



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

LARISSA MATSUMOTO

COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS COM O USO DO HCG, DO
AGONISTA DE GNRH E DO DUPLO TRIGGER NO TRATAMENTO DE
FERTILIZAÇÃO IN VITRO E AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO PARA TAXA DE
MATURAÇÃO SUB ÓTIMA.

CAMPINAS

2019

LARISSA MATSUMOTO

COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS COM O USO DO HCG, DO
AGONISTA DE GNRH E DO DUPLO TRIGGER NO TRATAMENTO DE
FERTILIZAÇÃO IN VITRO E AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO PARA TAXA DE
MATURAÇÃO SUB ÓTIMA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção
do título de Mestra em Ciências da Saúde, área de concentração em
Fisiopatologia Ginecológica.

ORIENTADOR: DANIELA ANGERAME YELA GOMES

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA
LARISSA MATSUMOTO E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. DANIELA ANGERAME
YELA GOMES

CAMPINAS

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Matsumoto, Larissa, 1982-
M429c Comparação entre os resultados obtidos com o uso do hCG, agonista de GnRH e do duplo trigger no tratamento de fertilização in vitro e avaliação de fatores de risco para taxa de maturação sub ótima / Larissa Matsumoto. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Daniela Angerame Yela Gomes.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Fertilização in vitro. 2. Recuperação de óocitos. 3. Hormônio luteinizante. 4. Receptores do LH. 5. Hormônio liberador de gonadotropina. I. Gomes, Daniela Angerame Yela, 1974-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Results of the use of hCG, agonist GnRH and dual trigger on in vitro fertilization and evaluation of risk factors for sub-optimal maturation rate

Palavras-chave em inglês:

Fertilization in vitro

Oocyte retrieval

Luteinizing hormone

Receptors, LH

Gonadotropin-releasing Hormone

Área de concentração: Fisiopatologia Ginecológica

Titulação: Mestra em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Daniela Angerame Yela Gomes [Orientador]

Luiz Francisco Cintra Baccaro

Rosana Maria dos Reis

Data de defesa: 19-08-2019

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-4187-673>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5784349226918448>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

LARISSA MATSUMOTO

ORIENTADORA: DANIELA ANGERAME YELA GOMES

MEMBROS:

1. PROFA. DRA. DANIELA ANGERAME YELA GOMES

2. PROF. DR. LUIZ FRANCISCO CINTRA BACCARO

3. PROFA. DRA. ROSANA MARIA DOS REIS

Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora
consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da
Unidade.

Data da defesa: 19/08/2019

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação, como todo meu trajeto pessoal e profissional aos meus pais. À minha mãe, que sempre diz que a única herança que nos deixará será o estudo, e ao meu pai, que sempre me incentivou a busca incessantemente o conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço á Unicamp, como instituição, berço da minha vida profissional, e parte da minha vida pessoal. Em especial a Dra Daniela Yela, minha orientadora, admirada desde a graduação pelo carinho, eficiência e, bondade transmitidos a cada ensinamento. A admirável forma como ela busca conhecimento e evolução a cada dia.

Á toda equipe da Vida Bem Vinda, que, hoje faz parte da minha vida, se tornou minha família, e ao dr. Lucas Yamakami, que me acolheu, sempre foi meu porto seguro no mundo da Reprodução Humana.

Agradeço á minha família, que sempre me apoiou nas minhas decisões, mesmo sabendo que isso poderia gerar minha ausência, nos momentos que exigiram dedicação.

Ao meu pai, Tadashi, base da minha formação, e, que com toda sua integridade, sempre nos guiou pelo caminho em busca de luz. Á dona Celma, que resolve tudo, para si e que quer resolver, com bondade, as injustiças que presencia.... Adota cachorros de rua, doa cabelo, doa cesta básica, roupas. Assim é a minha mãe, se faz isso pelos outros, que não conhece, imagina o que faz por nós....

As minhas irmãs, Shimeny e Thuany, que me alegram com um olhar! A cada briga, que tivemos na infância, que nos fez aprender a distinção do certo e errado. E, por serem fruto da minha admiração pelas mulheres que se tornaram!

Ao meu companheiro e propulsor, Brenno Luiz Ambrogi Graciotti, que participou ativamente da elaboração desta dissertação, que embeleza meus dias, e que é capaz de receber o mais verdadeiro sorriso, mesmo quando ainda há feridas!

Ao dr. Luiz Baccaro, e dr. Luiz Brito pelas orientações durante o exame de qualificação.

Ao meu amigo João Leonardo Pinto, que me indicou o caminho a ser seguido até aqui!

E, por fim, agradeço a todas as mulheres, que passaram pelo tratamento, que confiam em nosso trabalho, em busca da construção do bem mais valioso que podemos ter, a família!

RESUMO

Introdução: O processo final do hiperestímulo ovariano é a maturação oocitária que tem influência direta sobre o resultado da Fertilização in vitro (FIV). O trigger utilizado como padrão é o hCG e para mulheres sob risco de Síndrome de Hiperestímulo Ovariano (SHO) o agonista de GnRH. O duplo trigger parece ser a melhor opção, para baixa reserva ovariana, com melhores taxas de maturação e, maiores taxas de gravidez. Embora seja uma das decisões mais importantes na FIV, há poucos estudos que comparam as três formas clínicas para realização da maturação oocitária. **Objetivos:** Comparar os resultados entre o uso do hCG, do agonista de GnRH e do duplo trigger no tratamento de FIV e avaliar os fatores de risco associado à taxas de maturação sub ótima. **Métodos:** estudo observacional retrospectivo com 856 mulheres submetidas a captação oocitária atendidas na clínica Vida Bem Vinda em São Paulo no período de outubro de 2011 a julho de 2017. As mulheres foram divididas em 3 grupos de acordo com o tipo de trigger utilizado para a maturação oocitária: **1.** hCG, 525 mulheres, **2.** agonista de GnRH, 271 mulheres, e **3.** duplo trigger, 60 mulheres. A seguir estas mulheres foram classificadas de acordo com suas taxas de maturação em **A**, taxa de maturação nula (25 mulheres), **B**, taxa de maturação insuficiente (1- 70%) (232 mulheres) e **C**, taxa de maturação adequada (> 70%) (566 mulheres) para identificar os fatores de risco para a maturação sub ótima. Foram utilizados cálculos de frequência e percentual, teste qui-Quadrado, exato de Fisher, Mann- Whitney e Teste de Kruskal-Wallis. Para a taxa de maturação, foi utilizado a análise de regressão de Poisson, univariada e multivariada. O nível de significância adotado nos testes estatísticos foi de 5%. **Resultados:** A média etária foi de $35,93 \pm 4,59$ anos. A taxa de maturação foi de 77% no grupo 1, 76% no grupo 2 e 83% no grupo 3 ($p = 0,0035$). O Grupo 2 apresentou mulheres com indicadores de melhor reserva ovariana como maior número de óvulos captados, óvulos maduros e embriões em relação aos outros grupos ($p < 0,001$). A taxa total de gravidez cumulativa foi de 47,04%, sendo 11,1% de gestações gemelares. Não houve diferença estatística entre as taxas de gravidez, do número de sacos gestacionais e do número de aborto entre os três grupos ($p = 0,755$, $p = 0,648$, $p = 0,227$; respectivamente). A taxa de maturação nula foi de 3,03% e a taxa de maturação <70% foi de 28,18%. Nenhuma variável aumentou a chance para taxa de maturação sub ótima. A baixa reserva ovariana aumentou em 3,95 vezes a chance de apresentar taxa de maturação nula ($p = 0,001$) e a dose de FSH administrada no estímulo < 1650 UI em 15,83 vezes ($p = 0,008$) **Conclusão:** As taxas de maturação do grupo com duplo trigger foram melhores que do grupo agonista de GnRH e não houve diferença estatística nas taxas de gravidez bioquímica, aborto e gemelaridade entre os

grupos. Mulheres com baixa reserva ovariana e dose de FSH administrada no estímulo < 1650 UI têm maior chance de apresentarem taxa de maturação nula.

Palavras-chave: Fertilização in vitro, Infertilidade, Maturação oocitária, hCG, duplo trigger, agonista de GnRH.

ABSTRACT

Introduction: The final process of ovarian hyperstimulation is oocyte maturation and has a direct influence on the results of in vitro fertilization (IVF). The trigger used as standard is hCG, and for patients, at risk of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS), the agonist GnRH. Double trigger seems to be the best option for poor ovarian responders, with better oocyte maturation rates, and higher pregnancy rates. We still do not have a clear comparison between the three triggers and their results that evaluate oocyte maturation rates; seeking the clinical decision to the best IVF result, offering a better indication with less risk, and thus personalizing the treatment of each woman. **Objectives:** Compare the success rates between the use of HCG, agonist GnRH and dual trigger, for oocyte maturation in the treatment of IVF and to evaluate the associated risk factors, which led the women to present sub optimal maturation rates. **Methods:** A retrospective observational cohort study was carried out with 856 women submitted to IVF at the “Vida Bem Vinda” clinic in São Paulo, who performed the oocyte retrieval. Women were classified into three groups: **1.** hCG, with 525 women; **2** GnRH agonist, with 271 women and **3.** double trigger, with 60 women; for evaluation of oocyte maturation. These women were then classified according to their maturation rates in **A.** Null maturation rate: 25 women; **B.** Insufficient maturation rate (1-70%): 232 women and **C.** Adequate maturation rate (> 70%): 566 women; to identify risk factors for sub optimal maturation. Frequency calculations, percentage, chi-square test and Fisher's exact test, and Mann-Whitney, Kruskal-Wallis test were used. For the maturation rate, the univariate and multivariate Poisson regression analysis was used. The level of significance adopted in the statistical tests was 5%.

Results: The average age was 35.93 ± 4.59 . The maturation rate was 77% in group 1, 76% in group 2 and 83% in group 3 ($p = 0.0035$). Group 2 showed women with better ovarian reserve like greater number of ovules collected, mature ovules and embryos in relation to the other groups ($p < 0.001$). The total cumulative pregnancy rate was 47.04%, being 11.1% of twin pregnancies. There was no statistical difference between pregnancy rates, number of gestational sacs, and number of abortions among the three groups ($p = 0.755$, $p = 0.648$, $p = 0.227$, respectively). The null maturation rate was 3.03% and the maturation rate <70%, was 28.18%. The low ovarian reserve increased 3.95 times the chance of presenting a null maturation rate ($p = 0.001$), and the FSH dose administered in the stimulus <1650 IU in 15.83 times ($p = 0.008$)

Conclusion: the maturation rates of the double trigger group were better than group GnRH agonist, and there was no statistical difference in the comparison between the biochemical pregnancy, abortion and twin rates among the groups. Women with low ovarian reserve and

dose of FSH administered in the stimulus <1650 IU are more likely to have a null maturation rate.

Keywords: In vitro fertilization; Infertility; Oocyte maturation; hCG; dual trigger; double trigger; GnRH agonist.

ABREVIACÕES

CFA: Contagem de Folículos Antrais

FIV – Fertilização in vitro

FSH: Follicle Stimulating Hormone (homônio folículo estimulante)

GnRH – Gonadotrophin Releasing Hormone (hormônio liberador de Gonadotrofina)

HAM: Hormônio Anti- Mulleriano

hCG- human Chorionic gonadotropin (gonadotrofina coriônica humana)

ICSI: IntraCytoplasmic Sperm Injection (injeção intracitoplasmática do espermatozoide)

IMC- Índice de Massa Corpórea

LH: Lutinizing Hormone (hormônio luteinizante)

SHO – Síndrome de Hiperestímulo Ovariano

TESE: Testicular Sperm Extraction (extração testicular do espermatozoide)

Vascular Endotelial Growth Factor (Fator de crescimento vascular endotelial)

RNM: Ressonância Nuclear Magnética

UI: Unidades Internacionais

ng/ml: nanograma/mililitros

DP: Desvio Padrão

BCF: Batimentos Cardíacos Fetais

2PN: 2 pró- núcleos

MII: óvulos em metáfase II

Kg/m² : Kilogramas por metro ao quadrado

Ml: mililitros

OMS: Organização Mundial da Saúde

UI/L: Unidades Internacionais por litro

Mm: milímetro

D3: terceiro dia de desenvolvimento embrionário

D5: quinto dia de desenvolvimento embrionário

SUMÁRIO

Introdução	13
Objetivos	18
Materiais e Métodos	19
Resultados	27
Discussão Geral	44
Conclusão	48
Referências	49
Anexos	57

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, infertilidade é definida como não ocorrência de gravidez num período de 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas¹. A prevalência de infertilidade varia entre 3,6 a 16.7%^{2,3} podendo chegar em até 31,1%, em países subdesenvolvidos⁴.

As causas de infertilidade podem ser divididas em fatores masculinos e fatores femininos. A infertilidade causada por fatores masculinos apresenta uma prevalência entre 19 a 20 %^{5,6} como fator isolado e quando associado ao fator feminino pode chegar a 39%⁶. A prevalência de infertilidade de causa feminina varia muito, sendo em média 1/3 das causas isoladas de infertilidade do casal⁶. As causas femininas se devem à fator ovulatório (27 a 32%)^{5,6}; à fator tubário (9 a 26 %) ^{5,6}, à fator uterino (0,2%)⁷ e à endometriose (12%)⁵. Mesmo após investigação, 8% dos casais podem permanecer sem definição de fator causal e se enquadram nos casos denominados de infertilidade sem causa aparente⁶.

A procura por tratamento mesmo em países desenvolvidos ainda está aquém do ideal. Nos Estados Unidos, por exemplo, apenas 65% dos casais inférteis procuram assistência médica⁵. A escolha do tratamento para o casal infértil deve ser realizada de forma individualizada e, para isso, deve-se avaliar a causa de infertilidade, a gravidade do fator causal, a idade da mulher e a reserva ovariana, fatores que podem influenciar na decisão clínica do tratamento a ser oferecido ao casal. Religião, taxa de sucesso, aspecto financeiro e ansiedade do casal são outros fatores que também influenciam na decisão do tipo de tratamento.^{3,8,9}

A avaliação da reserva ovariana, a idade e a causa de infertilidade podem auxiliar na indicação do tratamento adequado além de predizer a resposta ao estímulo ovariano¹⁰. Os marcadores para avaliar reserva ovariana mais utilizados na prática clínica são o hormônio folículo estimulante (FSH) basal, a contagem de folículos antrais (CFA) e o hormônio anti-mulleriano (HAM).

O FSH basal foi proposto como marcador de reserva ovariana em 1988, isto porque ele, que é secretado pela adenohipófise atua com feedback negativo da inibina B e do estradiol no início do ciclo ovulatório. Possui grande variação interciclo e entre os ciclos o que faz dele um fraco preditor de reserva ovariana⁹. É um marcador inversamente proporcional à reserva ovariana.¹⁰

A contagem de folículos antrais é realizada por ultrassom transvaginal e é definida como a contagem do número de folículos com diâmetro entre 2-10 mm nos dois ovários na fase folicular inicial¹⁰. Tem uma boa precisão interciclos⁹. Apresenta boa especificidade, porém baixa sensibilidade para predizer que não ocorrerá gravidez^{10,11}.

O hormônio anti-mulleriano é uma glicoproteína produzida exclusivamente pelas células da granulosa dos folículos pré antrais e dos antrais pequenos¹⁰. Ele modula o recrutamento dos folículos primordiais. Tem boa sensibilidade e boa correlação com a CFA^{10,11}. O hormônio anti- mulleriano é o marcador de reserva ovariana que possui melhor correlação com o número de óvulos captados. Infere-se que a baixa reserva ovariana está associada com valores inferiores a 1,0 ng/ml ¹¹.

Os critérios de Bologna são utilizados para avaliação da reserva ovariana buscando prever a uma baixa resposta ovariana ao estímulo ovariano se a mesma apresentar pelo menos 2 dos três critérios. Os critérios a serem considerados são idade maior ou igual a 40 anos, baixa contagem de folículos antrais ou baixos valores de hormônio anti-mulleriano e história de má resposta ovariana em tratamento anterior¹².

Os tratamentos oferecidos para um casal infértil são divididos em baixa e alta complexidade. O coito programado e a inseminação intrauterina são tratamentos de baixa complexidade enquanto que a fertilização in vitro (FIV) e a injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI) são os tratamentos de alta complexidade.⁹ Esses tratamentos são assim classificados devido aos recursos laboratoriais necessários para o desenvolvimento embrionário sendo que nos de baixa complexidade a fertilização e o desenvolvimento embrionário ocorre in vivo, ou seja, no aparelho reprodutor feminino e nos de alta complexidade a fertilização é realizada com a manipulação dos gametas e o desenvolvimento embrionário inicial ocorre in vitro até a transferência intra-uterina.⁸

A Fertilização in vitro surgiu há mais de quatro décadas para tratar fator tubário e o primeiro tratamento de sucesso ocorreu em 1977 com nascimento de Louise Brown o que rendeu a um dos pesquisadores o Prêmio Nobel de Medicina em 2010¹³. Em 2016, 1,94% dos nascimentos nos Estados Unidos da América foram resultados de técnicas de alta complexidade^{14,15}.

As taxas de sucesso deste tratamento eram, em 1978, de aproximadamente 5% com a captação oocitária realizada por via laparoscópica. Atualmente, as taxas de sucesso do tratamento são quase 10 vezes maiores (49,6%) em mulheres abaixo de 35 anos com transferências de embriões congelados de acordo com o último National Summary Report¹⁵. O rápido sucesso do tratamento está associado as evoluções nas etapas da FIV ao longo destas quatro décadas¹⁶. As etapas do tratamento de fertilização in vitro consistem em: hiperestímulo ovariano controlado, obtenção dos gametas e a fertilização in vitro propriamente dita.

A primeira etapa de um tratamento de FIV é o hiperestímulo ovariano controlado cuja função é obter o maior número de óvulos maduros em um único ciclo. As taxas de sucesso da

FIV estão diretamente relacionadas a quantidade de óvulos captados^{17,18,19}. Para que isso ocorra é necessário o maior rendimento ovariano possível nas três fases (hiperestímulo ovariano controlado, bloqueio hipofisário e trigger) durante o estímulo¹⁹.

O hiperestímulo ovariano controlado consiste no uso de hormônio foliculo estimulante (FSH) associado ou não ao hormônio luteinizante (LH) para o crescimento multifolicular¹⁹. O bloqueio hipofisário é responsável por evitar a liberação de LH impedindo que ocorra a ovulação durante o estímulo ovariano. É esta fase que determina o tipo de protocolo escolhido para o tratamento que pode ser realizado pelo agonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), pelo antagonista de GnRH ou mesmo pelo uso de progesterona.^{19,20} E a fase final de maturação oocitária, o trigger.

Fisiologicamente o crescimento folicular é desencadeado pela secreção do GnRH pelas células mediobasais do hipotálamo na fase folicular do ciclo menstrual. Há um pulso periódico no sistema porta hipofisário que leva a liberação de FSH e LH pela adenohipófise. Estes atuam nos receptores ovarianos, necessários para o crescimento folicular, que por sua vez levará ao aumento dos níveis de estrogênio além de um discreto aumento da progesterona que irá desencadear o pico de LH e resultará na ovulação 36 a 40 horas após^{21,22}

O pico de LH desencadeia a expansão das células da granulosa, a separação oocitária do *cumulus oophorus* e a retomada da meiose até a metáfase II pelo óvulo a chamada maturação oocitária²³. Nos ciclos de reprodução assistida, esse processo para desencadear a ovulação é denominado de trigger²⁴.

A segunda etapa da FIV é a obtenção dos gametas. A captação oocitária é um procedimento rápido, guiado por ultrassom e realizado com a punção ovariana com uma agulha e aspiração do líquido folicular contendo o oócito. A obtenção do espermatozoide pode ser por masturbação ou por procedimento cirúrgico, a depender da gravidade do fator masculino na causa de infertilidade²⁵.

A terceira etapa do tratamento é a fertilização in vitro propriamente dita que pode ser realizada de duas formas: a fertilização in vitro clássica e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). A ICSI deve ser utilizada para casais com fator masculino como causa de infertilidade, ou seja, aproximadamente 40% dos casos, pois quando realizada sem necessidade pode afetar no resultado final e reduzir em até 10% as taxas de nascidos vivos²⁶.

Em geral, um bom resultado da FIV está diretamente relacionado a uma boa estimulação ovariana e menores taxas da síndrome de hiperestimulação ovariana (SHO) e menores taxas de gestações múltiplas²⁷. O número de óvulos maduros e o risco de SHO estão diretamente

relacionados à escolha do trigger. O trigger padrão mais utilizado para desencadear a ovulação é a gonadotrofina coriônica humana (hCG)^{24,28,29}.

A molécula de hCG, devido a sua similaridade bioquímica com o LH ocupa o receptor de LH folicular e desencadeia a fase final da maturação oocitária. Possui uma meia vida com duração de 6 a 10 dias e é responsável pela manutenção do corpo lúteo neste período²⁴. Porém, são descritas algumas desvantagens com o uso do hCG, como impacto sobre pior qualidade embrionária³⁰ e menor receptividade endometrial,³¹ além de um risco aumentado da SHO^{24,32}.

A Síndrome de Hiperestímulo Ovariano é uma complicação iatrogênica da terapia de reprodução assistida³². Sua prevalência varia entre 20 a 33% (formas mais leves)³³ e de 0,18 a 1,4% (formas graves)³⁴ e ocorre quase que exclusivamente devido à manutenção prolongada do corpo lúteo pelo hCG^{24,27,28}. Pode resultar em hospitalização. Nos quadros mais graves pode ocorrer aumento massivo dos ovários, ascite, derrame pleural, disfunção hepática e renal a internação deve ser em Unidade de Terapia Intensiva³².

A SHO decorre do aumento da permeabilidade vascular devido ao aumento de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)^{24,27} com extravasamento de líquido para o terceiro espaço e aumento do risco de tromboembolismo vascular devido ao estado de hipercoagulabilidade, ambos decorrentes dos níveis hormonais supra fisiológicos²⁴. O melhor tratamento é a identificação do risco, a escolha adequada do protocolo de estímulo, reajustar a dose de gonadotrofinas, não realizar hCG no trigger e realizar o congelamento dos embriões para posterior transferência (freeze all), além de oferecer suporte clínico necessário após diagnosticar a SHO^{24,33}.

Uma forma mais segura para se realizar a maturação oocitária é com o uso do agonista de GnRH^{27,32,33}. Seu uso como trigger foi descrito pela primeira vez em 1981³⁵ sendo que foi propagado na década de noventa³⁶⁻³⁸. É utilizado para protocolos que onde o bloqueio da ovulação é feito com antagonista de GnRH ou progestagênios. A escolha do protocolo de estímulo por bloqueio de ovulação que não seja com uso de agonista de GnRH como nos protocolos curtos e longos é capaz de reduzir as formas graves de SHO em 50%³⁹ isso porque viabiliza o uso de GnRH agonista para o amadurecimento oocitário.

O agonista de GnRH pode ser utilizado em estímulos cujo bloqueio da hipófise foi realizado com antagonista, com progestêgios ou em estímulos de fase lútea, ele age na hipófise produzindo efeito flare que leva à liberação de LH e FSH que mimetizam o ciclo natural e desta forma é mais fisiológico²⁷. Após a aplicação, ocorre a liberação endógena de LH e FSH em 4 e 12 horas respectivamente, com pico de liberação pela hipófise entre 24 a 36 horas⁴⁰ porém, por possuir um tempo de meia vida curto de 33 horas²⁸, ocorre deficiência de corpo lúteo, sendo

correlacionado a menores taxas de gravidez e perdas gestacionais em ciclos de transferência a fresco^{41,42}. Neste caso é necessário intenso suporte de fase lútea⁴³. Os esquemas de suporte de fase lútea inicialmente utilizavam doses de hCG 36 horas após a captação afim de resgatar o corpo lúteo⁴³. A revisão da Cochrane de 2014²⁹ recomenda o uso isolado do agonista de GnRH como trigger para ciclos de preservação de fertilidade, de transferências segmentadas (uso de embriões congelados) e de doação de óvulos³². Entretanto é a medicação mais segura para prevenção da Síndrome de Hiperestímulo Ovariano, atingindo maior segurança quando associada ao congelamento total dos embriões e transferência em um segundo momento (freeze all)^{28,29,32}. O agonista de GnRH reduz drasticamente o risco de desenvolver a SHO, pois a curta duração do corpo lúteo reduz a produção de peptídeos vasoativos, entre eles, o VEGF²⁸.

Outra complicação decorrente da escolha do trigger e que compromete o ciclo de FIV em curso é a Síndrome do Folículo Vazio. Definida pela primeira vez por Coulam et al, em 1986⁴⁴ como sendo a aspiração de folículos maduros após estímulo ovariano e indução da maturação e ovulação sem óvulos captados⁴⁴. Já foi descrita tanto em ciclos naturais quanto em ciclos estimulados²⁵.

A chance de ocorrer a Síndrome do Folículo Vazio na FIV é de 0,6% a 7%⁴⁵. Há duas formas descritas quando se utiliza o hCG como trigger^{28,46,50}: a Síndrome do folículo vazio falsa quando no dia do trigger o nível de hCG sérico é menor que 40 UI/l, indicando erro na biodisponibilidade do hCG ou erro na aplicação do trigger e a Síndrome do folículo vazio genuína quando no dia da captação os níveis de hCG sanguíneo estão adequados^{50,51}. A chance de recorrência é de aproximadamente 20% e aumenta com a idade (24% para mulheres entre 35 e 39 anos e 57%, para mulheres com mais de 40 anos)²⁸.

Vários artigos correlacionam pior reserva ovariana⁴⁷⁻⁴⁹ e idade com maiores chances de resposta inadequada ao trigger de maturação.^{28,48,49,52} Uma resposta inadequada também pode ocorrer quando, após uso de agonista de GnRH, não houve aumento do LH e nem da progesterona e após aspiração não são captados óvulos. Nesta situação existe a possibilidade de realizar o retrigger, com hCG, e uma nova captação oocitária ou um novo ciclo com duplo trigger que utiliza agonista de GnRH e hCG para desencadear a maturação oocitária.⁵⁰⁻⁵³. Há estudos que mostram que a utilização do duplo trigger cursa com melhores taxas de captação oocitária e menor incidência da Síndrome do folículo vazio^{41,54}. Outros mostram um maior de risco de taxa de maturação menor que 25% e da Síndrome do oócito imaturo⁵⁴ e outros estudos mostram resultados semelhantes ao uso de agonista de GnRH ou hCG^{22,55,57}.

No duplo trigger, pode-se utilizar tanto o hCG em doses mais baixas (1.000- 3.000 UI) como em doses plenas (5.000-10.000UI) juntamente com o agonista de GnRH⁵⁵⁻⁵⁷. Ele foi

descrito como estratégia de trigger para tentar aproveitar a ação das duas formas de trigger até então utilizadas²⁷ e para mulheres com menores taxas de maturação oocitária, conhecidas como taxas de maturação sub ótima (quando óvulos imaturos somam mais que 25% dos óvulos captados)⁴⁴. O duplo trigger apresenta melhores resultados em relação a quantidade de óvulos maduros coletados e a qualidade oocitária, maior quantidade de óvulos maduros e melhor qualidade embrionária^{27,55-58}.

O duplo trigger quando comparado com hCG apresentou maior quantidade de óvulos maduros captados^{59,60} maiores taxas de fertilização e maiores taxas de gravidezes^{55,59,60}. E quando comparado com agonista de GnRH apresentou maior quantidade de embriões, melhores taxas de implantação embrionária, melhores taxas de gravidezes e de nascidos vivos para transferências a fresco^{40,58}. Porém, ainda não há uma dose padrão para o duplo trigger, há variações entre 1.000 UI até a dose plena, 6.500 UI^{54,55}.

Durante o tratamento de reprodução assistida busca-se melhores resultados com balanço entre o melhor estímulo ovariano com as melhores taxas de sucesso e com o menor risco da SHO e menores taxas de gemelaridade²⁷. O trigger para maturação oocitária desempenha importante papel neste balanço entre sucesso versus risco pois, uma escolha inadequada, em um momento inadequado, pode influenciar em menores taxas de óvulos captados ou em maiores riscos à mulher.

Há poucos estudos que comparam os três tipos de triggeres^{27,61}, conjuntamente. Assim, este estudo visa avaliar as taxas de maturação oocitária e os resultados da FIV de acordo com o uso dos três tipos de trigger a fim de determinar a escolha pelo trigger e orientar de forma adequada a decisão clínica do melhor uso para maturação oocitária, para o melhor resultado na FIV oferecendo melhor indicação com menor risco e, assim, personalizando o tratamento de cada mulher.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Comparar os resultados do uso do hCG, do agonista de GnRH e do duplo trigger no tratamento de FIV e avaliar os fatores de risco para taxa de maturação sub ótima.

Objetivos Específicos

1. Avaliar e comparar as características clínicas laboratoriais do uso dos três tipos de triggeres para o amadurecimento oocitário.
2. Comparar os resultados quanto ao número de óvulos coletados, número de óvulos maduros, número de óvulos fertilizados, embriões em terceiro dia e em blastocisto formados entre os três triggeres.
3. Comparar as taxas de maturação oocitária entre os três triggeres
4. Comparar as taxas de gravidezes e as taxas de aborto ao final do tratamento
5. Identificar os fatores de risco para menores taxas de maturação oocitária.

MATERIAIS E MÉTODOS:

1) Desenho do estudo

Estudo observacional retrospectivo.

2) Tamanho amostral

O tamanho amostral foi obtido por conveniência e foi de 856 mulheres.

Para o cálculo do poder da amostra foi usado o método de comparação de média entre 3 grupos, considerando a estimativa de média e desvio padrão do valor da taxa de maturação (transformada em postos/ranks devido à ausência de distribuição normal) em cada grupo (hCG, agonista de GnRH e duplo trigger) e fixando o nível de significância alfa ou erro do tipo I em 5% ($\alpha=0.05$) (ou intervalo de confiança de 95%). De acordo com os resultados da tabela abaixo, obteve-se um poder amostral de 77.7% para a taxa de maturação.

Resultados do poder amostral para comparação de média do valor da taxa de maturação entre os 3 grupos, segundo estimativas da amostra atual.

Variável*	hCG	Agonista de GnRH	Duplo trigger	Poder da amostra atual	Tamanho Amostral por Grupo (n)*	Tamanho Amostral Total (n)
Taxa de maturação	M=415.52, DP=246.72	M=390.78, DP=210.78	M=478.66, DP=225.97	0.777	99	297

* Cálculo do poder da amostra considerando valores de média (M) e desvio padrão (DP) em cada grupo, fixando o nível de significância alfa em 5% (erro tipo I) e o tamanho dos grupos na

amostra atual (n=507 HCG, n=260 Agonista e n=56 Duplo trigger). Estimativas de média e desvio padrão segundo amostra atual. Variável transformada em postos/*ranks* devido à ausência de distribuição normal. Cálculo do tamanho amostral considerando poder de 80% e nível de significância de 5%.

3) Coleta de dados e tamanho amostral

Foram avaliados os resultados de FIV de 856 tratamentos de casais atendidos na clínica Vida Bem Vinda de São Paulo que realizaram as captações oocitárias no período de outubro de 2011 a julho de 2017.

4) Variáveis:

4.1) Variáveis Independentes:

Tipo de trigger: aplicação de medicação subcutânea a fim de simular o pico de LH que promove a ovulação entre 36-40 horas após. Realizado quando ao menos 2 folículos atingem 18mm em um ciclo monofolicular e categorizados em:

- Trigger hCG- aplicação em dose única de 250mg de alfacoriogonadotropina (Ovidrel®) que equivale a 6500 UI de hCG ou 5000 UI de gonadotrofina coriônica (Choriomon®), 34 a 36 horas antes da captação oocitária²⁴
- Trigger agonista de GnRH - aplicação em dose única de 191,2 mcg de triptorrelina, que corresponde a 2 seringas de Gonapeptyl daily®, 34 a 36 horas antes da captação oocitária²⁴
- Duplo trigger quando se utiliza hCG na dose entre 1500-6500 UI e agonista de GnRH (triptorrelina) na dose de 191,2 mcg, 2 seringas de Gonapeptyl daily®.

4.2) Variáveis Dependentes:

- Número de óvulos captados: número total de óvulos captados, expresso em números inteiros de óvulos captados.
- Quantidade de óvulos maduros: número de óvulos que estejam no estágio de metáfase II, avaliados pelo embriologista.
- Quantidade de óvulos fertilizados: quantidade total de zigotos formados após o primeiro dia da fertilização in vitro, independente no número de pró núcleos após avaliação do embriologista do laboratório, expresso em números inteiros.

- Quantidade de dois pró-núcleos (2PN): número de zigotos com 2 pró núcleos, após o primeiro dia de FIV, avaliados pelo embriologista do laboratório e expresso em números inteiros.

- Taxa de maturação oocitária: relação entre a quantidade de óvulos maduros dividida pela quantidade de óvulos totais x 100, expressa em porcentagem.⁶²

- Taxa de fertilização: proporção entre o número de 2PN dividido pelo número de total de óvulos maduros (MII) x 100, expressa em porcentagem

- Taxa de gravidez bioquímica: proporção entre mulheres com beta hCG positivo divididas pelo número de transferências realizadas.

- Taxa de gravidez clínica: definida como a visualização de um ou mais sacos gestacionais divididos por 100 ciclos de FIV iniciados.⁶³

- Taxa de gravidez cumulativa : número de gravidezes por captação oocitária.

3.3) Variáveis Confundidoras:

- Idade: anos completos da mulher no dia em que ocorreu a captação oocitária

- Índice de massa corpórea (IMC): segundo definição da Organização Mundial de Saúde (OMS) é a relação obtida entre peso da mulher em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado. (WHO)⁶⁴. Classificado em: baixo peso (<18,5 Kg/m²), peso normal (18,5 a 24,9 Kg/m²), sobrepeso (25 a 29,9 Kg/m²), obesidade (30 a 39,9 Kg/m²) e obesidade grave ($\geq$ 40 Kg/m²)⁶⁴

- Tempo de infertilidade: tempo em meses desde o momento que o casal deixou de utilizar métodos contraceptivos até o momento de procura para iniciar o tratamento.

- FSH (hormônio folículo estimulante) basal: dosagem de FSH sanguíneo no segundo ou terceiro dia de início do ciclo menstrual (menstruação como marco inicial), podendo ser expressado com até duas casas decimais em UI/L.

- LH (hormônio luteinizante) basal: dosagem de LH sanguíneo coletado até o terceiro dia da menstruação expressos em números com até duas casas decimais em UI/L.

- Hormônio anti-mulleriano (HAM): dosagem do hormônio anti-mulleriano, na fase folicular expressos em números com até duas casas decimais em ng/ml.

- Contagem de folículos antrais (CFA): contagem de folículos ovarianos totais de tamanho entre 3 a 9mm realizada por ultrassom durante a fase folicular precoce, pelo médico que acompanhará o tratamento da mulher expresso em números absolutos.

- Dose total de FSH: dose total de FSH utilizada ao longo do estímulo ovariano proveniente das medicações expressa em números inteiros em UI.

- Dose total de LH: dose total de LH utilizada ao longo do estímulo ovariano proveniente das medicações expressa em números inteiros em UI.
- Dosagem sanguínea de estradiol no dia do trigger: Estradiol sérico expresso em números com até duas casas decimais em pg/ml.
- Dosagem sanguínea de progesterona no dia do trigger: Progesterona sérica expressa em números com até duas casas decimais em ng/ml.
- Dosagem sanguínea de LH no dia do trigger: LH sérico expressa em números com até duas casas decimais em UI/L.
- Número total de folículos no dia do trigger: número total de folículos medidos pelo ultrassom antes do dia do trigger.
- Número de folículos maior que 16mm: número total de folículos com diâmetro médio maior que 16mm no ultrassom antes da realização do trigger.

4.4) Variáveis descritivas:

- Antecedentes obstétricos: número de gestações, partos e abortos expressos em número absolutos e independentemente de ter sido com outro parceiro.
- Causas de infertilidade: motivo principal relacionado com infertilidade do casal, categorizados em:
 - A - Fator feminino:
 - Tubário- quando na histerossalpingografia ou laparoscopia houver alterações na permeabilidade tubária.
 - Uterino: quando por ultrassom, ressonância nuclear magnética (RNM) ou histeroscopia houver diagnóstico de qualquer alteração anatômica uterina como adenomiose, septo intrauterino, malformações mullerianas ou miomatose.
 - Endometriose- categorizada em presente ou ausente
 - Ovulatório: quando há a presença de disfunções ovulatórias.
 - B - Fator masculino: descrito conforme alterações no espermograma, segundo padrões de referência da Quinta edição do manual da OMS 2010 de análise seminal⁶⁵.
 - Oligospermia; quando volume do sêmen é menor que 1,5ml⁶⁵.
 - Oligozoospermia: quando a concentração de espermatozoides é menor que 15milhões de espermatozoides/ml⁶⁵.
 - Astenozoospermia: quando o total de espermatozoides móveis é menor que 40% ou quando a porcentagem de espermatozoides móveis e progressivos é menor que 32%.⁶⁵

- Teratozoospermia: quando a morfologia de espermatozoides normais é menor que 4%⁶⁵.
 - Necrozoospermia quando a vitalidade é menor que 58%.⁶⁵
 - Vasectomia
- Tratamentos anteriores: classificados em tipo de tratamento e número de cada um dos tratamentos englobando Coito Programado, Inseminação Intrauterina e FIV/ ICSI prévios.
 - Ciclo cancelado: quando não houve captação por ovulação antes da captação.
 - Número de dias de estímulo: quantidade total de dias em que a mulher fez uso de medicação incluindo o dia em que foi realizado o trigger expresso em números absolutos.
 - Protocolo de estímulo: Ciclos com uso de antagonista de GnRH para bloqueio hipofisário.
 - Medicções utilizadas: medicações utilizadas para a indução ovariana, categorizadas em:
 - Gonal® (Merck) – alfafolitropina- hormônio folículo estimulante recombinante (FSH-r)
 - Menopur ® (Ferring) – menotropina- corresponde a 75UI de FSH e 75 UI de LH altamente purificados
 - Pergoveris® (Merck)- alfafolitropina e alfalutropina (150/75UI)
 - Bravelle® (Ferring)- urofolitropina 75UI
 - Puregon® (MSD)- betafolitropina- FSH recombinante
 - Data de início do antagonista: quando utilizado protocolo flexível é a data de início do uso de antagonista considerando que parâmetro utilizado para iniciar é apresentar ao menos um folículo com 13mm.
 - Número de óvulos doados: quando ciclos de ovodoação compartilhada e quantidade de óvulos doados para mulher receptora expresso em números inteiros. Esse número será descontado do total para o cálculo da taxa de fertilização.
 - Número de óvulos congelados: número de óvulos criopreservados no ciclo, expresso em números inteiros. Esse número será descontado do total para o cálculo da taxa de fertilização.
 - Número de embriões em terceiro dia; número total de embriões, avaliados pelo embriologista no terceiro dia após a captação oocitária.
 - Número de embriões em quinto dia: número total de embriões avaliados pelo embriologista no quinto dia após a captação oocitária.

- Número de embriões transferidos a fresco em D3: número total de embriões transferidos em ciclos a fresco, ou seja, no mesmo ciclo de estímulo, no terceiro dia após a captação oocitária. Expresso em números inteiros.

- Número de embriões transferidos congelados em D3: número total de embriões criopreservados e descongelados transferidos, em ciclos subsequentes ao ciclo de FIV. Expresso em números inteiros.

- Número de embriões transferidos a fresco de D5: número total de embriões transferidos em ciclos a fresco, ou seja, no mesmo ciclo de estímulo, no quinto dia de desenvolvimento embrionário, após a captação oocitária. Expresso em números inteiros.

- Número de embriões transferidos congelados em D5: número total de embriões criopreservados e descongelados transferidos em ciclos subsequentes ao ciclo de FIV. Expresso em números inteiros.

- Número de sacos gestacionais: número de sacos gestacionais visualizados em ultrassom realizado após 4 semanas da data da transferência embrionária. Expresso em números inteiros.

- Número de embriões com BCF: número de embriões com batimentos cardíacos visualizados ao ultrassom realizado após 4 semanas da data da transferência embrionária.

- Aborto: evolução da gestação para aborto completo ou incompleto. Categorizado em sim ou não.

- Ectópica: evolução da gestação fora da cavidade uterina, categorizada em sim ou não.

5) Seleção dos Sujeitos

Os prontuários das mulheres incluídas no estudo foram identificados no banco de dados da clínica Vida Bem Vinda de São Paulo.

Critérios de inclusão:

- FIV/ICSI com uso de protocolo com antagonista
- FIV/ICSI com uso de protocolo com bloqueio por progestagênio (fase lútea ou folicular)
- FIV/ICSI com uso de protocolo de estimulação mínima.

Critérios de exclusão:

- Uso de estímulo com protocolo longo de agonista;
- Cancelamento de ciclo antes do uso do trigger, por baixa resposta ao estímulo ovariano;
- Prontuários com 50% ou mais de dados ausentes;
- Espermatozoides proveniente de biópsia testicular. (Testicular Sperm Extraction – TESE)

6) Instrumentos para coleta de dados

Para a coleta de dados foi utilizada uma ficha (Anexo 1) elaborada especialmente para esta pesquisa contendo informações sobre idade, paridade, tempo de infertilidade, causa de infertilidade, dosagens hormonais do terceiro dia do ciclo, tratamentos anteriores, dados do estímulo ovariano (medicação, tipo de protocolo, número de dias de estímulo, escolha do trigger). Também dados do resultado, como número de óvulos captados, número de óvulos maduros, número de óvulos fertilizados, com 2 pró núcleos, de embriões em terceiro dia (D3), número de D3 congelados, transferidos, número de blastocistos (se congelado, transferido a fresco), número de transferências, beta hcg positivo, abortos, gravidez tubáreas, número de saco gestacionais e de batimentos cardíacos fetais (BCFs)

Essas fichas foram preenchidas através da compilação dos dados existentes nos prontuários das mulheres.

7) Coleta de dados

As mulheres foram selecionadas a partir de um banco de dados arquivado no em prontuário eletrônico, disponível pelo site www.clinicweb.com.br.

A partir dos dados dos prontuários foram coletados dados descritos na ficha, e tabulados em planilha de Excel, utilizada após para análise dos dados.

8) Controle de qualidade

Foi criado um banco de dados específico para este estudo, em formato Excel.

O controle de qualidade da coleta de dados foi realizado pelo investigador, antes e durante a digitação eletrônica do banco de dados, para identificação de possíveis incongruências. Foi feita revisão do banco de dados para identificação de incoerências

9) Processamento dos dados

Após a coleta dos dados, o banco de dados em Excel, foi revisado cuidadosamente para verificar a legibilidade de seu preenchimento e realizar a correção da codificação das variáveis, procurando-se evitar erros.

Foi realizada análise descritiva para caracterização da amostra de mulheres submetidas a FIV de acordo com o tipo de trigger utilizado. Variáveis contínuas foram estudadas utilizando média e desvio padrão. Variáveis categóricas utilizando porcentagens.

Para comparar as variáveis categóricas entre os grupos, foram utilizados os testes Qui-quadrado ou exato de Fisher. O teste de Mann-Whitney (duas categorias) e o teste de Kruskal-Wallis (três categorias) foram utilizados para comparar variáveis numéricas, quando

da ausência de distribuição normal das mesmas. Foi realizado a análise do covariância (ANOVA) para comparação das variáveis ajustadas pela idade

Para analisar os fatores relacionados à taxa de maturação sub ótima, utilizou-se a análise de regressão de Poisson, univariada e multivariada, com critério *Stepwise* de seleção de variáveis, estimativa da razão de prevalência e intervalo de confiança de 95%. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, portanto $p < 0,05$.

ASPECTOS ÉTICOS

Os prontuários selecionados para a pesquisa foram acessados pelo site www.clinicweb.com.br ou quando o registro digital não estava disponível, os dados foram acessados pelos prontuários físicos, arquivados na sede da própria clínica e os dados do tratamento acessados pelo Dropbox, arquivados em planilha de Excel, onde cada planilha corresponde a um tratamento com autorização do responsável da clínica (anexo 2). Os dados coletados foram identificados inicialmente pelas iniciais e data de nascimento das mulheres e enumerados.

Os dados obtidos foram imediatamente arquivados em um banco de dados para evitar o manuseio das fichas. Após o término da pesquisa as fichas foram destruídas e o banco de dados foi mantido.

Foram cumpridos os princípios enunciados na Declaração de Helsinque (2013) e na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde de 2012.

Todos os casais que passam por um tratamento de infertilidade, por determinação da ANVISA, devem assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (termo o qual a clínica fornece) (anexo 3). Além disso os casais assinam o Contrato de Prestação de Serviços onde há uma cláusula em que o casal permite que os dados de seu tratamento sejam utilizados para pesquisa.

O estudo em questão encontra-se aprovado pela Comissão de Pesquisa da Instituição (Anexo 4) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa sob CAAE número: 80882517.0.0000.5404 (Anexo 5).

Results of the use of HCG, agonist GnRH and dual trigger on in vitro fertilization and evaluation of risk factors for sub- optimal maturation rate.

Larissa Matsumoto MD;^a

Lucas Yugo Shiguerhara Yamakami PhD;^a

Cristina Laguna Benetti-Pinto MD, PhD;^b

Daniela Angerame Yela MD, PhD;^b

Where the work was done:

VidaBemVinda Human Reproduction Care Center, São Paulo, SP, Brazil.

^a VidaBemVinda Human Reproduction Care Center, São Paulo, SP, Brazil

^b Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine, State University of Campinas (Unicamp), Campinas, SP, Brazil.

Conflicts of Interest: None.

Correspondence:

Daniela Angerame Yela

Department of Obstetrics and Gynecology

University of Campinas - UNICAMP

101, Alexander Fleming Street, University City

CEP 13083-881 - Campinas - SP, Brazil

Phone: + 55-19-3521-9306

Email: yela@unicamp.br

Abstract

Objectives: Compare the success rates between use of hCG, GnRH agonist and dual trigger, for oocyte maturation in IVF/ICSI cycles and evaluate the associated risk factors for sub optimal oocyte maturation rates.

Design: Retrospective observational cohort study

Setting: The study was carried at a private clinic in São Paulo.

Patients: 856 woman submitted to oocyte retrieval, were classified in groups: **1.** hCG; **2.** group that used the GnRH agonist and **3.** double trigger.

Interventions: None.

Main outcomes Measures: Primary outcome was oocyte maturation rate, and secondary outcomes are pregnancy rate per oocyte retrieval and risk factors for low oocyte maturation rate.

Results: Average age was 35.9 ± 4.6 years. Maturation rate was 77% in group 1; 76% in group 2 and 83% in group 3. Group 2 showed women with better ovarian reserve, better levels of anti-Mullerian hormone and higher count of antral follicles, greater number of oocytes collected, mature oocytes and embryos in relation to the other groups. Cumulative clinical pregnancy rate was 42.54% in group 1; 41.8% in group 2 and 47.0% in group 3. Abortion rate was 8.6% in group 1; 12.4% in group 2 and 11.8% in group 3. In all cases, null maturation rate was 3.0% and maturation rate $<70\%$ was 28.2%. Low ovarian reserve and low doses of FSH administered during ovarian stimulation were associated with a higher chance of null maturation rate.

Conclusion: The different types of triggers do not influence the results of IVF cycles. Low ovarian reserve is associated with higher chance of null maturation rate.

Keyword: in vitro fertilization (IVF), trigger, maturation or oocyte.

Introduction:

Favorable outcomes of IVF treatments are directly related to good ovarian stimulation, lower risks of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) and lower rates of multiple pregnancies¹. Achieving a good number of mature eggs at low risk of OHSS is directly related to the choice of ovulation trigger. Therefore, the gold standard, and more frequently used trigger is human chorionic gonadotropin (hCG)^{2, 3}.

The hCG molecule, due to its biochemical similarity to LH, interacts with the follicular LH receptor, triggering the final phase of oocyte maturation¹. However, some disadvantages are described with the use of hCG, such as impact on lower embryo quality⁴, less endometrial receptivity⁵, and most important, an increased risk of OHSS^{1,4}.

The safest way to perform oocyte maturation is using GnRH agonist^{1,2,6-9}. GnRH agonist acts on the blocked hypophysis releasing the flare effect, LH and FSH and thereby mimicking what occurs in the natural cycle, one being more physiological¹. More recently, we use the double trigger using hCG, together with a GnRH agonist^{10, 11} in order to take advantage of the action of the two forms of trigger¹.

Trigger, performed at the end of the ovarian stimulus, provides oocyte maturation. Some factors are related to low oocyte maturation rates such as: post-trigger LH levels ≤ 15 mIU/mL^{12,13} [LM1] and hypothalamic dysfunction with inadequate production of LH¹⁴ [LM2].

The average maturation rates in the ovarian hyperstimulation cycle are 80%¹⁵ to 85%¹⁶. It is believed that 0.1% to 1% of women fail to reach oocyte maturation¹⁷. In clinical practice, when maturation rates are less than 70%, there may be impairment in the outcome of IVF¹⁷.

Materials and Methods:

A retrospective observational cohort study was carried out with 856 women submitted to IVF at the “Vida Bem Vinda” clinic in São Paulo, who performed the oocyte retrievals between October 2011 and July 2017.

The women were classified into three groups according to the type of trigger used: **(1)**. hCG, with 525 women; **(2)**. group that used the GnRH agonist, with 271 women and **(3)**. double trigger, with 60 women.

A dosage of 250 mcg of recombinant hCG was used in group 1; the second group used Triptorelin as the GnRH agonist at the dose of 191.2 micrograms; the last group – double

trigger – used HCG doses between 1,500 and 6,500 IU in association with GnRH agonist (Triptorelin) at the dose of the 191.2 micrograms, with 35 or 36 hours before oocyte retrieval.

The analyzed variables were age, body mass index (BMI) classified as – **(I)**. underweight (BMI <20 kg / m²); **(II)**. adequate weight (BMI between 20 and 25 kg / m²) and **(III)**. overweight (BMI > 25 kg / m²) – infertility time, FSH and baseline LH dosages (hormones dosed up to 3 days of menstruation), anti-Mullerian hormone (AMH), antral follicle count (count of total ovarian follicles of size 3 to 9 mm, performed by ultrasound during the early follicular phase), ovarian reserve, number of ovules collected; number of mature eggs (ovules that are in the stage of metaphase II), fertilized eggs and 2PN (number of zygotes with 2 pro cores), oocyte maturation rate (ratio between the number of mature oocytes divided by the quantity of total oocytes x 100), fertilization and biochemical pregnancy defined by the presence of positive hCG and clinical pregnancy defined by the presence of gestational sac at ultrasound¹⁹.

Serum dosages of FSH and LH were evaluated by the Commercial Diagnostics Products Corporation (DPC) kits, Immulite System, Los Angeles, California using the Chemiluminescence method and expressed in IU/ml; the AMH serum levels was obtained by the Electrochemiluminescence method and its values were expressed in nanograms per milliliters (ng/ml).

The ovarian reserve was evaluated according to the criteria of Bologna²⁰ which defines and low ovarian reserve when the woman presents at least two of the three criteria: age greater than or equal to 40 years, low count of antral follicles or low anti-Mullerian hormone and history of poor ovarian response in previous treatment.

All data were obtained from the analysis of the medical records of these women.

Exclusion criteria were women who used long agonist protocol, ovarian stimulation cancelled before triggering, more than 50% missing data on medical records and cycles with testicular spermatozoid retrieval.

Study was approved by research ethics committee of the institution under number CAAE: 80882517.0.0000.5404.

Statistical Analysis:

Sample size was for convenience. For calculation of sample power, average comparison method between 3 groups was used, considering average and standard deviation of maturation

rate (transformed in ranks due to absence of normal distribution) in each group (hCG, GnRH agonist and double trigger) and setting the significance level or type I error of 5% ($\alpha = 0.05$) (or 95% confidence interval). Thus, we obtained a sampling power of 77.7 % for maturation rate.

Frequency and percentage were used to describe categorical variables, and values for average, standard deviation, minimum and maximum values, median and quartiles were used for numerical variables.

To compare categorical variables between groups, Chi-Square or Fisher's exact tests were used. The Mann-Whitney test and Kruskal-Wallis test were used to compare the numerical variables. Covariance analysis (ANOVA) was performed to compare variables adjusted for age.

To analyze factors related to lower maturation rate, Poisson regression analysis was used, univariate and multivariate, with Stepwise criteria of variable selection and estimation of prevalence ratio and 95% confidence interval. The significance level adopted for statistical tests was 5%, that is, $p < 0.05$.

Results:

The frequency of triggers used in IVF was 61.33% HCG, 31.65% agonist GnRH and 7.01% double trigger.

The mean age of the women was 35.83 ± 4.59 years and the time of infertility was 36.43 ± 34.24 months, and the women in the double trigger group had older age and longer time of infertility in relation to the other groups ($p = 0.001$ and $p = 0.006$ respectively). In relation to the criteria that evaluate the ovarian reserve, the HCG group had higher FSH and lower AMH values compared to agonist GnRH group ($p < 0.001$, $P = 0.003$ respectively) and women double trigger had lower antral follicle count in the other two groups ($p < 0.001$) (Table 1).

There was a statistical difference between the variables that indicate ovarian reserve, such as antral follicle count ($p = 0.001$), baseline FSH ($p = 0.001$) and anti-Mullerian hormone levels ($p = 0.033$). (Table 1)

The agonist GnRH group had a greater number of total follicles (15.52 ± 8.80), a larger number of follicles larger than 16 mm (7.08 ± 4.46), greater number of eggs collected (14.12 ± 9.37) and higher number of eggs in metaphase II (10.73 ± 7.39) in relation to the other groups ($p < 0.001$) and this result remains even after adjusting for age. (Table 2)

The maturation rate was higher with the use of double trigger ($0, 83 \pm 0, 17$) relative to the other groups ($p = 0.035$), but when the groups were adjusted for age found no difference in the rate of maturation ($p = 0.161$). (Table 2)

Total cumulative pregnancy rate was 47.04%, being 11.1% of twin pregnancies. There was no statistical difference between pregnancy rates, number of gestational sacs, and number of abortions among the three groups ($p = 0.755$, $p = 0.648$, $p = 0.227$, respectively). (Table 3)

The null maturation rate was 3.03% and the maturation rate $<70\%$ was 28.18%. No variable such as age, infertility time, low ovarian reserve, trigger, BMI, FSH dose, LH dosed on the day of the trigger, or dose of LH administered in the stimulus increased the chance for maturation rate. (Table 4)

Low ovarian reserve increased by 3.95 times the chance of presenting null maturation rate ($p = 0.001$, 95% CI 1.7-9.15), and the FSH dose administered in the stimulus <1650 IU in 15.83 times ($p = 0.008$ 95% CI 2.08-120.35) and <600 IU in 4.74 fold ($p = 0.049$ 95% CI 1.01-24.92). (Table 5)

Discussion:

In this study we evaluated the results of the use of three types of triggers in in vitro fertilization treatment of women with infertility. We observed a heterogeneity among the groups, the women who used the double trigger were older and with a longer time of infertility and that the group that used agonist GnRH had a better ovarian reserve (higher AMH values and antral follicles count and lower values of FSH basal).

Up to 37% of IVF treatments are performed in patients with advanced age²¹. It is known that age is a prognostic factor in the results of in vitro fertilization. Studies show that with increasing age there are worse results in the treatment of in vitro fertilization^{21,22}.

We adjust the results by age to avoid this bias. However, the agonist GnRH group had a greater number of total follicles, a greater number of follicles with a size larger than 16 mm, a greater number of eggs and a higher number of eggs in metaphase II than the other groups. This can be explained because women in this group have the highest ovarian reserve.

The choice of the trigger is the responsibility of the physician who conducts the treatment and who obeys a hyperstimulation prevention protocol, in which the use of agonist GnRH and freeze all are safety ducts²³. This justifies the choice of the use of agonist GnRH for younger women and with better ovarian reserve that are the ones that present a higher risk of

hyperstimulation syndrome. Thus, it is expected those women who have better results in absolute number of ovules collected and mature eggs, as observed.

This group also showed greater number of fertilized eggs, and third- and fifth-day embryos compared to the other two groups, which explains the use of agonist GnRH alone for oocyte maturation, oocyte quality would not change, affecting the outcome of IVF, as shown by some^{2, 8, 13, 24-26}.

On the other hand, double trigger group had higher oocyte maturation rate, though, when adjusted by age groups, we found that the three groups had similar rates of maturation.

In the literature, the Humaidan randomized clinical trial showed a higher maturation rate with agonist GnRH use over HCG²⁷. Another study comparing the double trigger with HCG found no difference in the maturation rates of both groups²⁸.

Use of agonist GnRH is more physiologic, but has a luteolytic effect, reducing the half-life of the corpus luteum and requiring more robust luteal phase support^{3, 4, 13, 25, 26} due to lower implantation rates and higher risk of miscarriage in cycles transferred to fresh^{3, 4, 13, 25, 29, 30}. In our study, we did not observe a difference in the number of abortions when we compare the 3 groups. We also found no difference in the rate of pregnancy and twins.

A meta-analysis with 859 female shows the same pregnancy rates where fresh transfer in women who have made the use of GnRH agonist (33%) or HCG (34%). This study also found no difference in abortion rates between the groups (agonist GnRH 20 % and HCG 12.5%, $p = 0.06$)³¹.

In our study, we found no difference in the results of IVF treatment despite the women in the double trigger group being older and having worse ovarian reserve.

A retrospective study comparing dual trigger with HCG in women with low ovarian reserve showed a better maturation rate with the use of the double trigger but found no difference in the fertilization rates, embryonic quality and pregnancy or abortion rates³².

Other studies show that the double trigger has a higher maturation rate, implantation and pregnancy rates in relation to HCG^{10-11, 18, 33}.

In addition to the results of IFV, we sought to identify the factors associated with the worse rates of oocyte maturation to improve the number of eggs collected and to help guide the expectations for treatment. The amount of mature, fertilized eggs in a treatment is directly

related to the success of a treatment IVF^{2, 20,23}. When we observe null maturation rates it is usually an indicator of low ovarian reserve that is evaluated by AFC, HAM and FSH.

A lower count of antral follicles – less than 11 – is related to an increased risk of cycle cancellation due to low response³⁴. A study shows 12 as cutoff point for AFC for low response to treatment³⁵. In addition to AFC, the literature discusses the role of BMI in the response to treatment. Overweight and obesity were associated with poor ovarian response, with less than 3 ovules collected².

In relation to the ovarian stimulus, lower doses of FSH administered are related to a smaller number of ovules¹³. It is theorized that correlation the AMH / AFC when high, reduces ovarian sensitivity response to exogenous FSH administered²⁵ and the analysis that for women with low ovarian reserve, increasing the dose of administered FSH does not improve the ovarian response and neither pregnancy rates^{26,29,30}.

However, a multicenter study of 1,515 patients evaluating the cost-effectiveness of individual doses of FSH concluded that individualization of the dose of FSH does not change the outcome of IVF, as it is a more expensive treatment³⁵. The use of FSH at lower doses, less than 1650 IU per stimulus, was one of the factors correlated with the null maturation rate. Studies with mild stimulation show greater number of cancellations cycles than traditional stimulus and while affording the same pregnancy rates than traditional stimulus lead to fewer eggs and also feature may present a greater risk of not finding eggs in oocyte retrieval^{21,36} in a frequency of up to 9.4%²¹.

The group of women with worse prognosis using protocols with lower doses of medication may have their results compromised, with lower doses of FSH during the ovarian stimulus.

The limitations of our study are due to the fact that it is a retrospective analysis and a heterogeneous sample in the three groups. It is noted that women who used HCG can be classified as normal responders, those who chose to use agonist GnRH presented higher risk of OHSS and those of the double trigger group were women with low ovarian response.

Despite the differences between groups, we had a lower prevalence of the null maturation rate and final results of IVF were similar across them all.

Conclusion:

Despite the differences between the three evaluated groups, the rates of oocyte maturation and the IVF final results were similar across the sample, this demonstrates that the adequate

choice in the type of trigger used will yield good results in IVF treatments. Poor ovarian reserve jeopardizes the results of IVF increasing the chances of null maturation rates. And, even on the poor ovarian reserve group, the choice of trigger is paramount in achieving greater maturation and cumulative β HCG rates.

References

1. Orvieto R. Triggering final follicular maturation- hCG, GnRH-agonist or both, when and to whom? J Ovar Reser. 2015;8:60-5.
2. Dosouto C, Haahr T, Humaidan P. Gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) trigger – State of the art. Reprod Biol. 2016; 17 (1): 1-8.
3. Engmann L, Benadiva C, Humaidan P. GnRH agonist trigger for the induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis. Reprod Biomed Online. 2016; 32 (3): 274-85
4. Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Nagi Mohesen M, Aboulfoutouh I, van Wely M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. Cochrane Database of Syst Rev 2014, Issue 10
5. Valbuena D, Martin J, de Palbo JL, Remohi J, Pellicer A, Simon C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. Fertil Steril. 2001; 76:962–8.
6. Schwartz, M, Jewelewicz, R. The use of gonadotropins for induction of ovulation. Fertil. Steril. 1981; 35(1): 3-12.
7. Lanzone A, Fulghesu AM, Apa R, Caruso A, Mancuso S. LH surge induction by GnRH agonist at the time of ovulation. Gynecol Endocrinol. 1989; 3:213.
8. Gonen Y, Blakier H, Powell W, Casper R. Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist to Trigger Follicular Maturation for in Vitro Fertilization. J Clin Endocrinol Metabol. 1990; 71 (4): 918-22.
9. Itskovitz J, Boldes R, Levron J, Erlik Y, Kahana L, Brandes JM. Induction of pre-ovulatory luteinizing hormone surge and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. Fertil Steril. 1991; 56:213–20.
10. Griffin D, Benadiva C, Kummer N, Budinetz T, Nulsen J, Engmann L. Dual *trigger* of oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist and low-dose human chorionic gonadotropin to optimize live birth rates in high responders. Fertil Steril. 2012; 97:1316–20.
11. Shapiro BC, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Thomas S, Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization, Fertil Steril. 2008; 90 (1): 231-3.

12. Lu X, Hong Q, Sun L, Chen Q, Fu Y, Ai A, et al. Dual trigger for final oocyte maturation improves the oocyte retrieval rate of suboptimal responders to gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*, 2016, 106 (6): 1356-1352
13. Alyasim A, Mehdinejadani S, Ghasemi M. GnRH agonist trigger versus hCG trigger in GnRH antagonist in IVF/ICSI cycles: A review article. *Int J Reprod Bio Med*. 2016; 14 (9): 557-66
14. Chang FE, Beall SA, Cox JM, DeCherney AH, Levy MJ. Assessing the adequacy of gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide to trigger oocyte maturation and management of inadequate response. *Fertil Steril*, oct 2016, 106 (5): 1093-1100.
15. Rienzi L, Ubaldi F, Anniballo R, Cerulo G, Grecco E. Preincubation of human oocytes may improve fertilization and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod*. 1998, 13 (4): 1012-9
16. Reichman DE, Politch J, Gjinsburg ES, Raowsky C. Extended in vitro maturation of immature oocytes from stimulated cycles: an analysis of fertilization potential, embryo development, and reproductive outcomes. *J Assist Reprod Genet*, 2010, 27: 347-56
17. Lin Y, Yang P, Chen Y, Zhu J, Zhang X, Ma C. Factors inducing decreased oocyte maturation rate: a retrospective analysis of 20939 ICSI cycles. *Arch Gynecol Obstet*. 2019, 299 (2), 559-64.
18. Dosouto C, Haahr T, Humainda P. Advances in ovulation trigger strategies. *Panminerva Med*. 2019; 61(1): 42-51.
19. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology(ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril*. 2009; 92 (5): 1520-4
20. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L; ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011; 26(7): 1616-24.
21. Youssef MA, Wely MV, Al -Inany H, Mdani T, Jahangir N, Khodabakhshi S, et al. A mild ovarian stimulation strategy in women with poor ovarian reserve undergoing IVF: A multicenter randomized non inferiority-trial. *Human Reprod*, 2017, 33 (1): 112-8

22. Klipstein S, Regan M, Ryley DA, Goldman MB, Alper MM, Reindollar RH. One last chance for pregnancy: a review of 2,705 in vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. Fertil Steril. Aug, 2005 84 (2): 435-45
23. Humaidan P, Nelson SM, Devroey P, Coddington CC, Schwartz LB, Gordon K, Frattarelli JL, Tarlatzis BC, Fatemi HM, Lutjen P, Stegmann BJ. Ovarian hyperstimulation syndrome: review and new classification criteria for reporting in clinical trials. Hum Reprod. 2016; 31: 1997–2004.
24. Gonenf Y, Blakier H, Powell W, Casper R. Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist to Trigger Follicular Maturation for in Vitro Fertilization. J Clinical Endocrinol Metabol, 71(4): 1-8
25. Youssef MA, Abdelmoty HI, Ahmed MAS, Elmohamady M. GnRH agonist for final oocyte maturation in GnRH antagonist co-treated IVF/ICSI treatment cycles: Systematic review and meta-analysis. J Adv Res. 2015; 6(3): 341–9.
26. Griesenger G, Schultz L, Baue T, Broessner A, Frambach T, Kissler S. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a "freeze-all" strategy: a prospective multicentric study. Fertil Steril. 2011; 6: 2029-33.
27. Humaidan P, Bredkjær HE, Bungum L, M, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. Hum Reprod 2005; 20 (5): 1213-20
28. Zhou X, Guo P, Chen X, Ye U, Liu Y, Chen S. Comparison of dual trigger combination GnRH agonist and hCG alone trigger of oocyte maturation for normal ovarian responders. Int J Gynaecol Obst, Jun, 2018, 141 (2): 327-331.
29. Kolibianakis EM, Schultze-Mosgau A, Schroer A, van Steirteghem A, Devroey P, Diedrich K, et al. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. Hum Reprod. 2005; 20:2887–92.^[11]_[SEP]
30. Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Yding Andersen C. Rescue of corpus luteum function with peri-ovulatory HCG supplementation in IVF/ICSI GnRH antagonist cycles in which ovulation was triggered with a GnRH agonist: a pilot study. Reprod Biomed Online. 2006; 13:173-8.

31. Haahr T.; Roque M.; Esteves S.C.; Humaidan P; GnRH agonist trigger and Lh activity luteal phase support versus hCG trigger and conventional luteal phase support in fresh embryo systematic PRISMA Review and Meta- analysis. *Frontiers Endocrinol.* 2017; 8
32. Zhang J, Wang Y, Mao X, Chen Q, Hong Q, Cai R, Zhang S, Kuang Y. Dual trigger for final oocyte maturation in poor ovarian responders undergoing IVF/ICSI cycles. *Reprod Biomed Online*, dec, 2017, 35 (6): 701-7.
33. Lin Mh, Wu FS, Lee RK, et. al. Dual *trigger* with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for diminished ovarian reserve. *Reprod Biol Endocrinol.* Jan, 2019 17 (7): 1-7.
34. Tilborg TC, Oudshorn SC, Ejikemans MJC, Mochtar MH, Van Gold RJT, Hoek A, et al. The OPTMIST study group. Individualized FSH dosing based on ovarian reserve testing in women startin IVF/ICSI: a multicenter trial and cost-effectiveness analysis. *Human Reprod.* 2017. 32 (12) 2485-95.
35. Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Mesenguer M, Pellicer A, Remohi J. Antral follicle count (CFA) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outrmome in an egg donation program. *Fertil Steril*, Jan, 2009, 91 (1): 148-56.
36. Revelli A, Chiadò A, Dalmaso P, Stabile V, Evangelista F, Basso G, et at, “Mild” vs. “long protocol for controlled ovarian hyperstimulation in patiens with expected poor ovarian responsiveness undergoing im vitro fertilixsyion (IVF): a large prospective randomized trial. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31: 809-15

Table 1 – Clinical and laboratorial characteristics of the 856 women submitted to in vitro fertilization

Variables	Total (n=856)	HCG (n=525)	Agonist GnRH (n=271)	Double trigger (n=60)	P*	P**
	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	-	-
Age (years) ^{b, c}	35,93±4,59	36,18±4,56	34,97±4,57	38,12±3,83	<0.001	-
Infertility period (months) ^b	36,43±34,24	38,18±35,38	32,01±32,99	40,37±27,55	0.006	0.016
BMI (kg/m ²) ^{b, c}	25,33±4,84	25,36±4,40	25,87±5,93	22,73±4,80	0.029	0.028
Basal FSH (UI/L) ^a	8,76±8,09	9,31±9,22	7,84±6,18	8,14±3,73	<0.001	0.002
Basal LH (UI/L)	6,55±6,43	6,76±7,24	6,43±5,26	5,34±2,73	0.369	0.388
AMH (ng/ml) ^a	1,39±1,88	1,10±1,70	2,12±2,45	1,29±1,00	0.033	0.042
AFC (unit) ^{a, b, c}	11,63±7,58	10,21±6,30	15,00±8,91	8,63±6,06	<0.001	<0.001

BMI = body mass index; FSH = follicle stimulating hormone; LH = luteotropic hormone; AMH = anti-Mullerian hormone; AFC = count of antral follicles and SD = standard deviation.

* Kruskal-Wallis test; ** Age-adjusted covariance analysis (ANOVA);

a: difference between groups 1 and 2; **b:** difference between groups 2 and 3; **c:** difference between groups 1 and 3.

Table 2 – Laboratory and characteristics of the stimulus of the three groups of triggers in women submitted to in vitro fertilization

Variables	Total (n=856)	HCG (n=525)	Agonist GnRH (n=271)	Double trigger (n=60)	P*	P**
	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	<i>Average ± SD</i>	-	-
Stimulus (days) ^{b, c}	10,82 ±2,01	10,62±2,00	10,94±1,85	12,03±2,27	<0.001	<0.001
FSH dosage (UI) ^{b, c}	2054,30±653,77	2043,30±579,43	1936,1±685,38	2682,10±768,82	<0.001	<0.001
LH dosage (UI) ^{b, c}	941,24±572,44	922,20±558,96	873,89±503,65	1391,10±749,88	<0.001	<0.001
E2 trigger (pg/ml) ^{a, b}	2249,90±2979,0	1676,70±1334,30	3310,30±4462,60	1455,20±944,10	<0.001	<0.001
P2 trigger (ng/ml) ^{b, c}	2,25±6,75	1,01±0,5	1,10±1,80	3,66±1,74	<0.001	<0.001
LH start (UI/L)	4,99±1,65	5,12±2,1	4,91±5,24	4,31±3,78	0.300	0.196
LH trigger (UI/L)	5,33±3,28	6,2±4,23	4,03V6,41	4,23±5,30	0.159	0.189
Total follicles ^{a, b}	11,57±7,23	9,71±5,52	15,52±8,80	9,97±5,17	<0.001	<0.001
Follicles > 16mm ^{a, b}	5,16±3,67	4,22±2,82	7,08±4,46	4,65±2,83	<0.001	<0.001
Oocytes collected ^{a, b, c}	10,11±7,82	8,46±6,23	14,12±9,37	6,72±5,71	<0.001	<0.001
MII ^{a, b}	7,65±5,96	6,32±4,50	10,73±7,39	5,43±4,57	<0.001	<0.001
Maturation rate ^b	0,77±0,22	0,77±0,24	0,76±0,20	0,83±0,17	0.035	0.161
2PN ^{a, b}	5,39±4,07	4,62±3,45	7,11±4,69	4,57±3,96	<0.001	<0.001
D3 Embryos ^{a, b}	5,29±4,17	4,50±3,52	6,99±4,82	4,37±3,98	<0.001	<0.001
Blastocysts ^{a, b}	2,01±2,51	1,63±2,08	2,80±3,08	1,80±2,41	<0.001	<0.001

SD = standard deviation; E2 = estradiol dosage; P2 = dosage of progesterone; LH beginning = dosage of luteotropic hormone at the beginning of the stimulus; LH trigger = dosage of luteotropic hormone on the day of the trigger; MII = ova in metaphase II; 2PN = zygote with two pro nuclei and D3 = total embryos on the third day.

* Kruskal-Wallis test; ** Age-adjusted covariance analysis (ANOVA);

a: difference between groups 1 and 2; **b:** difference between groups 2 and 3; **c:** difference between groups 1 and 3.

Table 3 – Results obtained after the in vitro fertilization procedure in the women of the three groups of triggers

Variables	HCG (n=525)	Agonist GnRH (n=271)	Double trigger (n=60)	P*
	<i>n/n total</i>	<i>n/n total</i>	<i>n/n total</i>	-
B HCG	211/459 - 46%	106/217 - 49%	17/34 - 50%	0,755
Clinical Pregnancy	194/456 - 43%	89/213 - 42%	16/34 - 47%	0,284
Twinning	50/211 - 24%	26/89 - 29%	4/24 - 13%	0,227
Miscarriage	39/455 - 09%	27/217 - 12%	1/25 - 12%	0,272

Test Qui Square

Table 4 – Clinical and laboratory factors associated with the prevalence of low maturation rate

Variables	Categories	Value-P	P.R. *	CI 95% P.R. *
Ages (years)	<30	---	1.00	---
	30-39	0.847	1.04	0.68 – 1.61
	≥40	0.178	0.71	0.42 – 1.17
Infertility period (months)	-	0.101	1.003	0.999 – 1.007
Poor ovarian reserve	No	---	1.00	---
	Yes	0.786	1.04	0.80 – 1.34
Group/Trigger	<i>Double trigger</i>	---	1.00	---
	<i>Agonist GnRH</i>	0.499	1.23	0.68 – 2.21
	<i>HCG</i>	0.202	1.44	0.82 – 2.54
IMC (Kg/m2)	<20	0.703	0.86	0.39 – 1.88
	20.0-24.9	---	1.00	---
	25.0-29.9	0.181	1.30	0.89 – 1.90
	≥30.0	0.053	1.53	0.99 – 2.36
LH trigger(UI)	<1.00	---	1.00	---
	1.00-1.99	0.905	1.03	0.66 – 1.59
	2.00-3.79	0.419	0.83	0.52 – 1.31
	≥3.80	0.590	0.88	0.56 – 1.39
Dose FSH(UI/L)	≥2475 (<i>ref.</i>)	---	1.00	---
	2025-2474	0.390	1.16	0.83 – 1.64
	1650-2024	0.794	1.05	0.72 – 1.53
	<1650	0.096	1.35	0.95 – 1.92
Dose LH(UI/L)	<600 (<i>ref.</i>)	---	1.00	---
	600-884	0.268	0.82	0.57 – 1.17
	885-1349	0.829	0.96	0.67 – 1.38
	≥1350	0.923	0.98	0.70 – 1.38

BMI = body mass index; FSH = follicle stimulating hormone; LH = luteinizing hormone; PR = prevalence ratio; CI = confidence interval.

Table 5 – Clinical and laboratory factors associated with prevalence rate of null maturation

Variables	Categories	Value-P	P.R. *	CI 95% P.R. *
Ages (years)	<30	---	1.00	---
	30-39	0.128	4.68	0.29 – 76.86
	≥40	0.096	5.84	0.34 – 100.90
Infertility period (months)	-	0.411	0.993	0.978 – 1.009
Poor ovarian reserve	Não	---	1.00	---
	Sim	0.001	3.95	1.70 – 9.15
Group/Trigger	Duplo trigger (ref.)	---	1.00	---
	Agonista	0.215	3.28	0.19 – 56.54
	HCG	0.152	4.15	0.25 – 67.97
IMC (Kg/m2)	<20	0.294	0.43	0.03 – 7.22
	20.0-24.9	---	1.00	---
	25.0-29.9	0.496	0.63	0.17 – 2.38
	≥30.0	0.857	1.13	0.30 – 4.26
LH trigger(UI)	<1.00	---	1.00	---
	1.00-1.99	0.324	0.34	0.01 – 8.31
	2.00-3.79	0.224	3.90	0.44 – 34.87
	≥3.80	0.028	10.09	1.29 – 78.81
Dose FSH(UI/L)	≥2475 (ref.)	---	1.00	---
	2025-2474	0.187	4.25	0.50 – 36.33
	1650-2024	0.177	4.52	0.51 – 40.46
	<1650	0.008	15.83	2.08 – 120.35
Dose LH(UI/L)	<600	0.049	4.74	1.01 – 22.30
	600-884	0.257	2.58	0.50 – 13.31
	885-1349	0.031	5.39	1.16 – 24.92
	≥1350	---	1.00	---

BMI = body mass index; FSH = follicle stimulating hormone; LH = luteinizing hormone; PR = prevalence ratio; CI = confidence interval.

DISCUSSÃO GERAL

O estudo foi realizado em uma clínica de reprodução humana em São Paulo onde a decisão sobre a utilização da medicação para maturação oocitária se baseia no prognóstico de tratamento. Mas o risco da mulher apresentar a Síndrome de Hiperestímulo Ovariano é o fator que limita o uso do hCG para maturação oocitária que é a medicação considerada padrão ouro e a mais utilizada ^{24,28,29,66}.

Sendo assim, o uso do trigger com agonista de GnRH foi preferencialmente utilizado nas mulheres que apresentavam melhor reserva ovariana, demonstrado pelos maiores valores de HAM, maior contagem de folículos antrais e menores valores de FSH basal. Esse grupo também apresentou maior quantidade de folículos e de óvulos captados sendo estatisticamente significativa a diferença entre os três grupos.

A escolha do trigger compete ao médico que conduz o tratamento e obedece orientações do protocolo de prevenção de SHO, Guideline da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva⁶⁶, em que o uso do agonista de GnRH e freeze all são condutas de segurança^{39,66}. O uso desse protocolo como base justifica a escolha do uso de agonista de GnRH para mulheres mais jovens e com melhor reserva ovariana e, por isso, maior risco de síndrome de hiperestímulo mas em contrapartida essas mulheres terão melhores resultados em número absoluto de óvulos captados e de óvulos maduros, conforme observado.

O maior número de óvulos fertilizados e o maior número de embriões em terceiro e quinto dia no grupo do trigger agonista de GnRH, pode ser explicado pelo fato que o uso desta medicação isoladamente para maturação oocitária não altera a qualidade oocitária e nem compromete o resultado da FIV, como mostram alguns estudos^{19,20,26,35,37}

Embora o uso do agonista de GnRH seja mais fisiológico, este necessita de um suporte de fase lútea intenso devido a maior risco de aborto como desfecho, em tratamentos com transferência de embriões a fresco ^{41,42, 61,62}

Em nosso estudo, observamos que houve menor taxa de maturação do agonista de GnRH quando comparado ao duplo trigger. Este resultado é contraditório aos resultados do estudo clínico randomizado realizado por Humaidan e colaboradores em 2005 com 122 mulheres cuja taxa de maturação foi maior com uso de agonista de GnRH, comparada com o uso do hCG³⁹. Em nosso estudo não houve diferença nas taxas de maturação oocitária entre os grupos que usaram agonista de GnRH agonista e hCG e este resultado é semelhante a outros estudos da literatura^{40,59,61}.

Embora observamos diferença nas taxas de maturação entre o grupo de agonista de GnRH e duplo trigger, as taxas de gravidezes foram iguais nos três grupos. A metanálise publicada em 2018 com 859 mulheres onde foram analisados 5 estudos clínicos randomizados que comparavam os resultados do uso de agonista de GnRH e hCG também mostrou não haver diferença nas taxas de gravidezes entre os grupos ⁶².

Embora as taxas de aborto foram maiores nas mulheres que fizeram o uso de agonista de GnRH (20%), no grupo de hCG, 12,5%, mesmo com suporte de fase lútea, esse resultado não apresentou significância estatística ($p= 0,06$) ⁶². Em nosso estudo, as menores taxas de aborto ocorreram nas mulheres que fizeram o uso de hCG porém, devemos considerar que o grupo que fez uso de duplo trigger era um grupo com idade mais avançada ($39,12 \pm 3,83$ anos) e com pior reserva ovariana e que poderia resultar em maiores taxas de aborto.

Um estudo retrospectivo que comparou duplo trigger para mulheres que apresentavam baixa reserva ovariana segundo os critérios de Bologna¹² mostrou melhores resultados quanto às taxas de maturação quando usado duplo trigger com dose de 5.000 UI de hCG ou 10.000 UI com agonista de GnRH, quando comparado com as doses isoladas de hCG, porém sem diferença estatística quando compara a taxa de fertilização, a qualidade embrionária, as taxas de gravidez, ou de aborto ⁵⁸.

Observamos que o duplo trigger foi utilizado em mulheres com menor contagem de folículos antrais, ou seja, mulheres com pior prognóstico. Não encontramos diferença nas taxas de maturação dos tratamentos com duplo trigger comparados com hCG, mas comparado com o grupo 2, que fez uso de GnRH agonista, o grupo 3, do duplo trigger, teve melhor desempenho em relação a taxa de maturação, e, com diferença estatística.

Em discordância a outros estudos que mostravam em grupo com características semelhantes que as taxas de gravidezes foram maiores em mulheres com duplo trigger do que com uso de hCG^{44,46}, nosso estudo mostrou taxas semelhantes nos dois grupos provavelmente porque o grupo do duplo trigger apresentava mulheres com pior prognóstico, isto é, nossos grupos não eram homogêneos.

Assim nosso estudo possui como limitação o fato de ser um estudo retrospectivo e que desta forma os grupos avaliados não eram homogêneos, isto é, uma população com diferentes aspectos clínicos e laboratoriais quando submetidos ao estímulo.

Nota-se claramente, que as mulheres que fizeram uso de hCG podem ser classificadas como normo respondedoras e as que optamos pelo uso de agonista de GnRH foram as mulheres que apresentavam maior risco de SHO, e as mulheres do grupo do duplo trigger as que apresentavam baixa resposta ovariana. Porém, mesmo com essas diferenças, pudemos observar maior taxa de maturação com uso do duplo trigger e, ao final do tratamento, as taxas de gravidezes e aborto foram semelhantes o que nos mostra que utilizando o trigger, de acordo com as recomendações embasadas nos achados dos estudos apresentados, obteremos resultados satisfatórios, mesmo em mulheres com pior prognóstico.

A taxa de maturação nula foi de 3,03% e a taxa de maturação <70% foi de 28,18%. Nenhuma variável, como idade, tempo de infertilidade, baixa reserva ovariana, trigger, IMC, dose de FSH, LH dosado no dia do trigger, ou dose de LH administrada no estímulo aumentou a chance para taxa de maturação < 70%.

Observamos que as mulheres que apresentaram taxa de maturação nula apresentavam piores condições clínicas (reserva ovariana pré estímulo avaliada pela CFA, AMH, e FSH basal) em relação aos outros grupos. Esse grupo correspondeu a 3,03% da nossa população e apresentou pior resposta ao estímulo, com menor quantidade de folículos que responderam a medicação e menor quantidade de óvulos captados.

Fizemos, em um segundo momento, a análise de regressão logística uni e multivariada dos fatores de risco para baixas taxas de maturação oocitária. E, o fato de ser classificada como baixa reserva ovariana, de acordo com critérios de Bologna, foi um dos fatores que apresentou maior risco, de 3,59, de apresentar taxa de maturação nula, assim como o uso de doses de FSH no estímulo < 1650 UI.

Um estudo multicêntrico, com 1515 pacientes³⁵, avaliando o custo-efetividade de doses individualizadas de FSH, concluiu que a individualização da dose do FSH não muda o resultado da FIV. Estudos com mild stimulation mostram maior número de ciclos com cancelamentos que os estímulos tradicionais e embora ofereçam as mesmas taxas de gravidez que os estímulos tradicionais, levam a menor quantidade de óvulos^{21,35} e também podem não encontrar óvulos em uma frequência de 9,4%²¹. O grupo de mulheres com pior prognóstico com uso de protocolos com menores doses de medicação podem ter seus resultados comprometidos^{21,36}, com menores doses de FSH durante o estímulo ovariano.

Apesar das diferenças entre os grupos, as taxas de maturação oocitárias e os resultados finais da FIV foram semelhantes nos 3 grupos o que mostra que uma escolha adequada do tipo de trigger garante um bom resultado para o tratamento da Fertilização in vitro. A baixa reserva ovariana compromete o resultado da FIV, aumentando a chance de ocorrência de taxa de maturação nula. E, mesmo no grupo com baixa reserva ovariana, a escolha do trigger é fundamental para que obtenhamos resultado com boas taxas de maturação, boa taxa de betaHcg cumulativo por captação oocitária

CONCLUSÃO

1 - As mulheres do grupo agonista de GnRh eram mais jovens que as dos outros grupos. Outras características como tempo de infertilidade e IMC, não apresentaram diferença estatística

2 -O número de óvulos coletados, número de óvulos maduros, número de óvulos fertilizados, embriões em terceiro dia e em blastocisto foram maiores no grupo do agonista de GnRH .

3 A taxa de maturação oocitária foi maior no grupo em que usou o duplo trigger.

4 As taxas de gravidezes total de aborto ao final do tratamento foram semelhantes entre os grupos

5 Não encontramos fatores associados a maior chance de taxa de maturação <70%,. Baixa reserva ovariana e dose de FSH administrada no estímulo < 1650 UI estiveram associados a maior chance de taxa de maturação nula.

REFERÊNCIAS

1. [Zegers-Hochschild F](#), [Adamson GD](#), [de Mouzon J](#), [Ishihara O](#), [Mansour R](#), [Nygren K](#), et al. International Committee [for](#) Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee [for](#) Monitoring Assisted Reproductive Technology(ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. Fertil Steril. 2009; 92 (5): 1520-4
2. Boivin J, Bunting L ,Collins J A, Nygren K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. Hum Reprod. 2007; 22 (6): 1506-12.
3. Kamel RM . Management of the infertile couple: an evidence -based protocol. Reproduct Biol Endocrinol. 2010; 8-21
4. Polis C B, Cox C M, Tuncalp I O, McLain A, Thoma M E. Estimating infertility prevalence in low-to-middle-income countries: an application of a current duration approach to Demographic and Health Survey data. Hum Reprod. 2017; 32(5): 1064-74.
5. Farland L V, Collier A Y, Correia K F, Grodstein F, Chavarro J E, Rich- Edwards J, et al. Who receives a medical evaluation for infertility in the United States?. Fertil Steril, 2016; 105 (5): 1274-80
6. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Feria I M L ,Ducto B, Lansac J , et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). Human Reprod, 1991; 6(6): 811-6
7. Hur C, Rehmer J, Flyckt R, Falcone T. Uterine factor infertility: a clinical review. Clin Obstet Gynecol. 2019; 62 (2): 257-70
8. Melo A S, Ferriani R A, Navarro P A. Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome: approach to clinical practice. Clinics. 2015; 70(11): 765-9.

9. Izzo C R, Monteleone P A A, Serafini P C. Human reproduction : current status. Rev. Assoc. Med. Bras. 2015; 61(6): 557-9.
 10. Tal R., Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. Am J Obstet Gynecol. 2017;217(2): 129-40
 11. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Human Reprod Update. 2006, 12(6):685–718.
 12. Ferraretti [AP](#), [La Marca A](#), [Fauser BC](#), [Tarlatzis B](#), [Nargund G](#), [Gianaroli L](#); [ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition](#). ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum Reprod. 2011;26 (7):1616-24.
 13. Steptoe PC, Edwards R G. Birth after there implantation of a human embryo. The Lancet. 1978; 2(8085): 366.
 14. Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, Driscoli AK, Drake P. Births: Final data for 2017. [Natl Vital Stat Rep](#). 2018 ;67(8):1-50.
- CDC Assisted Reproductive Technology (ART) Data- Atlanta, CDC, 2016. (Acesso em: 03 de fevereiro de 2019).Disponível em:
https://nccd.cdc.gov/drh_art/rdPage.aspx?rdReport=DRH_ART.ClinicInfo&ClinicId=9999&ShowNational=1#rdTabPanel-tab3
15. Meyer L, Murphy L. A., Guer A., Reichman D. E., Rosenwaks Z., Cholst I. N. Risk factors for a suboptimal response to gonadotropin-releasing hormone agonist trigger during in vitro fertilization cycles. Fertil Steril, 2015, 104 (3): 637-42.

16. Sunkara S.K., Rittenberg V., Raine-Fenning N., Bhattachaya S., Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment. *Human Reprod*, 2011. 38(7): 1748-74.
17. Hasegawa A, Takahashi T, Igarashi H, Amita M, Matsukawa J, Ngase S. Predictive factors for oocyte retrieval failure in controlled ovarian hyperstimulation protocols: a retrospective observational cohort study. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015; 13 (53): 1-7
18. Bosch E, Ezcurra D. Individualised controlled ovarian stimulation (iCOS): maximising success rates for assisted reproductive technology patients. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011; 9(82): 1-9
19. Richter T A, Robinson J E and Evans N P. Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. *Biol Reprod* 2002; 67(1): 119-25
20. Gonenf Y, Blakier H, Powell W, Casper R. Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist to Trigger Follicular Maturation for in Vitro Fertilization. *J Clinical Endocrinol Metabol*, 1990; 71(4): 918-22
21. Alyasim A, Mehdinejadiani S, Ghasemi M. GnRH agonist trigger versus hCG trigger in GnRH antagonist in IVF/ICSI cycles: A review article. *Int J Reprod Bio Med*. 2016; 14 (9): 557-66.
22. Kasum M, Kurdija K, Oresćković S, Čehić E, Pavićić-Baldani E, Škrković L. Combined ovulation triggering with GnRH agonist and hCG in IVF patients. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32 (11): 861-5
23. Castillo JC, Humaidan P, Bernabeu R. Pharmaceutical options for triggering of final oocyte maturation in ART. *Biomed* 2014, 2014:580171.
24. Los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Human Reprod*, 2016, 31(4): 685-86.

25. Chambers G. M., Wand H., Macaldowie A., Chapman M. G., Farquhar C. M., Bowman M., et al. Population trends and live birth rates associated with common ART treatment strategies. *Human Reprod.* 2016; 31(11), 2632-41.
26. Orvieto R. Triggering final follicular maturation- hCG, GnRH-agonist or both, when and to whom? *J Ovar Reser.* 2015; 8:60.
27. Dosouto C, Haahr T, Humaidan P. Gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) trigger – State of the art. *Reprod Biol*, 2016, 17 (1), 1-8.
28. Engmann L, Benadiva C, Humaindan P. GnRH agonist trigger for the induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis. *Reprod Biomed Online*, 2016, 32 (3): 274-85
29. Simon C, Garcia Velasco JJ, Valbuena D, Peinado JA, Moreno C, Rehmohi J, et al. Increasing uterine receptivity by decreasing estradiol levels during the preimplantation period in high responders with the use of a follicle- stimulating hormone step-down regimen. *Fertil Steril* 1998;70(2):234–9.
30. Valbuena D, Martin J, de Palbo JL, Remohi J, Pellicer A, Simon C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril* 2001;76(5):962–8.
31. Youssef MAFM, Van der Veen F, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Nagi Mohesen M, Aboulfoutouh I, van Wely M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 31;(10):CD008046
32. Mourad S, Brown J, Farquhar C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database [Syst Rev.](#)* 2017. 23;1:CD012103.

33. Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE dagger. *Hum Reprod.* 2014;29(10):2099–113.
34. Schwartz, M. and Jewelewicz, R. The use of gonadotropins for induction of ovulation. *Fertil. Steril*, 1981;35(1) 3-12.
35. Lanzone A, Fulghesu AM, Apa R, Caruso A, Mancuso S. LH surge induction by GnRH agonist at the time of ovulation. *Gynecol Endocrinol.* 1989;3(3):213-20.
36. Gonen Y, Blakier H, Powell W, Casper R. Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist to Trigger Follicular Maturation for in Vitro Fertilization. *J Clin Endocrinol Metabol*, 1990; 71 (4): 918-22
37. Itskovitz J, Boldes R, Levron J, Erlik Y, Kahana L, Brandes JM. Induction of pre-ovulatory luteinizing hormone surge and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril* 1991;56:213–20.
38. Humaidan P, Nelson S M, Devroey P, Coddington C C, Schwartz L B, Gordon K, et. al. Ovarian hyperstimulation syndrome: review and new classification criteria for reporting in clinical trials, *Hum Reprod.* 2016; 31(9):1997–2004.
39. Youssef MAF, Abdelmoty HI, Ahmed MAS, Elmohamady M. GnRH agonist for final oocyte maturation in GnRH antagonist co-treated IVF/ICSI treatment cycles: Systematic review and meta-analysis. *J Adv Res.* 2015; 6(3): 341–9.
40. Humaidan P, Bredkjær HE, Bungum L, M, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2005; 20 (5): 1213-20
41. Kolibianakis EM, Schultze-Mosgau A, Schroer A, van Steirteghem A, Devroey P, Diedrich K, et al. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is

- used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2005; 20(10):2887–92.
42. Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Yding Andersen C. Rescue of corpus luteum function with peri-ovulatory HCG supplementation in IVF/ICSI GnRH antagonist cycles in which ovulation was triggered with a GnRH agonist: a pilot study. *Reprod Biomed Online* 2006;13(2):173-8.
 43. Coulam C.B., Bustillo M, Schulman J.D. Empty follicle syndrome. *Fertil Steril.* 1986; 46 (6):1153-5.
 44. [Ben-Shlomo I](#), [Schiff E](#), [Levrán D](#), [Ben-Rafael Z](#), [Mashiach S](#), [Dor J](#). Failure of oocyte retrieval during in vitro fertilization: a sporadic event rather than a syndrome. *Fertil. Steril.* 1991;55(2): 324–7.
 45. Zreik , T.G., Garcia-Velasco A., Vergara, T.M., Arici, A., Olive, D., Jones, E.F. Empty follicle syndrome: evidence for recurrence. *Hum Reprod.* 2000;15(5):999-1002.
 46. [Lorusso F](#), [Depalo R](#), [Tsadilas S](#), [Caradonna F](#), [Di Gilio A](#), [Capotorto MT](#), [Vacca M](#), [Nappi L](#), [Selvaggi L](#). Is the occurrence of the empty follicle syndrome a predictor that a subsequent stimulated cycle will be an unfavourable one. [Reprod Biomed Online](#). 2005;10(5):571-4
 47. Mesen TB, Yu B, Richter KS, Widra E, DeCherney AH, Segars JH. The prevalence of genuine empty follicle syndrome. *Fertil Steril.* 2011;96(6):1375–7.
 48. [Madani T](#), [Jahangiri N](#). Empty Follicle Syndrome: The possible cause of occurrence. [Oman Med J.](#) 2015;30(6):417-20.
 49. Beck-Fruchter R, Weiss A, Lavee M, Geslevich Y, Shalev E. Empty follicle syndrome: successful treatment in a recurrent case and review of the literature. *Hum Reprod.* 2012;27(5):1357-67.
 50. Stevenson TL, Lashen H. Empty follicle syndrome: the reality of controversial syndrome, a systematic review. *Fertil Steril*, 2008, 90: 691-98

51. Revelli A, Carosso A, Grassi G, Gennarelli G, Canosa S, Benedetto C, et al. Empty follicle syndrome revisited: Definition, incidence, aetiology, early diagnosis and treatment. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(2):132–8.
52. Ubaldi, F., Nagy, Z., Janssenwillen, C., Smitz, J., Van Steirteghem, A., Devroey, P. Ovulation by repeated human chorionic gonadotrophin in ‘empty follicle syndrome’ yields a twin clinical pregnancy. *Hum. Reprod.* 1997; 12(3): 454–6.
53. Lok F, Pritchard J, Lashen H. Successful treatment of empty follicle syndrome by *triggering* endogenous LH surge using GnRH agonist in an antagonist down- regulated IVF cycle. *Hum Reprod*. 2003;18(10):2079–81.
54. Griffin D, Benadiva C, Kummer N, Budinetz T, Nulsen J, Engmann L. Dual *trigger* of oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist and low-dose human chorionic gonadotropin to optimize live birth rates in high responders. *Fertil Steril* 2012;97(6):1316–20.
55. . Castillo JC, Garcia-Velasco J, Humaidan P. Empty follicle syndrome after GnRH α triggering versus hCG triggering in COS. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(3):249–53.
56. Shapiro BC, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Thomas S, Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization, *Fertil Steril*; 2008, 90 (1), 231-3
57. Griffin D, Feinn R, Engmann L, Nulsen J, Budinetz T, Benadiva C. Dual *trigger* with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates. *Fertil Steril*. 2014;102(2):405–9.
58. Lin Mh, Wu FS, Lee RK, et. al. Dual *trigger* with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal respondersing GnRH-antagonist cycles *Fertil Steril* , 100 (5): 1296 – 302

59. Lu X, Dual *trigger* for final oocyte maturation improves the oocyte retrieval rate of suboptimal responders to gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 2016;106(6):1356–66.
60. [Dosouto C](#), [Haahr T](#), Humainda P. Advances in ovulation trigger strategies. *Panminerva Med*. 2019, 61 (1): 42-51.
61. Kummer NE, Feinn RS, Griffin RS, Engmann LL, et al. Predicting successful induction of oocyte maturation after gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) *trigger*. *Human Reprod*. 2013;28(1):152–9.
62. Zegers-Hochschild F, Adamson D.G., Dyer S, Racowsky C, Mouzon J de, Sokol R, Rienzi L, Sunde A, Schmidt L, Cooke I. D., Simpson J.L, Van der Poel S. The International Glossary on Infertility and Fertility Care. *Human Reprod*. 2017; 32 (9):1786-801.
63. Keys A, Fidanza F, Karvonen M J, Kimura N, Taylor H L. Indices of relative weight and adiposity .*J Chronic Dis*. 1972;25. 329-43
64. WHO- World Health Organization- WHO, 2017. (Acesso em: 27 de junho de 2017).Disponível em: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html.
65. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertil Steril*. 2016;106(7): 1634–7.

ANEXOS

Anexo 1 – Ficha de coleta dos dados

Questionário de Coleta de Dados

Informações Gerais do Paciente

Identificação

Iniciais	Data de Nascimento	Tempo de Infertilidade
----------	--------------------	------------------------

Número de Gravidezes	Número de Partos	Número de Abortos
----------------------	------------------	-------------------

Causa de Infertilidade Feminina

☐ Fator tubário
 ☐ Fator uterino
 ☐ Fator ovulatório
 ☐

Endometriose

Causa de Infertilidade Masculina

☐ Oligospermia
 ☐ Oligozoospermia
 ☐ Teratozoospermia
 ☐

Vasectomia ☐ Astenozoospermia

Tratamentos Anteriores

☐ SIM, especifique abaixo:

☐ CP
 ☐ IIU
 ☐ FIV

☐ NÃO

Dados Médicos Básicos

Peso (kg)	Altura (m)	IMC (kg/m ²)
-----------	------------	--------------------------

FSH Basal (UI/L)	LH Basal (UI/L)	HAM (ng/ml)
------------------	-----------------	-------------

Tratamento de Infertilidade

Informações do Ciclo

Foi necessário cancelar o ciclo?

☐ Sim | ☐ Não

Contagem de Folículos	Data de Captação	Número de Dias do Estímulo
Antrais		

Quais foram as medicações utilizadas?

☐ Gonal ☐ Menopur ☐ Bravelle ☐ Purego

☐ Outras, especifique: _____

Dose total de FSH	Dose total de LH	Dia do Antagonista
-------------------	------------------	--------------------

Estradiol (Dia do <i>Trigger</i>)pg/ml	Progesterona (Dia do <i>Trigger</i>)ng/ml	LH (Dia do <i>Trigger</i>) UI/L
---	--	----------------------------------

Dados da Captação

Número de Folículos Total	Número de Folículos >16	Número de Ócitos Captados
---------------------------	-------------------------	---------------------------

Número de Óvulos MII	Número de Óvulos Doados	Número de Óvulos Fertilizados
----------------------	-------------------------	-------------------------------

--	--	--

Número de Embriões Transferidos a Fresco D3	Número de Embriões Transf. Congelados D3
---	--

Número de Embriões Transferidos a Fresco D5	Número de Embriões Transf. Congelados D5
---	--

Resultados do Ciclo

O ciclo gerou Beta HCG positivo a fresco?

☐ Sim | ☐ Não

O ciclo gerou Beta HCG positivo congelado?

☐ Sim | ☐ Não

Número de Sacos Gestacionais	Número de Embriões com BCF
------------------------------	----------------------------

Ocorreu aborto?

☐ Sim | ☐ Não

Ocorreu ectópica?

☐ Sim | ☐ Não

Anexo 2



Autorização para Coleta de Dados

Eu, **Lucas Yugo Shigehara Yamakami**, diretor clínico e responsável pela clínica VidaBemVinda, situada na Rua Itapeva, 286, 1º andar, cep 01332-000- Bela Vista- São Paulo, declaro estar ciente dos requisitos da Resolução CNS/MS 466/12 e suas complementares e declaro que tenho conhecimento dos procedimentos/instrumentos aos quais os participantes da presente pesquisa serão submetidos. Assim autorizo a coleta de dados do projeto de pesquisa intitulado "Comparação das taxas de sucesso e complicações, entre o uso do HCG, do GnRH agonista e do dual trigger, para maturação oocitária no tratamento de fertilização in vitro.", sob-responsabilidade da pesquisadora Larissa Matsumoto, após a aprovação do referido projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa-Unicamp.


Assinatura e carimbo

Dr Lucas Y S Yamakami
CRM 112.079

Data: 29/11/2017

Anexo 3

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* (FIV) OU INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI) E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

O Conselho Federal de Medicina, em seu **Código de Ética Médica**, orienta que todo tratamento de Reprodução Humana seja realizado mediante prévia autorização verbal e escrita do casal, através do preenchimento do Termo de Consentimento Informado. Nós, da Clínica Vida Bem Vinda, entendemos a importância desta determinação e a seguimos neste documento.

IDENTIFICAÇÃO

Nome do(a) 1: _____

RG: _____ CPF: _____

Nome do(a) 2: _____

RG: _____ CPF: _____

Os acima identificados declaram inicialmente, sob sua inteira e exclusiva responsabilidade, e para todos os fins e direitos, que são casados ou vivem em união estável.

DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

A FIV/ICSI tem como objetivo tentar obter a gestação. Este tratamento foi escolhido pelos médicos da Vida Bem Vinda após a investigação. Esta decisão é realizada em conjunto com o casal e é baseada na história médica e nos exames complementares solicitados.

A FIV/ICSI é realizada em etapas:

1. **Estimulação ovariana:** consiste na aplicação de medicações para estimulação dos ovários, com objetivo de obter um maior número de óvulos e aumentar as chances de fertilização. Este processo tem duração média de 8 a 12 dias e necessita de monitorização por ultrassonografia transvaginal e, quando necessário, por exames de sangue. Em algumas situações excepcionais, a estimulação padrão pode não ser usada, sendo apenas realizado o seguimento ultrassonográfico/laboratorial e uma mínima (ou nenhuma) quantidade de medicação. Ainda há dúvida em relação a uma possível associação de medicações indutoras da ovulação e câncer de ovário. Todavia, até o presente momento não há nenhuma conclusão definitiva quanto está associação, hoje considerada remota. Nesta etapa do processo, estamos cientes que:

O uso correto das medicações é fundamental para o sucesso do tratamento;

Pode ocorrer cancelamento da estimulação por baixa resposta ovariana: apesar de existirem métodos para tentar estimar a resposta ovariana, o único método capaz de determinar se haverá ou não o crescimento de folículos é a real estimulação com medicações;

Complicações decorrentes do excesso de hormônios ou de medicamentos utilizados, como trombose e cefaléia, dentre outros;

Pode ocorrer síndrome de hiperestimulação ovariana: acontece em 1 a 5% dos casos e se caracteriza por excesso de resposta a estimulação ovariana. As consequências são aumento acentuado dos ovários, retenção de líquido na cavidade abdominal e tórax e alteração na função hepática, renal e de coagulação. Nesta situação, a conduta será determinada após avaliação clínica, incluindo opções como congelamento de embriões/óvulos para transferência posterior ou cancelamento do tratamento. Nós, da Clínica Vida Bem Vinda, adotamos protocolos rígidos de segurança, com cuidado na dose da medicação usada que minimiza, mas não elimina, o risco desta Síndrome.

2. Aspiração folicular para captação de óvulos: os óvulos serão aspirados através de punção dos folículos com agulha, guiada por ultrassom transvaginal. A retirada dos óvulos é realizada com sedação anestésica/anestesia geral. Estamos cientes que podem ocorrer: riscos cirúrgicos como lesões de vasos sanguíneos, bexiga, intestino ou ovário. Neste caso, a equipe cirúrgica procederá o seu reparo da maneira necessária; riscos anestésicos; sangramento, com necessidade de transfusão de sangue; infecção pós-punção ovariana; ausência de óvulo(s) dentro dos folículos; ausência de maturidade do(s) óvulos para serem fertilizados.

3. Obtenção e seleção dos espermatozoide: as amostras seminais serão obtidas do ejaculado (masturbação), do epidídimo ou do testículo e processadas em laboratório, no intuito de obtermos espermatozoides viáveis para fertilização. Estamos cientes que pode ocorrer: ausência de espermatozoides viáveis para fertilização.

4. Fertilização do(s) óvulos em laboratório: Os óvulos obtidos são identificados e fertilizados com os espermatozoides do marido/convivente. No laboratório, o(s) óvulos poderão ser fertilizados através de duas técnicas principais: na FIV clássica, eles são apenas colocados em contato com espermatozoides e a fertilização ocorre naturalmente. Já na ICSI, o espermatozoide é introduzido em cada óvulo para promover a fertilização. A escolha entre estas duas técnicas é realizada de acordo com critérios médicos e laboratoriais. Nesta etapa, estamos cientes que podem ocorrer: o(s) óvulos podem não sobreviver à manipulação; a fertilização do(s) óvulos pode não ocorrer ou ocorrer de forma anormal; a divisão celular ou clivagem do(s) embriões pode não ocorrer ou ocorrer de forma anormal.

5. Transferência dos embriões para o útero: a transferência do(s) embriões para o útero da paciente é realizada através de um cateter flexível e descartável, do 3º ao 7º dia após a captação. Este procedimento é, em geral, indolor e não requer sedação anestésica, salvo em situações atípicas, como fechamento (estenose) do colo do útero da paciente. Neste caso, proceder-se-á a leve sedação anestésica. Nesta etapa, estamos cientes que podem ocorrer: impossibilidade de passagem do cateter pelo colo do útero. Neste caso, os embriões serão que ser congelados e transferidos posteriormente; falha de implantação dos embriões no útero.

6. Criopreservação de óvulos, espermatozoides ou embriões: A primeira etapa da criopreservação é o congelamento por diversas técnicas. A vitrificação (congelamento ultrarrápido) é a técnica de escolha para criopreservação de óvulos e embriões, com resultados excelentes. A manutenção do material congelado é feito em nitrogênio líquido por período indeterminado. A última fase é o descongelamento e a avaliação da viabilidade. Nesta etapa, estamos cientes que pode ocorrer: não sobrevivência dos óvulos, espermatozoides e/ou

embriões após o descongelamento. O número de embriões que será transferido será decidido em conjunto com a equipe médica, a equipe de embriologia e a vontade do casal. A FIV apresenta maior risco de gravidez múltipla, inclusive gêmeos de alta magnitude. A gestação múltipla aumenta o risco de parto prematuro e, conseqüentemente, todos os riscos advindos desta situação. Quanto maior o número de embriões transferidos, maior a chance de gravidez, mas maior a chance de gestação múltipla. O Conselho Federal de Medicina permite que sejam transferidos até 2 (dois) embriões em pacientes com até 35 anos de idade, até 3 (três) embriões para pacientes com 36 a 39 anos e até 4 (quatro) embriões para pacientes com 40 anos ou mais. Assim, **no caso de não desejar gestação múltipla, o indicado é transferir apenas 1 (um) embrião, com conseqüente redução da chance de gravidez.**

A gestação e a(s) crianças obtidas pelo processo de FIV/ICSI têm, essencialmente, as mesmas chances e riscos que as obtidas por outros métodos. A chance de uma criança apresentar uma malformação congênita e/ou genética é semelhante à da população em geral e oscila entre 0,5 a 4%. A frequência de alterações cromossômicas aumenta com a idade da mulher, chegando a números acima de 60% dos óvulos e pré-embriões produzidos em mulheres acima de 38 anos. O resultado desta alteração é uma redução na taxa de gestação por tratamento.

Dentre as complicações que podem ocorrer neste tratamento, citam-se: gravidez ectópica (implantação do embrião fora do útero, sendo necessária interrupção cirúrgica pelo risco de hemorragia), torção ovariana (torção do ovário aumentado sobre seu próprio eixo, com redução da vascularização, necessidade de cirurgia de emergência e, em raras circunstâncias, retirada do ovário torcido), abortamentos espontâneos e riscos psicológicos.

EMBRIÕES EXCEDENTES A Resolução do Conselho Federal de Medicina **permite o descarte de embriões excedentes**

congelados com mais de 5 (cinco) anos. Portanto, todos os embriões viáveis que forem formados no tratamento e não forem transferidos **deverão ser mantidos congelados** (criopreservação) por, pelo menos, este período

CONSENTIMENTO

Declaramos que o(a) Dr(a). _____ nos explicou o procedimento que vamos nos submeter e que as explicações foram fornecidas de forma clara e simples, bem como permitiu que fossem realizadas todas as perguntas e observações necessárias para o melhor entendimento do que ocorrerá conosco durante este procedimento. Estamos cientes de que não se pode assegurar que o tratamento de reprodução assistida resulte em gravidez. Declaramos que recebemos este consentimento em nossos respectivos e-mails individuais e privados.

Todas as informações relativas a este tratamento são e permanecerão confidenciais. _____ a Clínica Vida Bem Vinda a documentar os processos aos quais nos submetemos, para sua possível utilização em reuniões médicas ou publicações científicas. Entendemos que, mesmo neste caso, a nossa identificação manter-se-á sigilosa e confidencial. Entendemos que temos o direito de rever nossos registros na Clínica Vida Bem Vinda em qualquer momento. Sabemos que, em qualquer momento do tratamento, podemos nos retirar do processo, sem qualquer dano para futuros tratamentos.

Considerando todas as condições acima mencionadas, _____ que sejam realizadas todas as etapas da FIV/ICSI, incluindo a fertilização do(s)

óvulos obtidos com o(s) espermatozoides do próprio marido ou convivente, bem como a transferência do(s) embriões formados para o interior do útero da paciente. _____ ter óvulos congelados. _____ ter embriões congelados. _____ a transferência de mais de 1 (um) embrião.

São Paulo, _____. _____ Médico

_____ Nome do(a) convivente 1

_____ Nome do(a) convivente 2

43

_____ Assinatura

_____ Assinatura

_____ Assinatura

**PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELA
COMISSÃO DE PESQUISA/CAISM/UNICAMP****IDENTIFICAÇÃO**

Título do Projeto: "Comparação das taxas de sucesso e complicações, entre o uso do HCG, do GnRH agonista e do dual trigger, para maturação oocitária no tratamento de fertilização in vitro

1. Pesquisador Responsável: Larissa Matsumoto

3. Instituição do Pesquisador: Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP

4. Local onde será realizada a Pesquisa: Clínica Bem Vinda de São Paulo

5. Nº de inscrição no CEP/FCM: /201

6. Grupo:

7. Data de apresentação ao CEP: / /201

APRESENTAÇÃO DO PROJETO:

8. O processo final do hiperestímulo ovariano controlado, é a maturação oocitária, e possui influência direta com os resultados da fertilização in vitro (FIV). Bons resultados da FIV estão associados a boas taxas de maturação oocitária, qualidade embrionária e, a menores taxas da Síndrome de Hiperestímulo Ovariano (SHO). O padrão ouro utilizado para maturação oocitária é o HCG (gonadotrofina coriônica humana), no entanto, apresenta algumas desvantagens como pior qualidade embrionária e menor receptividade endometrial, além de maior risco de desenvolver a SHO. O GnRH agonista surgiu como opção ao HCG, para o trigger de maturação oocitária, e apresenta plena segurança em reduzir o risco da SHO, no entanto, resulta em menores taxas de gravidez para ciclos com transferência a fresco, sendo necessário intenso suporte medicamentoso de fase lútea. A associação das duas opções de trigger busca melhores resultados com menor risco, chamada de dual trigger é utilizada para como tratamento para mulheres que obtenham taxa de maturação oocitária abaixo de 25%, e apresenta resultados promissores, com maior quantidade de óvulos maduros, melhor qualidade embrionária e melhores taxas de gravidez. Ainda não temos de forma clara, a comparação entre os três triggers, e seus resultados que avaliem as taxas de maturação oocitária, e, o desenvolvimento da SHO, buscando orientar de forma adequada a decisão clínica para o melhor resultado na FIV, oferecendo melhor indicação com menor risco, e, assim, personalizando o tratamento de cada mulher. Objetivos: Comparar as taxas de óvulos maduros e, taxas de gravides, e, também de complicações, entre o uso do HCG, do GnRH agonista e do dual trigger, para maturação oocitária no tratamento de FIV/ICSI. Sujeitos e Métodos: Será realizado um estudo coorte observacional retrospectivo com 650 casos de FIV/ICSI atendidas na clínica Vida Bem Vinda de São Paulo, que realizaram as captações oocitárias no período de outubro de 2011 a julho de 2017. As variáveis analisadas serão os tipos de triggers; número de óvulos captados; quantidade de óvulos maduros, de óvulos fertilizados e de 2PN; taxa de maturação oocitária, de fertilização e de gravidez bioquímica e clínica e a prevalência de SHO. Todos os dados serão coletados da análise dos prontuários destas mulheres. Análise de Dados: Será calculada a frequência, médias e desvio padrão das variáveis descritivas e, na sequência serão buscadas as possíveis associações entre os achados, usando teste qui quadrado para as variáveis dependentes. Para a realização destes procedimentos será utilizado o SAS versão 9.4.

AValiação DOS RISCOS E BENEFÍCIOS:

9. Trata-se de projeto que incluirá dados retrospectivos, colhidos dos prontuários médicos das pacientes atendidas na clínica. Não está previsto novo contato ou procedimentos adicionais aos já realizados.

COMENTÁRIOS E CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

10.

CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA:

11. Os autores solicitam dispensa da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se

CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA:

11. Os autores solicitam dispensa da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por se tratar de estudo retrospectivo e pela dificuldade em contatar novamente um grande número de pacientes, sem que novos procedimentos sejam necessários. Os autores também apresentam, no anexo, cópia do termo que todas as pacientes assinaram ao iniciarem o tratamento na clínica, em que concordam que seus dados clínicos poderão ser utilizados em pesquisa, desde que garantido o sigilo.

RECOMENDAÇÕES:

12.

CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES:

13.

14. SITUAÇÃO DO PARECER:

☒ Aprovado

☐ Não Recomenda a Aprovação

☐ Em Pendência

☒ Com Destaque

Campinas, 7 de julho de 2017.

Nome e assinatura do(s) membro(s) relator(es):


 Prof.ª. Dr.ª. Fernanda Garanhani de Castro Surita
 Presidente da Comissão de Pesquisa - DTG/CAISM/Unicamp

Anexo 5



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Comparação das taxas de sucesso e complicações, entre o uso do HCG, do GnRH agonista e do dual trigger, para maturação oocitária no tratamento de fertilização in vitro.

Pesquisador: larissamatsumoto

Area Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):

(Reprodução Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 80882517.0.0000.5404

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP **Patrocinador Principal:** VIDA BEM VINDA SERVICOS MEDICOS LTDA.

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.461.668

Apresentação do Projeto:

Adequada. Infertilidade, é definida como não ocorrência de gravidez num período de 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas, definição utilizada pela Organização Mundial da Saúde, de 20091. A prevalência de infertilidade, varia entre 3,6 a 16.7% podendo chegar até 31,1%, em países subdesenvolvidos. As causas de infertilidade podem ter como causa fatores masculinos, femininos, ou ambos. Os fatores masculinos contribuem como causa isolada em 19 a 20 % ou, quando associado a fator feminino pode chegar a 39%. A prevalência de infertilidade de causa feminina varia muito, sendo descrito, na média, como sendo 1/3 das causas isoladas de infertilidade do casal. As causas femininas são: fator ovulatório 27 a 32 %; fator tubáreo presente entre 9 a 26 %, endometriose, em 12%. Há ainda, 8% dos casais mesmo após toda investigação pode permanecer sem definição de fator causal e se enquadram nos casos denominados de infertilidade sem causa aparente6. A procura por tratamento mesmo em países desenvolvidos, ainda está aquém do ideal, nos Estados Unidos, por exemplo apenas 65% dos casais procuram assistência médica. A escolha do tratamento para o casal infértil deve ser realizada de forma mais

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

individualizada possível, e para isso, devemos avaliar vários fatores, desde a causa de infertilidade, o grau de gravidade do fator causal, e aspectos como idade da mulher, a reserva ovariana, todos eles podem influenciar na decisão clínica do tratamento a ser empregado. A Religião, a perspectiva da taxa de sucesso, o aspecto financeiro e a ansiedade do casal, são outros fatores que também influenciam na decisão dos tratamentos possíveis ao casal e, auxiliam na melhor escolha. Os tratamentos oferecidos para um casal infértil são divididos em baixa e alta complexidade. O coito programado e a inseminação intrauterina são tratamentos de baixa complexidade enquanto que a fertilização in vitro (FIV), e, a injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI) são os tratamentos de alta complexidade. Esses tratamentos são assim classificados devido os recursos laboratoriais necessários para o desenvolvimento embrionário, sendo, que nos de baixa complexidade a fertilização e o desenvolvimento embrionário ocorre in vivo, no aparelho reprodutor feminino, e, nos de alta complexidade, a fertilização, é realizada com a manipulação dos gametas, e o desenvolvimento embrionário inicial, ocorre in vitro, ou seja, no laboratório de reprodução humana, até a transferência intrauterina. A Fertilização in vitro surgiu há mais de três décadas para tratar infertilidade que tinha como causa o fator tubáreo, e o primeiro tratamento de sucesso aconteceu em 1977, com nascimento de Louise Brown, em 1978, o que rendeu aos pesquisadores o Prêmio Nobel de Medicina, em 2010. Hoje, estima-se que 1,6 % das crianças dos Estados Unidos da América nasçam de técnicas de reprodução assistida de alta complexidade. As taxas de gravidez deste tratamento eram em 1978, de aproximadamente 5%, com a captação oocitária realizada por via laparoscópica. Atualmente, as taxas de sucesso do tratamento são quase 10 vezes maior, de 48,7%, em mulheres abaixo de 35 anos, de acordo com o último National Summary Report, com dados de 2014. A rápida evolução do sucesso do tratamento está associada a evoluções nas etapas do tratamento da FIV ao longo destas quatro décadas. A primeira etapa de um tratamento de FIV é o hiperestímulo ovariano controlado, cuja função é obter o maior número de óvulos maduros em um único ciclo. As taxas de sucesso da FIV estão diretamente relacionadas a quantidade de óvulos captados. Para que isso ocorra é necessário um bom rendimento ovariano nas três etapas durante o estímulo: 1) Hiperestímulo ovariano controlado: que consiste no uso de hormônio folículo estimulante (FSH), associado ou não ao hormônio luteinizante (LH), para o crescimento multifolicular. 2) Bloqueio hipofisário, inibe pico de LH, evitando que ocorra a ovulação durante o estímulo ovariano, esta fase dita o tipo de protocolo escolhido para o tratamento, e pode ser realizado, pelo uso de agonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), de GnRH antagonista, ou mesmo pelo uso de progesterona. 3) Fase final de maturação oocitária: o trigger. Fisiologicamente, o crescimento folicular é desencadeado pela

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

secreção do GnRH pelas célulasmediobasais do hipotálamo na fase folicular do ciclo menstrual, em um pulso periódico no sistema porta hipofisário, que levará a liberação de FSH e LH pela adenohipófise, necessários para o crescimento folicular, que, por sua vez levará ao aumento dos níveis de estrogênio, que com leve aumento da progesterona, desencadeará o pico de LH, que resultará na ovulação 36 a 40 horas após. O pico de LH desencadeia a expansão das células da granulosa, a separaçãooocitária do cumulusoophorus e a retomada da meiose até a metáfase II, pelo óvulo, a maturaçãooocitária. Nos ciclos de reprodução assistida, esse processo para desencadear a ovulação é denominado de trigger. A segunda etapa da FIV é a obtenção dos gametas. A captaçãooocitária é um procedimento rápido, guiado por ultrassom, com punção ovariana, com uma agulha, e aspiração do líquido folicular, e a obtenção do espermatozoide, que pode ser por masturbação, ou por procedimento cirúrgico, a depender da gravidade do fator masculino na causa de infertilidade. A terceira etapa do tratamento, a fertilização in vitro, propriamente dita, pode ser realizada de duas formas, a fertilização in vitro, clássica, e a injeçãointracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). A ICSI deve ser utilizada para casais com fator masculino como causa de infertilidade, ou seja, 40% dos casos, em média, pois, quando realizada sem necessidade pode afetar no resultado final, e reduzir em até 10% as taxas de nascidos vivos, quando realizada sem indicação. No geral, um bom resultado da FIV está diretamente relacionado a uma boa estimulação ovariana e menores riscos de síndrome de hiperestimulação ovariana (SHO) e menores taxas de gestaçõsmúltiplas. Um bom número de óvulos maduros, e o risco de SHO estão diretamente relacionados à escolha do trigger. O padrão ouro, ainda mais utilizado para desencadear a ovulação é o gonadotrofinacoriônica humana (Hcg). A molécula de HCG, devido sua similaridade bioquímica com LH, ocupa o receptor de LH folicular, desencadeando a fase final da maturaçãooocitária. Possui uma meia vida com duração de 6 a 10 dia, e responsável pela manutenção do corpo lúteo por esse tempo. Porém, são descritas algumas desvantagens com o uso do HCG, como impacto sobre pior qualidade embrionária e menor receptividade endometrial além de risco aumentado de SHO. A Síndrome de Hiperestímulo Ovariano é um complicaçãoiatrogênica da terapia de reprodução assistida. A prevalência varia entre 20 a 33%, nas formas mais leves e de 0,18 a 1,4% nos quadros graves. Ela ocorre quase que exclusivamente devido à manutenção prolongada do corpo lúteo pelo HCG. Pode resultar em hospitalização, até mesmo em Unidade de Terapia Intensiva, nos casos mais graves, onde pode ocorrer aumento massivo dos ovários, ascite, derrame pleural, disfunçãohepática e renal. A SHO ocorre pelo aumento de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), devido aos níveis supra fisiológicos de estrogênio circulante. O VEGF corrobora com aumento da permeabilidade vascular, que leva ao

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

extravasamento de líquido para o terceiro espaço, aumento do risco de tromboembolismo vascular, devido o estado de hipercoagulabilidade, ambos decorrentes dos níveis hormonais supra fisiológicos. O melhor tratamento é a identificação do risco, reajustar a dose de gonadotrofinas, não realizar hCG no trigger, e congelamento dos embriões, para posterior transferência (freezeall), oferecer suporte clínico necessário. Em busca de uma forma mais segura para se realizar a maturação oocitária, o uso do GnRH agonista foi descrito como possibilidade de trigger em 1981 com uso propagado na década de 90. O GnRH agonista pode ser utilizado em estímulos cujo bloqueio da hipófise foi realizado com antagonista e, age na hipófise, produzindo efeito flare, e leva à liberação de LH, e FSH que mimetizam o ciclo natural, e, seria mais fisiológico. Após a aplicação, ele leva a liberação endógena de LH e FSH, em 4 e 12 horas, respectivamente, com pico de liberação, pela hipófise, entre 24 a 36 horas porém, por possuir um tempo de meia vida curto, de 33 horas não é capaz de manter o corpo lúteo, sendo esta deficiência de corpo lúteo, correlacionada a menores taxas de gravidez, e perdas gestacionais em ciclos de transferência a fresco. Nestes casos é necessário intenso suporte de fase lútea. Os esquemas de suporte de fase lútea inicialmente utilizavam doses de HCG 36 hspóscaptação, afim de resgatar o corpo lúteo. A revisão da Cochrane de 2014²⁷ recomenda o uso isolado do GnRH agonista como trigger para ciclos de preservação de fertilidade, de transferências segmentadas (uso de embriões congelados), e, doação de óvulos. Entretanto é a medicação mais segura para prevenção da Síndrome de Hiperestímulo Ovariano, atingindo plena segurança, quando associada ao congelamento total dos embriões e transferência em um segundo momento (freezeall). O GnRH agonista reduz drasticamente o risco de desenvolver a SHO, pois a curta duração do corpo lúteo reduz a produção de peptídeos vasoativos, entre eles, o VEGF. Em relação aos resultados, há estudos que mostram na comparação do trigger de GnRH agonista com HCG, melhores taxas de captação oocitária e menor incidência da Síndrome do folículo vazio, em que mesmo após estímulo ovariano e o trigger, não são captados óvulos, mesmo havendo folículos, e estes tendo sido punccionados. Outros mostram um risco maior de encontrar uma taxa de maturação menor que 25%, a Síndrome do oócito imaturo, e, há estudos ainda que mostram equivalência entre os GnRh agonista e HCG. Mais recentemente, o duplo trigger, em que utilizamos tanto o HCG, tradicionalmente em doses mais baixas, mas que pode ser realizado também em doses plenas, juntamente com o GnRH agonista foi descrito como estratégia de trigger, tentando aproveitar o benefício do uso das duas medicações quando utilizadas de forma isolada, bem indicado para mulheres com menores taxas de maturação oocitária (quando óvulos imaturos somam mais que 25% dos óvulos captados). Apresenta melhores resultados em relação à quantidade de óvulos maduros coletados, a qualidade

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

oocitária, maior quantidade de óvulos maduros e melhor qualidade embrionária. O duplo trigger, quando comparado com hCG apresentou maior quantidade de óvulos maduros captados maior maiores taxas de fertilização e maiores taxas de gravidez. E quando comparado com GnRH agonista, apresentou maior quantidade de embriões, melhores taxas de implantaçãoembrionária, melhores taxas de gravidez, e de nascidos vivos, para transferências a fresco. Porém, ainda não há uma dose padrão para o dual trigger, há variações entre 1000 UI até a dose plena, 6500 UI, não sendo portanto, totalmente seguro para pacientes sob risco da SHO. Durante o tratamento de reprodução assistida buscamos melhores resultados com balanço entre o melhor estímulo ovariano, com as melhores taxas de sucesso, com o menor risco da SHO, e menores taxas de gemelaridade²². O trigger para maturação oocitária desempenha importante papel neste balanço entre sucesso x risco, pois uma escolha inadequada, em um momento inadequado, pode influenciar em menores taxas de óvulos captados, ou em maiores riscos à paciente. Ainda não temos de forma clara a comparação entre os três triggers, e seus resultados, pelo menos, em um mesmo estudo. Vamos desenvolver uma comparação entre as taxas de maturação oocitária, e, o desenvolvimento da SHO, buscando orientar de forma adequada a decisão clínica do melhor uso para maturação oocitária, para o melhor resultado na FIV, oferecendo melhor indicação com menor risco, e, assim, personalizando o tratamento de cada mulher.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Comparar as taxas de sucesso e complicações, entre o uso do HCG, do GnRH agonista e do dual trigger, para maturação oocitária no tratamento de FIV/ICSI.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar e comparar a taxa de maturação oocitária de cada um dos triggers 2. Avaliar a prevalência de Síndrome de Hiperestímulo Ovariano para cada um dos triggers. 3. Identificar os fatores de risco para menores taxas de maturação oocitária. 4. Avaliar taxa de gravidez total do tratamento, taxas de gravidez nas transferências a fresco e nas transferências segmentadas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisadora considera não haver riscos previsíveis pois a pesquisa é retrospectiva e baseada nos dados dos prontuários de tratamentos já finalizados.

Benefícios:

A pesquisadora considera que não há benefícios diretos aos participantes da pesquisa. O estudo

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

trará o benefício social de, com o melhor conhecimento sobre o desfecho encontrado de acordo com modalidade de tratamento empregada, e pode propor eventual otimização da escolha de tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O protocolo está bem escrito, detalhado e claro. A metodologia é adequada e factível. Serão avaliados os resultados de FIV/ICSI, de casais atendidos na clínica Vida Bem Vinda de São Paulo, que realizaram as captações oocitárias no período de outubro de 2011 a julho de 2017. A amostra será tomada a partir de casos documentados e de número de casos já estabelecidos. O tamanho da amostra corresponde a todos os pacientes submetidos ao tratamento de estimulação ovariana, com protocolo de antagonista, realizados no período entre 2012 e 2017, com um n estimado de 650 casos. Para a coleta de dados, será utilizada uma ficha elaborada especialmente para esta pesquisa contendo informações sobre idade, paridade, tempo de infertilidade, causa de infertilidade, alteração no cariótipo, se presente ou ausente, e, qual o tipo de alteração. Essas fichas serão preenchidas através da compilação dos dados existentes nos prontuários das mulheres. As mulheres serão selecionadas a partir de um banco de dados arquivado no em prontuário eletrônico, disponível pelo site www.clinicweb.com.br. A partir dos dados dos prontuários serão coletados dados descritos na ficha, e tabulados em planilha de Excel, utilizada após para análise dos dados. Todos os exames e diagnósticos foram realizados em laboratórios escolhidos pela paciente, e o resultado, avaliado e transcrito para o prontuário eletrônico pelo médico que acompanha o caso. O pesquisador será responsável pela transcrição dos dados para a tabela do Excel, que será revisada pela orientadora, para verificar o preenchimento correto das mesmas. Após a coleta dos dados, o banco de dados em Excel, será revisado cuidadosamente para verificar a legibilidade de seu preenchimento e realizar a correção da codificação das variáveis, procurando-se evitar erros. A análise das variáveis descritivas será calculada a frequência, médias e desvio padrão. Para a análise das variáveis independentes utilizaremos o teste qui quadrado. O nível de significância estatística será quando $p < 0.05$. Para as variáveis categóricas foi utilizado análise de variância (ANOVA). Utilizamos análise de regressão logística para identificar e controlar fatores confundidores. Valor P considerado significativo foi < 0.05 . Para a realização destes procedimentos será utilizado o SAS versão 9.4.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Além do relatório de pesquisa, foi encaminhada a folha de rosto da CONEP assinada pelo pesquisador e complementada por autorização do Diretor da FCM/Unicamp. Foi encaminhada uma carta do responsável pela clínica onde serão coletados os dados confirmando a ciência. E solicitada

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

a dispensa do TCLE, com a justificativa de que “este será um estudo retrospectivo de levantamento de prontuários e não envolverá manipulação de fármacos, tecidos vivos e derivados hemoterápicos e nem haverá envolvimento com as mulheres”.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado, com dispensa do TCLE.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).
- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-la também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_959235.pdf	06/12/2017 17:05:39		Aceito
Outros	doc_autoriza.pdf	06/12/2017 17:04:54	larissamatsumoto	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_assinada.pdf	06/12/2017 17:03:33	larissamatsumoto	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_larissa.pdf	31/10/2017 21:28:35	larissamatsumoto	Aceito
Outros	carteira_funcional.pdf	30/10/2017 23:07:51	larissamatsumoto	Aceito
Outros	carta_aprovacao.pdf	30/10/2017 23:07:08	larissamatsumoto	Aceito
Outros	parecer.pdf	30/10/2017 23:06:42	larissamatsumoto	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

Continuação do Parecer: 2.461.668

CAMPINAS, 08 de Janeiro de 2018

Assinado por:

Renata Maria dos Santos Celeghini (Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

Página 09 de 09

Anexo 6

☆ Fertil Steril

Caixa de Entrada - Google 13:54

FS

Track your recent Co-Authored submission to FNS

Para: Larissa Matsumoto,

Responder A: Fertil Steril



*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Larissa Matsumoto,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Fertility and Sterility

Title: Results of the use of hCG, agonist GnRH and dual trigger on in vitro fertilization and evaluation of risk factors for sub-optimal maturation rate.

Corresponding Author: Daniela Yela

Co-Authors: Larissa Matsumoto; Lucas Yamakami; Cristina Benetti-Pinto;

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: <https://ees.elsevier.com/fns/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Larissa&lname=matsumoto&email=lari.matsu@gmail.com>

acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Larissa&lname=matsumoto&email=lari.matsu@gmail.com

Or log in: <https://ees.elsevier.com/fns/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=lari.matsu@gmail.com>

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at yeladaniela12@gmail.com.

Thank you,

Fertility and Sterility