

# **Associação entre o Número de Oócitos Colhidos e os Resultados Reprodutivos**

Artigo de Investigação Médica

**ANA MARIA RIBEIRO E REIS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM **MEDICINA**

2016

### **Autor**

Nome Completo: Ana Maria Ribeiro e Reis

Âmbito: 6º Ano Curricular do Mestrado Integrado em Medicina

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar – Universidade do Porto

Contacto: [anitamreis@gmail.com](mailto:anitamreis@gmail.com)

### **Orientadora**

Nome Completo: Joana Maria Cunha Mesquita Guimarães Cardoso

Grau Académico: Licenciatura

Título Profissional: Assistente Hospitalar Graduada em Ginecologia-Obstetrícia

Contacto: [joanamesquitaquimaraes@gmail.com](mailto:joanamesquitaquimaraes@gmail.com)

### **Co-orientadora**

Nome Completo: Alice Fernandes Pinto

Grau Académico: Mestrado

Título Profissional: Técnica Superior – Embriologista

Contacto: [alicefpinto@hotmail.com](mailto:alicefpinto@hotmail.com)

### **Co-orientadora**

Nome Completo: Márcia Sofia Alves Caxide e Abreu Barreiro

Grau Académico: Licenciatura

Título Profissional: Professora auxiliar convidada; Assistente Hospitalar de Ginecologia-Obstetrícia; Diretora do CPMA – CMIN/CHP

Contacto: [marciabarreiro@sapo.pt](mailto:marciabarreiro@sapo.pt)

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Joana Mesquita e às minhas co-orientadoras Dr.<sup>a</sup> Alice Pinto e Dr.<sup>a</sup> Márcia Barreiro, pelo acompanhamento e disponibilidade incansável ao longo de todo o processo. A elaboração deste estudo só foi possível graças ao apoio incondicional tanto da Dr.<sup>a</sup> Joana como da Dr.<sup>a</sup> Alice e da Dr.<sup>a</sup> Márcia, por isso, lhes dirijo o meu mais sincero obrigada.

Aos meus pais, melhores pais do mundo, que me acompanharam ao longo destes árduos 6 anos. Ao meu pai, Fernando Reis que me motivou a seguir as suas passadas nesta área tão bonita que é a Medicina. À minha mãe que fez sempre tudo ao seu alcance para que eu concretizasse os meus objetivos.

Ao meu namorado e melhor amigo, Pedro Luís, pelo amor e apoios incondicionais ao longo deste longo trajeto que sempre me incentivou a ser melhor.

Por fim, um último agradecimento ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar por me ter recebido tão bem durante estes 6 anos e por me ter ensinado não só Medicina, mas, acima de tudo, por me ter enriquecido como ser humano.

## ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	5
RESUMO .....	6
ABSTRACT .....	7
PALAVRAS-CHAVE .....	8
INTRODUÇÃO .....	8
MATERIAL E MÉTODOS .....	10
DESENHO DO ESTUDO .....	10
PARTICIPANTES .....	10
PROTOCOLO DE ESTIMULAÇÃO .....	10
INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDE .....	11
PROCEDIMENTOS .....	11
ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	11
RESULTADOS .....	12
ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARATIVA .....	12
ANÁLISE DE CORRELAÇÃO .....	13
DISCUSSÃO .....	15
CONCLUSÃO .....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19

## ABREVIATURAS

**ART** – *Assisted Reproductive Techniques*

**CHP** – Centro Hospitalar do Porto

**CMIN** – Centro Materno-Infantil do Norte

**ESHRE** – *European Society of Human Reproduction and Embriology*

**FIV** – Fertilização In Vitro

**FSH** – *Follicle Stimulating Hormone*

**GnRH** – *Gonadotropin Releasing Hormone*

**ICSI** – Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide

**LH** – *Luteinizing Hormone*

**PMA** – Procriação Medicamente Assistida

**SHEO** – Síndrome de Hiperestimulação Ovária

**$\beta$ HCG** – *Beta Subunit Human Chorionic Gonadotropin*

## RESUMO

### Introdução

Nos últimos 30 anos, a Procriação Medicamente Assistida (PMA) tem sentido avanços ao nível da estimulação controlada dos ovários com vista a um desenvolvimento folicular múltiplo.<sup>4</sup> Os protocolos de estimulação convencionais visam, assim, a obtenção de um grande número de oócitos colhidos para fertilização e consequente obtenção de vários embriões para seleção e transferência; no entanto, este procedimento acarreta complicações.<sup>6</sup> Estudos que avaliam a relação entre o número de oócitos colhidos e os respectivos resultados reprodutivos demonstram um aumento na taxa de gravidez com um máximo de 15 oócitos e, eventualmente, um *plateau* ou diminuição dos resultados reprodutivos com um número excessivo de oócitos.<sup>6</sup>

### Objetivo

Avaliar a relação entre o número de oócitos colhidos por punção folicular e os consequentes resultados reprodutivos.

### Metodologia

Realizou-se um estudo retrospectivo entre Fevereiro de 2010 e Dezembro de 2015 no Centro de PMA do Centro Materno-Infantil do Norte / Centro Hospitalar do Porto (CMIN/CHP) através da análise de uma base de dados dos casais submetidos a tratamentos de PMA, mais especificamente ciclos de Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI). No período de estudo referido, realizaram ciclo com protocolo curto com antagonista da GnRH, 606 casais. Foram constituídos 3 grupos de estudo de acordo com o número de oócitos recuperados pós punção folicular: Grupo A (4-8 oócitos recuperados), Grupo B (9-13 oócitos recuperados), Grupo C ( $\geq 14$  oócitos recuperados).

### Resultados

A taxa de fertilização normal e a taxa de gravidez clínica foi significativamente inferior no grupo C quando comparada com o grupo A e B.

### Conclusão

Este estudo confirma que a colheita de um menor número de oócitos está associada a melhores taxas de fertilização e gravidez o que sugere uma evolução no sentido de uma estimulação menos agressiva, com menos complicações e melhores resultados reprodutivos.

## ABSTRACT

### Introduction

In the last 30 years, Assisted Reproductive Techniques (ART) evolved ovarian stimulation to achieve multiple follicle development.<sup>4</sup> The conventional ovarian stimulation protocol aims to provide the maximum number of oocytes retrieved for fertilization and thus several embryos for selection and transfer; however, it is not without complications.<sup>6</sup> Studies that evaluated the relationship between the number of oocytes retrieved and the pregnancy outcomes, reported an increase in pregnancy rates with a maximum of 15 eggs and eventually the plateau or the decline in positive outcomes with an excess number of oocytes.<sup>6</sup>

### Objective

Evaluate the effect of the number of retrieved-oocytes on assisted reproductive outcomes.

### Methods

Retrospective analysis between February 2010 and December 2015 conducted in Centro de PMA do Centro Materno-Infantil do Norte / Centro Hospitalar do Porto (CMIN/CHP) of data from couples undergoing ART treatments, namely Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). 606 couples underwent treatment with short GnRH-antagonist stimulation protocol. Patients were classified according the number of retrieved oocytes after follicular aspiration: Group A (4-8 oocytes retrieved), Group B (9-13 oocytes retrieved), Group C ( $\geq 14$  oocytes retrieved).

### Results

The fertilization and pregnancy rate were significantly lower in group C compared to group A and B.

### Conclusion

This study confirms that the retrieval of a lower number of oocytes is associated with better fertilization and pregnancy rates suggesting that a less aggressive ovarian stimulation is associated with less complications and significantly better reproductive outcomes.

## **PALAVRAS-CHAVE:**

*Infertility, Assisted Reproductive Techniques, Intracytoplasmic Sperm Injection, oocytes, ovarian stimulation, pregnancy rate*

## **INTRODUÇÃO**

A Infertilidade é reconhecida pela Organização Mundial de Saúde como uma doença definida como a incapacidade de um casal alcançar gravidez após 12 meses de relações sexuais desprotegidas e regulares. Esta pode estar relacionada com fatores femininos (35% a 40% dos casais), fatores masculinos (20% a 40% dos casais), ambos (20% a 30% dos casais) ou fatores inexplicados.<sup>1</sup>

Desde o nascimento do primeiro bebé com recurso à Fertilização In Vitro (FIV), que ocorreu há mais de três décadas, mais de 5 milhões de crianças nasceram com recurso a estas técnicas.<sup>2</sup>

É possível identificar três factos que mudaram o percurso da Procriação Medicamente Assistida (PMA): A introdução das gonadotrofinas, para recrutamento multifolicular, a utilização de análogos da hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH) como forma de evitar a ovulação prematura, bem como o desenvolvimento da criobiologia com a possibilidade da criopreservação de embriões supranumerários. Esta disponibilidade de criopreservação fez com que, cada vez mais, o objetivo fosse maximizar o número de oócitos através de uma hiperestimulação ovárica.<sup>3</sup>

Nos últimos 30 anos, a PMA tem sentido avanços ao nível da estimulação controlada dos ovários com vista a um desenvolvimento folicular múltiplo.<sup>4</sup> Atualmente, os protocolos de estimulação ovárica visam a obtenção de um grande número de oócitos e embriões pois, se mais do que um embrião for transferido, no limite a transferência de 2 embriões, aumenta, razoavelmente, a probabilidade de ocorrência de gravidez.<sup>5</sup> Os protocolos de estimulação convencionais visam, assim, a obtenção do número máximo de oócitos colhidos para fertilização e, conseqüentemente, vários embriões para seleção e transferência; no entanto, este procedimento não é isento de complicações.<sup>6</sup>

Nos últimos anos, foi proposta uma nova estratégia de estimulação como alternativa aos protocolos clássicos – Protocolos de estimulação suave.<sup>7</sup> Estes implicam o uso de menores doses de medicação, reduzindo o desconforto associado a múltiplas injeções diárias bem como os custos relacionados. Com os protocolos de estimulação convencionais, os doentes tendem a

abandonar os ciclos de tratamento devido à incapacidade de lidar com o desconforto relacionado com as múltiplas injeções diárias e consequente hiperresposta folicular.<sup>8</sup> Devido a uma diminuição no número de folículos em desenvolvimento e no número de oócitos colhidos, os protocolos de estimulação suave têm sido associados a um menor risco de ocorrência de Síndrome de Hiperestimulação ovárica (SHEO).<sup>9</sup> Para além disso, verificou-se que protocolos de estimulação suave estarão associados a melhores taxas de implantação e de gravidez.<sup>10</sup>

Assim, esta ideologia de que a obtenção de um elevado número de oócitos conduz a melhores taxas de gravidez pode ser considerada injustificada e contraditória. Estudos que avaliam a relação entre o número de oócitos colhidos e os respectivos resultados reprodutivos demonstram um aumento na taxa de gravidez com um máximo de 15 oócitos e, eventualmente, um *plateau* ou diminuição dos resultados reprodutivos com um número excessivo de oócitos.<sup>6</sup> Desta forma, protocolos de estimulação suave consistem numa abordagem mais “*patient-friendly*” e com menos complicações associadas.<sup>11</sup>

O objetivo deste estudo consiste em avaliar a relação entre o número de oócitos colhidos após aspiração folicular e os consequentes resultados reprodutivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Desenho do estudo

Foi efetuado um estudo retrospectivo, através da análise da base de dados dos casais submetidos a tratamentos de Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI) no Centro de Procriação medicamente Assistida do Centro Materno-Infantil do Norte/Centro Hospitalar do Porto (CMIN/CHP). Estavam incluídos na referida base informatizada os dados clínicos e laboratoriais referentes aos ciclos realizados.

### Participantes

A amostra de estudo refere-se a 606 ciclos de ICSI realizados no período de estudo, os quais foram divididos em 3 grupos de acordo com o número de oócitos recuperados no dia da punção folicular: Grupo A (4-8 oócitos recuperados), Grupo B (9-13 oócitos recuperados), Grupo C ( $\geq 14$  oócitos recuperados). No grupo A, a média de idades das mulheres foi de  $33.86 \pm 3.85$  anos e a dos homens foi de  $35.00 \pm 4.69$  anos; a do grupo B foi de  $33.33 \pm 3.81$  anos para as mulheres e foi de  $34.52 \pm 4.58$  anos para os homens; a do grupo C foi de  $32.33 \pm 3.85$  anos para as mulheres e de  $34.95 \pm 4.56$  anos para os homens.

### Protocolo de Estimulação

Os ciclos em estudos seguiram um Protocolo de Estimulação Curto com Antagonista de GnRH. Os Antagonistas de GnRH têm sido utilizados mais recentemente e realizam o bloqueio hipofisário após o início da estimulação ovárica. Comparativamente aos Agonistas de GnRH, têm a vantagem de permitirem uma aplicação mais confortável para a paciente pois são necessárias um menor número de injeções. Pode ser utilizada uma dose única de 3mg ou injeções diárias de 0,25mg por dia, iniciadas quando estiverem presentes folículos de, pelo menos, 14mm de diâmetro. Como exemplos de Antagonistas de GnRH temos o acetato de ganirelix e o acetato de cetorelix. Os protocolos de hiperestimulação ovárica devem ser utilizados de maneira a mimetizar ao máximo a fisiologia do ovário. A individualização do tratamento, ministrando doses mais adequadas, de acordo com cada indicação, é o objetivo final.

## **Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (ICSI)**

Foram analisados ciclos de ICSI que consiste na injeção de um único espermatozoide no interior do citoplasma oocitário.

### **Procedimentos**

A população em estudo incluiu apenas mulheres consideradas normorespondedoras, sendo excluídas situações clínicas de fatores de infertilidade feminina e masculina muito graves. Assim, a população selecionada foi distribuída em 3 grupos de acordo com o número de oócitos recuperados, tendo sido considerados os seguintes critérios de exclusão: (1) ICSI com colheita cirúrgica de espermatozoide ou com obtenção de espermatozoides por electroejaculação, ICSI com tecido testicular/espermatozoides criopreservados e descongelados ou infertilidade por factor masculino grave (2) Infertilidade relacionada com Endometriose e Síndrome do ovário poliquístico; (3) Más respondedoras; (4) Protocolos de estimulação ovárica diferentes de antagonista GnRH/FSH; (5) Aspiração folicular sem oócitos colhidos; (6) Ciclos sem transferência embrionária.

Foram estudados entre outros, diversos parâmetros tais como: níveis basais de FSH e LH, pico de estradiol no dia da bCG, número de oócitos imaturos, com anomalia e injetados, número de embriões normais e transferidos, taxa de fecundação, taxa de implantação e taxa de gravidez.

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados com recurso ao software IBM SPSS Statistics 20. Para além da estatística descritiva (médias, desvio-padrão, frequências e percentagens), utilizou-se a estatística inferencial para comparar as variáveis contínuas (teste ANOVA) e para prever as variáveis explicativas da gravidez (regressão linear, com método *stepwise*). Todos os testes estatísticos foram avaliados ao nível de significância de 0.05.

## RESULTADOS

### Análise descritiva e comparativa

Na Tabela I, encontram-se descritos os valores obtidos nas diferentes variáveis em estudo, distribuídos por 3 grupos que se diferenciam pelo número de oócitos recuperados bem como, a significância estatística das diferenças entre os grupos. Assim, constatamos que a idade média das mulheres no grupo C é significativamente inferior em relação à idade média do grupo A e B. O nível do FSH (dia 3), bem como a dose média total de estimulação são significativamente mais baixos no grupo C; o nível de LH (dia 3), bem como o número médio de dias de estimulação e o pico de estradiol são significativamente mais elevados no grupo C. Também em relação ao número médio de oócitos obtidos, ao número médio de oócitos imaturos e ao número médio de oócitos microinjetados, verificamos que o grupo C apresenta valores significativamente mais elevados. Em relação ao número médio de zigotos e ao número médio de embriões transferidos, os grupos B e C apresentam valores significativamente mais elevados.

A taxa de fertilização normal e a taxa de gravidez clínica foi significativamente inferior no grupo C quando comparada com o grupo A e B.

**Tabela I: Variáveis em estudo**

Ciclos ICSI Período: 2010-2015	Grupo A (n=301) 4-8 Ovócitos	Grupo B (n=190) 9-13 Ovócitos	Grupo C (n=115) 14-18 Ovócitos	P
Idade média ± DP mulher (anos)	33,86±3,85	33,33±3,81	32,33±3,85	0,001
Idade média ± DP homem (anos)	35,00±4,69	34,52±4,58	34,95±4,56	----
FSH dia 3 (IU/L)	7,05±1,78	6,74±1,77	6,12±1,44	0,000
LH dia 3 (IU/L)	5,44±1,91	5,87±2,45	6,38±2,56	0,001
Dose média (±DP) total de estimulação	2079,03±978,43	1815,32±769,44	1743,88±737±8,51	0,001
N.º médio (±DP) de dias de estimulação	8,45±1,35	8,65±1,18	8,92±1,44	0,008
Pico de Estradiol (pg/l)	1425,23±609,76	1868,70±818,23	2273,42±1013,53	0,000

Endométrio	10,12±2,045	10,45±1,89	10,34±1,90	----
N.º médio (±DP) ovócitos obtidos	5,98±1,43	10,57±1,37	17,62±4,24	0,000
N.º médio (±DP) ovócitos imaturos	1,19±1,24	2,26±2,02	4,40±2,97	0,000
N.º médio (±DP) ovócitos microinjectados	4,46±1,61	7,54±2,18	10,66±3,18	0,000
N.º médio (±DP) de zigotos	2,64±1,36	4,32±2,16	5,76±2,64	0,000
Taxa de fertilização normal (%)	60,8%	57,0%	54,2%	0,015
N.º médio (±DP) embriões transferidos	1,73±0,49	1,86±0,38	1,88±0,33	0,001
Taxa de gravidez clínica (%)	35,8%	34,7%	33,9%	0,000
Taxa de implantação (%)	19,3%	19,9%	18,4%	----

### Análise de correlação

Pela análise da Tabela II constatou-se que a taxa de fecundação se correlaciona negativa e significativamente com o número de oócitos com anomalia, bem como com a dose de estimulação. Verificou-se ainda que a taxa de gravidez se correlaciona negativamente com o número de oócitos obtidos e com o número de embriões transferidos. Observou-se também, uma correlação positiva entre o número de oócitos obtidos e o número médio de embriões transferidos (Tabela III).

**Tabela II: Coeficientes de Correlação de Pearson entre a Taxa de fecundação e Oócitos com anomalia e Dose de estimulação**

		Taxa de fecundação
Oócitos com anomalia	Correlação de Pearson	<b>-,107**</b>
	Sig. (2 extremidades)	<b>,009</b>
Dose estimulação	Correlação de Pearson	<b>-,096*</b>
	Sig. (2 extremidades)	<b>,026</b>

\*\* . A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

\* . A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

**Tabela III: Coeficientes de Correlação de Pearson entre a Taxa de gravidez e Oócitos obtidos e Número médio de embriões transferidos**

		Taxa de gravidez
<b>Oócitos obtidos</b>	Correlação de Pearson	<b>-,214**</b>
	Sig. (2 extremidades)	<b>,000</b>
<b>Número médio de embriões transferidos</b>	Correlação de Pearson	<b>,104*</b>
	Sig. (2 extremidades)	<b>,011</b>

*\*\*.* A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

*\*.* A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

## DISCUSSÃO

No presente estudo constatou-se que o número de oócitos recuperados e o pico de estradiol no grupo C foi significativamente maior quando comparado com os restantes grupos de estudo. Estudos prévios demonstraram que a hiperestimulação ovárica controlada tem impacto na expressão de alguns biomarcadores de receptividade endometrial no epitélio glandular do endométrio.<sup>12, 13, 14, 15</sup> Outros estudos relatam ainda que a expressão e secreção de alguns fatores de crescimento está alterada durante o período de hiperestimulação ovárica controlada. Estes estudos sugerem que elevados níveis de estradiol e progesterona, produzidos após a hiperestimulação controlada, podem alterar o desenvolvimento do endométrio e a expressão de algumas moléculas associadas à receptividade endometrial, sendo estas prejudiciais para a mesma, podendo afetar a implantação do embrião.<sup>16, 17</sup> De acordo com Otsuki et al.<sup>18</sup> elevados níveis de estradiol podem conduzir à produção de oócitos com citoplasma vacuolizado reduzindo as probabilidades de gravidez. Em consonância com esta evidência, constatou-se que o grupo C tem um maior número de oócitos imaturos e com anomalias. De acordo com o estudo de Baart et al.<sup>19</sup> baixas doses de gonadotrofinas estão, inclusivamente, associadas a embriões com menores taxas de aneuploidia.

No que diz respeito ao número de embriões normais, verificam-se diferenças significativas em benefício do grupo A comparativamente com os grupos B e C, repercutidas também em melhores taxas de fecundação e gravidez neste grupo. Verificamos ainda que a taxa de gravidez se correlaciona negativamente com o número de oócitos obtidos e com o número de embriões transferidos. No estudo de Verberg et al.<sup>20</sup> verifica-se que a taxa de gravidez com colheita de 18 oócitos ou mais é muito baixa. No entanto, de acordo com Briggs et al.<sup>21</sup> a taxa de gravidez não diminui com a colheita de um número aumentado de oócitos recuperados. Refere mesmo que, enquanto não se verificar a ocorrência de SHEO, não existe limite para o número de oócitos que se podem obter. Refere ainda que, a obtenção de um número aumentado de oócitos é vantajosa em termos de criopreservação e consequente transferência de embriões congelados, reduzindo a necessidade de nova estimulação ovárica e colheita de oócitos. Esta opinião tem sido, no entanto, refutada por grupos de investigadores que defendem que a estimulação ovárica excessiva, com os consequentes níveis suprafisiológicos de estradiol, são nefastos para o sucesso reprodutivo.<sup>12, 13, 14, 15</sup>

O presente estudo incidiu sobre um grupo de mulheres consideradas normorespondedoras, no entanto, constatou-se uma variação numérica na resposta folicular, pelo que foram constituídos 3 grupos de estudo de acordo com o número de oócitos recuperados na punção.

Exluímos, no presente estudo, o grupo de mulheres consideradas Más Responderas, bem como outros fatores de infertilidade masculina e feminina graves.

Na rotina dos programas de PMA, verifica-se uma incidência de Más Responderas após estimulação ovárica entre 9 a 25% das doentes.<sup>22</sup> Esta má resposta poderá estar relacionada com causas como idade avançada do elemento feminino, endometriose, cirurgia ovárica prévia, fatores genéticos ou iatrogenia.<sup>23</sup> A *European Society of Human Reproduction and Embriology* (ESHRE) publicou os critérios de Bolonha, em 2011, de forma a uniformizar a definição de má resposta ovárica. Pelo menos 2 dos seguintes 3 critérios têm de estar presentes para estabelecer a definição: (1) Idade materna avançada (> 40 anos) ou outro fator de risco para má resposta ovárica; (2) Má resposta prévia ( $\leq 3$  oócitos com protocolo de estimulação convencional); (3) Reserva ovárica anormal (por exemplo, contagem de folículos antrais inferior a 5-7 ou valores de Hormona anti-Mulleriana inferiores a 0,5-1,1 ng/ml).<sup>24</sup> Tanto uma resposta ovárica baixa como demasiado elevada estão associadas a taxas nulas ou baixas de gravidez e, estudos prévios, sugerem mesmo um intervalo ideal no número de oócitos colhidos, abaixo e acima do qual os resultados reprodutivos ficam comprometidos.<sup>25, 26</sup>

Estratégias futuras para a estimulação ovárica devem visar uma estimulação menos agressiva com crescimento folicular ótimo, eventualmente entre 9 a 13 folículos, minimizando a ocorrência de SHEO, sem piorar a taxa de gravidez.<sup>27</sup>

Os protocolos de estimulação suave têm potenciais vantagens em relação aos protocolos convencionais, em populações selecionadas. Com a diminuição do número de folículos e oócitos recuperados, menos complicações advêm, nomeadamente, menor risco de SHEO.<sup>28, 29</sup> O SHEO consiste numa associação de aumento do volume ovárico, devido à presença de múltiplos quistos, e ascite devido a um estado de hiperpermeabilidade vascular que resulta na saída de líquido do espaço intravascular com subsequente hipovolémia e hemoconcentração.<sup>30</sup> Na maioria dos casos, o SHEO é uma complicação iatrogénica da indução da ovulação, ocorrendo em cerca de 0,6 a 14% destes tratamentos.<sup>31</sup> Assim, poderemos inferir que protocolos de estimulação suave, com menores doses de gonadotrofinas exógenas e consequentes menores números de oócitos recuperados são mais *patient-friendly* por se associarem a um menor custo económico, a uma menor taxa de complicações e a uma maior taxa de gravidez.<sup>32</sup>

O número total de embriões a transferir deverá ser, teoricamente, inferior ao utilizado nos protocolos convencionais e uma evolução no sentido da Transferência Seletiva de Embrião Único acarreta reduções consideráveis nas taxas de gestação múltipla com consequentes reduções das complicações e custos a estas associados.<sup>33</sup> Um estudo comparou a proporção de gestações múltiplas por casal durante 1 ano, sendo que esta foi de 0,5% no grupo em que se recorreu a um protocolo de estimulação "*mild*", valor este significativamente mais baixo em relação ao grupo submetido a protocolo convencional em que se verificou uma taxa de 13,1% de gestações múltiplas.<sup>32</sup>

Neste estudo recorremos a um protocolo de estimulação convencional com antagonistas GnRH, no entanto, os resultados obtidos sugerem a importância de uma evolução no sentido de uma estimulação menos agressiva com protocolos de estimulação suave, aos quais estão associadas melhores taxas de gravidez. Ressalvamos, desta forma, a importância de uma evolução no sentido de uma “*mild stimulation*” pois esta é, de facto, uma estimulação mais “*patient-friendly*” e com menos complicações associadas.

## **CONCLUSÃO**

Este estudo confirma que a colheita de um menor número de oócitos está associada a melhores taxas de fertilização e gravidez. Estes dados sugerem uma evolução no sentido de uma estimulação menos agressiva, com menos complicações e melhores resultados reprodutivos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nardelli A, Stafinski T, Motan T, Klein K, Menon D. Assisted reproductive technologies (ARTs): Evaluation of evidence to support public policy development. *Reprod Health*. 2014;11:76.
2. Ji J, Liu Y, Tong X, Luo L, Ma J, Chen Z. The optimum number of oocytes in IVF treatment: an analysis of 2455 cycles in China. *Hum Reprod*. 2013;0:1-7
3. Mahajan N. Should mild stimulation be the order of the day?. *J Hum Reprod Sci*. 2013;6:220-226.
4. Fauser B, Nargund G, Andersen A, Norman R, Tarlatzis B, Boivin J, et al. Mild ovarian stimulation for IVF: 10 years later. *Hum Reprod*. 2010;00:1-7
5. Kok J, Looman C, Weima S, Velde E. A high number of oocytes obtained after ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection is not associated with decreased pregnancy outcome. *Fert and Ster*. 2006;85:1-2.
6. Matsaseng T, Kruger T, Steyn W. Mild Ovarian Stimulation for in vitro Fertilization: Are we ready to change? A Meta-Analysis. *Gynecol Obstet Invest*. 2013;76:233-240.
7. Revelli A, Chiadò A, Dalmaso P, Stabile V, Evangelista F, Basso G et al. "Mild" vs. "long" protocol for controlled ovarian hyperstimulation in patients with expected poor ovarian responsiveness undergoing in vitro fertilization (IVF): a large prospective randomized trial. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31:809-815.
8. Zhang J, Chang L, Sone Y, Silber S. Minimal ovarian stimulation (mini-IVF) for IVF utilizing vitrification and cryopreserved embryo transfer. *Reprod BioMed Online*. 2010;21:485-495.
9. Crawford N, Sahay K, Mersereau J. Mild Stimulation versus Conventional IVF: A Cost-Effectiveness Evaluation. *Open J of Obst and Gynec*. 2016;6:180-188.
10. Blumenfeld Z. Why more is less and less is more when it comes to ovarian stimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:1713-1719.
11. Rosenwaks Z, Wassarman P. Human Fertility: Methods and Protocols, *Methods in Molecular Biology*. Vol 1154. New York: Springer Science;2014.
12. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update* 2003;9:515-22
13. Haouzi D, Assou S, Dechanet C, Anahory T, Dechaud H, De Vos J, et al. Controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization alters endometrial receptivity in humans: protocolo effects. *Biol Reprod*.2010;82:679-86.

14. Fauser C, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:236-42.
15. Horcajadas A, Riesewijk A, Polman J, Van Os R, Pellicer A, Mosselman S, et al. Effect of controlled ovarian hyperstimulation in IVF on endometrial gene expression profiles. *Mol Hum Reprod* 2005;11:195-205.
16. Horcajadas A, Riesewijk A, Polman J, Van Os R, Pellicer A, Mosselman S, et al. Effect of controlled ovarian hyperstimulation in IVF on endometrial gene expression profiles. *Mol Hum Reprod* 2005;11:195-205.
17. Grondahl L, Borup R, Lee B, Myrholm V, Meinertz H, Sorensen S. Differences in gene expression of granulosa cells from women undergoing controlled ovarian hyperstimulation with either recombinant follicle-stimulating hormone or highly purified human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril.* 2009;91:1820-30.
18. Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod.* 2004;19:1591-7
19. Baart E, Martini E, Van Opstal D. Screening for aneuploidies of ten different chromosomes in two rounds of FISH: a short and reliable protocol. *Prenat Diagn.* 2004;24:955-961
20. Verberg M, Eijkemans M, Macklon N, Heijnen E, Baart E, Hohmann F, et al. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum Reprod.* 2009;15:5-12.
21. Briggs R, Kovacs G, MacLachlan V, Motteram C, Baker H. Can you ever collect too many oocytes? *Hum Reprod.* 2015;30:81-87.
22. Keay SD. Poor Ovarian response to gonadotrophin stimulation the role of adjuvant treatments. *Hum Fert.* 2002;5:46-52
23. Polyzos NP, Tournaye H. Poor ovarian responders: to meta-analyse or not, that is the question. *Hum Reprod.* 2014;29:634-5
24. Ferrarretti A, La Marca A, Fauser B, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26:1616-24
25. Gaast H, Eijkemans M, Net J, Boer E, Burger C, Leeuwen F, Fauser B, Macklon N. Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reprod BioMed Online.* 2006;13:476-480
26. Sunkara K, Rittenberg V, Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 2011;26:1768-1774
27. Dickey RP. Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertil Steril.* 2009;91(1):1-17.

28. Steward, R.G., Lan, L., Shah, A.A., Yeh, J.S., Price, T.M., Goldfarb, J.M., et al. Oocyte Number as a Predictor for Ovarian Hyperstimulation Syndrome and Live Birth: An Analysis of 256,381 in Vitro Fertilization Cycles. *Fertility and Sterility*.2014;10,967-973.
29. Bendsdorp A, Tjon-Kon-Fat R, Bossuyt P, Koks C, Oosterhuis G, Hoek A, et al. Prevention of Multiple Pregnancies in Couples with Unexplained or Mild Male Subfertility: Randomised Controlled Trial of in Vitro Fertilisation with Single Embryo Transfer or in Vitro Fertilisation in Modified Natural Cycle Compared with Intrauterine Insemination with Controlled Ovarian Hyperstimulation. *BMJ*. 2015;350:g7771.
30. Kumar P, Sait F, Sharma A, Kumar M. Ovarian hyperstimulation syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4:70-5.
31. Francisco C, Júlio C, Pinto G, Martins A, Ferreira A, Martins L. Síndrome de Hiperestimulação do Ovário em gravidez espontânea. *Acta Med Port*. 2011;24:635-638.
32. Heijnen M, Eijkemans J, De Klerk C, Polinder S, Beckers G, Klinkert R, et al. A Mild Treatment Strategy for In-Vitro Fertilisation: A Randomised Non-Inferiority Trial. *Lancet*. 2007;369,743-749.
33. Ledger WL. Favourable outcomes from “mild” in-vitro fertilisation. *Lancet*. 2007;369:717–8.

