram muito menos eficientes quando as características do sêmen do parceiro masculino mostravam-se inadequadas, com relação aos valores de referência de concentração, morfologia e motilidade. A porcentagem de oócitos que fertilizavam normalmente eram significativamente baixos, resultando na formação de poucos embriões, sendo comum a ausência de embriões disponíveis para transferência em número considerável de ciclos<sup>2</sup>.

Palermo et al.<sup>3</sup> publicaram a primeira gravidez e nascimento após a transferência de embriões produzidos pela injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Na ICSI, um único espermatozoide é injetado com uma micro-agulha dentro do citoplasma oocitário, após a passagem pela zona pelúcida e pela membrana do oócito. A ICSI é indicada, fundamentalmente, para casais que apresentam causa grave de infertilidade masculina. Pode, igualmente, ser utilizada com es-

permatozoides obtidos por punção testicular ou epididimária e em oócitos criopreservados<sup>4-7</sup>. Atualmente, discute-se a amplitude de indicações que a ICSI deve ter, pois não mais se restringe aos casos de fator masculino. Falhas de implantação em ciclos precedentes já é uma indicação clássica de ICSI. Em pacientes más respondedoras, das quais se obtém pequeno número de oócitos para a fertilização, poderia ser considerada uma outra indicação.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as taxas de fertilização, clivagem e gravidez em pacientes submetidas à FIV convencional e à ICSI quando a estimulação ovariana e a aspiração folicular fornecerem no máximo 3 oócitos para o laboratório de reprodução assistida.

## Material e Métodos

Foi realizado estudo retrospectivo comparando-se dois grupos de pacientes com pobre resposta ovariana submetidas a técnicas de reprodução assistida no Centro de Referência da Saúde da Mulher, durante o período de janeiro de 2005 a maio de 2006:

Grupo I: 26 pacientes submetidas a FIV convencional, na ausência de fator masculino;

Grupo II: 29 pacientes submetidas a ICSI, indicada pela presença de fator masculino.

A estimulação ovariana, em ambos os grupos, foi realizada com a administração de acetato de leuprolide, 3,75 mg, na fase lútea do ciclo precedente, seguida, após 14 a 20 dias, de FSH recombinante ou hMG urinário, com doses diárias varian-

<sup>1</sup>Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington, São Paulo.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil, Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro, São Paulo.

Correspondência para:

Mario Cavagna

Av. Brigadeiro Luis Antonio, 683

01307-000 – São Paulo – SP

E-mail: [mariocavagna@yahoo.it](mailto:mariocavagna@yahoo.it)

do entre 150 e 300 UI. O desencadeamento da maturação folicular final foi feito através da administração de 10.000 UI de hCG, na presença de pelo menos um folículo com diâmetro máximo  $\geq 17$  mm. A aspiração folicular foi realizada após 35-36 horas. Em ambos os grupos houve uma resposta pobre à estimulação ovariana, tendo sido obtidos no máximo 3 oócitos após a aspiração folicular. Foram comparados os seguintes parâmetros: idade, número de oócitos aspirados, taxa de fertilização, taxa de transferência, taxa de clivagem e taxa de gravidez por transferência. A análise estatística foi realizada com o teste do qui quadrado e foi considerado significativo valor de  $p < 0,05$ .

**Tabela 1** - Resultados dos ciclos de FIV

Número de casos	Média da idade	Número de oócitos aspirados	Taxa de fertilização	Taxa de transferência	Taxa de clivagem	Taxa de gravidez/ transferência
26	35.5 anos	53	76% (38/53)	80.8% (21/26)	89.5% (34/38)	33.3% (7/21)

No grupo II, as 29 pacientes submetidas à ICSI, apresentavam idade entre 24 a 42 anos (média: 36,2 anos). Nesse grupo, houve transferência em 23 mulheres (79,3%). O número de embriões transferidos variou entre 1, 2 e 3 (47,8%, 39,1% e 13%), respectivamente. A taxa de fertilização foi 77% e a taxa de clivagem foi 91%. A taxa de gravidez por transferência foi

## Resultados

No grupo I, as 26 pacientes submetidas à FIV convencional, apresentavam idade entre 27 a 44 anos (média: 35,5 anos). Em 21 mulheres houve transferência de embriões (80,8%). O número de embriões transferidos variou entre 1, 2 e 3 (57,1%, 23,8%, 19%), respectivamente. A taxa de fertilização foi 76% e a taxa de clivagem 89,5%. A taxa de gravidez por transferência atingiu 33,3% (Tabela 1). A classificação embrionária, de acordo com Veeck<sup>8</sup>, revelou 12 embriões classe I (31,6%), 10 classe II (26,3%), 9 classe III (23,7%), 1 classe IV (2,6%) e 1 classe V (2,6%).

de 13% (Tabela 2). Na classificação embrionária, registrou-se 12 embriões classe I (27,3%), 13 classe II (29,5%), 11 classe III (25%), 2 classe IV (4,5%) e 1 classe V (2,3%).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em nenhum dos parâmetros avaliados ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 2** - Resultados dos ciclos de ICSI

Número de casos	Média da idade	Número de oócitos aspirados	Taxa de fertilização	Taxa de transferência	Taxa de clivagem	Taxa de gravidez/ transferência
29	36.2 anos	65	77% (44/65)	79.3% (23/29)	91% (40/44)	13% (3/23)

## Discussão

Com o advento da ICSI houve, inegavelmente, uma substancial melhora nas taxas de fertilização nas técnicas de reprodução assistida, em particular na presença de fator masculino grave. Discute-se, ainda hoje, se as indicações para ICSI devem ser rígidas ou apresentar maior flexibilidade. De acordo com Hamberger et al.<sup>9</sup>, as indicações absolutas para ICSI seriam duas falhas de fertilização prévias, uso de espermatozoides obtidos do epidídimo ou do testículo e a disponibilidade de apenas espermatozoides imóveis para a fertilização dos oócitos. Orief et al.<sup>10</sup> referem que a ICSI deve ter maior gama de indicações, não se restringindo apenas ao fator masculino. Ola et al.<sup>11</sup>, por outro lado, registram que a ICSI somente deveria ser utilizada quando a possibilidade de fertilização com a FIV convencional fosse considerada improvável. Entretanto, além do fator masculino grave, é fato estabelecido que em falhas de fertilização em ciclos anteriores, não deve haver dúvidas na indicação de ICSI<sup>12</sup>.

Recentemente, van der Westerlaken et al.<sup>13</sup> reafirmaram a superioridade da ICSI quando em ciclos anteriores houve ausência ou baixa taxa de fertilização com a FIV convencional. Os mesmos autores demonstraram que, quando a qualidade seminal é limítrofe, a utilização da ICSI mostra-se superior

or à FIV convencional<sup>14</sup>.

Nas técnicas de reprodução assistida, além do fator masculino, outro aspecto é considerado como fator limitante do sucesso terapêutico: a inadequada resposta à estimulação ovariana. Não há consenso na literatura sobre o que possa ser considerado má resposta ovariana; aceitamos, de acordo com Hugues e Cedrin-Durnerin<sup>15</sup> e Karande e Gleicher<sup>16</sup>, que a definição de má resposta inclua níveis de estradiol  $< 500$ pg/mL e a presença de menos de 4 folículos dominantes no dia da administração do hCG em ciclos estimulados com gonadotropinas.

Nas técnicas de reprodução assistida, deparando-se com má resposta ovariana, ou seja, obtendo-se no máximo 3 oócitos após a aspiração folicular, poderia ser discutida a opção de ICSI independentemente do fator masculino, visando melhorar as taxas de fertilização. Dessa maneira, deparando-se com pobre resposta ovariana à estimulação com gonadotropinas, com a disponibilidade de poucos oócitos para o procedimento de fertilização in vitro, a ICSI poderia ser uma opção para que se garantisse a fertilização; poderia ser, portanto, indicada rotineiramente em tais situações.

Com o objetivo de contribuir para a resposta desse argumento, realizamos investigação retrospectiva para avaliar os resultados da FIV convencional e da ICSI em pacientes más respondedoras. Os resultados de nosso estudo não mostraram diferenças significantes nos parâmetros avaliados; a taxa de gra-

videz por transferência mostrou tendência de ser maior nos casos de FIV convencional, mas a pequena amostra não permitiu que se atingisse a significância estatística. Poder-se-ia cogitar que as melhores taxas de gravidez nos ciclos de FIV convencional seriam devidas à ausência de fator masculino. Note-se que não houve diferença na qualidade embrionária, avaliada por critérios morfológicos, entre os dois grupos. Os casos de ICSI, realizados com indicação de fator masculino grave, poderiam dar origem a embriões que, embora morfológicamente normais, apresentem anormalidades cromossômicas, resultando em menor taxa de implantação. Embora tal fato não seja observado rotineiramente nos casos de ICSI com fator masculino grave, talvez o pequeno número de oócitos disponíveis prejudique a possibilidade de se obter embriões de maior potencial de implantação.

Embora nossa investigação tenha sido retrospectiva e com uma casuística relativamente pequena, os resultados sugerem que, com ausência de fator masculino, quando a estimulação ovariana e a aspiração folicular fornecerem no máximo 3 oócitos para o laboratório de reprodução assistida, a FIV convencional deve ser indicada, não havendo necessidade de se proceder, rotineiramente, à ICSI em tais situações. A FIV representa uma técnica mais simples, com um custo menor e, inegavelmente, mais próxima à fisiologia reprodutiva do ser humano.

Entretanto, concordamos que se trata de argumento passível de inúmeras discussões, havendo inclusive serviços que realizam a ICSI rotineiramente em todas as situações. Dessa forma, outros estudos, prospectivos e randomizados, devem ser realizados para que se possa ter uma resposta definitiva ao assunto em questão.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To determine fertilization and pregnancy rates in poor responder patients undergoing conventional IVF and ICSI. **MATERIAL AND METHODS:** Retrospective study comparing the outcomes of conventional IVF and ICSI in 55 women with poor response to ovarian stimulation. The main outcome measures were: women's age, number of oocytes collected, fertilization rate, cleavage rate and pregnancy rate per transfer.

**RESULTS:** There were no statistical significant differences in all outcome measures in both groups ( $p > 0.05$ ).

**CONCLUSIONS:** In poor responder patients, when ovarian stimulation offers a maximum of three oocytes to fertilization, in the absence of male factor, conventional IVF should be performed, and ICSI may not be the treatment of choice for all cases of ovarian poor response.

**UNITERMS:** Poor ovarian response; IVF; ICSI.

## Referências Bibliográficas

1. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynecol.* 1980; 87: 737-56.
2. Tournaye H, Devroey P, Camus M, Staessen C, Bollen N, Smitz J, Van Steirteghem AC. Comparison of in-vitro fertilization in male and tubal infertility: a 3 year survey. *Hum Reprod.* 1992; 7: 218-22.
3. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340 17-8.
4. Craft I, Bennet V, Nicholson N. Fertilising ability of testicular spermatozoa. *Lancet* 1993; 342: 1237-8.
5. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Silber SJ, Van Steirteghem A. Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and ICSI. *Fertil Steril.* 1994; 62: 639-41.
6. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 1995; 10: 1457-60.
7. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, Van Roosendaal E, Schoysman D. Pregnancy after fertilisation with human testicular spermatozoa. *Lancet* 1993; 342: 1237.
8. Veeck LL. *An Atlas of Human Gametes and Conceptuses.* New York:Parthenon Publishing; 1998.
9. Hamberger L, Lundin K, Sjogren A, Soderlund B. Indications for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13 Suppl 1:128-33.
10. Orief Y, Dafopoulos K, Al-Hassani S. Should ICSI be used in non-male factor infertility? *Reprod Biomed Online.* 2004; 9:348-56.
11. Ola B, Afnan M, Sharif K, Papaioannou S, Hammadieh N, Barratt CL. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? Considerations of fertilization and embryo development, cost effectiveness and safety. *Hum Reprod.* 2001; 16:2485-90.
12. Kastrop PM, Weima SM, Van Kooij RJ, Te Velde ER. Comparison between intracytoplasmic sperm injection and in-vitro fertilization (IVF) with high insemination concentration after total fertilization failure in a previous IVF attempt. *Hum Reprod.* 1999; 14:65-9.
13. van der Westerlaken L, Helmerhorst F, Dieben S, Naaktgeboren N. Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2005; 83:612-7.
14. van der Westerlaken L, Naaktgeboren N, Verburg H, Dieben S, Helmerhorst FM. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in patients with borderline semen: a randomized study using sibling oocytes. *Fertil Steril.* 2006; 85:395-400.
15. Hugues JN, Cedrin-Durnerin I. Revisiting GnRH agonist protocols and management of poor ovarian responses to gonadotrophins. *Hum Reprod Update* 1998; 4:83-101.
16. Karande V, Gleicher N. A rational approach to the management of low responders in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1999; 14:1744-8.



# Sistema ABO e infertilidade

Infertility and blood group ABO system

Patrícia Carvalho Garcia<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Rubio Colaúto<sup>2</sup>, Anaglória Pontes<sup>3</sup>, Eliana Milanesi Rubio<sup>4</sup>

## RESUMO

**OBJETIVOS:** A incompatibilidade ABO está associada com algumas patologia e estudos sugerem também uma possível associação com a infertilidade. O objetivo deste estudo foi verificar se a incompatibilidade ABO entre os casais pode ser um fator contribuinte para o quadro de infertilidade.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram analisados 161 casais quanto ao grupo sanguíneo ABO e divididos em dois grupos: Grupo 1 - constituído por 72 casais férteis e grupo 2 - constituído por 89 casais inférteis. Análise estatística foi realizada pelos testes Fischer's exact test e chi-square test \* $p < 0,05$ .

**RESULTADOS:** Os resultados mostraram um aumento significativo na incompatibilidade ABO nos casais inférteis 38(42,7%)\* quando comparado com a dos casais férteis 15(25%). Observamos também uma maior frequência do grupo sanguíneo O nos homens férteis e do grupo B nos homens inférteis.

**CONCLUSÕES:** Os resultados sugerem que a incompatibilidade ABO pode ser um fator contribuinte para a infertilidade, evidenciado pelo aumento significativo da incidência de casais ABO incompatíveis no grupo de casais inférteis.

**UNITERMOS:** antígenos ABH, incompatibilidade ABO, infertilidade.

## Introdução

Em um casal normal, com vida sexual regular e ativa, a taxa de concepção é em torno de 20% ao mês, ocorrendo 75% em 6 meses, e chegando a 90% em 1 ano. Contudo, quase 10% das mulheres em idade reprodutiva são inférteis, e cerca de um quarto terá experimentado períodos de infertilidade em algum momento de suas vidas<sup>1</sup>. A infertilidade é definida como ausência de gestação, em um período de 12 meses, sem uso de método contraceptivo, com relações sexuais bem distribuídas ao longo do ciclo<sup>2</sup>.

A OMS estima que 60 a 80 milhões de casais no mundo são inférteis. Entre 2% a 10% dos casais são incapazes de conceber uma criança pelos meios naturais, necessitando da ajuda médica. Das causas de infertilidade, 30% são atribuídas ao fator feminino, 30% ao fator masculino, 30% a ambos e 10% são atribuídas à causa idiopática, denominada infertilidade inexplicada, podendo estar atuando um único fator causal, ou uma somatória de fatores contribuintes<sup>3</sup>.

Entre os fatores mais sutis incluem o estilo de vida, o risco ocupacional, meio ambiente e talvez a incompatibilidade

ABO pudesse ser um deles<sup>4-8</sup>.

Dos sistemas de grupos sanguíneos, o sistema ABO foi o primeiro a ser descoberto, principalmente devido a três características: a) os antígenos ABH não são produtos primários dos genes específicos; b) todo indivíduo normal de fenótipo negativo, para o(s) antígeno(s) A e/ou B eritrocitários, naturalmente são portadores do(s) anticorpo(s) correspondente(s). Eles são estimulados por substâncias naturais que possuem estruturas muito semelhantes aos antígenos ABH, a partir de três meses de vida, quando o sistema imunológico é capaz de reconhecer o próprio do não próprio; c) os antígenos ABH podem ser encontrados em outros tecidos, além do sanguíneo, e líquidos orgânicos, desde que o indivíduo herde também um gene denominado Secretor (Se)<sup>9-11</sup>.

Há estudos sugerindo uma associação do sistema ABO com determinadas patologias<sup>12</sup>. Nessa linha de raciocínio, casais com grupo ABO incompatível poderiam ter maior dificuldade em obter uma gestação. Com base nesses dados objetivou-se verificar se o fenótipo ABO, quando incompatível nos casais, poderia contribuir para o quadro de infertilidade.

## Material e Métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo de 161 casais quanto ao grupo sanguíneo ABO, no período de abril de 2003 a março de 2005. Os casais foram divididos em dois grupos:

Grupo 1: composto por 72 casais com fertilidade comprovada (filhos menores que dois anos);

<sup>1</sup> Departamento de Clínica Médica - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

<sup>2</sup> Graduando do curso de Farmácia Bioquímica da Universidade Paulista- UNIP

<sup>3</sup> Departamento de Ginecologia e Obstetrícia - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP

<sup>4</sup> Departamento de Urologia - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu- UNESP.

Correspondência para:

Patrícia Carvalho Garcia

Rua: Miguel Catarino n.369, Vila Nova Botucatu, Botucatu - São Paulo

CEP: 18608-210

Tel: 14-38822072/ 14-81184599

Email: patyhemo@terra.com.br

Grupo 2: composto por 89 casais inférteis, provenientes do Ambulatório de Infertilidade, atendidos no Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

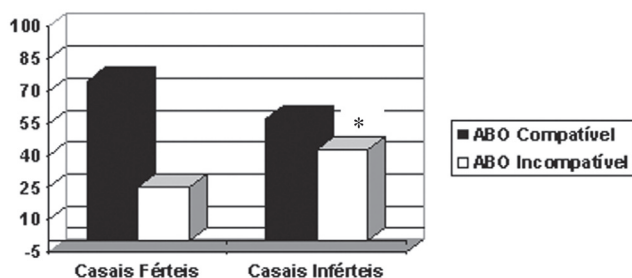
A fenotipagem ABO foi realizada pela técnica de aglutinação em tubo, compreendendo as provas: direta onde os antígenos A e/ou B foram pesquisados utilizando-se anti-soros anti AB, anti A e anti B e a fase reversa onde os anticorpos anti A e/ou anti B foram pesquisados utilizando-se hemácias dos grupos sanguíneos: A<sub>1</sub> e B (9).

Para a análise estatística empregaram-se os testes Fisher's exact test e Chi-square test de proporção, ao nível de significância de 5%.

## Resultados

Observamos um aumento significativo de incompatibilidade ABO nos casais inférteis 38 (42,7%\*) quando comparado com a dos casais férteis 15 (25%), ilustrado na Figura 1. sanguínea ABO.

**Figura 1** - Porcentagem dos casais férteis e inférteis quanto à compatibilidade da tipagem sanguínea



\*  $p < 0,05$ , Fisher's exact test

Encontramos também um aumento significativo na frequência do grupo sanguíneo O nos homens férteis quando comparado com o grupo de inférteis e um aumento do grupo sanguíneo B nos homens inférteis quando comparado com o grupo de férteis (tabela 1).

**Tabela 1** - Frequência dos grupos sanguíneos ABO nos homens férteis e inférteis

Grupo Sanguíneo	Fértil	Infértil	valor de p
O	43 (59,7%)*	38 (42,7%)	$p < 0,05$
A	24 (33,3%)	34 (38,2%)	NS
B	02 (2,8%)	13 (14,6%)*	$p < 0,05$
AB	03 (4,2%)	04 (4,5%)	NS

NS= Não significante

Os fenótipos ABO encontrados nas mulheres férteis e inférteis não apresentaram diferença significativa (tabela 2).

**Tabela 2** - Frequência dos grupos sanguíneos ABO nas mulheres férteis e inférteis

Grupo sanguíneo	Fértil	Infértil	Valor de p
O	40 (55,6%)	50 (56,2%)	NS
A	24 (33,3%)	27 (30,3%)	NS
B	06 (8,3%)	12 (13,5%)	NS
AB	02 (2,8%)	00 (0%)	NS

NS= Não significante

## Discussão

Os antígenos ABH são determinados geneticamente, e são detectados nas hemácias, e praticamente em todas as secreções orgânicas, dependendo da herança dos genes ABH e Secretor (Se). A maioria da população é portadora do gene Se, cuja função é regular a formação dos antígenos ABH nas células secretoras. Assim, o gene H é ativo nos eritroblastos, e o gene Se fora dele, sendo o produto de ambos uma 2  $\alpha$ -L-fucosil-transferase, que determina a formação do antígeno H, o precursor dos antígenos A e B. Embora os dois possuam a mesma atividade, há independência entre eles<sup>9,10</sup>. Homens que herdaram o gene Se, exibem os antígenos ABH na membrana de seus espermatozoides, principalmente na cabeça, região que interage com o ócito. Os antígenos ABH não são sintetizados na membrana do espermatozoide, mas são absorvidos do fluido seminal, pois as secreções das glândulas acessórias são ricas na quantidade de antígenos, sendo a natureza química, glico-esfingolípides. Portanto, os espermatozoides presentes no epidídimo, não apresentam estes antígenos<sup>9-11</sup>.

Abe et al.<sup>13</sup>, pela técnica de Elisa encontrou 2 componentes na enzima presente no sêmen, a  $\gamma$ -glutamilttransferase, sendo uma subunidade de 95 Kda, e outra de 150 Kda, esta expressando os antígenos ABH. Nenhum antígeno ABH foi encontrado em homens não secretores, nem em outros líquidos orgânicos como a saliva e o sangue.

Os resultados deste trabalho mostram que a incompatibilidade ABO ocorreu em uma porcentagem consideravelmente maior de casais inférteis: 42,7%, comparado com 25% dos casais férteis.

Ogbimi et al.<sup>14</sup> encontraram resultados semelhantes, 70% dos casais férteis eram compatíveis, embora conclua que a incompatibilidade ABO não seja a responsável pela infertilidade. Solis et al.<sup>15</sup> analisaram a vitalidade e a integridade da membrana dos espermatozoides de homens inférteis com presença e ausência de glicoesfingolípides ABH e os resultados foram estatisticamente significativos quanto ao número de mortos, mas não quanto à integridade da membrana.

A prevalência dos grupos ABO encontrada entre as mulheres foi semelhante nos dois grupos estudados, entretanto estatisticamente diferente entre os homens férteis e inférteis. A porcentagem de indivíduos pertencentes ao grupo B foi bem maior entre os inférteis (14,6%), comparado aos férteis (2,8%). Por outro lado, o grupo O foi mais frequente entre os homens férteis (59,7%) do que inférteis (42,7%). Os

indivíduos do grupo B, sendo secretores apresentam o antígeno B nos espermatozoides, enquanto que os do grupo O independente do estado secretor não expressam nenhum antígeno nas hemácias, nem em outros tecidos e líquidos orgânicos.

Embora nesse estudo, como em outros a porcentagem de casais inférteis com o grupo ABO incompatível seja maior que o grupo controle, o mecanismo de ação dos anticorpos sobre os espermatozoides até agora não foi estudado. A consequência seria na vitalidade, na motilidade e na interação com o oócito contribuindo para a infertilidade conjugal? Talvez, outro fator a ser considerado seja a quantidade de anticorpos presentes na secreção vaginal que pudessem agredir um número determinado de espermatozoides, e neste caso os homens com altas concentrações não seriam afetados.

Concluindo, os dados desse estudo sugerem que a incompatibilidade ABO pode ser um fator, não isolado, mas que em conjunto com outros contribua para a infertilidade conjugal. Entretanto estudos posteriores são necessários, quanto ao estado secretor masculino, sua relação com os parâmetros espermáticos e principalmente quanto aos mecanismos de interação dos antígenos ABH dos espermatozoides com os anticorpos presentes no trato genital feminino, suas consequências e sua relação com os receptores do oócito.

---

## ABSTRACT

**OBJECTIVES:** The ABO incompatibility is associated with some diseases and research indicates also a possible association with infertility. The purpose of this study was to verify if ABO incompatibility among couples could be a contributing factor for infertility.

**MATERIAL AND METHODS:** The 161 couples were analyzed for blood group ABO system and divided in two groups: Group 1- consisted by 72 fertile couples and group 2- by 89 infertile couples. For statistical analyses was used Fischer's exact test e Chi-square test \* $p < 0,05$ .

**RESULTS:** The results showed a significant increase to ABO incompatibility in the infertile couples 38(42.7%)\* when compared with the fertile couples 15(25%). A high frequency was observed for fertile men with O blood group and for infertile men with B blood group.

**CONCLUSIONS:** The results suggest that incompatibility ABO can be a contributing factor for infertility, evidenced by significant increase of the incompatible couples ABO in the group of infertile couples.

**UNITERMS:** antigens ABH, incompatibility ABO, infertility.

---

## Referências Bibliográficas

1. Franco-Junior JG, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG. Reprodução assistida. Rio de Janeiro: Revinter; 1997.
2. Glina S, Damião R. I Consenso Brasileiro: infertilidade masculina. São Paulo: BG Editora; 1999.
3. Klein J, Sauer MV. Assessing fertility in woman of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 185:158-70.
4. Indulski JA, Sitarek K. Environmental factors which impair male fertility. *Med Pr.* 1997; 48: 85-92.
5. De Celis RM. Semen quality of workers occupationally exposed to hydrocarbons. *Fertile Steril.* 2000; 73: 221-228.
6. Pereira OCM. Endocrine disruptors and hypothalamic sexual differentiation. *Annu Rev Biomed Sci.* 2003; 5: 87-94.
7. Nag RN, Banerjee AR. Unexplained infertility and ABO blood group incompatibility. *J Obstet & Gynaecol India.* 1976; 26: 285-90.
8. Omu AE, Al-Mutawa M, Al-Qattan F. ABO blood group and expresión of antisperm antibodies in infertile couples in Kuwait. *Gynecol & Obstet Invest.* 1998; 45: 49-53.
9. Harmening D. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusões, 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 1992.
10. Girello AL, Kühn TIB. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. São Paulo: Senac; 2002.
11. Beiguelman B. Os sistemas sanguíneos eritrocitários. 3ª ed. São Paulo: Funpec; 2003.
12. Boren T. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993; 262: 1892-95.
13. Abe S, Gunji H, kunii S, Kuraya M, Fujita T, Hiraiwa K. Semen specific g-glutamyltransferase carries ABH antigens: a sandwich ELISA for simultaneous semen detection and its ABO blood typing. *Clin Chim Acta.* 1999; 283:183-94.
14. Ogbimi AO, Oyeyinka GO, Omu AE. ABO blood group incompatibility and infertility in Nigerian couples. *Immunology Letters* 1987; 14: 299-301.
15. Solis EA. Correlation between ABH glycolipids in sperm and functional test. *Arch Esp Urol.* 2001; 54: 199-203.

# Polimorfismo do gene do receptor de insulina (*INSR*) em pacientes com síndrome dos ovários policísticos

Polymorphism of the insulin receptor gene (*INSR*) in patients with polycystic ovary syndrome

Maria Fernanda Moreira Ferraz<sup>1</sup>, Priscila Daniela Ramos Cirilo<sup>1</sup>, Sílvia Regina Rogatto<sup>1</sup>, Claudia Aparecida Rainho<sup>1</sup>, Técia Maria de Oliveira Maranhão<sup>2</sup>, Anaglória Pontes<sup>1</sup>

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar a frequência do polimorfismo do gene (*INSR*), localizado no éxon 17 do cromossomo 19, quanto ao seu envolvimento na predisposição genética da SOP e a associação com a sensibilidade à insulina e hiperandrogenismo.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram estudadas 57 pacientes com SOP e 50 mulheres normais com ciclos menstruais regulares (controle) quanto à frequência de polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphisms-SNPs*) do gene *INSR*, através da análise de comprimento do fragmento de restrição (*Restriction Length Fragment Polymorphisms-RFLPs*). Para avaliar a sensibilidade à insulina, utilizou-se os seguintes métodos matemáticos: relação glicemia/insulina de jejum (*G/I*), *Homeostasis Model Assessment* (*HOMA*) e *Quantitative Sensitivity Check Index* (*QUICKI*). Foram considerados normais,  $G/I \geq 4,5$ ,  $HOMA < 3,8$ , e  $QUICKI \geq 0,34$ .

**RESULTADOS:** O polimorfismo (C/T, T/T) na SOP não apresentou diferenças significativas com o grupo controle. Quanto à insulinemia, não observamos diferenças entre as pacientes com genótipos (C/T, T/T) e (C/C).

**CONCLUSÕES:** As frequências do polimorfismo do gene *INSR*, são semelhantes tanto em pacientes com SOP, como em mulheres normais. Esses genótipos (C/T e T/T) não influenciam a sensibilidade à insulina e o hiperandrogenismo na SOP.

**UNITERMOS:** Síndrome dos ovários policísticos; Polimorfismo; Gene do receptor de insulina.

## Introdução

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é uma doença heterogênea caracterizada por anovulação crônica e hiperandrogenismo. Considerada a endocrinopatia mais comum nas mulheres em idade reprodutiva (5 a 10%)<sup>1,2</sup> apresenta uma freqüente associação com resistência à insulina e hiperinsulinemia compensatória (50-70%)<sup>3,4</sup>. A presença da resistência à insulina na SOP, pode evoluir com um declínio na função das células beta-pancreáticas resultando em intolerância à glicose em torno de 40% e risco aumentado para desenvolver diabetes mellitus e doenças cardiovasculares<sup>4-8</sup>. A hiperinsulinemia aumenta diretamente a produção de androgênios ovarianos por favorecer a atividade do citocromo P450c17alfa, por reduzir a produção hepática da globulina carreadora dos hormônios sexuais (*Sex hormone binding globulin - SHBG*) e aumento da secreção do hormônio luteinizante (*Luteinizing hormone- LH*)<sup>3</sup>.

O receptor de insulina (*INSR*) é uma glicoproteína heterotetramérica formado por duas subunidades,  $\alpha$  e  $\beta$  e codificado por um gene localizado no cromossomo 19. A subunidade  $\alpha$  é extra-celular e contém a área de domínio e de ligação. A subunidade  $\beta$  está na membrana e na porção citoplasmática e contém uma atividade proteíno-quinase intrínseca<sup>9</sup>. Após a ligação da insulina com a subunidade  $\alpha$ , a subunidade  $\beta$  torna-se fosforilada em resíduos de tirosina e adquire atividade quinase, iniciando uma cascata de fosforilação das proteínas citoplasmáticas conhecidas como substratos do receptor de insulina ou IRS-1 e IRS-2. O IRS-1, possui 14 locus potenciais de fosforilação da tirosina, os quais, quando fosforilados, ligam-se a fosfatidil-inositol-3-quinase (PI-3Kinase), que desencadeiam a ativação de uma importante serino-quinase, a *proteíno-quinase mitogen ativada* (MAPK), responsável pelos efeitos da insulina. A resistência à insulina na síndrome dos ovários policísticos é caracterizada por um defeito pós-receptor de insulina, com excessiva fosforilação de resíduos de serina devido a diminuição da atividade tirosino-quinase e da PI-3Kinase<sup>10,11</sup>.

Devido à existência de vários mecanismos envolvidos na SOP, essa síndrome é considerada poligênica, codificando enzimas relacionadas com a síntese e o metabolismo de androgênios, como também, genes envolvidos na regulação de receptores com atividade tirosino-quinases, como o gene

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Correspondência para:

Anaglória Pontes  
Rua Azaléia, 370 ap. 91  
18.603-550 – Botucatu – SP  
E-mail: [pggo@fmb.unesp.br](mailto:pggo@fmb.unesp.br)



do receptor da insulina<sup>12</sup>, com a influência de fatores ambientais: obesidade, sedentarismo, dieta inadequada, crescimento intra-uterino restrito e etnia<sup>13</sup>. Os polimorfismos de DNA distribuídos ao longo do genoma caracterizam-se pela existência de duas ou mais variantes (alelos, fenótipos, variantes de seqüências e de estrutura cromossômica)<sup>14</sup>. O gene do *INSR* inclui 22 éxons atravessando 120 Kilobases no cromossomo 19p13.3 e apresenta um polimorfismo C/T na extremidade do éxon 17 (posição 10923 do gene do *INSR*)<sup>15</sup>. Mutações no éxon 17 a 21, a região que codifica o domínio da tirosino-quinase do receptor de insulina, foram demonstradas como causa de severa resistência à insulina e hiperinsulinemia<sup>16</sup>. Polimorfismos do gene do receptor de insulina (*INSR*), de atividade tirosino-quinase, mostraram associação com SOP em estudo de Siegel et al.<sup>17</sup> e estudo em famílias caucasianas, com o marcador (D19S884) próximo do gene do receptor de insulina, localizado no cromossomo 19p13.3<sup>18,19</sup>.

Os objetivos da presente investigação são os seguintes:

1. Avaliar a frequência do polimorfismo do gene do receptor de insulina (*INSR*), localizado no éxon 17 do cromossomo 19, em pacientes com SOP, comparando-a com mulheres normais com ciclos menstruais regulares.

2. Verificar se o polimorfismo do gene *INSR* está associado às manifestações clínicas e laboratoriais quanto à insulinemia, ao hiperandrogenismo e às medidas antropométricas.

## Material e Métodos

Foi realizado um estudo clínico caso-controle. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Of. 294/2005). Foram incluídas no grupo de estudo 57 pacientes com diagnóstico de SOP baseado no Consenso de 1990 pelo *National Institutes of Health – National Institutes of Child Health and Development* (NIH-NICHHD)<sup>20</sup>, excluindo-se hiperprolactinemia, doenças tireoideanas, síndrome de cushing, hiperplasia de adrenal congênita e tumores ovarianos produtores de androgênios. O grupo controle foi constituído por 50 mulheres com ciclos menstruais regulares, sem hiperandrogenismo clínico. As amostras do grupo de estudo e controle, foram armazenadas no Laboratório NeoGene, e as pacientes foram esclarecidas na época, sobre os objetivos desse armazenamento, exigência da resolução nº 196/outubro/1996, do Conselho Nacional de Saúde.

Foram realizadas as medidas antropométricas através do índice de massa corpórea (IMC), da cintura (centímetros) e da relação cintura/quadril (RCQ). Considerou-se obesidade o IMC  $\geq 30$  (Kg/m<sup>2</sup>)<sup>21</sup>. O valor de normalidade para a medida da cintura, em centímetros, foi considerado < 88cm.

O hiperandrogenismo clínico e laboratorial foi avaliado em todas as pacientes com SOP e, no grupo controle, em uma parte das mulheres (25/50), com avaliações do Índice de Ferriman e Gallwey (IFG), modificado conforme os critérios adotados por Hatch et al.<sup>22</sup>, de dosagens da testosterona total e do sulfato de deidroepiandrosterona (DHEA-S). A testosterona total foi dosada no plasma por radioimunoensaio

de fase sólida, utilizando-se *Kit da DPC -Diagnostic Products Corporation - USA*). O sulfato de deidroepiandrosterona (DHEA-S) foi dosado pelo método quimioiluminescência. A avaliação da intolerância à glicose, foi realizada pelos valores obtidos do Teste de Tolerância à Glicose Oral (TTGO) de 75g. O TTGO (75g) e os índices de sensibilidade à insulina, foram realizados em todas as pacientes com SOP e, no grupo controle, em uma parte delas (20/50). As dosagens da glicose foram realizadas pelo teste enzimático colorimétrico, glicose-oxidase, *Kit Merck-Biotrol®* e o resultado expresso em mg/dL. As dosagens de insulina no soro foram determinadas pelo método de radioimunoensaio, em valores expressos em  $\mu$ IU/mL. Os erros intra e inter-ensaios não ultrapassaram 5, 2% e 7, 2%, respectivamente. A avaliação da sensibilidade à insulina foi realizada pela: relação Glicemia (mg/dL)/Insulina ( $\mu$ IU/mL), com o valor considerado para sensibilidade diminuída à insulina, G/I jejum < 4,5; pelo *Homeostasis model assessment* (HOMA) [Glicemia jejum (mg/dL) x Insulina jejum ( $\mu$ IU/mL)]/405, com o valor considerado para sensibilidade diminuída à insulina, HOMA  $\geq 3,8$ ; e pelo Quantitative Sensitivity Check Index (QUICKI)  $1/[Log\ Glicemia\ jejum\ (mg/dL) + Log\ Insulina\ jejum\ (\mu IU/mL)]$ , com sensibilidade diminuída à insulina, QUICKI < 0,34.

Para o diagnóstico da síndrome de HAIR-AN, foi considerado o valor da insulina de jejum ( $\mu$ IU/mL) > 50 e/ou uma amostra de insulina ( $\mu$ IU/mL) durante o TTGO 75g > 300  $\mu$ IU/mL (16), com a presença da acantose nigricans.

### Análise genética

O DNA genômico foi extraído a partir de amostras de sangue periférico (3mL) acondicionadas com anticoagulante EDTA (6%). Após procedimento para precipitação do DNA, foi realizada a quantificação do DNA em espectrofotômetro a 260nm e uma alíquota do DNA genômico foi utilizada na reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do fragmento específico do gene. Para a amplificação das regiões polimórficas do gene *INSR* foram necessários 100ng de DNA genômico por reação. Utilizamos para a PCR destes genes, o termociclador *Gene Amp PCR System 2400 (Applied Biosystems)*.

Análise de polimorfismo por PCR - *Restriction Length Fragment Polymorphisms* (RFLPs): o produto PCR foi incubado por 2 horas a 37°C com a enzima de restrição *Pml1* e separado em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio 0,5 mg/mL para a identificação dos padrões de banda. O alelo C apresentou um produto de PCR não digerido de 317pb e o alelo T, reconhecido pela enzima de restrição *Pml1*, foi digerido em dois fragmentos, 274 e 43pb.

Os testes foram feitos ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) utilizando-se o programa S-Plus GraphPad e Prism 4. A análise estatística descrita dos dados e testes de hipóteses de frequência Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi realizada para verificar associações dos genótipos mutados (C/T e T/T) com a SOP, comparando-se as frequências entre os grupos: SOP e controle.

A análise estatística de frequência Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), foi realizada também, para verificar associações, no grupo de pacientes com SOP, quanto à frequência dos genótipos (C/T e

T/T) e a sensibilidade diminuída à insulina, pelo método QUICKI. As comparações relacionadas com os índices de sensibilidade à insulina (variável contínua) entre as pacientes com o genótipo (C/T e T/T) e àquelas sem a presença do alelo T, foram realizadas pelo *Teste-t de Student* e Teste não-paramétrico de Wilcoxon<sup>23</sup>.

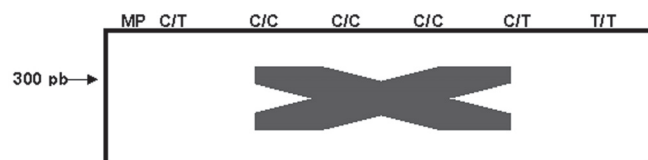
## Resultados

A idade entre os grupos não apresentou diferença significativa ( $p=0,0652$ ): média  $\pm$  desvio-padrão de 28,96  $\pm$  6,97 anos no grupo SOP e, média de 31,46  $\pm$  6,84 anos nas mulheres do grupo controle. O IMC das pacientes (SOP) variou de 18,70 a 47,59, com média  $\pm$  desvio-padrão de 32,30  $\pm$  6,89 Kg/m<sup>2</sup> e, no grupo controle, variou de 18,08 a 36,70Kg/m<sup>2</sup>, com média de 25,17  $\pm$  4,78. A frequência de pacientes obesas no grupo SOP foi de 68,42% (39/57) e, nas mulheres do grupo controle, essa frequência foi de 20% (10/50).

Os índices de avaliação da sensibilidade à insulina no grupo SOP, obesas, apresentaram, sensibilidade diminuída em 53,85% (pelo método de detecção G/I), 76,92% pelo HOMA e 87,18% pelo QUICKI. Essa porcentagem foi menor nas pacientes com SOP não-obesas (16,67% pela G/I, 27,78% pelo HOMA e 55,55% pelo QUICKI). A análise estatística nas pacientes com SOP, obesas ( $n=39$ ), mostrou o método QUICKI com maior frequência de detecção da sensibilidade diminuída à insulina, quando comparado ao G/I ( $p=0,0034$ ) e ao HOMA ( $p < 0,001$ ). A análise estatística da frequência de detecção de sensibilidade diminuída à insulina, em pacientes com SOP, não-obesas, entre os métodos, QUICKI e HOMA, apresentou, significativamente, maior detecção pelo QUICKI ( $p=0,0134$ ).

A análise do polimorfismo (C/T) mostrou a frequência de genes (C/T ou T/T), no grupo SOP, em 40,35% (23/57) das pacientes. Nas mulheres do grupo controle, essa frequência foi de 38% (19/50) (Figura 1). A comparação entre as frequências (%), dos genótipos (C/T e T/T), nas pacientes com SOP e mulheres do grupo controle, não apresentou diferença significativa ( $\chi^2=0,0025$  e  $p=0,96$ ).

**Figura 1** - Gel de agarose a 2% mostrando os três possíveis genótipos para o polimorfismo do gene *INSR*. C/C: Homozigoto selvagem (genótipo não-mutado); C/T: Heterozigoto (genótipo mutado); T/T: Homozigoto raro (genótipo mutado) e MP: Marcador de pares de base.



Com o intuito de verificar se o polimorfismo C/T apresentava diferença significativa, em sua frequência, nas pacientes com a síndrome de HAIR-AN, comparadas às pacientes com a síndrome dos ovários policísticos, esse grupo foi individualizado ( $n=16$ ), segundo os critérios metodológicos des-

critos, separando-o das pacientes com SOP ( $n=41$ ), e comparando-se suas frequências. A porcentagem de pacientes com a síndrome de HAIR-AN que apresentou genótipos (C/T e T/T) foi de 43,75% (7/16). O grupo SOP ( $n=41$ ), apresentou os genes (C/T e T/T) em 39,02% (16/41) das pacientes. A análise estatística da frequência do polimorfismo entre esses dois grupos, não apresentou diferenças significativas ( $\chi^2=0$  e  $p=0,979$ ).

A análise estatística para se verificar a associação entre a frequência do polimorfismo C/T e os índices de sensibilidade à insulina (G/I, HOMA e QUICKI), não apresentou diferenças entre os valores desses índices, em pacientes do grupo SOP (57), com polimorfismo (C/T e T/T), comparados aos valores das pacientes do grupo SOP com o genótipo (C/C) ( $p > 0,05$ ).

Considerando-se o diagnóstico de sensibilidade diminuída à insulina, pelo método, QUICKI ( $< 0,34$ ), as pacientes com SOP foram avaliadas quanto à frequência do polimorfismo C/T (genomas C/T e T/T) entre os grupos: com sensibilidade diminuída à insulina ( $n=44$ ) e sensibilidade normal ( $n=13$ ).

A análise estatística descrita dos dados e testes de hipóteses de frequência, Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), apresentou diferença significativa ( $p=0,0137$ ) na frequência do polimorfismo C/T, demonstrando maior frequência dos genótipos (C/T ou T/T) nas pacientes com sensibilidade normal à insulina. Esse grupo de pacientes com sensibilidade normal à insulina foi pequeno ( $n=13$ ), e apresentou frequência dos genótipos mutados (C/T ou T/T) em 53,85% (7/13). Quanto aos parâmetros antropométricos, comparamos os valores médios do IMC das pacientes que apresentaram os genes (C/T e T/T) (31,52  $\pm$  7,78) com os valores das pacientes com genótipo (C/C) (32,82  $\pm$  6,28) e não encontramos diferença significativa ( $p=0,4891$ ). A análise estatística não apresentou diferença significativa quanto ao polimorfismo C/T em pacientes obesas com SOP (14/39), e obesas do grupo controle (3/10) ( $\chi^2=0,1222$  e  $p=0,7267$ ). Assim como, não mostrou diferença quanto à frequência do polimorfismo C/T em pacientes não obesas com SOP e não-obesas do grupo controle ( $\chi^2=0,1805$  e  $p=0,6709$ ). A comparação das frequências do polimorfismo C/T entre as pacientes obesas (14/39) e não obesas (9/18), do grupo SOP, não mostrou diferença ( $\chi^2=0,5161$  e  $p=0,4725$ ). Quanto à cintura, os valores médios entre as pacientes com o polimorfismo (C/T ou T/T) (96,09  $\pm$  18,64), e os valores das pacientes com genótipo (C/C) (96,75  $\pm$  14,05), no grupo SOP, não apresentaram diferenças ( $p < 0,005$ ). O índice de Ferriman e Gallwey apresentou valores significativamente maiores nas pacientes que não apresentaram o polimorfismo (15,44  $\pm$  5,71) comparados às pacientes com o polimorfismo (12,35  $\pm$  5,27) ( $p=0,0434$ ). A testosterona total não apresentou diferenças significativas nos diferentes genótipos.

## Discussão

Em estudos de Ovalle & Azziz<sup>24</sup> e Hayashida et al.<sup>25</sup>, a maioria das pacientes com SOP apresentou sensibilidade diminuída à insulina. Nosso estudo constituiu-se, na maioria, de



pacientes obesas (68,42%), sendo que estas, apresentaram maior frequência de sensibilidade diminuída à insulina. Nosso estudo utilizou os critérios de diagnóstico para a SOP pelo consenso de 1990- *National Institutes of Health Consensus Conference*<sup>20</sup> e, portanto, as pacientes com graus mais severos de resistência insulínica, a síndrome de HAIR-AN, estavam incluídas nessas análises. Apesar dos critérios diagnósticos do consenso de 2003 (*The Rotterdam ESHRE/ASRM*<sup>26</sup>, excluírem as pacientes com a síndrome de HAIR-AN, nosso estudo da frequência do polimorfismo do gene *INRS* não mostrou diferença significativa entre as pacientes com SOP e síndrome de HAIR-AN.

Estudo de Siegel et al.<sup>17</sup>, com 97 pacientes com SOP e 136 controle num grupo de mulheres americanas apresentou associação com SOP e o polimorfismo de nucleotídeo único C/T no domínio da tirosino-quinase do gene do receptor de insulina, em pacientes não-obesas com SOP comparadas com o grupo de mulheres não-obesas do controle. Em nosso estudo, quando comparamos a frequência do polimorfismo C/T entre as pacientes não-obesas com SOP e não-obesas do grupo controle, não encontramos diferenças. Porém, nosso grupo de não-obesas com SOP era pequeno. Entre as pacientes obesas com SOP e obesas do grupo controle, quanto à frequência do polimorfismo C/T, não encontramos diferença, sendo esse resultado semelhante ao estudo realizado por Siegel et al.<sup>17</sup>. Urbanek et al.<sup>19</sup>, analisando o polimorfismo da região do braço curto do cromossomo 19 em 367 famílias predominantemente de origem europeia, com pelo menos um paciente com SOP observaram uma forte evidência da associação da região D19S884 do cromossoma 19p13.2 com a predisposição para a SOP. Tucci et al.<sup>18</sup>, em estudo caso-controle conduzido nos Estados Unidos envolvendo 85 mulheres com SOP e 85, controle, sugere que maiores estudos para caracterizar a variação de seqüências de DNA nesta região são necessários para identificar a variante de susceptibilidade da SOP.

Um estudo chinês foi realizado por Chen et al.<sup>27</sup>, em 2004, para investigar a correlação entre o polimorfismo de nucleotídeo único C/T do éxon 17 do gene do *INSR*, em 120 pacientes com SOP e IMC de  $25 \pm 4$  (Kg/m<sup>2</sup>) e 40 mulheres do grupo controle, encontraram a frequência desse polimorfismo significativamente maior ( $p < 0,01$ ) nesse grupo das 120 pacientes (41%), em relação ao grupo controle (12%). Em nosso estudo, essa média foi  $32,30 \pm 6,89$  (Kg/m<sup>2</sup>). Portanto, nosso estudo era predominantemente de pacientes obesas, o contrário do estudo chinês, e também, nosso grupo controle foi constituído, na maioria, de pacientes não-obesas (80%), IMC com média de  $25,17 \pm 4,78$  (Kg/m<sup>2</sup>). Sabendo-se que nosso grupo de SOP não era homogêneo quanto ao IMC em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), as análises estatísticas entre as frequências do polimorfismo C/T foram também realizadas separadamente, portanto, entre pacientes obesas com SOP e obesas do grupo controle, assim como, entre pacientes não-obesas com SOP e não-obesas do controle. Nossos resultados não mostraram diferenças entre as frequências do polimorfismo, entre as pacientes obesas, e não-obesas, no grupo SOP, diferentemente desse estudo realizado por Chen et al.<sup>27</sup>.

## Conclusões

1. O polimorfismo de nucleotídeo único (C/T) do gene do receptor de insulina (*INSR*), não esteve associado com suscetibilidade para a SOP;

2. Os genótipos (C/T e T/T) não foram associados à sensibilidade diminuída à insulina, à obesidade e ao hiperandrogenismo clínico e laboratorial.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To evaluate the frequency of polymorphism in the insulin receptor gene (*INSR*), located in exon 17 of chromosome 19, to genetic susceptibility to the PCOS, and the association with sensitivity to insulin and hyperandrogenism.

**PATIENTS AND METHODS:** We studied 57 patients with PCOS and 50 normal women with regular menstrual cycles (control) to the frequency of genotypes of *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) from the *INSR* gene through analysis of the *Restriction Length Fragment Polymorphisms* (RFLPs). To evaluate sensitivity to insulin, the following methods were utilized: glycemia/insulin ratio during fasting (G/I), *Homeostasis Model Assessment* (HOMA) and *Quantitative Sensitivity Check Index* (QUICKI), which were considered normal for  $G/I \geq 4.5$ ,  $HOMA < 3.8$ , and  $QUICKI \geq 0.34$ .

**RESULTS:** The polymorphism (C/T, T/T), in PCOS, did not present a significant difference compared to the control group. With respect to insulinemia, we did not observe differences between patients with genotype (C/T, T/T) and (C/C).

**CONCLUSIONS:** The frequencies of polymorphism of the *INSR* gene, are similar as much in patients with PCOS as in normal women. These polymorphisms (C/T, T/T) did not influence sensitivity to insulin and hyperandrogenism in this group of patients with PCOS.

**UNITERMS:** Polycystic ovary syndrome; Polymorphism; Insulin receptor gene.

### Nota:

*Este trabalho, juntamente com outros, foi apresentado no XXII Congresso Brasileiro de Reprodução Humana, em outubro de 2006, em Curitiba, tendo sido agraciado com o prêmio Campos da Paz.*

## Referências Bibliográficas

1. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2434-38.
2. Roldán B, San-Millán JL, Escobar-Morreale HF. Genetic basis of metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome. *Am J Pharmacogenomics* 2004; 4: 93-107.
3. Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance in polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstetrical and Gynecological Survey* 2004; 59: 141-54.
4. Ehrmann DA. Medical progress: polycystic ovary syndrome [Review Article]. *N Engl J Med* 2005; 352: 1223-36.
5. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 165-69.
6. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; 77: 1095-105.
7. Escobar-Morreale HF, Roldán B, Barrio R, Alonso M, Sancho J, Calle H, Garcia-Robles R. High prevalence of the polycystic ovary syndrome and hirsutism in women with type 1 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2000; 85: 4182-7.
8. Diamanti-Kandarakis E, Kouli C, Alexandraki K, Spina G. Failure of mathematical indices to accurately assess insulin resistance in lean, overweight, or obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1273-1276.
9. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine Reviews* 1997; 18: 774-800.
10. Dunaif A, WU X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281:E392-E399.
11. Yen H-W, Jakimiuk AJ, Munir I, Magoffin DA. Selective alterations in insulin receptor substrates-1, -2 and -4 in theca but not granulosa cells from polycystic ovaries. *Hum Reprod* 2004; 10: 473-79.
12. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. *Hum Reprod Update* 2005; 11, 631-43.
13. San Millán JL, Cortón M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2640-46.
14. Strachan T, Read AP. *Genética molecular humana*. 2.ed. São Paulo: Artmed, 2002.
15. Talbot JA, Bicknell EJ, Rajkhowa M, Krook A, O'Rahilly, Clayton RN. Molecular scanning of the insulin receptor gene in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1979-83.
16. Moller DE, Cohen O, Yamaguchi Y, Azziz R, Grigorescu F, Eberle A, Morrow LA, Moses AC, Flier JS. Prevalence of mutations in the insulin receptor gene in subjects with features of the type A syndrome of insulin resistance. *Diabetes* 1994; 43: 247-55.
17. Siegel S, Futterweit W, Davies TF, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, Tomer Y. A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002; 78: 1240-3.
18. Tucci S, Futterweit W, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, Davies TF, Tomer Y. Evidence for association of polycystic ovary syndrome in caucasian women with a marker at the insulin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001; 86: 446-9.
19. Urbanek M, Woodroffe A, Ewens KG, Diamanti-Kandarakis, Legro RS, Strauss JF III, Dunaif A, Spielman RS. Candidate gene region for polycystic ovary syndrome (PCOS) on chromosome 19p13.2. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6623-9.
20. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR (Eds). *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell Scientific 1992: 377-84
21. World Health Organization *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity*. Geneva World Health Organ 1997. Acíen M, Mauri M, Alfayate R. Insulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders. *Fertil Steril* 1999; 72: 32-40.
22. Hatch R, Rosenfield RL, Rim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 815-30.
23. Montgomery DC. *Design and analysis of experiments*. New York: John Wiley 1997:48.
24. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002; 77: 1095-105.
25. Hayashida SAY, Halbe HW, Marcondes JAM, Normando APC, Lopes CMC, Gonçalves, MA, Dolce RB, Fonseca AM. Comparação entre diferentes índices de avaliação da sensibilidade à insulina na síndrome dos ovários policísticos. *Revista de Ginecologia & Obstetrícia* 2004; 15: 69-77.
26. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:19-25.
27. Chen ZJ, Shi YH, Zhao YR, Li Y, Tang R, Zhao LX, Chang ZH. Correlation between single nucleotide polymorphism of insulin receptor gene with polycystic ovary syndrome. *Zhonghua Fu Cha Ke Za Zhi* 2004; 39: 582-5.

# Doação compartilhada de óvulos: reflexões bioéticas.

Shared egg donation: bioethical reflections.

Affonso Renato Meira

## RESUMO

O autor faz reflexões sobre os aspectos bioéticos e legais da doação compartilhada de óvulos. Essa técnica apresenta dois objetivos: o primeiro é possibilitar o tratamento com técnicas de reprodução assistida a casais que não poderiam pagá-lo, e o segundo é o fornecimento de oócitos a mulheres que não os produzem mais, ou produzem oócitos de baixa qualidade e com pouco potencial de fertilização.

**UNITERMOS:** Doação de óvulos; bioética.

O evoluir dos conhecimentos científicos sempre foi acompanhado por preocupações éticas realizadas por aqueles que procuram estabelecer para as ciências um parâmetro que pautue suas atividades. Vezes há, que esses parâmetros são extremamente rigorosos, quase impedindo o progresso da teoria e da prática científica. Quando uma nova teoria ou uma prática mais invasora começa a ganhar seguidores ou praticantes, não é raro que os pregadores de uma ética teológica, mais conservadora e com dogmas tradicionais, passem a questionar as inovações. No caso de esses novos conhecimentos estarem envolvidos com a vida humana, com a reprodução ou com a morte, os questionamentos ganham forças maiores. A história mostra que essas barreiras, mesmo aquelas encontradas nos dogmas religiosos, acabam se esmaecendo, quando a inovação é útil, necessária e viável. Com o passar dos tempos a sociedade reconhece o valor das inovações, o pensamento ético sofre modificações, e aparece o reconhecimento social do valor das novidades apresentadas. Esses fatores fazem com que, em um processo de acomodação ou até mesmo de assimilação, a sociedade absorva essas inovações como um novo traço da sua cultura.

Essa observação cabe principalmente quando se analisa o que vem acontecendo nesses últimos 50 anos com a tecnologia da reprodução humana. Quando se criou no Brasil, em 30 de setembro de 1957, o Conselho Federal de Medicina que tinha e tem a incumbência de ser o tribunal ético para acompanhar a conduta dos profissionais da medicina, uma simples inseminação artificial, era aceita, excepcionalmente, se realizada com o sêmen do cônjuge. Nos comentários de Coutinho<sup>1</sup> sobre o Código de Ética Médica em vigor desde

1988, este autor aconselha, em razão de não haver legislação específica sobre o assunto, o seguinte: “Assim sendo, deve o médico ser muito prudente, devido às implicações que podem advir de seus atos. Quanto à chamada “mães de aluguel”, ou a inseminação heteróloga, em que o pai biológico não é o esposo, até que tenhamos uma legislação específica, deve o médico limitar-se a praticar a inseminação homóloga tão-somente, quer a fecundação ocorra *in vitro* ou *in vivo* e a nidadação no útero materno biológico”. Essa publicação foi editada há mais de dez anos após o nascimento de Louise Brown em 25 de junho de 1978, na Inglaterra, primeira criança resultante de uma fecundação humana extra corpórea. Sem dúvida, o desenvolvimento científico é feito em um tempo muito mais rápido do que aquele levado pela legislação, que sobre esse desenvolvimento deveria estabelecer as normas. Foi somente no século XXI, que a lei deixou o silêncio sobre esses casos. O Código Civil Brasileiro, em seu artigo 1.597, introduz a figura da paternidade presumida para admitir legalmente a existência de crianças nascidas através das técnicas da Reprodução Assistida<sup>2</sup>. Admite, também, duas condições na concepção: a natural, com a intervenção de um homem e uma mulher, e a artificial ou assistida, produto da vontade livre dos participantes. Antes, porém, o silêncio, de pronto, foi quebrado por estudiosos que se preocupavam com o assunto. Assim já nos fins de 1978, no Congresso Brasileiro de Medicina Legal, realizado em Belo Horizonte, uma polêmica era levantada na discussão sobre os pais dessas crianças, nascidas em razão de gravidez provocada por uma fecundação humana extra corpórea, aventando a possibilidade da existência de pais biológicos, pais sociais e pais de direito<sup>3</sup>. Em um exemplo de que a ética se diferencia da lei, não havendo semelhança ou intimidade entre elas, o Conselho Federal de Medicina, com sua atribuição de encaminhar a trilha ética a ser seguida, elaborou, em 11 de novembro de 1992, resolução que tem número CFM 1.358, produto do pensamento da categoria médica<sup>3</sup>. Assim se resolveu estabelecer o número máximo de 4 embriões

Professor Emérito da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
Correspondência para:  
Affonso Renato Meira  
Rua Alcantarilla, 206 apto. 101  
CEP 05717-170 – São Paulo, SP- Brasil  
Tel.e FAX (11) 3743 9198  
E-mail: armeira@usp.br

a serem transferidos na reprodução artificial; o parentesco até o segundo grau entre a doadora genética e a doadora temporária do útero; o anonimato dos participantes nos processos de doação de gametas, assim como o tempo máximo do desenvolvimento do pré-embrião in “vitro” de 14 dias. O consentimento informado foi estabelecido como obrigatório e extensivo a todos os participantes, assim como a ausência de finalidade comercial ou lucrativa na doação de gametas ou pré-embriões<sup>3</sup>.

Novas técnicas surgiram e novos procedimentos, como a da chamada doação compartilhada de óvulos, vêm causando algumas controvérsias na opinião dos médicos envolvidos com essa especialidade, assim como de outros estudiosos da conduta ética ou legal desses profissionais. Por doação compartilhada ou ovodoação, melhor seria ovulodoação, é entendida, em síntese, a prática de um acordo entre duas mulheres que necessitam se submeter a um processo artificial para chegarem à gravidez, sendo que uma, tendo a facilidade de produzir óvulos em excesso para serem usados, doa metade de seus óvulos para a outra, incapaz de produzir óvulos que possam permitir que ela venha a engravidar. Essa doação é muitas vezes recompensada com o pagamento do tratamento contra a infertilidade da mulher que doa os óvulos pela a outra que recebe esses óvulos. Pela resolução do Conselho Federal de Medicina esses procedimentos devem ser feitos no anonimato e sem nenhum caráter lucrativo ou comercial<sup>3</sup>. Juristas e estudiosos da bioética têm levantado barreiras a esses procedimentos, uns por considerarem ser análoga a situação, com a proibição da comercialização de órgãos e tecidos, outros, mesmo sem o cuidado com a legislação, por acharem que esse pagamento fere a dignidade humana. Ao lado dessa doação compartilhada surge também a figura de mulheres saudáveis, que produzindo óvulos periodicamente, oferecem seus óvulos para serem aproveitados nessas técnicas em benefício de outras mulheres, que por várias razões não possuem a capacidade de produzir óvulos viáveis. Essa doação é geralmente aceita se houver o anonimato e a gratiosidade. Quanto ao anonimato da doadora de óvulos como também do doador de esperma, deve-se restringir a quem é, não necessita ser identificado, mas suas características devem ser de conhecimento de quem vai receber o óvulo ou o esperma e tal fato não caracteriza desrespeito à resolução da Conselho Federal de Medicina.

Com o pensamento voltado ao proposto pela bioética, ou seja uma análise holística e transdisciplinar, que busca na discussão na sociedade estabelecer um diálogo voltado à procura do ideal social, de início é preciso compreender a emoção das mulheres que se propõem a realizar essa partilha, doando óvulos uma e recebendo os óvulos outra. Ambas estão presas a um sentimento de ser mãe e para isso tudo fazem para realizar o que for necessário com a finalidade de alcançar esse desiderato. Esse sentimento caracteriza a mulher, e é possível que seja o mais importante de todos para um número grande de mulheres, e sem dúvida o é para as participantes desse acordo. Quando uma vislumbra poder alcançar esse desejo oferecendo a possibilidade à outra através de um auxílio financeiro, ou oferecendo a partilha de seus óvulos, para ne-

nhuma das duas um sentimento de indignidade vem a se considerar. Na resolução do Conselho Federal de Medicina se lê que a infertilidade humana pode ser considerada um problema de saúde, com implicações médicas e psicológicas e que é legítimo o anseio de superá-la<sup>3</sup>. Esse é o anseio legítimo que leva as duas a concordarem com essa realização. Não existe lucratividade, sequer uma transação comercial. Uma doa óvulos, outra doa a possibilidade de obter uma técnica de infertilidade assistida. Não cabe se levantar a vulnerabilidade financeira de uma mulher para se considerar indigno esse procedimento. Em qualquer sociedade, seja ela de mercado, seja ela socialista, sempre haverá mulheres que produzem óvulos e mulheres que para engravidar precisam receber esses óvulos, independente de cor de pele, de origem, de condição financeira ou de instrução. A produção de óvulos é condicionada por condições biológicas. A diferença é que em uma sociedade de mercado essa transação é feita individualmente, enquanto em uma sociedade socialista essa troca é monitorizada pelo Estado. Em um regime socialista um programa de fertilização assistida é dirigido pelo Estado, quem necessita desse socorro ali vai procurar atenção e receberá, obtendo óvulos de outra mulher que, possuindo um excesso de óvulos, faz uma doação. Em uma sociedade de mercado essa troca é feita entre as interessadas. Na ausência de óvulos uma mulher, desejando engravidar, sempre dependerá da doação de óvulos de outra. Não há indignidade nesse processo em qualquer dos regimes. As barreiras religiosas, principalmente da igreja católica, não cabem discutir. O dogma religioso só cabe respeitar; todavia, esses dogmas não devem ser lembrados para serem impostas restrições na conduta a quem por outras convicções deles discordam, ou não os considerem impeditivos do seu modo de agir. O que é preciso lembrar é que esse desejo de alcançar a maternidade vem sempre acompanhado de uma auréola de amor.

O levantamento da questão ética também é discutível, no que se refere a ressarcimento pelo ato praticado. A possibilidade de um presidiário receber uma diminuição de sua pena quando faz a doação de um órgão para transplante foi assunto de polêmica e esteve em vias de ser aceito, e o fato de um doador de sangue ter seu dia abonado no trabalho, além de receber o resultado de diversos exames clínicos que de outra forma teria dispêndio financeiro para obtê-los, exemplificam esse ângulo do problema. Mulheres jovens saudáveis doam óvulos em clínicas e realizam exames de caráter preventivo para conhecimento de sua situação de saúde. A sociedade aceita que isso seja feito e até sanciona positivamente quem assim proceda. Em outras sociedades, de maneira mais transparente, a remuneração para esses diversos atos de doação é reconhecida e considerada legítima. Sempre é possível lembrar que a virtude para alguns é pecado para outros.

Depois de tantas apreensões e debates, a polêmica do bebê de proveta que tomou conta do mundo e foi no Brasil alvo até de comentários da existência de procedimentos secretos para a realização dessas técnicas, naqueles tempos por muitos não aceitas, hoje está totalmente superada. A Reprodução Assistida está consagrada e é realizada cotidianamente em todo o mundo. Estima-se que perto de um milhão de crian-



ças já tenham nascido com a ajuda desse procedimento. A doação compartilhada caminha na mesma trilha. Como novidade, causa apreensão e barreiras se levantam, muitas vezes por razões diversas das apresentadas. Isto quer dizer que conforme as técnicas se modificam, criam-se, por parte dos opositores, de buscar novos pontos de desacordo<sup>4</sup>. Uma mesma situação de contestação existente para outras técnicas da Reprodução Assistida, agora se apresenta em virtude de um novo procedimento surgir. A doação compartilhada traz uma nova maneira de se obter uma Reprodução Assistida. É uma modificação que, como outras, com o tempo a história mostrará que tudo se acomodará.

## ABSTRACT

The author makes reflections on bioethical and legal aspects of shared egg donation. This reproductive technology has two objectives. The first is to provide assisted reproductive technologies for some patients who cannot afford them, and the second is to provide donor oocytes for use in women who either do not produce eggs on their own, or produce poor quality oocytes.

**UNITERMS:** Egg donation; bioethics.

## Referências Bibliográficas

1. Coutinho, LM. Código de ética médica comentado. São Paulo: Saraiva; 1989.
2. Código Civil Brasileiro. Lei N° 10.406, de 10 de janeiro de 2002.
3. Conselho Federal de Medicina (Brasil). Resolução CFM N° 1.358, de 11 de novembro de 1992.
4. Lang, MK. Destino do pré-embrião. In: Doente terminal, destino de pré-embriões, clonagem, meio ambiente. 2005; Cadernos de Bioética do CREMESP.
5. Schützer LC, Meira AR. Implicações sócio-legais da fecundação humana extra corpórea. JAMB. 1979; XXI:5.

# BULÁRIO

### MENOPUR®

Menotropina altamente purificada (75 UI de FSH + 75 UI de LH)

**USO ADULTO: FORMA FARMACÉUTICA:** Caixas com 1 ou 5 ampolas de diluente de 1 ml e 1 ou 5 frasco-ampolas com 75 UI de menotropina altamente purificada (FSH + 75 UI de LH) para injeção SC ou IM após preparo de solução. **INDICAÇÃO:** Esterilidade em mulheres com insuficiência hipo ou normogonadotrófica, para estimulação do crescimento folicular. Esterilidade em homens com hipogonadismo hipogonadotrófico, em combinação com hCG (gonadotrofina coriônica humana) para estimular a espermatogênese. **CONTRA-INDICAÇÕES:** Não deve ser utilizado em caso de hipersensibilidade às gonadotrofinas ou à lactose, e nos seguintes quadros: Em mulheres: Gravidez, mal formação de órgãos sexuais incompatíveis com uma gravidez; aumento dos ovários ou cistos que não tenham sido causados por síndrome de ovários policísticos; sangramento ginecológico com causa desconhecida; tumores do útero, ovários e mama. Em homens: Câncer de próstata ou testículos. As seguintes condições devem ser tratadas apropriadamente antes do início de aplicação de MENOPUR®: disfunções da glândula tireóide e do córtex da glândula supra-renal; aumento do nível sérico da prolactina com diferentes causas (hiperprolactinemia); tumores na glândula pituitária ou no diencefalo (hipotálamo). **POSOLOGIA:** Na mulher: A dosagem de MENOPUR® para a indução do crescimento folicular em mulheres normo ou hipogonadotróficas depende da reação ovariana, e deve ser verificada através de exames ultra-sonográficos dos ovários e mensuração dos níveis de estradiol. Caso a dosagem de MENOPUR® for muito alta, podem ocorrer crescimentos foliculares uni e bilaterais múltiplos. Em geral, a terapia é iniciada com uma dosagem diária correspondente a 75-150 U.I. de FSH. Se os ovários não respondem, a dosagem pode ser gradativamente aumentada até surgirem evidências de aumento da secreção de estradiol e de crescimento folicular. O tratamento com a mesma dosagem de MENOPUR® é continuado até atingir-se um nível sérico de estradiol pré-ovulatório. Se o nível aumentar muito rapidamente, a dosagem deve ser reduzida. Para induzir a ovulação, 5.000 ou 10.000 U.I. de hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) são injetados intramuscularmente, 1 a 2 dias após a última administração de MENOPUR®. Observação: Após a administração de uma dose muito alta de MENOPUR®, a administração subsequente de hCG pode causar uma hiperestimulação involuntária dos ovários. **No homem:** Inicialmente, 1.000 - 3.000 U.I. de hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) são administrados 3 vezes por semana. Até atingir-se um nível sérico de testosterona normal. Então, 75-150 U.I. de MENOPUR® são administrados 3 vezes por semana, por alguns meses. **PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS:** O hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) não deve ser administrado para induzir a ovulação em mulheres cujos ovários foram involuntariamente hiperestimulados. **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS:** A interação com outros medicamentos é desconhecida. **REAÇÕES ADVERSAS:** As seguintes reações podem ocorrer com a aplicação de gonadotrofinas recombinantes ou menotropinas em casos de síndrome de hiperestimulação ovariana grave: ascite, hidrotórax, oligúria, hipotensão e fenômenos tromboembólicos. Ocasionalmente, o tratamento é acompanhado por náusea e vômito. Em casos isolados, reações de hipersensibilidade e febre podem ocorrer. **EFEITOS COLATERAIS:** Os tratamentos com gonadotrofinas recombinantes ou menotropinas podem levar a uma hiperestimulação ovariana. Isto, contudo, torna-se geralmente clinicamente relevante apenas após a administração de hCG (Gonadotrofina Coriônica Humana) para induzir a ovulação. Levando à formação de grandes cistos ovarianos, que tendem a romper-se podendo também causar sangramento intra-abdominal. O tratamento deve ser imediatamente descontinuado quando os primeiros sinais de hiperestimulação forem detectados ultrasonograficamente e através de dores e distensão palpável no baixo abdômen. Com a gravidez, estes efeitos colaterais podem intensificar-se e continuar por um longo período de tempo, podendo tornar-se um risco de vida. A gravidez múltipla involuntária ocorre com maior frequência durante os tratamentos de reprodução assistida. **CONDUTA NA SUPERDOSAGEM:** a) Nenhuma terapia é necessária quando uma hiperestimulação leve está presente (Nível I), acompanhada por um ligeiro aumento dos ovários (tamanho dos ovários 5 - 7 cm), secreção de esteróides excessiva, e dor abdominal. Contudo, a paciente deve ser informada, e cuidadosamente observada; b) A supervisão clínica e o tratamento sintomático, e talvez uma reposição de volume intravenoso em caso de alta concentração de hemoglobina, são necessários caso haja a ocorrência de hiperestimulação moderada (Nível II) com presença de cistos ovarianos (tamanho do ovário 8 - 10 cm), acompanhada de sintomas abdominais, náusea e vômito; c) A hospitalização é imperativa quando ocorre a hiperestimulação séria (Nível III) com presença de grandes cistos ovarianos (tamanho do ovário maior que 10 cm), acompanhada de ascite, hidrotórax, abdômen distendido, dor abdominal, dispnéia, retenção de sais, aumento da concentração de hemoglobina e da viscosidade do sangue, agregação plaquetária com risco de tromboembolismos. **CUIDADOS DE ARMAGENAGEM:** Manter o medicamento até 25°C. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Laboratórios Ferring Ltda - SAC 0800 772 4656



A Revista Reprodução & Climatério publica artigos originais, artigos de atualização, opiniões, breves comunicações, relatos de caso e cartas ao editor (no máximo 500 palavras), na área de medicina reprodutiva, climatério, ginecologia endócrina e sexualidade. São aceitos artigos em português, espanhol ou inglês.

Os originais devem ser encaminhados para a SBRH, aos cuidados do editor, exclusivamente por correio eletrônico, para: [sbrh@terra.com.br](mailto:sbrh@terra.com.br)

Os originais devem ser escritos em folha A4, com espaço duplo e margens de 3 cm, em páginas numeradas. A fonte a ser utilizada é a Times New Roman, tamanho 12.

Os originais devem ser preparados na seguinte seqüência:

**Página de Rosto:** título do trabalho em português e inglês (o título não deverá ser colocado em negrito ou caixa alta), título conciso (de 2 a 4 palavras, para constar no alto da página), nome completo dos autores (exemplo: Patrick Steptoe), nome da(s) instituição(s) onde o trabalho foi desenvolvido, nome, endereço e e-mail do autor para correspondência.

**Resumo:** Deverá conter no máximo 200 palavras e ser estruturado, contendo Objetivos, Material e Métodos, Resultados, Conclusões e Unitermos. Evitar, no resumo, abreviações e referências bibliográficas. Deverá ser acrescentado um resumo conciso, de 2 ou 3 linhas com as principais conclusões do trabalho, para ser colocado no índice da revista. Para artigos de atualização, comunicações breves, opiniões e relatos de casos, não é necessário que o Resumo seja estruturado.

**Abstract:** Versão pra o inglês do texto do Resumo, acompanhado de *Uniterms*.

**Texto do trabalho:** Deverá conter Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas. As abreviações devem ser restritas e sempre definidas na primeira aparição no texto. Eventuais tabelas deverão ser numeradas em algarismos arábicos, com título explicativo do conteúdo. Não se colocam traços verticais e limita-se os horizontais a um acima da tabela e um ao final. As figuras, fotos ou desenhos devem ser limitados ao estritamente necessário, e serão numerados em algarismos arábicos, com legenda explicativa. Tabelas, fotos, figuras e desenhos devem ser enviados em páginas separadas. Nas referências bibliográficas, as citações devem obedecer às normas de Vancouver. Maiores esclarecimentos poderão ser obtidos no site: [www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Numere as referências por ordem de entrada no trabalho e use estes números para as citações no texto. Todos os autores devem ser citados, exceto quando houver mais de 6 autores, quando se pode citar os 6 primeiros seguidos pela expressão latina et al. Observe alguns exemplos de citações:

## Artigos em periódicos:

1. Nahas EAP, Pontes A, Nahas Neto J, Traiman P, Luca L, Abbade J. Efeitos da atividade física e da tibolona sobre a densidade mineral óssea em mulheres na pós menopausa. *Reprod Clim.* 2001;16:47-52.

2. Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935:40-6.

## Volume com suplemento:

3. Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

## Livros:

4. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press; 1995. p.465-78.

5. Norman IJ, Redfern SJ, editors. *Mental health care for elderly people.* New York: Churchill Livingstone; 1996.

## Cartas e Editoriais:

6. Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. *Fertil Steril* 1991; 55:1203-4.

7. Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

Os manuscritos serão avaliados pelo Conselho Editorial de Reprodução & Climatério, podendo ser recusados, aceitos sem correções, ou aceitos com sugestões de correções, sendo neste último caso reencaminhados aos autores. Após aceitação definitiva, deverá ser feita carta assinada por todos os autores, fazendo menção que o manuscrito não foi publicado anteriormente e dizendo concordar com a publicação e transferência de *copyright* para Reprodução & Climatério. Os editores reservam-se o direito de fazer alterações gramaticais e estruturais que julgarem necessárias.