

Bloqueio da Hipófise com Goserelina de Depósito em Ciclos de Hiperestimulação Ovariana Controlada para Fertilização *in vitro*

Pituitary Down-Regulation with the Use of Goserelin Depot in Cycles of Controlled Ovarian Hyperstimulation for in vitro Fertilization

Luiz Eduardo Trevisan de Albuquerque, Yaron Hameiry
Luiz Eduardo Vieira Diniz

RESUMO

Objetivo: estudar os efeitos da goserelina de depósito como agonista do GnRH para a supressão hipofisária, durante a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) em fertilização *in vitro* e transferência de embriões (FIVE_{TE}).

Método: foram estudados prospectivamente 110 ciclos envolvendo 101 mulheres. A goserelina de depósito foi administrada em dose única subcutânea, para algumas mulheres (87 ciclos) na primeira fase do ciclo menstrual e para outras (23 ciclos), na fase lútea. A administração das gonadotrofinas de mulheres menopausadas (hMG) era diária até que fossem identificados ao menos dois folículos com diâmetro maior ou igual a 18 mm, quando se administrava a gonadotrofina coriônica (hCG) e programava-se a aspiração folicular.

Resultados: a idade média das mulheres foi de 36,7 anos (variando de 23 a 42 anos). As principais indicações para a realização da FIVE_{TE} foram: fator tuboperitoneal (75,2%), endometriose (10,9%), fator ovulatório (7,9%), fator masculino (3,0%) e esterilidade sem causa aparente (3,0%). Do total de casos que iniciaram a HOC, 28 (25,5%) foram suspensos. Em 7 ciclos (8,04% dos casos medicados na primeira fase do ciclo menstrual), houve necessidade de se realizar a aspiração dos cistos ovarianos. Foram transferidos em média 3,3 embriões por paciente (variação de 1 a 5 embriões por paciente). Das 70 transferências de embriões realizadas, resultaram 16 gravidezes clínicas (taxa de gravidez: 22,85%).

Conclusão: a administração da goserelina de depósito é uma alternativa útil para a supressão hipofisária em FIVE_{TE} pois não compromete os resultados quando comparados aos observados na literatura, e não é necessário que a paciente compareça diariamente para receber a medicação, fato de extrema importância num serviço público.

PALAVRAS-CHAVE: Indução da ovulação. Gonadotrofinas. Fertilização *in vitro*. Infertilidade.

Introdução

Os análogos de GnRH (GnRH-a) são um dos itens mais recentes do arsenal terapêutico utilizado nas técnicas de reprodução assistida. Sua administração continuada leva a um estado

induzido de dessensibilização hipofisária que se manifesta como hipopituitarismo e, conseqüentemente, hipogonadismo¹.

Inicialmente, Howles et al.² demonstraram que a presença de níveis tônicos elevados do hormônio luteinizante (LH) reduz os índices de sucesso de um ciclo de fertilização *in vitro* e transferência de embriões (FIVE_{TE}). Procurou-se, com o uso do análogo para inibir a secreção hipofisária, melhorar o prognóstico deste grupo de mulheres. Em seguida, observou-se que muitos ciclos eram frustrados por terminarem em ovulações espontâneas, provavelmente devido aos

Centro de Referência da Saúde da Mulher, Nutrição, Alimentação e Desenvolvimento Infantil (CRSMNADI), Secretaria da Saúde, São Paulo, SP

Correspondência:

Luiz Eduardo Trevisan de Albuquerque
Avenida Angélica, 1757 - Conjunto 73 - Higienópolis
04011-002 - São Paulo - SP

níveis elevados de estradiol produzidos pelo uso do citrato de clomifeno e gonadotrofinas^{3,4}, fazendo com que ocorresse a liberação de um pico espontâneo de LH. Por último, Pellicer et al.⁵ descreveram a existência de um elevado número de mulheres que não respondiam bem aos medicamentos estimulantes da ovulação (mãs respondedoras), mesmo com a aplicação dos protocolos de estimulação clássicos já existentes.

Nos primeiros ensaios clínicos demonstrou-se que o GnRH-a era eficaz para eliminar os níveis tônicos de LH^{6,7}, reduzindo assim a incidência de mãs respondedoras^{8,9} entre as mulheres submetidas a tratamento por meio das técnicas de reprodução assistida. Também, desapareceram os ciclos perdidos por ovulação espontânea, pois ocorre uma inibição da função hipofisária responsável pelo pico do LH, fazendo com que a incidência de cancelamento de ciclos para hiperestimulação ovariana controlada (HOC) diminuísse de forma significativa.

O GnRH é um decapeptídeo produzido pelo núcleo arqueado do hipotálamo. Os aminoácidos das posições 6 e 7 são os mais vulneráveis à ação das endopeptidases hipofisárias. Assim, a degradação do GnRH ocorre habitualmente pela quebra da ligação da cadeia entre os aminoácidos 6 e 7 e entre 9 e 10. Os aminoácidos 2 e 3 (histidina e triptofano) são os responsáveis pela ativação dos receptores hipofisários. Para produzir a liberação máxima de gonadotrofinas é suficiente que o GnRH ocupe apenas 10% dos seus receptores hipofisários, sendo que cada célula gonadotrófica hipofisária contém aproximadamente 10.000 receptores de GnRH. Depois que as moléculas de GnRH se unem a seus receptores, o complexo GnRH-receptor passa de um a outro sobre a superfície celular. Esta polarização conduz a micro-agregação de complexos-receptor, que amplifica a ação do GnRH sobre a síntese/liberação das gonadotrofinas. Depois da ativação do processo intracelular, o GnRH e os receptores são degradados ou reinseridos na membrana celular¹⁰.

Os análogos agonistas (GnRH-a) são sintetizados por substituição do aminoácido 6 da cadeia do GnRH por um D-aminoácido e também pelo agrupamento de um radical lamida ($-\text{CONH}_2$) ao aminoácido 10. No caso específico da goserelina, este GnRH é modificado nos aminoácidos da posição 6 para D.Ser (*t*Bu) e 10 para Aza-Gly. Esta substituição provoca uma diminuição na velocidade da sua degradação pelas peptidases hipofisárias, resultando em uma ligação ao receptor mais duradoura e um estímulo mais prolongado para a liberação de LH e de hormônio foliculo estimulante (FSH). Devemos lembrar que os agonistas foram desenvolvidos originariamente para serem

utilizados no tratamento da anovulação como indutores. Porém, como consequência, estes agonistas provocaram efeitos bloqueadores, já que estimulam inicialmente a liberação de LH e FSH, mas sua administração contínua provoca o fenômeno de dessensibilização ou "down-regulation", descrito anteriormente, com a diminuição das gonadotrofinas hipofisárias^{11,12}.

O objetivo deste trabalho é estudar os efeitos da goserelina de depósito como agonista do GnRH para a supressão hipofisária, durante a hiperestimulação ovariana controlada (HOC) em fertilização *in vitro* e transferência de embriões (FIVeTE).

Pacientes e Métodos

Foram estudados prospectivamente 110 ciclos de FIVeTE, no período compreendido entre junho de 1995 e abril de 1996, envolvendo 101 mulheres regularmente cadastradas no Serviço de Esterilidade Conjugal da Divisão de Reprodução Humana do Centro de Referência da Saúde da Mulher e de Nutrição, Alimentação e Desenvolvimento Infantil (CRSMNADI). A idade das mulheres deste grupo variou de 23 a 42 anos, média de 36,7 anos.

As principais indicações do procedimento quanto a causa da esterilidade estão contidas na Tabela 1.

Tabela 1 - Indicações para a realização da FIV.

Indicação	n	%
Fator tuboperitoneal	76	75,2
Endometriose	11	10,9
Fator ovulatório	8	7,9
Fator masculino	3	3,0
Esca	3	3,0
Total	101	100

A goserelina de depósito (Zoladex® - Zeneca) foi administrada em dose única, para algumas mulheres na fase folicular (87 ciclos, 79,1%), e para outras, na fase lútea tardia (23 ciclos, 20,9%); em ambas as situações a administração do medicamento foi precedida por ultra-sonografia endovaginal de controle. Após 15 a 20 dias realizou-se nova ultra-sonografia endovaginal para iniciar a HOC, tendo como critérios de inclusão endométrio com padrão linear e ausência de cistos ovarianos com diâmetro maior que 30 mm. Na presença de cistos maiores, fazia-se a aspiração com agulha própria, sob visão ultra-sonográfica, após o que se iniciava a HOC.

O protocolo de HOC utilizado compunha-se de administração IM de 300 UI de hMG (Pergonal® - Serono) diariamente. O primeiro controle ultrasonográfico era realizado no 5º dia de indução e após, a intervalos variáveis, conforme a necessidade de cada caso, até que se observassem pelo menos dois folículos com diâmetro maior ou igual a 18 mm. Neste momento era programado o horário da administração de 10.000 UI de hCG (Profasi® - Serono), sendo que 35 horas após esta injeção realizava-se a aspiração folicular.

A aspiração folicular era realizada em centro cirúrgico, respeitando-se todos os preceitos quanto à anti-sepsia necessária para tal procedimento. Utilizamos um aparelho Aloka 500® com transdutor endovaginal de 3.5 MHz, revestido por condom estéril e, sobre este, uma guia de agulha específica para punção.

Os oócitos recuperados foram inseminados, em média, duas horas após a aspiração folicular e 20 horas depois realizava-se a verificação da fertilização: fertilizados viáveis (2 pronúcleos), fertilizados inviáveis (poliplóides, degenerados, etc.) ou não-fertilizados (ausência de pronúcleos). Após 72 horas da aspiração folicular se transferiam os embriões clivados para o interior da cavidade uterina. Utilizamos para a transferência embrionária o catéter de Frydman (CCD® - França).

A suplementação hormonal da fase lútea era realizada a partir da transferência dos embriões, de duas maneiras distintas: para as pacientes com até 10 oócitos aspirados, utilizamos 2.000 UI de hCG por via IM a cada 3 dias, e para as pacientes com mais de 10 oócitos aspirados e/ou obesas e/ou com menos de 30 anos e/ou hirsutas, administrávamos 50 mg de progesterona em óleo (Progesterone® - Eli Lilly) diariamente ou comprimidos de progesterona (Utrogestan® - Bensis Iscovesco), 600 mg/dia sendo administrados 1 comprimido via oral a cada 8 horas ou, por via vaginal, 2 comprimidos à noite e um comprimido pela manhã.

O controle após a transferência de embriões fazia-se aproximadamente após 15 dias, com a dosagem sangüínea quantitativa do beta hCG. Uma vez que o teste resultasse positivo, realizava-se um controle ultra-sonográfico a cada 15 dias. A suplementação da fase lútea, nestes casos, se estendia até a 12ª semana de gestação. Após este período, encaminhávamos a paciente para um serviço de acompanhamento pré-natal.

Resultados

Foram estudados 110 ciclos de FIVE-TE em 101 pacientes, sendo que 28 destes ciclos (25,5%) foram cancelados pelas seguintes causas: falha de

bloqueio - 2 casos (7,1%); má resposta ao estímulo ovariano - 25 casos (89,3%); hipertensão arterial grave - 1 caso (3,6%).

Foi necessário executar aspiração de cistos ovarianos antes do início da HOC em 7 casos, sendo que em todos estes casos a goserelina de depósito foi administrada na fase folicular (6,4% do total de ciclos; 30,4% dos casos de administração em fase folicular).

Dos 82 ciclos que terminaram em aspiração folicular em situação adequada, foram recuperados 683 oócitos, de 0 a 33 oócitos por aspiração, resultando em média 7,8 oócitos/paciente. Dos 683 oócitos inseminados, 456 foram fertilizados, observando-se uma taxa de fertilização de 66,8%, portanto. Houve clivagem em 406 oócitos fertilizados (89,0%) e 50 oócitos não clivaram (11,0%). Foram transferidos de 1 a 5 embriões/paciente, sendo que a média foi de 3,3 embriões por paciente.

Em 12 ciclos não houve transferência (14,6%), sendo que das 70 transferências realizadas (85,4%), foram obtidas 16 gestações clínicas (taxa de gravidez: 22,85%).

O resumo dos resultados obtidos encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Resumo dos principais índices observados

	%
Cancelamentos	25,5
Fertilização	66,8
Clivagem	89,0
Transferência	85,4
Gravidez	22,8

Discussão

A literatura mostra uma taxa variável de ciclos cancelados no uso de GnRH-a. Ferrier et al.¹⁰ referem taxa de cancelamento de 23,7%, Barri et al.¹¹ 31,57% com uso de análogo de administração nasal e 13,6% quando administrado por via subcutânea. Não temos dúvidas de que uma das causas desta taxa de 25,5% é fato de lidarmos algumas vezes com pacientes com idade avançada, levando portanto a um alto índice de cancelamentos por má resposta ao estímulo ovariano.

Chamou-nos a atenção o aparecimento de 7 casos de pacientes com cisto ovariano prévio à HOC, justamente as pacientes que receberam o análogo na fase proliferativa do ciclo. Sampaio et al.¹², comparando o protocolo curto (fase folicular) com o protocolo longo (fase lútea), observaram maior frequência de cistos quando da utilização do protocolo curto (23%), sendo que no protocolo longo o aparecimento de cistos ocorreu em 10%

dos casos. Também neste trabalho, demonstrouse não haver influência destes sobre os resultados da FIV, o que também foi demonstrado por outros autores^{13,14,15}.

Oyesanya et al.¹⁶ relatam em seu trabalho a preferência pela administração do análogo de depósito na fase folicular, pois não haveria o risco de uma administração inadvertida durante uma gestação ainda desconhecida.

Quanto à taxa de oócitos recuperados por paciente, o valor de 7,8 está em concordância com outros trabalhos, como o de Lockwood et al.¹⁷ que comparando vários análogos com protocolos diferentes de FIV, encontraram valores de 6,4 a 7,3 de oócitos/paciente. Tanto a taxa de fertilização quanto a taxa de clivagem não diferem das encontradas na literatura^{16,17,18}.

Em estudo prévio, Matta et al.¹⁹ mostraram que o efeito bloqueador de uma única dose de goserelina de depósito dura em torno de 5 semanas. Portanto, muitas vezes este efeito se estende à fase lútea precoce, fazendo com que seja imperioso o suporte hormonal após a transferência embrionária.

A taxa de gravidez encontrada por nós, de 22,85% (16 gestações), tem um valor compatível com outros trabalhos. Tapanainen et al.²⁰, em trabalho comparando o uso de goserelina de depósito e busserelina, obtiveram no primeiro grupo uma taxa de gravidez de 22,4%, ao passo que no segundo grupo houve uma taxa de 24,0%, concluindo que a goserelina de depósito, administrada por via subcutânea, oferece uma alternativa muito útil para o processo de supressão hipofisária em FIVeTE.

Outros autores, como Ruiz Velasco et al.²¹, também descrevem bons resultados usando esquema semelhante (goserelina de depósito +hMG +hCG) em 18 casos, dos quais 3 não responderam aos medicamentos para o estímulo ovariano e dos 15 casos restantes, sendo 8 transferências intrafalopianas de gameta (GIFT), 4 FIVeTE e 2 inseminações intra-uterinas (IIU), resultaram 8 gestações (57,1%) na primeira tentativa de tratamento.

Concluimos que a utilização da goserelina de depósito em ciclos de HOC para FIVeTE mostra-se promissora, uma vez que não compromete os resultados obtidos, com índice de sucesso semelhante ao observado na literatura, enquanto permite a redução do número de aplicações de drogas envolvidas na HOC, fato de extrema importância num serviço público como o CRSMNADI.

SUMMARY

Purpose: to verify the effects of the goserelin depot as GnRH agonist for hypophysis suppression, during the controlled ovarian hyperstimulation (COH) for in vitro fertilization and intrauterine embryo transfer (IVF & ET).

Method: this is a prospective study of 110 cycles of 101 women. Goserelin depot was administered subcutaneously as a single dose; for some women (87 cycles) it was administered in the first phase of the menstrual cycle, and in 23 cycles it was administered in the luteal phase. The administration of menopausal gonadotropins was daily, until the identification of at least two follicles with a diameter equal to or larger than 18 mm; at this time the chorionic gonadotropin was administered and the follicular aspiration was programmed.

Results: the women's age average was 36.7 years (between 23 to 42 years). The main indications for IVF & ET were: tubo-peritoneal factor (75.2%), endometriosis (10.9%), ovulatory factor (7.9%), male factor (3.0%) and unexplained infertility (3.0%). Of the total of the cycles, 28 (25.5%) cycles were canceled. In 7 cycles (8.04%), for which goserelin depot was administered in the first phase of the menstrual cycle, it was necessary to perform the ovarian cysts aspiration before beginning the ovulation induction. On the average, 3.3 embryos were transferred for each patient (1-5 embryos per woman). Of the total of 70 embryos transferred, 16 clinical pregnancies resulted (pregnancy rate: 22.85%).

Conclusion: the goserelin depot administration is a useful alternative for pituitary suppression for IVF & ET, since its results are similar to those observed in the literature, and the patient does not need to come every day to receive medication, a fact of extreme importance in a public service.

KEY WORDS: *Ovulation. Ovulation Induction. Gonadotropins. Fertilization in vitro. Embryo Transfer.*

Referências

1. Rabin D, McNeil L W. Pituitary and gonadal desensitization after continuous luteinizing hormone-releasing hormone infusion in normal females. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51:873-6.
2. Howles C M, Macnamee MC, Edwards RG, Goswamy R, Steptoe PC. Effect of high tonic levels of luteinizing hormone on outcome of in-vitro fertilization. *Lancet* 1986; 2:521-2.
3. Van Uem JF, García JE, Liu HC, Rosenwaks Z. Clinical aspects with regard to the occurrence of an endogenous LH surge in gonadotropin induced normal menstrual cycles. *J In Vitro Fertil Embryo Transfer* 1986; 3:345-9.
4. Fleming R, Coutts JRT. Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertil Steril* 1986; 45:226-30.

5. Pellicer A, Lightman A, Diamond MP, Russell JB, De Cherney AH. Outcome of in vitro fertilization in women with low response to ovarian stimulation. *Fertil Steril* 1987; 47:812-5.
6. Porter RN, Smith W, Craft IL. Induction of ovulation for in vitro fertilization using buserelin and gonadotrophins. *Lancet* 1984; 2:1284-5.
7. Macnamee M, Howles CM, Edwards RG. Pregnancies after IVF when high tonic LH is reduced by long-term treatment with GnRH agonists. *Hum Reprod* 1987; 2:569-71.
8. Neveu S, Hedon B, Bringer J, Chinchole JM, Arnal J, Humeau C, et al. Ovarian stimulation by a combination of gonadotropin releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1987; 47:639-43.
9. Smitz J, Devroey P, Braeckmans P, Camus M, Khan I, Staessen C, et al. Management of failed cycles in an IVF/GIFT programme with the combination of a GnRH analogue and HMG. *Hum Reprod* 1987; 2:309-14.
10. Ferrier A, Rasweiler JJ, Bedford JM, Prey K, Berkeley AS. Evaluation of leuprolide acetate and gonadotropins versus clomiphene citrate and gonadotropins for in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 1990; 54:90-5.
11. Barri PN, Martínez F, Coroleu B, Veiga A, Calderón G: Experiencia clínica de la utilización de agonistas del Gn-RH en un programa de fertilización in vitro (FIV). *Drugs Today* 1988; 24:51-60.
12. Sampaio M, Serra V, Miró F, Calatayud C, Castellví RM, Pellicer A. Development of ovarian cysts during gonadotrophin-releasing hormone agonists (GnRH_a) administration. *Hum Reprod* 1991; 6:194-7.
13. Ron-El R, Herman A, Golan A, Raziell A, Soffer Y, Caspi E. Follicle cyst formation following long-acting gonadotropin-releasing hormone analog administration. *Fertil Steril* 1989; 52:1063-6.
14. Fedberg D, Ashkenazi J, Dicker D, Yeshaya A, Goldman GA, Goldman JÁ. Ovarian cyst formation: a complication of gonadotropin-releasing agonist therapy. *Fertil Steril* 1989; 51:42.
15. Herman A, Ron-El R, Golan A, Nahum H, Soffer Y, Caspi E. Follicle cysts after menstrual versus midluteal administration of gonadotropin-releasing hormone analog in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990; 53:854-8.
16. Oyesanya OA, Teo SK, Quah E, Abdurazak N, Lee FY, Cheng WC. Pituitary down-regulation prior to in-vitro fertilization and embryo transfer: a comparison between a single dose of Zoladex depot and multiple daily doses of Suprefact. *Hum Reprod* 1995; 10:1042-4.
17. Lockwood GM, Pinkerton SM, Barlow DH. A prospective randomized single-blind comparative trial of nafarelin acetate with buserelin in long-protocol gonadotropin-releasing hormone analogue controlled in-vitro fertilization cycles. *Hum Reprod* 1995; 10:293-8.
18. Testart J, Forman R, Belaisch-Allart J, Volante M, Hazout A, Strubb N, et al. Embryo quality and uterine receptivity in in-vitro fertilization cycles with or without agonists of gonadotropin-releasing hormone. *Hum Reprod* 1989; 4:198-201.
19. Matta WH, Shaw RW, Burford GD. Endocrinologic and clinical evaluation following a single administration of a gonadotropin releasing hormone agonist (Zoladex) in a depot formulation to premenopausal women. *Fertil Steril* 1988; 49:163-5.
20. Tapanainen J, Hovatta O, Juntunen K, Martikainen H, Ratsula K, Tulppala M, et al. Subcutaneous goserelin versus intranasal buserelin for pituitary down-regulation in patients undergoing IVF: a randomized comparative study. *Hum Reprod* 1993; 8:2052-5.
21. Ruiz Velasco V, Allende S. Goserelin followed by assisted reproduction: results in infertile women with endometriosis. *Int J Fertil Womens Med* 1998; 43:18-23