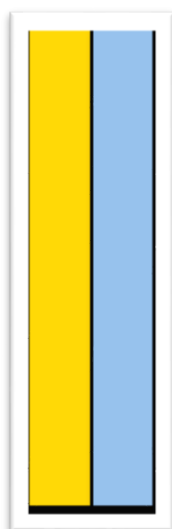


**Análise do protocolo de estimulação ovariana controlada utilizando didrogesteronona em mulheres normorespondedoras, comparado ao protocolo com antagonista de GnRH: um estudo de caso-controle.**

Bianca Franco Augusto Bernardo

**M**

2023



**Análise do protocolo de estimulação ovariana controlada utilizando didrogesterona em mulheres normorespondedoras, comparado ao protocolo com antagonista de GnRH: um estudo de caso-controle.**

Trabalho realizado como pré-requisito para obtenção de equivalência de diploma em Mestrado Integrado de Medicina na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

Autora: Bianca Franco Augusto

Bernardo

[bfa.bernardo@gmail.com](mailto:bfa.bernardo@gmail.com)

**Análise do protocolo de estimulação ovariana controlada utilizando didrogesterona em mulheres normorespondedoras, comparado ao protocolo com antagonista de GnRH: um estudo de caso-controle.**

---

**Autora |** Bianca Franco Augusto Bernardo

Porto, novembro de 2023

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer o grande auxílio e apoio ao longo da elaboração deste trabalho à minha orientadora, Profa. Dra. Carla Giovana Basso, por todo suporte e orientação.

À minha família, agradeço especialmente meu marido, que me encorajou neste sonho e meus filhos amados, por serem minha fortaleza nos momentos difíceis.

Aos colegas e amigos do Laboratório Nilo Frantz, meu agradecimento pela ajuda e prontidão, estavam sempre dispostos a me auxiliar. Obrigada pela amizade, vocês tornaram este trabalho possível.

E por fim, agradeço a Deus que sempre me conduziu com suas lições de amor e ética.

## RESUMO

**Introdução:** A estimulação ovariana controlada (EOC), em tratamentos de fertilização *in vitro* (FIV), permite o múltiplo recrutamento folicular, para posterior captação dos oócitos que serão destinados ao tratamento. O uso oral da progesterona (didrogesterona), como bloqueio eficaz da elevação prematura do hormônio luteinizante (LH) em mulheres submetidas a EOC para FIV, foi um grande avanço por ser mais amigável e possibilitar a redução do custo do tratamento. **Objetivo:** Avaliar os desfechos reprodutivos obtidos em pacientes em tratamento de reprodução assistida com protocolo de EOC com o uso do antagonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) em comparação com os desfechos de pacientes com protocolo de EOC com o uso da didrogesterona. **Materiais e Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo através de análise de prontuários de pacientes atendidos em Clínica privada de medicina reprodutiva (Nilo Frantz Medicina Reprodutiva), Brasil, São Paulo, submetidas ao tratamento de EOC para FIV, com regimes distintos de EOC. As pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo Didrogesterona com 17 ciclos, que utilizou o protocolo de EOC de bloqueio hipofisário com esta medicação e Grupo Antagonista com 35 ciclos, que utilizou o protocolo de EOC com antagonista do GnRH. **Resultados:** Não foi encontrado diferença entre os grupos para qualidade embrionária e tempo para o embrião atingir o estágio de blastocisto. Nos demais desfechos analisados, também não foi encontrado diferença entre os grupos. **Conclusão:** Não foi observado diferença significativa entre os desfechos reprodutivos obtidos com o uso de protocolo com didrogesterona na EOC em relação ao uso de protocolo com antagonista do GnRH.

**Palavras-chave:** fertilização *in vitro*, didrogesterona, estimulação ovariana, embrião.

## ABSTRACT

**Introduction:** Controlled ovarian stimulation (COS), in women treatment for in vitro fertilization (IVF), allows multiple follicular recruitment, for subsequent capture of oocytes that will be fertilized. The oral use of progesterone, effectively blocking the premature rise of luteinizing hormone (LH) in women undergoing COS for IVF. The progesterone protocol is more user-friendly and allows for a reduction in the cost of treatment. **Objective:** To evaluate the embryos obtained in COS protocols with the use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and with the use of dydrogesterone and compare them. The secondary objective was to compare the protocols in other reproductive outcomes, such as cycle length, gonadotropin dose, number of oocytes, fertilization rate and blastocyst rate. **Materials and Methods:** A retrospective study was carried out through analysis of medical records of patients treated at a private reproductive medicine clinic (Nilo Frantz Medicina Reprodutiva), Brazil, São Paulo, undergoing COS treatment for IVF, with different COS regimens. Patients were divided into two groups: Dydrogesterone Group with 17 cycles, which used the pituitary block COS protocol with this medication and Antagonist Group with 35 cycles, which used the COS protocol with GnRH antagonist. No difference was found between the groups for embryonic quality and time for the embryo to reach the blastocyst stage. In the other outcomes analyzed, no difference was found between the groups. **Results:** No difference was found between the groups for embryonic quality and time for the embryo to reach the blastocyst stage. In the other outcomes analyzed, no difference was found between the groups. **Conclusion:** In this study, the dydrogesterone protocol in COS achieved embryological and clinical results comparable to those found in the GnRH antagonist protocol.

**Keywords:** IVF, dydrogesterone, ovarian stimulation, embryo.

## ABREVIATURAS

OMS	Organização Mundial de Saúde
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
ICSI	Injeção intracitoplasmática do espermatozoide
EOC	Estimulação ovariana controlada
LH	Hormônio luteinizante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
MPA	Acetato de medroxiprogesterona
PPOS	Protocolo de estimulação com progesterona
MCI	Massa celular interna
TE	Trofectoderma
VG	Vesícula germinativa
M1	Metáfase I
M2	Metáfase II
D5	Quinto dia de desenvolvimento embrionário
D6	Sexto dia de desenvolvimento embrionário
D7	Sétimo dia de desenvolvimento embrionário
IMC	Índice de massa corpórea
HAM	Hormônio anti-mulleriano
HMG	Gonadotrofina menopáusica humana
FSH-r	Hormônio Folículo estimulante recombinante
GnRHa	Agonista do GnRH

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. OBJETIVO GERAL .....	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	11
3.1. DESENHO DO ESTUDO .....	11
3.2. CONTEXTO .....	11
3.3. PARTICIPANTES.....	12
3.4. VARIÁVEIS.....	12
3.5. FONTE DOS DADOS/MENSURAÇÃO DOS DADOS .....	13
3.6. VIESES.....	13
3.7. TAMANHO DO ESTUDO .....	13
3.8. VARIÁVEIS QUANTITATIVAS.....	13
3.9. MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	14
4. RESULTADOS .....	14
5. DISCUSSÃO.....	16
6. CONCLUSÃO .....	19
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	20



## 1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS), define infertilidade como a incapacidade de se obter uma gravidez ou a impossibilidade de mantê-la até o parto depois de, pelo menos, doze meses de atividade sexual regular sem proteção, considerando como proteção o uso de qualquer método contraceptivo(1). A infertilidade é uma condição que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Segundo dados publicados pela OMS em 2023, cerca de 17,5% da população mundial adulta tem este diagnóstico ao longo de suas vidas. Sendo, portanto, considerada como doença de grande relevância e que compromete o bem-estar individual e familiar dos casais(2).

A introdução das técnicas de reprodução assistida foi um avanço significativo na assistência aos casais inférteis. O primeiro registro de um nascido vivo com o uso da técnica de fertilização *in vitro* (FIV) foi em 1978 na Inglaterra, realizada em ciclo natural com a obtenção de um único oócito, que foi fertilizado e o embrião obtido foi transferido para o útero de uma mulher com sucesso. Desde então, houve sucessivos avanços tecnológicos, a fim de aprimorar os resultados no tratamento da infertilidade, tais como, o uso de hormônios para a estimulação dos ovários, a possibilidade de monitorizar a resposta ovariana com ecografia, o desenvolvimento da FIV com injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI), a possibilidade do diagnóstico genético dos embriões, entre outros(3).

A estimulação ovariana controlada (EOC) é uma etapa fundamental no tratamento das mulheres com indicação de FIV, pois permite a hiperestimulação ovariana com o recrutamento e maturação de múltiplos folículos e oócitos. O processo otimiza o número de oócitos que serão captados e destinados para a fertilização, sendo dessa forma obtidos consequentemente mais embriões e aumentando, assim, a eficácia do tratamento(4,5).

Em um ciclo menstrual espontâneo são produzidos cerca de 10 a 20 folículos antrais pelos ovários. Desta coorte de folículos, apenas um deles se torna dominante em relação aos demais e demonstra um crescimento contínuo até ocorrer a ovulação(6). A EOC é um tratamento farmacológico, no qual administra-se gonadotrofinas exógenas acima de um limiar necessário para induzir o desenvolvimento dos folículos. Este tipo de procedimento é utilizado na FIV/ICSI, tendo como objetivo principal, o recrutamento e crescimento multifolicular e com isso obter a maximização do número de oócitos disponíveis para serem captados(7).

No entanto, o crescimento multifolicular resulta em elevada produção de esteróides sexuais, que podem levar a um aumento extemporâneo do hormônio luteinizante (LH) e provocar uma ovulação espontânea antes da coleta de oócitos. Sendo assim, durante a EOC é fundamental que haja a supressão hipofisária para prevenir a ovulação prematura(4). Os agonistas e antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) têm sido tradicionalmente usados em ciclos de estimulação ovariana para suprimir o pico do LH e ovulação(5). Entretanto, os antagonistas e agonistas possuem um custo elevado, o que encarece o tratamento de FIV, além de aumentar o

número de injeções diárias e consequentemente aumentando o desgaste da paciente com o tratamento.

Em 2015, Kuang Y e colaboradores forneceram evidências inéditas com o uso oral do acetato de medroxiprogesterona (MPA), como bloqueio eficaz da elevação prematura do LH em mulheres submetidas a EOC para FIV(8). A partir deste estudo, surgiram muitos outros avaliando este protocolo de estimulação com progesterona (PPOS), que se apresentou como alternativa aos ciclos com análogos do GnRH. O protocolo proposto mostrou ter várias vantagens para as pacientes, incluindo custos mais baixos, menos injeções e flexibilidade na escolha da progestina, da gonadotrofina e medicamento de gatilho(9–12).

Estudos que avaliaram o PPOS demonstraram supressão consistente de LH com a progesterona oral em diversos grupos de pacientes, incluindo mulheres com função ovariana normal(13,14), pobre respondedoras(15), com idade materna avançada(16), com endometriose(17), com síndrome dos ovários policísticos e em ciclos para ovulação(18). Entretanto os achados relatados na literatura são variáveis, enquanto alguns estudos mostraram melhores desfechos, outros não mostraram diferenças ou ainda menores taxas de gravidez com o uso do PPOS.

Os aspectos clínicos cruciais nos tratamentos de FIV são eficácia e segurança dos protocolos. Alguns estudos mostraram que o PPOS pode ser econômico em comparação com o antagonista de GnRH e com menores incidências de síndrome de hiperestímulo ovariano(13). Além disso, mostraram que este protocolo poderia produzir oócitos e embriões competentes comparáveis àqueles com agonista de GnRH(14,19). Em coorte comparando PPOS e protocolo de estimulação ovariana mínima, foram analisados os embriões quanto ao número, regularidade dos blastômeros, grau de fragmentação e classificação morfológica embrionária. Neste estudo, não foi encontrado diferença significativa na taxa de embriões considerados como *top quality*(20).

Sabe-se que os hormônios esteróides são um dos fatores que controlam a maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário. A progesterona está presente no fluído folicular e desempenha um papel crítico durante o desenvolvimento embrionário. *In vivo*, de acordo com estágio do desenvolvimento oocitário, ocorre uma mudança nas concentrações dos hormônios esteróides no conteúdo do líquido folicular. Portanto, a razão da progesterona e do estradiol está relacionado com o estágio de maturação dos oócitos(21). A progesterona é o principal hormônio esteróide encontrado dentro do líquido folicular dos folículos pré-ovulatórios(22). Receptores de membrana para progesterona estão expressos nas células da granulosa na fase pré-ovulatória(23,24). No entanto, não existem dados consistentes avaliando se a progesterona utilizada no PPOS terá algum efeito sobre o oócito e, consequentemente desenvolvimento embrionário.

Já é consolidado na literatura que as taxas de sucesso das técnicas de reprodução assistida são dependentes de inúmeros fatores, dentre eles, destaca-se a importância na qualidade dos

embriões transferidos. A análise da qualidade de embriões em blastocisto, através de um sistema de classificação específico é utilizado para identificar os embriões com maior viabilidade para transferência e assim reduzir o número de embriões transferidos sem comprometer as taxas de gestação. A qualidade embrionária é primeiramente determinada através da qualidade morfológica do blastocisto.

A avaliação morfológica é técnica clássica de avaliação embrionária sendo vastamente utilizada para prever taxas de aneuploidia, implantação, gestação e nascidos vivos, sendo considerado preditor de sucesso em ciclos de FIV(25,26). Nos últimos anos, diversos sistemas de classificação morfológica foram testados. O sistema de classificação morfológica mais aceito e utilizado entre laboratório de FIV tem base na classificação de Gardner e Schoolcraft, 1999, que foi desenvolvida levando em consideração um sistema de *score* em 3 vias, na qualidade da massa celular interna (MCI) e na qualidade do trofotoderma (TE). Para cada estrutura em desenvolvimento, é dada uma nota de A-C considerando a qualidade morfológica do MCI e TE. No sistema e em suas variações, os blastocistos são classificados em 3 grupos: Alta qualidade (3AA, 4AA, 5AA), boa qualidade (3/4/5 AB, BA e BB) e baixa qualidade (3/4/5 AC, CA, BC, CB e CC)(27).

Entretanto a qualidade embrionária é altamente dependente da qualidade dos gametas e o protocolo de estimulação pode desempenhar um papel neste quesito. Sendo assim, é fundamental saber se os medicamentos escolhidos na EOC para FIV irão comprometer a qualidade embrionária.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Comparar os desfechos reprodutivos obtidos em tratamento de FIV com protocolo PPOS com didrogesterona e em tratamento de FIV com protocolo com antagonista do GnRH.

### 2.2. Objetivos específicos

Avaliar as possíveis diferenças entre os desfechos clínicos de duração do ciclo de EOC, dose de gonadotrofina e número de folículos puncionados entre pacientes em tratamento de FIV que utilizaram protocolo PPOS com didrogesterona e pacientes que utilizaram protocolo com o uso do antagonista do GnRH.

Avaliar as possíveis diferenças entre número de oócitos coletados, oócitos com vesícula germinativa (VG), oócitos em metáfase I (M1), oócitos em metáfase II (M2), taxa de fertilização, taxa de blastocisto, número de embriões *top quality*, número de embriões blastocistos no quinto dia de desenvolvimento embrionário (D5), sexto dia (D6) e sétimo dia (D7) entre pacientes em tratamento de fertilização in vitro que utilizaram protocolo de estimulação ovariana controlada com PPOS e pacientes que utilizaram protocolo com o uso do antagonista do GnRH.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Desenho do estudo

Esse é um estudo de caso-controle apresentado de acordo com as normas da (STrengthening the Reporting of OBservational Studies in Epidemiology) STROBE(28) que apresenta um checklist (ANEXO 1) com os itens essenciais para melhor apresentação de estudos observacionais.

### 3.2. Contexto

Foi realizado um estudo de caso-controle através de levantamento de prontuários de pacientes atendidas na Clínica Nilo Frantz de Medicina Reprodutiva, localizada em São Paulo, Brasil, de janeiro de 2022 a agosto de 2023, submetidas ao tratamento de estimulação ovariana controlada para fertilização in vitro (FIV) com injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI).

### 3.3. Participantes

O grupo de casos estudados, denominado Grupo Didrogesterona utilizou Gonadotrofina menopáusica humana (menotropina, *Ferring Pharmaceuticals*) e/ou Hormônio Folículo estimulante recombinante (alfafolitropina, *Merck*) e supressão hipofisária com progesterona (didrogesterona; 20 a 30mg/dia; *Abbott*). Ambos iniciados no segundo ou terceiro dia do ciclo. O monitoramento folicular foi feito através de controle ecográfico no primeiro dia de estimulação, quinto dia e depois, a cada 2 dias até a maturação oocitária final, que ocorreu quando havia 2 ou mais folículos acima de 18mm de diâmetro médio. A maturação oocitária final procedeu-se através de *trigger* com agonista de GnRH (triptorrelina 0,2mg; *Ferring Pharmaceuticals*). A aspiração dos folículos para recuperação dos oócitos ocorreu após 34-36 h do *trigger*. Todos os folículos com mais de 10mm foram puncionados.

O grupo controle, denominado Grupo Antagonista utilizou Gonadotrofina menopáusica humana (menotropina, *Ferring Pharmaceuticals*) e/ou FSH recombinante (alfafolitropina, *Merck*) e supressão hipofisária com antagonista do GnRH (Acetato de Cetrorrelix; 0,25mg; *Merck*), sendo este último introduzido quando existiam folículos com diâmetro maior ou igual a 13mm. O monitoramento folicular foi feito através de controle ecográfico no primeiro dia de estimulação, quinto dia e depois a cada 2 dias até a maturação oocitária final, que ocorreu quando havia 2 ou mais folículos acima de 18mm de diâmetro médio. A maturação oocitária final procedeu-se através de *trigger* com agonista de GnRH (triptorrelina 0,2mg; *Ferring Pharmaceuticals*). A aspiração dos folículos para recuperação dos oócitos ocorreu após 34-36 h do *trigger*. Todos os folículos com mais de 10mm foram puncionados. A fertilização dos oócitos aspirados foi feita com ICSI e os embriões foram cultivados em estufa *Time lapse*.

Os critérios de inclusão foram mulheres com idade inferior a 40 anos, que tinham ciclos menstruais regulares nos últimos 3 meses (25 a 35 dias de duração), com reserva ovariana normal, definida pelo hormônio anti mulleriano (HAM) superior a 1ng/mL.

Foram excluídos deste estudo todos os ciclos cujas mulheres tinham mais de 40 anos de idade, HAM inferior a 1ng/mL, diagnóstico de endometriose grau 3 ou mais, mulheres com obesidade grau 3, sendo o índice de massa corpórea (IMC) maior que 35Kg/m<sup>2</sup>, presença de cisto ovariano com estradiol superior a 100pg/mL no início do ciclo, mulheres que tinham recebido tratamentos hormonais nos 3 meses anteriores, ou ainda com qualquer contraindicação ao tratamento de estimulação ovariana.

### 3.4. Variáveis

Foram estudadas características sociodemográficas das participantes estudadas, bem como os protocolos de tratamento e como desfechos as variáveis relacionadas ao processo de estimulação ovariana controlada e as características laboratoriais em decorrência desse processo.

### **3.5. Fonte dos dados/mensuração dos dados**

Dados clínicos e laboratoriais foram coletados do prontuário eletrônico das pacientes. A coleta de dados iniciou-se anteriormente ao protocolo de EOC com a coleta de dados de 52 ciclos para FIV.

### **3.6. Vieses**

O principal viés desse estudo se dá pelo desenho em que não é possível estabelecer causalidade. Ainda, é importante ressaltar os vieses conhecidos para dados extraídos de prontuários, como por exemplo, os dados faltantes.

### **3.7. Tamanho do estudo**

Um total de 52 ciclos foram selecionados para este estudo após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e alocados em 2 grupos que utilizaram protocolos de estimulação ovariana controlada com bloqueios distintos.

### **3.8. Variáveis quantitativas**

Ao final do protocolo de EOC foram coletados de ambos os grupos os dados de número de oócitos recuperados. Os embriologistas classificaram com base no aspecto morfológico os oócitos em vesícula germinativa, metáfase I e metáfase II, sendo registrado o número de oócitos em M2, número de M1 e número de oócitos que ainda apresentavam a VG.

Os oócitos em M2 passaram pelo processo de ICSI e a fertilização foi avaliada 16 a 18 horas após o processo – uma fertilização normal foi considerada com a presença de 2 pronúcleos e 2 corpúsculos polares. A taxa de fertilização de cada paciente foi registrada, sendo considerado o número de oócitos fertilizados dividido pelo número total de oócitos que passaram pelo processo de ICSI. O desenvolvimento embrionário foi avaliado no quinto dia de cultivo, sendo avaliado os embriões que se encontravam no estágio de blastulação e registrado o número de blastocistos e a taxa de blastulação. A taxa de blastulação foi considerada como o número total de blastocistos dividido pelo número de oócitos fertilizados.

A morfologia embrionária foi determinada através do sistema de classificação morfológica com base na classificação de Gardner e Schoolcraft. Esta classificação leva em consideração um sistema de *score* em 3 vias, baseado no grau de expansão do blastocisto, na qualidade da MCI e na qualidade do TE, sendo que é dado uma nota de A-C para MCI e TE respectivamente, considerando, portanto, a qualidade morfológica. No sistema e em suas variações, os blastocistos são classificados em 3 grupos: Alta qualidade (3AA, 4AA, 5AA), boa qualidade (3/4/5 AB, BA e BB)

e baixa qualidade (3/4/5 AC, CA, BC, CB e CC). Neste estudo foi considerado embrião *top quality* todos classificados como alta e boa qualidade.

Outro parâmetro avaliado foi o tempo em que o embrião demorou para atingir o estágio de blastocisto: 5 dias (D5), 6 dias (D6), 7 dias (D7).

### 3.9. Métodos estatísticos

As variáveis quantitativas foram avaliadas quanto a aderência a distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Por não apresentar aderência a distribuição normal, utilizou-se mediana e percentis 25 e 75%, respectivamente, bem como testes não paramétricos. Ainda, as variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas(n) e relativas (%). Para comparação das variáveis quantitativas entre os grupos utilizou-se teste de Mann-Whitney, enquanto para as qualitativas utilizou-se teste de Qui-quadrado. Dados faltantes foram excluídos das análises quando não representavam até 40% dos respondentes. O nível de significância foi de 5%. O programa utilizado para as análises foi o STATA (Stata Corp, LC) versão 11.0.

## 4. RESULTADOS

Um total de 52 ciclos foram selecionados para este estudo, sendo 35 alocados no grupo Antagonista e 17 no Grupo Didrogesterona.

Os dados antropométricos e clínicos das pacientes incluídas estão descritas na tabela 1 e foram expressos em mediana. A idade das pacientes no Grupo Antagonista foi de 36 anos (35,0-38,0) e no Grupo Didrogesterona foi de 37 anos (35,0-39,0). Quanto ao índice de massa corpórea (IMC) nos grupos Antagonista e Didrogesterona foram de 22,1 (21,0-25,7) e 25,2 (22,2 a 26,3) respectivamente. O tempo de infertilidade foi de 2 anos em ambos os grupos. A porcentagem de casos com o diagnóstico de infertilidade primária foi de 45,7% no Grupo Antagonista e de 52,9% no Didrogesterona. A reserva ovariana, definida pelo hormônio anti-mulleriano (HAM), do Grupo Antagonista foi de 1,9 (0,8-2,6) e do Grupo Didrogesterona foi de 2,7 (1,4 – 4,6). Todas as medianas das variáveis descritas foram similares nos os dois grupos ( $p>0,05$ ), sendo assim, os grupos foram comparáveis.

**Tabela 1.** Características antropométricas das pacientes estudadas entre os grupos.

Variáveis	Antagonista	Didrogesterona	p-value
	N=35	N=17	
Idade mediana (p25.p75)	36,0 (35,0-38,0)	37,0 (35,0-39,0)	0,56*
IMC mediana (p25.p75)	22,1 (21,0-25,7)	25,2 (22,2-26,3)	0,13*
Tempo de infertilidade mediana (p25.p75)	2,0 (1,0-3,0)	2,0 (1,5-3,0)	0,52*
Infertilidade primária, n (%)			0,77**
Não	19 (54,3%)	8 (47,1%)	
Sim	16 (45,7%)	9 (52,9%)	
HAM mediana (p25.p75)	1,9 (0,8-2,6)	2,7 (1,4-4,6)	0,093*

\*Mann-Whitney; \*\*Teste de Qui-quadrado. P.25; p.75: Percentis 25 e 75%, respectivamente.

A tabela 2 descreve as medianas das características do ciclo de EOC mostrando que a duração do ciclo foi semelhante em ambos os grupos, 10 dias (9-12) no Grupo Antagonista e 10 dias (10-11) no Grupo Didrogesteronona. Também não houve diferença significativa nas doses utilizadas de gonadotrofina para EOC, sendo que a dose de Gonadotrofina menopáusica humana (HMG) foi de 1500UI (1350-2025) no Grupo Antagonista e 1500UI (1275-1950) no Grupo Didrogesteronona e a dose de Hormônio Folículo estimulante recombinante (FSH-r) foi de 1425UI (1200-1800) no Grupo Antagonista e 1425UI (1125-1500) no Grupo Didrogesteronona. O número de folículos puncionados foi 13 (9-21) no Grupo Antagonista e 16 (9-22) no Grupo Didrogesteronona. Todas as medianas das variáveis descritas foram similares nos os dois grupos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 2.** Características do ciclo de estimulação ovariana controlada entre os grupos estudados.

Variáveis	Antagonista	Didrogesteronona	p-value*
	Mediana (p.25; p.75)		
Duração do ciclo (dias)	10,0 (9,0-12,0)	10,0 (10,0-11,0)	0,79
Dose HMG menotropina	1500,0 (1350,0-2025,0)	1500,0 (1275,0-1950,0)	0,91
Dose FSH-r alfafolitropina	1425,0 (1200,0-1800,0)	1425,0 (1125,0-1500,0)	0,80
Folículos puncionados	13,0 (9,0-21,0)	16,0 (9,0-22,0)	0,66

\*Mann-Whitney; Percentis 25 e 75%, respectivamente.

As características laboratoriais dos ciclos de EOC foram descritas na **tabela 3** e expressas em mediana. O número de oócitos recuperados foi 10 (6-15) no Grupo Antagonista e 10 (10-11) no Grupo Didrogesteronona. O número de M2, M1 e VG no Grupo Antagonista foi de 8 (4-12), 0 (0-1) e 1 (0-3) respectivamente e no Grupo Didrogesteronona foi de 10 (5-12), 0 (0-1) e 1 (0-4) respectivamente. Quanto a taxa de fertilização, foi de 80% (68,8-88,9) no Grupo Antagonista e 80% (71,4-91,7) no Grupo Didrogesteronona. No Grupo Antagonista foi encontrado 62,5% (41,7 - 90) de taxa de blastocistos e no Grupo Didrogesteronona 50 % (42,9-80). Todas as medianas das variáveis descritas foram similares nos os dois grupos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 3.** Características laboratoriais entre os grupos estudados.

Variáveis	Antagonista	Didrogesteronona	p-value*
	Mediana (p.25; p.75)		
Oócitos recuperados	10,0 (6,0-15,0)	10,0 (7,0-19,0)	0,46
Oócitos M2	8,0 (4,0-12,0)	10,0 (5,0-12,0)	0,48
Oócitos M1	0,0 (0,0-1,0)	0,0 (0,0-1,0)	0,55
Oócitos VG	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-4,0)	0,86
Taxa de fertilização	80,0 (70,0-92,9)	80,0 (71,4-91,7)	0,79
Taxa de blastocistos	62,5 (41,7-90,0)	50,0 (42,9-80,0)	0,64

\*Mann-Whitney; Percentis 25 e 75%, respectivamente.

A **tabela 4** avaliou a característica dos embriões obtidos, sendo considerados como *top quality*, além do tempo em que eles demoraram para atingir o estágio de blastocisto. Verificou-se



as medianas destas variáveis foram: Número de embriões *top quality* no Grupo Antagonista e Didrogesteronona, 2 (1-4) e 3 (1-5), respectivamente; número de embriões de D5 no Grupo Antagonista 1 (0-3) e no Grupo Didrogesteronona 1 (0-2); número de embriões de D6 no Grupo Antagonista foi de 1 (0-3) e no Grupo Didrogesteronona 2 (2-4); número de embriões de D7 no Grupo Antagonista foi de 0 (0-0) e no Grupo Didrogesteronona 0 (0-0). Todas as medianas das variáveis descritas foram similares nos os dois grupos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 4.** Avaliação da qualidade embrionária entre os grupos.

Variáveis	Antagonista	Didrogesteronona	p-value*
	Mediana (p.25; p.75)		
Embriões Top Quality	2,0 (1,0-4,0)	3,0 (1,0-5,0)	0,68
D5	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-2,0)	0,17
D6	1,0 (0,0-3,0)	2,0 (2,0-4,0)	0,065
D7	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,99

\* Mann-Whitney

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo comparou diferentes protocolos de EOC, a fim de saber se o bloqueio tradicional com o antagonista do GnRH, pode ser substituído por um regime mais simples e amigável com a didrogesteronona. Não foi constatado diferenças significativas nos desfechos clínicos, laboratoriais e na avaliação embrionária entre os grupos estudados.

O surgimento do protocolo utilizando a progesterona como bloqueio veio na intenção de suprir uma demanda crescente por protocolos mais convenientes, uma vez que, a EOC durante o tratamento de FIV/ICSI normalmente requer injeções diárias de gonadotrofinas para recrutar mais oócitos, o que causa sobrecarga física e estresse psicológico nas pacientes, além de aumentar o risco de erros de injeção(29). Foi relatado uma taxa de abandono superior a 50% em vários estudos, mesmo em locais onde o custo do tratamento pode ser reembolsado(30,31), indicando o alto nível de angústia e frustração experimentado pelas pacientes(31).

A didrogesteronona é largamente utilizada na terapia de reposição hormonal, no tratamento da endometriose, nas desordens menstruais, na ameaça de aborto e no suporte de fase lútea durante a gestação(32). Já foi demonstrado que a didrogesteronona pode ser utilizada como alternativa em protocolos de EOC para FIV-ICSI, sendo eficaz no bloqueio do pico prematuro de LH(33) e muitos estudos a compararam aos protocolos tradicionais, com bons resultados nos desfechos reprodutivos(11).

Shan Yu e colaboradores, em 2018, realizaram ensaio clínico controlado e randomizado com 516 pacientes, usando pela primeira vez a didrogesteronona na EOC para FIV e demonstraram que esta proporciona uma supressão eficiente do pico prematuro do LH. Também mostraram que

a didrogesterona não interfere na medição da progesterona endógena e promove um bloqueio hipofisário mais fraco, quando comparado à medroxiprogesterona, primeiramente utilizada nesses tipos de protocolos, usando-se doses menores de gonadotrofinas e por tempo mais curto em regimes com a didrogesterona(33).

Qianwen Xi e colaboradores, em 2020, compararam ciclos de EOC com medroxiprogesterona aos ciclos com Agonista do GnRH (GnRHa), em ensaio clínico randomizado com 257 pacientes. Nenhuma diferença foi encontrada na taxa de gravidez clínica, taxa de implantação e taxa de gravidez em curso entre os dois grupos(34).

Diante disso, é razoável acreditar que os embriões derivados dos ciclos com progesterona tenham o mesmo potencial de desenvolvimento que aqueles originados de protocolos com bloqueio com agonista ou antagonista do GnRH. Outros estudos também mostraram que níveis elevados de progesterona não parecem ter um papel prejudicial em oócitos e embriões(14,18).

No entanto, existem evidências escassas sobre a análise dos embriões quando a progesterona é utilizada para bloqueio do pico prematuro do LH em EOC para FIV-ICSI e, no presente estudo, não foi encontrada diferença na qualidade embrionária, nos diferentes protocolos avaliados.

Foi também avaliado neste estudo, o tempo em que os embriões levaram para atingir o estágio de blastocisto, por haver evidências na literatura desfavorável ao atraso na blastulação. Não foi encontrado diferença para tempo de blastulação entre os grupos.

Vários estudos demonstraram que a transferência de blastocistos de D5 tem taxas de gravidez mais altas do que a transferência de blastocistos de D6, sugerindo melhor viabilidade para embriões de desenvolvimento mais rápido(35,36). O crescimento tardio do embrião, bem como uma janela de implantação deslocada, pode explicar estas observações.

Além disso, de acordo com Tong J e colaboradores(37), em estudo retrospectivo que analisou 2531 blastocistos, o dia da blastulação do embrião foi correlacionado com o seu estado de ploidia. A taxa blastocistos euploides do D5 foi significativamente maior que a dos blastocistos do D6 em mulheres com até 38 anos de idade.

Mas, é importante ressaltar que ainda não existe consenso se a transferência de blastocisto descongelado de D5 é superior a de D6. Alguns trabalhos relatam taxas de gravidez clínica mais elevadas após transferência de D5(38,39), enquanto outros demonstram não haver diferença(39,40).

A principal limitação deste trabalho foi o número de ciclos, por tratar-se de dados coletados em monocentro, e a diferente distribuição dos casos entre os grupos, uma vez que, o protocolo com a didrogesterona ainda não foi totalmente aceito.

No entanto, são necessários mais estudos avaliando os resultados clínicos, laboratoriais e qualidade embrionária, incluindo a prevalência de complicações, tais como a síndrome de hiperestimulação ovariana para concluir a equidade ou superioridade dos protocolos.



## **6. CONCLUSÃO**

O protocolo PPOS com didrogesterona apresentou desfechos reprodutivos clínicos e laboratoriais semelhantes aos verificados no protocolo tradicional com antagonista do GnRH. No entanto, são necessários mais estudos, em especial, ensaios clínicos randomizados, a fim de estabelecer este protocolo como alternativa mais amigável e econômica às pacientes durante a EOC para FIV.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vayena E, Rowe PJ, Griffin PD. Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a meeting on medical, ethical and social aspects of assisted reproduction, held at WHO Headquarters in Geneva, Switzerland [Internet]. World Health Organization; 2002 [citado 27 de novembro de 2023]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42576/92?sequence=1>
2. Organization WH. Infertility prevalence estimates: 1990–2021. 2023 [citado 27 de novembro de 2023]; Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/366700/9789240068315-eng.pdf>
3. Kamel RM. Assisted reproductive technology after the birth of Louise Brown. *Journal of reproduction & infertility*. 2013;14(3):96.
4. Ata B, Capuzzo M, Turkgeldi E, Yildiz S, La Marca A. Progestins for pituitary suppression during ovarian stimulation for ART: a comprehensive and systematic review including meta-analyses. *Human Reproduction Update*. 2021;27(1):48–66.
5. Macklon NS, Stouffer RL, Giudice LC, Fauser BC. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocrine reviews*. 2006;27(2):170–207.
6. Bhandari HM, Choudhary MK, Stewart JA. An overview of assisted reproductive technology procedures. *The Obstetric & Gynaecologis*. julho de 2018;20(3):167–76.
7. Stimulation EGG on O, Bosch E, Broer S, Griesinger G, Grynberg M, Humaidan P, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Human reproduction open*. 2020;2020(2):hoaa009.
8. Kuang Y, Chen Q, Fu Y, Wang Y, Hong Q, Lyu Q, et al. Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2015;104(1):62–70.
9. Huang TC, Huang MZ, Seow KM, Yang IJ, Pan SP, Chen MJ, et al. Progestin primed ovarian stimulation using corifollitropin alfa in PCOS women effectively prevents LH surge and reduces injection burden compared to GnRH antagonist protocol. *Sci Rep*. 23 de novembro de 2021;11(1):22732.
10. Evans MB, Parikh T, DeCherney AH, Csokmay JM, Healy MW, Hill MJ. Evaluation of the cost-effectiveness of ovulation suppression with progestins compared with GnRH analogs in assisted reproduction cycles. *Reproductive biomedicine online*. 2019;38(5):691–8.
11. Cui L, Lin Y, Wang F, Chen C. Effectiveness of progesterone-primed ovarian stimulation in assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. março de 2021;303(3):615–30.
12. Alexandru P, Cekic SG, Yildiz S, Turkgeldi E, Ata B. Progestins versus GnRH analogues for pituitary suppression during ovarian stimulation for assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Reproductive biomedicine online*. 2020;40(6):894–903.
13. Eftekhari M, Hoseini M, Saeed L. Progesterone-primed ovarian stimulation in polycystic ovarian syndrome: An RCT. *IJRM* [Internet]. 22 de setembro de 2019 [citado 27 de novembro de 2023]; Disponível em: <https://knepublishing.com/index.php/ijrm/article/view/5103>

14. Wang Y, Chen Q, Wang N, Chen H, Lyu Q, Kuang Y. Controlled Ovarian Stimulation Using Medroxyprogesterone Acetate and hMG in Patients With Polycystic Ovary Syndrome Treated for IVF: A Double-Blind Randomized Crossover Clinical Trial. *Medicine*. março de 2016;95(9):e2939.
15. Chen Q, Chai W, Wang Y, Cai R, Zhang S, Lu X, et al. Progestin vs. Gonadotropin-Releasing Hormone Antagonist for the Prevention of Premature Luteinizing Hormone Surges in Poor Responders Undergoing in vitro Fertilization Treatment: A Randomized Controlled Trial. *Front Endocrinol*. 22 de novembro de 2019;10:796.
16. Peng Q, Cao X, Wang J, Wang L, Xu J, Ji X, et al. Progestin-primed ovarian stimulation vs mild stimulation in women with advanced age above 40: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol*. dezembro de 2019;17(1):91.
17. Mathieu d'Argent E, Ferrier C, Zacharopoulou C, Ahdad-Yata N, Boudy AS, Cantalloube A, et al. Outcomes of fertility preservation in women with endometriosis: comparison of progestin-primed ovarian stimulation versus antagonist protocols. *J Ovarian Res*. dezembro de 2020;13(1):18.
18. Beguería R, García D, Vassena R, Rodríguez A. Medroxyprogesterone acetate versus ganirelix in oocyte donation: a randomized controlled trial. *Human Reproduction*. 1º de maio de 2019;34(5):872–80.
19. Guo H, Wang Y, Chen Q, Chai W, Sun L, Ai A, et al. Use of medroxyprogesterone acetate in women with ovarian endometriosis undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Sci Rep*. 20 de setembro de 2017;7(1):11927.
20. Tu X, You B, Jing M, Lin C, Zhang R. Progestin-Primed Ovarian Stimulation Versus Mild Stimulation Protocol in Advanced Age Women With Diminished Ovarian Reserve Undergoing Their First In Vitro Fertilization Cycle: A Retrospective Cohort Study. *Front Endocrinol*. 24 de janeiro de 2022;12:801026.
21. Andersen CY. Levels of steroid-binding proteins and steroids in human preovulatory follicle fluid and serum as predictors of success in in vitro fertilization-embryo transfer treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990;71(5):1375–81.
22. Salehnia M, Zavareh S. The effects of progesterone on oocyte maturation and embryo development. *International journal of fertility & sterility*. 2013;7(2):74.
23. Dressing GE, Goldberg JE, Charles NJ, Schwertfeger KL, Lange CA. Membrane progesterone receptor expression in mammalian tissues: a review of regulation and physiological implications. *Steroids*. 2011;76(1–2):11–7.
24. Rękawiecki R, Kowalik M, Kotwica J. Nuclear progesterone receptor isoforms and their functions in the female reproductive tract. *Polish journal of veterinary sciences [Internet]*. 2011 [citado 27 de novembro de 2023]; Disponível em: <https://journals.pan.pl/dlibra/show-content?id=98917>
25. Gardner DK. In-vitro culture of human blastocysts. Towards reproductive certainty: fertility and genetics beyond 1999. 1999;378–88.
26. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility*. junho de 2000;73(6):1155–8.
27. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, Balaban B, Brison D, Calderon G, Catt J, Conaghan J, et al. The Istanbul consensus workshop

on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction*. 1º de junho de 2011;26(6):1270–83.

28. Cuschieri S. The STROBE guidelines. *Saudi journal of anaesthesia*. 2019;13(Suppl 1):S31.
29. Fauser B, Mannaerts B, Devroey P, Leader A, Boime I, Baird DT. Advances in recombinant DNA technology: corifollitropin alfa, a hybrid molecule with sustained follicle-stimulating activity and reduced injection frequency. *Human Reproduction Update*. 2009;15(3):309–21.
30. Land JA, Courtar DA, Evers JLH. Patient dropout in an assisted reproductive technology program: implications for pregnancy rates. *Fertility and Sterility*. agosto de 1997;68(2):278–81.
31. Schröder A, Katalinic A, Diedrich K, Ludwig M. Cumulative pregnancy rates and drop-out rates in a German IVF programme: 4102 cycles in 2130 patients. *Reproductive BioMedicine Online*. janeiro de 2004;8(5):600–6.
32. Rižner TL, Brožič P, Doucette C, Turek-Etienne T, Müller-Vieira U, Sonneveld E, et al. Selectivity and potency of the retroprogesterone dydrogesterone in vitro. *Steroids*. 2011;76(6):607–15.
33. Yu S, Long H, Chang HY ning, Liu Y, Gao H, Zhu J, et al. New application of dydrogesterone as a part of a progestin-primed ovarian stimulation protocol for IVF: a randomized controlled trial including 516 first IVF/ICSI cycles. *Human Reproduction*. 1º de fevereiro de 2018;33(2):229–37.
34. Xi Q, Tao Y, Qiu M, Wang Y, Kuang Y. Comparison Between PPOS and GnRHa-Long Protocol in Clinical Outcome with the First IVF/ICSI Cycle: A Randomized Clinical Trial. *CLEP*. março de 2020;Volume 12:261–72.
35. Xing W, Cai L, Sun L, Ou J. Comparison of Pregnancy Outcomes of High-Quality D5-and D6-Blastocyst Transfer in Hormone-Replacement Frozen-Thawed Cycles. *International Journal of Clinical Medicine*. 2017;8(11):565–71.
36. Zhang H, Arhin SK, Zhao J, Hou X, Chen Y, Huang Z. Delayed development influences the outcome of different grades of D5 and D6 blastocysts during freeze–thaw cycle. *Cellular and Molecular Biology*. 2019;65(4):1–5.
37. Tong J, Niu Y, Wan A, Zhang T. Comparison of day 5 blastocyst with day 6 blastocyst: Evidence from NGS-based PGT-A results. *J Assist Reprod Genet*. fevereiro de 2022;39(2):369–77.
38. Desai N, Ploskonka S, Goodman L, Attaran M, Goldberg JM, Austin C, et al. Delayed blastulation, multinucleation, and expansion grade are independently associated with live-birth rates in frozen blastocyst transfer cycles. *Fertility and sterility*. 2016;106(6):1370–8.
39. Wang X, Zhen J, Sun Z, Yu Q, Deng C, Zhou Y, et al. Effects of fifth day (D5) or sixth day (D6) frozen–thawed blastocysts on neonatal outcomes. *Zygote*. 2016;24(5):684–91.
40. Kaye L, Will EA, Bartolucci A, Nulsen J, Benadiva C, Engmann L. Pregnancy rates for single embryo transfer (SET) of day 5 and day 6 blastocysts after cryopreservation by vitrification and slow freeze. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2017;34:913–9.

## ANEXO 1. Checklist dos itens da STROBE para estudos de caso-controle.

	Item No	Recommendation	Page No
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	1
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	4
<b>Introduction</b>			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	8
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	11
<b>Methods</b>			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	11
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	11
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls	12
		(b) For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case	-
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	13
Data sources/measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	13
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	13
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	13
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	13
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	14
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	14
		(c) Explain how missing data were addressed	14
		(d) If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed	-
		(e) Describe any sensitivity analyses	-
<b>Results</b>			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	14
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	14
		(c) Consider use of a flow diagram	-
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	14



(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest			-
Outcome data	15*	Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure	15

<b>Main results</b>		1 (a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-	15
		6 adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	-
<b>Other analyses</b>	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	-
<b>Discussion</b>			
<b>Key results</b>	18	Summarise key results with reference to study objectives	16
<b>Limitations</b>	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	17
<b>Interpretation</b>	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	17
<b>Generalisability</b>	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	18
<b>Other information</b>			
<b>Funding</b>	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	-