

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM NEFROLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA,
ALBUMINÚRIA E FILTRAÇÃO GLOMERULAR ESTIMADA EM
PACIENTES SUBMETIDAS À ESTIMULAÇÃO OVARIANA PARA
FERTILIZAÇÃO *IN VITRO***

ROBERTA SOLETTI MUSACHIO

Porto Alegre

2014

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM NEFROLOGIA

**AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA,
ALBUMINÚRIA E FILTRAÇÃO GLOMERULAR ESTIMADA EM PACIENTES
SUBMETIDAS À ESTIMULAÇÃO OVARIANA PARA FERTILIZAÇÃO *IN*
*VITRO***

ROBERTA SOLETTI MUSACHIO

Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração em Nefrologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Carlos Ferreira Antonello

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Mariangela Badalotti

Porto Alegre

2014

DADOS DE CATALOGAÇÃO

M985a Musachio, Roberta Soletti

Avaliação da pressão arterial, da frequência cardíaca e da filtração glomerular estimada em pacientes submetidas à estimulação ovariana para fertilização *in vitro* / Roberta Soletti Musachio. Porto Alegre: PUCRS, 2014.

88 f.: il.; tab. Inclui artigo científico encaminhado para publicação no periódico *Obstetrics & Gynecology*.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Carlos Ferreira Antonello.
Co-orientadora: Profa. Dra. Mariangela Badalotti.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Nefrologia.

1. RIM. 2. PRESSÃO ARTERIAL. 3. ESTIMULAÇÃO OVARIANA. 4. FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*. 5. GESTAÇÃO. 6. ESTUDO QUASE EXPERIMENTO INTRA-GRUPOS. I. Antonello, Ivan Carlos Ferreira. II. Título.

CDD 616.61
CDU 591.461(043.3)
NLM WP 540

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antônio Carlos e Denize, pela educação recebida e pelo amor e dedicação imensuráveis, e aos meus irmãos, Daniela e Rodrigo, pela união e amizade sincera.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr Ivan Carlos Ferreira Antonello, que desde a Graduação vem iluminando o meu caminho com sua sabedoria, incentivo e disponibilidade. Muito obrigada por sua presença amiga e norteadora em mais esta etapa de minha formação profissional.

À Professora Dra Mariangela Badalotti, pela receptividade e pelos sábios e constantes conhecimentos adquiridos.

Ao meu irmão Rodrigo, pela valiosa colaboração na tradução do artigo para a língua inglesa.

Ao Professor Dr Mário Wagner, pela assessoria estatística.

Ao Serviço de enfermagem e às secretárias do Fertilitat e do Centro Cirúrgico Ambulatorial do Hospital São Lucas da PUCRS, pela contribuição no recrutamento de pacientes e na coleta das amostras.

A todos que, de alguma forma e em algum momento, tornaram exequível a nossa tarefa.

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar pressão arterial, frequência cardíaca, albuminúria e filtração glomerular estimada de pacientes submetidas à estimulação ovariana para fertilização *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODO: De março a setembro de 2013, este quase experimento intra-grupos analisou a variação da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC), albuminúria (AL) e filtração glomerular estimada (FGE) basais e após estimulação ovariana de 75 pacientes para fertilização *in vitro* (FIV), ainda antes da transferência embrionária. A PA foi verificada após repouso de cinco minutos, em duas medidas, sendo registrada a segunda. A filtração glomerular foi estimada pela fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*). O crescimento folicular foi avaliado por ecografias transvaginais seriadas.

RESULTADOS: a média de idade foi 36,89 anos. Trinta e três mulheres (44%) gestaram e 9 (12%) desenvolveram hiperestimulação ovariana. Não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de PA sistólica ($P=0,945$) e diastólica ($P=0,802$) e da FGE ($P=0,301$) antes e após a estimulação, porém houve diferença estatística no que concerne à FC ($P=0,012$) e à AL ($P=0,002$). Não houve diferença estatisticamente significativa na modificação das variáveis antes e após a estimulação entre gestantes e não gestantes, bem como em relação ao grupo que desenvolveu hiperestimulação ovariana em relação ao grupo com estimulação normal. Três pacientes desenvolveram perda aguda de função renal.

CONCLUSÕES: Estimulação ovariana não altera significativamente pressão arterial e FGE das pacientes submetidas à fertilização *in vitro*. A significância estatística do aumento no que concerne à FC e à AL não apresentou significado clínico. Gestação e hiperestimulação ovariana não alteraram o padrão das variáveis do estudo

Palavras-chaves: Rim, pressão arterial, estimulação ovariana, fertilização *in vitro*, gestação.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate blood pressure (BP), heart rate (HR), albuminuria (AL), and glomerular filtration rate (GFR) of patients undergoing ovarian stimulation to *in vitro* fertilization (IVF).

METHODS: From March to September 2013 this quasi-experimental design analyzed the variation of baseline and after BP levels, HR, AL, and GFR from 75 subjects, before embryo transfer. Blood pressure was measured after a five minutes at rest. Glomerular filtration was estimated by CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) equation. Follicular growth was assessed using serial ultrasound scans.

RESULTS: Median patient age was 36,89 years. Thirty-three (44%) women got pregnant, and 9 (12%) cycles were complicated by ovarian hyperstimulation. No statistically significant associations were found between systolic BP levels ($P=0,945$), diastolic BP levels ($P=0,802$), and GFR ($P=0,301$) before and after ovarian stimulation. However, this study found a statistically significant correlation of HR ($P=0,012$) and AL ($P=0,002$) with ovarian stimulation. There was no statistically significant difference in the modification of variables before and after stimulation between patients who got pregnant from those who did not pregnant, as well as the group who developed ovarian hyperstimulation compared with group that developed the expected number of follicles. Three patients developed acute kidney injury.

CONCLUSION: Ovarian stimulation to IVF does not change the BP levels, and GFR of patients undergoing it. There is statistically significant increasing of HR and AL, but without clinical relevance. Pregnancy and ovarian hyperstimulation does not alter the pattern of the study variables.

Keywords: Arterial blood pressure, renal function, ovarian stimulation, *in vitro* fertilization, pregnancy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Algoritmo da distribuição de participantes no estudo15
- Figura 2**- Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não- gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da pressão arterial sistólica em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*..... 19
- Figura 3** - Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não- gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da pressão arterial diastólica em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*.. 20
- Figura 4** - Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não- gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da frequência cardíaca em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*..... 23
- Figura 5** -Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não- gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da albuminúria em amostra (escala logarítmica)..... 24
- Figura 6** - Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não- gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da creatinina em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*..... 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pacientes submetidas à fertilização <i>in vitro</i> incluídas no estudo	16
Tabela 2 - Análise não ajustada da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana.....	18
Tabela 3 - Análise da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana ajustada para a idade	21
Tabela 4 - Análise da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana no grupo de pacientes em hiperestimulação ovariana	22
Tabela 5 - Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das pacientes que gestaram e das pacientes que não gestaram	23
Tabela 6 - Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das pacientes que desenvolveram hiperestimulação ovariana e das pacientes que não desenvolveram hiperestimulação ovariana	25
Tabela 7 - Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das gestantes que desenvolveram hiperestimulação ovariana e das gestantes que não desenvolveram hiperestimulação ovariana	26

LISTA DE ABREVIATURAS

PA	Pressão Arterial
FC	Frequência cardíaca
AL	Albuminúria
FGE	Filtração glomerular estimada
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
SHO	Síndrome de Hiperestimulação Ovariana
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
FSH	Hormônio folículo-estimulante
LH	Hormônio luteinizante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas hipofisárias
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes

SUMÁRIO

1. RESUMO	vi
2. ABSTRACT	vii
3. LISTA DE FIGURAS	viii
4. LISTA DE TABELAS	ix
5. LISTA DE ABREVIATURAS	x
6. SUMÁRIO	xi
7. INTRODUÇÃO	01
7.1 ASPECTOS GERAIS	01
7.2 FÁRMACOS UTILIZADOS EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA E TÉCNICAS DE FERTILIZAÇÃO <i>IN VITRO</i>	02
7.3 COMPLICAÇÕES EM MEDICINA REPRODUTIVA.....	04
7.4 ASPECTOS FISIOLÓGICOS GESTACIONAIS	08
8. OBJETIVOS	10
8.1 GERAL	10
8.2 ESPECÍFICOS	10
9. MATERIAIS E MÉTODOS	11
9.1 DELINEAMENTO, CRITÉRIOS, DEFINIÇÕES E ASPECTOS ÉTICOS..	11
9.2 PROTOCOLO DE TRATAMENTO	12
9.3 MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS	13
9.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
10. RESULTADOS	15
11. DISCUSSÃO	27
12. CONCLUSÕES	32
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

ANEXOS	42
Anexo 1 - Aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão Científica do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)	42
Anexo 2 -Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).....	43
Anexo 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	45
Anexo 4–Artigo Original em Inglês	47
Anexo 5-Artigo em Português	64
Anexo 6 –Confirmação de Submissão do Artigo	82

1. INTRODUÇÃO

1a. Aspectos Gerais

Mais de 70 milhões de casais sofrem de infertilidade ao redor do mundo, sendo que a maioria deles reside em países desenvolvidos (1), onde fatores anatômicos costumam ser as causas mais prevalentes. Já nos países em desenvolvimento, a etiologia mais comum é o fator tubário, devido principalmente às doenças sexualmente transmissíveis (2).

Infertilidade conjugal é a ausência de gestação detectada clinicamente após doze meses de vida sexual regular, sem o uso de métodos anticoncepcionais. Sua prevalência no Brasil é de 15%, semelhante à encontrada nos Estados Unidos (3). Devido à deliberada postergação da maternidade, própria dos dias atuais, e à crescente prevalência da infertilidade em nível mundial, a procura por procedimentos de reprodução assistida tem se elevado substancialmente. Atualmente nos Estados Unidos, cerca de um por cento dos nascimentos ocorrem com o auxílio da medicina reprodutiva (4).

Fertilização *in vitro* (FIV) refere-se a um procedimento designado a melhorar as taxas de infertilidade, visando à gravidez como resultado direto desta intervenção. Em geral, os ovários são estimulados por uma combinação de hormônios e então um ou mais oócitos são aspirados dos folículos ovarianos. Estas células são fertilizadas em laboratório (*in vitro*) e, posteriormente, um ou mais embriões são transferidos para a cavidade uterina (5). Estes passos ocorrem em um intervalo de cerca de 2 semanas, o que se denomina ciclo para FIV.

1b. Fármacos utilizados em Reprodução Assistida e Técnicas de Fertilização

in Vitro

O citrato de clomifeno foi o primeiro fármaco utilizado para indução da ovulação em mulheres com ciclos menstruais oligomenorrêicos. Sua indicação abrange pacientes com anovulação e níveis séricos de estrogênio normais (6). Iniciado no segundo ao quinto dia do ciclo menstrual e mantido por cinco dias, seu mecanismo de ação consiste na ligação a receptores estrogênicos hipotalâmicos, bloqueando assim a retroalimentação negativa do estradiol, e na ativação do mecanismo neuroendócrino para a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) (7).

Mais recentemente, foram introduzidos no mercado os inibidores da aromatase, representados pelo letrozol, fármacos também indicados para a indução da ovulação (8). Seu mecanismo de ação engloba supressão ovariana na conversão e produção de estradiol, com conseqüente aumento dos níveis do hormônio folículo-estimulante (FSH). Administrado do terceiro ao sétimo dia do ciclo menstrual, não apresenta efeito antiestrogênico endometrial como observado ao uso do citrato de clomifeno.

As gonadotrofinas hipofisárias são potentes estimuladoras da seleção, do recrutamento e do crescimento folicular ovariano (9). São representadas pelas gonadotrofinas sintéticas, constituídas pelo FSH recombinante, pelas gonadotrofinas naturais - extraídas da urina de mulheres menopausadas - e pelas gonadotrofinas naturais altamente purificadas.

Diversos estudos foram realizados com a finalidade de se comparar a efetividade e a segurança das gonadotrofinas naturais em relação ao FSH recombinante, trazendo resultados conflitantes. Uma metanálise avaliou os resultados de estudos randomizados controlados, destacando um aumento estatisticamente significativo de cinco por cento

nas taxas de gestação clínica das pacientes estimuladas com gonadotrofinas naturais (27%) quando comparadas com as taxas das pacientes sob estimulação ovariana com FSH recombinante (22%) (10). Em contrapartida, um estudo prospectivo observacional realizado em 2004 concluiu que pacientes tratadas com FSH recombinante apresentaram uma chance 16,6% maior nas taxas de natalidade do que as participantes seguidas com gonadotrofinas naturais (11).

O bloqueio hipofisário, realizado nas técnicas de reprodução assistida de alta complexidade como a fertilização *in vitro*, tem por objetivos prevenir picos prematuros de LH endógeno desencadeados pela elevação dos níveis de estradiol - afetando a qualidade dos oócitos - e sincronizar o crescimento folicular e o momento ideal de prosseguir à aspiração oocitária e à transferência dos embriões (12).

A supressão hipofisária é efetuada com análogos do GnRH. Atualmente, dois tipos de análogos podem ser utilizados. Os hormônios antagonistas do GnRH unem-se ao receptor hipofisário e, de forma competitiva, suprimem a função da glândula (13). Já os hormônios agonistas do GnRH tem a propriedade de provocar uma elevação inicial da liberação de FSH e de LH – o chamado efeito *flare up* – para depois provocar uma inibição pituitária (14).

A indução da ovulação deve ser executada quando houver maturidade folicular, a saber um diâmetro médio folicular de 16 a 18 mm mensurado por meio de ecografia transvaginal (15). Diversos fármacos podem ser utilizados para este fim, tais como gonadotrofina coriônica humana (hCG), agonistas do GnRH ou LH recombinante. A ovulação ocorre 36 a 40 horas após o uso do indutor e, por este motivo, a captação dos oócitos através da aspiração folicular deve ser realizada em 34 a 36 horas após sua administração (16).

A punção dos folículos ovarianos é realizada através de ecografia transvaginal, com uma agulha acoplada ao transdutor, sendo a paciente submetida à analgesia. A coleta seminal é realizada no momento da punção folicular. O líquido folicular é imediatamente examinado em estereomicroscópio, sendo os óvulos imersos em meio de cultura com 5% de gás carbônico e mantidos em estufa a 37°C até o momento da fecundação pelos espermatozoides (17).

A transferência dos embriões para a cavidade uterina é realizada sob visão ecográfica por via pélvica, e o acesso vaginal é utilizado para introdução de cateter contendo solução com o(s) embrião (ões), que é (são) direcionado(s) ao terço superior da cavidade endometrial. O momento da transferência embrionária varia de dois a cinco dias após a punção folicular, na dependência do padrão de multiplicação celular apresentado (18). O número de embriões transferidos varia, entre outros fatores, com a idade da mulher, com a qualidade e com quantidade de embriões disponíveis.

Nos ciclos de estimulação ovariana controlada para fertilização *in vitro*, frequentemente a produção hormonal de progesterona pelo corpo lúteo se torna insuficiente (19). Por esta razão, procede-se à suplementação da fase lútea com progesterona natural micronizada ou hCG a partir da captação oocitária. Este reforço medicamentoso é mantido até doze semanas de idade gestacional. A dosagem da fração beta do hCG é feita doze dias após a transferência embrionária (20).

1c. Complicações em Medicina Reprodutiva

A gemelaridade constitui complicação bem conhecida das técnicas de reprodução assistida. Esta condição configura pré-natal de alto risco, aumentando as

taxas de intercorrências como a prematuridade e a doença hipertensiva da gestação (21). A obtenção de embriões de melhor qualidade e em estágios mais avançados de seu desenvolvimento são medidas cabíveis na tentativa de se reduzir os riscos de gravidez múltipla após o procedimento de fertilização *in vitro* (22).

Outra complicação relatada na literatura é a síndrome da hiperestimulação ovariana, condição iatrogênica decorrente da resposta exacerbada do organismo à estimulação hormonal ovariana (23). O fator desencadeante da síndrome é o hCG endógeno – proveniente do tecido trofoblástico – ou exógeno. Este hormônio é responsável pela liberação de estradiol e de fatores angiogênicos como o fator de crescimento do endotélio (VEGF), fator ativador de plaquetas, histamina e interleucinas. Estas substâncias podem provocar fenômenos como o aumento da permeabilidade vascular, a ativação do sistema renina- angiotensina- aldosterona e o aumento do volume ovariano (24).

Estudos realizados inicialmente em roedores (25) e confirmados em humanos (26) mostraram que a permeabilidade vascular, os níveis de VEGF e do receptor de VEGF já estão elevados durante a fase de estimulação ovariana com gonadotrofinas, previamente à injeção de hCG, embora estes parâmetros sejam também estimulados pela administração do citado hormônio. VEGF causa um aumento da permeabilidade capilar através de um rearranjo das proteínas de junção endotelial, incluindo a caderina.

Uma correlação direta entre atividade da renina plasmática e a gravidade da SHO foi descrita há mais de duas décadas. Os ovários são capazes de sintetizar pró-renina e renina. Nas pacientes que desenvolvem SHO, a concentração de angiotensina II no folículo e no líquido de ascite é maior do que seus níveis séricos (27). Além disso, foi relatado um aumento dos níveis séricos da enzima conversora da angiotensina na

SHO grave. Entretanto, a ativação do sistema renina-angiotensina é provavelmente um efeito e não a causa da SHO. Toda condição hipovolêmica está associada a um hiperaldosteronismo secundário à ativação da cascata renina-angiotensina (28).

A prevalência da síndrome de hiperestimulação ovariana é de 10% em sua forma leve e de um a dois por cento em sua forma grave (29). Dentre os fatores de risco, citamos pacientes jovens – com menos de 35 anos de idade –, história prévia de hiperestimulação ovariana, síndrome dos ovários policísticos, presença de múltiplos pequenos folículos na periferia dos ovários previamente ao ciclo de estimulação, mais de 20 folículos imaturos ou intermediários durante a estimulação ovariana, níveis séricos de estradiol acima de 3.000 pg/mL no dia da administração do hCG, pelo menos 25 a 30 oócitos captados à punção folicular e uso do hCG para a indução da ovulação, entre outros (30).

Os aspectos mais importantes da prevenção da síndrome de hiperestimulação ovariana consistem no julgamento clínico durante a indução da ovulação e o reconhecimento de seus fatores de risco. Na presença de predisposição ao seu desenvolvimento, algumas estratégias tem sido associadas a uma redução da incidência da síndrome.

“*Coasting*” é um recurso no qual a administração do hCG é postergada em mulheres que respondem à estimulação da ovulação com altos níveis séricos de estradiol até a paciente alcançar um nível plasmático seguro do hormônio (31). Durante este período, a administração de gonadotrofinas pode ser reduzida ou mesmo suspensa. Entretanto, não há consenso em relação ao valor mínimo do estradiol sérico indicativo de suspensão da administração das gonadotrofinas. Na maioria dos artigos publicados, o ponto de corte está entre 2.500 e 4.000 pg/mL (32).

Os análogos antagonistas do GnRH causam imediata supressão da secreção de gonadotrofinas. Estes fármacos são utilizados após a estimulação exógena ter iniciado, encurtando a duração total do tratamento. Uma metanálise recente mostrou uma significativa redução na incidência de SHO grave bem como um número menor de intervenções necessárias para prevenção da síndrome (33). Além disso, quando usamos o protocolo com antagonistas do GnRH, existe a opção de se desencadear a maturação oocitária com análogos agonistas do GnRH, uma vez que esta última não foi utilizada no bloqueio hipofisário do mesmo ciclo de estimulação ovariana.

A albumina é um componente plasmático de baixo peso molecular com um impacto maior em sua pressão oncótica. Albumina humana é usada em pacientes com alto risco de desenvolver SHO no dia da administração do hCG para prevenir sua ocorrência (34). Entretanto, sua eficácia ainda é motivo de debate.

Atualmente, há indícios de que o emprego de agonistas da dopamina são capazes de prevenir a forma grave da SHO. A bromocriptina, na dose de 2,5mg, ou a cabergolina, na dose de 0,5mg, durante sete dias, foram utilizadas com eficácia. Em um estudo, a bromocriptina reduziu a incidência e gravidade da SHO em pacientes de alto risco sem afetar as taxas de gravidez (35).

A terapia com baixas doses de aspirina (100mg/dia, iniciada no primeiro dia da estimulação ovariana) mostrou ser efetiva na prevenção de SHO em pacientes de alto risco, como evidenciado em um grande ensaio clínico randomizado (36).

Por ainda não se dispor de meios concretos para a reversão ou tratamento desse processo quando já estabelecido, a filosofia ideal é prevenir sua ocorrência. A forma leve não requer tratamento, exceto repouso e acompanhamento médico para avaliar um

possível agravamento do processo. Por outro lado, a condição grave poderá necessitar de hospitalização e repouso total até a resolução do quadro clínico síndrome (37).

1d. Aspectos Fisiológicos Gestacionais

A gravidez normal é caracterizada por uma série de mudanças hemodinâmicas tais como vasodilatação generalizada, aumento da complacência arterial, redução da resistência arterial periférica, elevação da perfusão renal e da taxa de filtração glomerular (38, 39, 40). A taxa de filtração glomerular se eleva marcadamente durante a gravidez, fenômeno já evidenciado no primeiro mês após a concepção, alcançando valores 50% acima dos níveis não gestacionais no começo do segundo trimestre, quando então passa a declinar sutilmente até o termo (41).

Como se vê, há alterações relacionadas à estimulação, mais notadamente na hiperestimulação ovariana, que levam ao aumento da permeabilidade vascular e ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (24). Também foi descrita correlação direta entre atividade da renina plasmática e gravidade da SHO, sendo que a concentração de angiotensina II no folículo e no líquido de ascite é maior do que seus níveis séricos (27). Cabe a dúvida se já há alguma alteração em aspectos hemodinâmicos ou repercussão renal da estimulação ovariana nestas pacientes submetidas ao método. Tanto mais quando sabemos quantas modificações hemodinâmicas e da fisiologia renal ocorrem logo após o início da gestação.

Devido à significativa parcela de pacientes inférteis e, conseqüentemente, à crescente busca por tratamentos em medicina reprodutiva na atualidade e com vistas a um melhor entendimento do padrão hemodinâmico e renal nesta situação, estudamos a

variação da pressão arterial, da frequência cardíaca e da filtração glomerular estimada das pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada para fertilização *in vitro*. Além disso, observamos estas variáveis na tentativa de identificar diferenças no grupo de pacientes que engravidou e no grupo que evoluiu com hiperestimulação ovariana. A hipótese deste estudo é a de que o processo de estimulação ovariana controlada para fertilização *in vitro* altera os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, de frequência cardíaca e de filtração glomerular estimada das pacientes submetidas ao referido procedimento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a pressão arterial, frequência cardíaca, albuminúria em amostra, creatinina sérica e filtração glomerular estimada de pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada para fertilização *in vitro*.

2.2 Objetivos Específicos

Em pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada para fertilização *in vitro*, comparar pressão arterial, frequência cardíaca, albuminúria em amostra, creatinina sérica e filtração glomerular estimada:

1. Antes e após a estimulação ovariana;
2. Considerando o desfecho gestação ou ausência de gestação;
3. Considerando o desfecho hiperestimulação ou desenvolvimento de número esperado de folículos à ecografia.

2. MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Delineamento, Critérios, Definições e Aspectos Éticos

Este quase experimento intra-grupos analisou a variação da pressão arterial, da frequência cardíaca e da filtração glomerular estimada de pacientes inférteis acompanhadas na clínica Fertilitat – Centro de Medicina Reprodutiva, de março a setembro de 2013.

O estudo incluiu mulheres sob estimulação ovariana para fertilização *in vitro*. Foram excluídas as participantes com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (HAS), nefropatia prévia, em uso de medicações que alterassem seus níveis de PA ou sem resposta ovariana ao tratamento.

HAS englobou pacientes com história prévia de hipertensão arterial, já em uso de anti-hipertensivos ou com pressão arterial casual em duas medidas evidenciando pressão arterial sistólica igual ou maior do que 140 mmHg e/ou a pressão arterial diastólica igual ou maior do que ou igual a 90 mmHg, obtidas na primeira consulta para estimulação ovariana. Nefropatia crônica engloba um grupo heterogêneo de desordens caracterizadas por alterações na estrutura e na função renais, que se manifestam de várias formas, na dependência da (s) causa (s) subjacente (s) e da gravidade da doença (42). Para este estudo considerou-se como nefropatia a presença de alteração no sedimento urinário, de aumento de albuminúria ou com filtração glomerular estimada menor do que 60 ml/minuto/1,73 m².

Conceituou-se ausência de resposta ovariana à estimulação hormonal controlada a não produção de folículos ovarianos com diâmetro médio acima de 10 mm até o oitavo dia do ciclo menstrual (43).

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil (*Anexos 1 e 2*). Todas as pacientes assinaram um termo de consentimento informado previamente ao início da pesquisa (*Anexo 3*).

3.2 Protocolo de Tratamento

As pacientes foram submetidas à estimulação ovariana controlada usando FSH e/ou LH recombinante, por via subcutânea, em doses que variam de 225UI a 75UI ao dia, na dependência da idade da mulher e do aspecto ecográfico que denota o potencial da reserva ovariana. O bloqueio hipofisário foi realizado com antagonista do GnRH, na dose de 0,25 mg/dia, por via subcutânea (44). A estimulação dos ovários foi alcançada quando pelo menos 3 folículos atingiram um diâmetro médio de 18mm. Neste momento, foi administrada gonadotrofina coriônica humana recombinante (rhCG), também por via subcutânea, na dose de 250 mcg, para promover a maturação oocitária (45). A punção folicular foi realizada 36 horas após a administração do hCG.

3.3 Mensuração das Variáveis

Foram obtidas creatinina e albuminúria basais de cada participante. A creatinina sérica foi mensurada pela reação de *Jaffé* modificada, e a albuminúria em amostra pela técnica de turbidimetria. No segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual, foram medidas pressão arterial e frequência cardíaca e realizada a primeira ecografia transvaginal.

A pressão arterial foi mensurada utilizando-se esfigmomanômetro mecânico aneróide, com a paciente na posição sentada, com a braçadeira posicionada dois dedos acima do cotovelo do membro superior esquerdo, apoiando-o com a palma da mão virada para cima. Foi solicitado às participantes que não fumassem, comessem ou praticassem exercícios físicos nos 30 minutos prévios à verificação e que descansassem por 5 minutos antes das medidas. Realizaram-se duas mensurações com intervalo de um minuto, e utilizada para registro a segunda medida. A verificação da frequência cardíaca foi realizada após a medida da PA, contando-se em 30 segundos o número de pulsações na artéria radial e multiplicado por dois para obter o número de batimentos por minuto.

Para estimativa da filtração glomerular usamos a fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*), que constitui de quatro variáveis, a saber creatinina sérica, raça, idade e gênero dos indivíduos (46, 47). Esta equação foi desenvolvida na tentativa de criar uma fórmula menos imprecisa do que as habituais, especialmente quando a TFG é maior que 60 mL/min por 1.73 m². Também calculamos a taxa de filtração glomerular estimada pela fórmula MDRD (*Modification of Diet in renal Disease*) (46).

As pacientes realizaram ecografias seriadas - a cada 4 ou 5 dias - para acompanhamento do crescimento folicular. Uma vez alcançada a maturidade folicular,

foram submetidas à aspiração dos oócitos, momento no qual foram mensuradas pela segunda vez pressão arterial, frequência cardíaca, creatinina sérica e albuminúria em amostra. A partir daí, as participantes iniciaram a administração de progesterona intravaginal para suplementação da fase lútea. A transferência dos embriões para a cavidade uterina foi realizada dois a cinco dias após a aspiração folicular, dependendo de sua multiplicação celular.

O desfecho gravidez foi considerado na presença de um exame beta-hCG positivo e de uma ecografia transvaginal contendo saco gestacional com embrião com batimentos cardíacos presentes. Hiperestimulação ovariana foi constatada quando houve a produção de mais de 20 folículos ao longo do seguimento ecográfico (48).

3.4 Análise Estatística

Para a análise estatística, os dados foram organizados e registrados no programa Excel® 97-2003 e inseridos no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 16 para o Windows. As variáveis contínuas foram apresentadas em média e desvio-padrão (DP) e razão de médias - para variação ocorrida entre dois momentos - na análise descritiva. Variáveis de distribuição assimétrica foram expressas em mediana. Foi utilizado o teste *t - Student* para a comparação entre os grupos, sendo o P representativo das diferenças estatísticas. Variáveis categóricas foram apresentadas por número de ocorrências e porcentagem.

4. RESULTADOS

O presente estudo iniciou com 84 pacientes submetidas à estimulação ovariana. Destas, nove foram excluídas, restando 75. Abaixo algoritmo do estudo com exclusões.

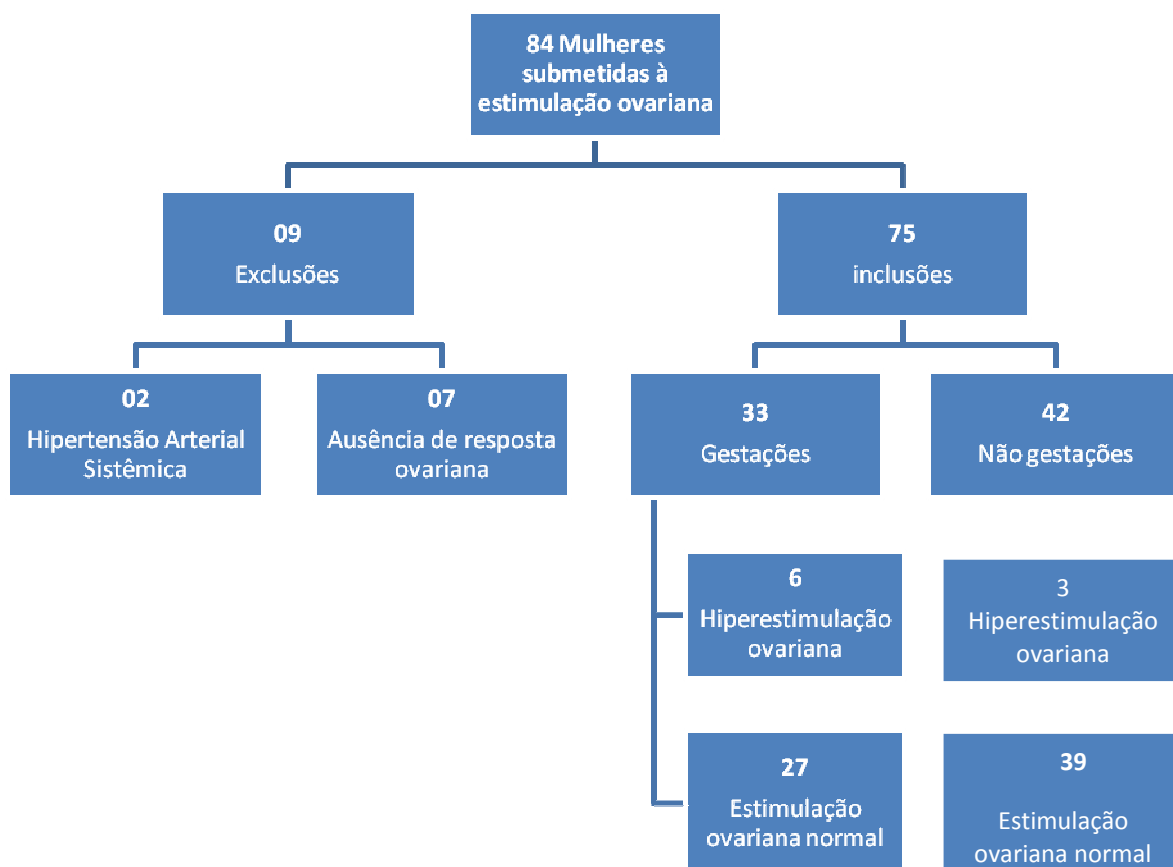


Figura 1. Algoritmo da distribuição de participantes no estudo.

A amostra final das 75 mulheres incluídas no estudo evidenciou uma média de idade de 36 anos, com desvio padrão $\pm 3,9$ anos. Uma paciente (0,75%) era de cor negra, e todas as demais brancas. Trinta e três mulheres (44%) gestaram, e 9 (12%) evoluíram com hiperestimulação ovariana. Estes dados estão expostos na *Tabela 1*.

Tabela 1: Pacientes submetidas à fertilização *in vitro* incluídas no estudo (n=75).

Variáveis	Média \pm Desvio Padrão ou Número Absoluto e Percentagem
	n=75
Idade (anos)	36,89 \pm 3,9
Cor Branca	74 (99,25%)
Gestação	33 (44%)
Hiperestimulação Ovariana	9 (12%)
Gestação e Hiperestimulação	6 (8%)
Não Gestação e Hipertimulação	3 (4%)

Previamente ao início da estimulação ovariana, a média da pressão arterial sistólica das pacientes foi 110,23 mmHg (95 a 125), e a média da pressão arterial diastólica foi 69,53 mmHg (53 a 82). A frequência cardíaca das participantes teve média 69,17 bpm (60 a 84). A mediana da albuminúria em amostra foi 3,9 mg/dL. A média da creatinina sérica foi 63,64 μ mol/L (35,36 a 97,24). A média da filtração glomerular

estimada pela fórmula CKD-EPI foi de 103,48mL/min/1,73m² (64 a 144), e a estimada pela fórmula MDRD foi de 99,46 mL/min/1,73m² (59 a 152).

Já após a estimulação folicular, a média da pressão arterial sistólica foi 110,10 mmHg (92 a 130), e a média da pressão arterial diastólica foi 69,17 mmHg (56 a 85). A frequência cardíaca mostrou média 71,42 bpm (60 a 84). A mediana da albuminúria em amostra foi 7,5 mg/dL. A média da creatinina sérica foi 66,30 µmol/L (53,04 a 97,24). A média da filtração glomerular estimada pela fórmula CKD-EPI foi de 100,98 mL/min/1,73m² (64 a 120), e a estimada pela fórmula MDRD foi de 94,30 mL/min/1,73m² (59,00 a 131,00).

Quatorze pacientes apresentaram um aumento dos níveis basais de creatinina sérica em 25% e três deles em 50% após a estimulação ovariana. A variação das pressões arteriais sistólica e diastólica, de frequência cardíaca e de albuminúria destas três participantes não mostrou diferença estatisticamente significativa das restantes. Quando ajusta-se tais variáveis para os desfechos ausência ou presença de gestação, os resultados também não evidenciaram diferença estatisticamente significativa.

Não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, de creatinina sérica e da filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana. Já no que concerne à frequência cardíaca e à albuminúria em amostra, houve significativa diferença estatística. Estes achados estão agrupados na *Tabela 2*.

Tabela 2: Análise não ajustada da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana (n=75).

Variáveis	Pré-estimulação	Pós-estimulação	P
n=75			
PAS* média (mmHg)	110,23± 7,93	110,10± 8,22	0,945
PAD** média (mmHg)	69,53± 5,68	69,17± 6,74	0,802
FC*** média (bpm)	69,17± 6,08	71,42± 6,78	0,012
Albuminúria: mediana (mg/dL)	3,9	7,5	0,002
Creatinina média (µmol/L)	63,64±12,37	66,30±10,60	0,202
FGE**** média (mL/min/1,73m ²)	103,48 ± 17,00	100,98 ± 15,19	0,301
por CKD-EPI			
FGE**** média (mL/min/1,73m ²)	99,46 ± 22,37	94,30 ± 15,9	0,300
por MDRD			

* Pressão Arterial Sistólica; ** Pressão Arterial Diastólica; *** Frequência Cardíaca;

**** Filtração Glomerular Estimada.

As figuras 2 e 3 evidenciam gráficos de dispersão de pontos representando cada paciente do estudo e os *box-plot* estratificados por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais das pressões arteriais sistólica e diastólica em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*. Vê-se na *Figura 2* que, para PA sistólica, 17,4% das pacientes tiveram aumento de no mínimo 10%, e 2,7% um aumento mínimo de 20%. Na *Figura 3*, vê-se que, para PA diastólica, 20% dos pacientes tiveram aumento de no mínimo 10%, e 5,3% aumento mínimo de 20%.

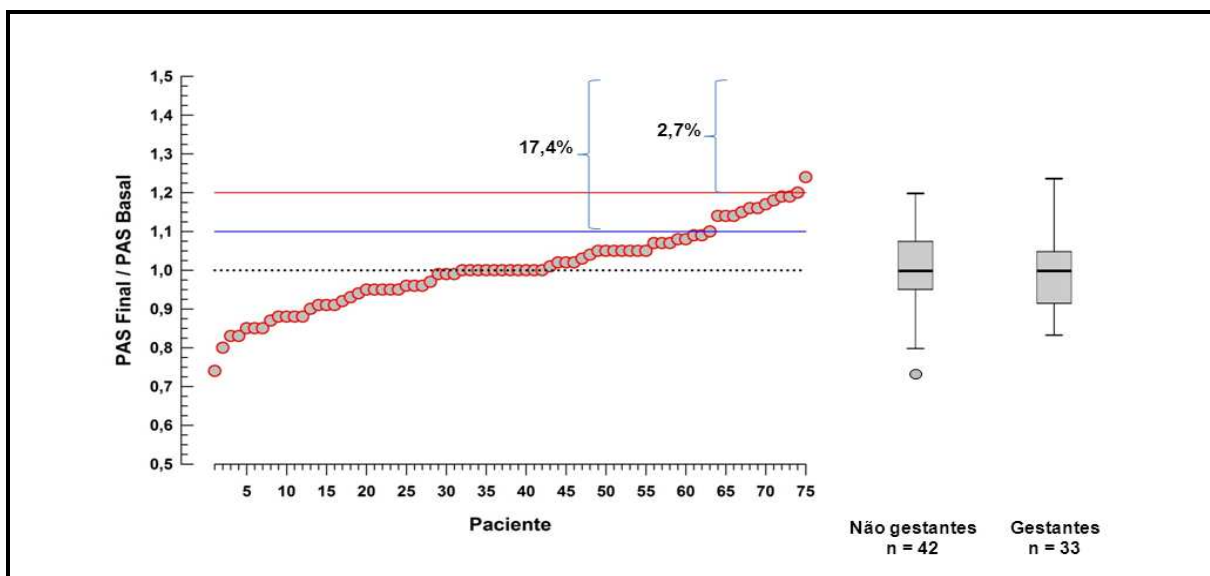


Figura 2. Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da pressão arterial sistólica em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*.

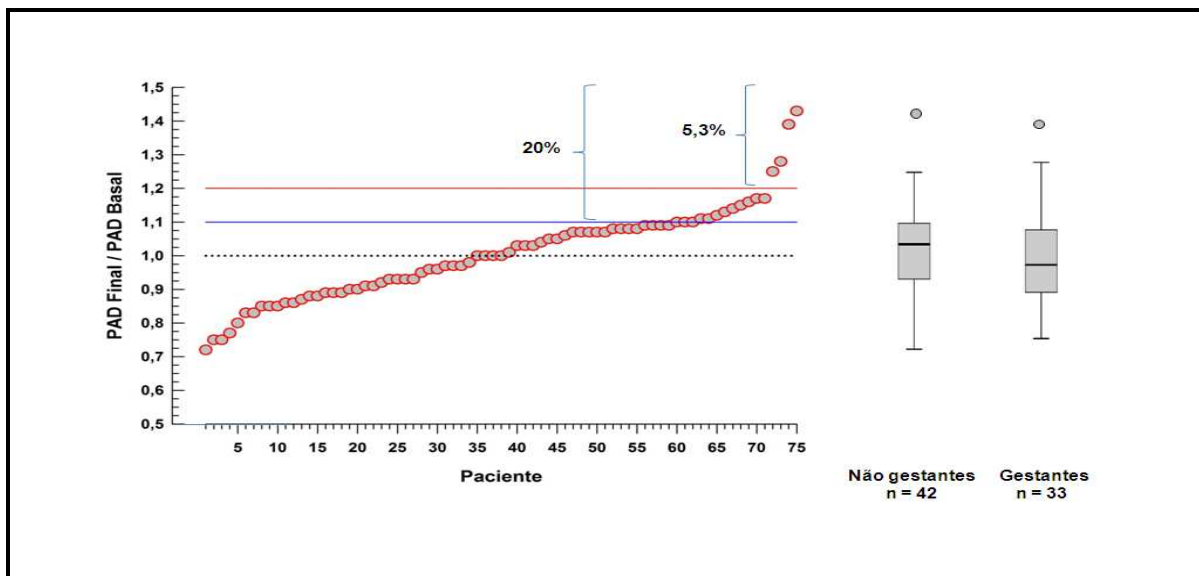


Figura 3. Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da pressão arterial diastólica em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*.

Em relação à análise ajustada para a idade, houve diferença estatisticamente significativa na elevação dos níveis de frequência cardíaca e de albuminúria com o aumento da idade. Os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica e da creatinina sérica não sofreram influência com a variação da idade das mulheres, como visto na *Tabela 3*.

Tabela 3: Análise da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana ajustada para a idade (n=75).

VARIÁVEIS n=75	RAZÃO DE MÉDIAS	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	P
PAS	1,00	0,97	1,02	0,933
PAD	0,99	0,96	1,02	0,744
FC	1,03	1,00	1,05	0,015
Albuminúria	1,46	1,14	1,88	0,003
Cr	1,03	0,98	1,08	0,125
FGE	1,01	0,88	1,03	0,201

Nove pacientes (12%) desenvolveram hiperestimulação ovariana após estimulação folicular. Neste grupo de participantes, o padrão das variáveis antes e após a estimulação não diferiu com significância estatística para nenhuma das variáveis estudadas. A *Tabela 4* expressa estes resultados.

Tabela 4: Análise da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana no grupo de pacientes em hiperestímulo ovariano (n=9).

Variáveis	Pré-estimulação	Pós-estimulação	P
N=9			
PAS média (mmHg)	112,15± 7,99	108,47± 7,49	0,25
PAD média (mmHg)	70,39± 5,04	68,05± 6,45	0,32
FC média (bpm)	71,78± 5,37	74,10± 7,58	0,20
Albuminúria: mediana (mg/dL)	3,00	3,00	0,88
Creatinina média (µmol/L)	61,88±11,49	67,18±8,84	0,78
FGE média (mL/min/1,73m²)	107,63± 17,87	101,00± 14,44	0,23

Antes e após estimulação ovariana, não houve diferença estatisticamente significativa na variação dos níveis de pressão arterial sistólica, de pressão arterial diastólica, de frequência cardíaca, de albuminúria em amostra, de creatinina e de filtração glomerular estimada das pacientes que engravidaram em relação àquelas que não engravidaram. A *Tabela 5* e o *blox plot* das figuras 2, 3, 4, 5 e 6 mostram os números da análise.

Tabela 5: Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das pacientes que gestaram (n=33) e das pacientes que não gestaram (n=42).

VARIÁVEIS	RAZÃO DE MÉDIAS GESTANTES n=33	RAZÃO DE MÉDIAS NÃO GESTANTES n=42	P
PAS	1,02	0,98	0,83
PAD	0,98	0,95	0,65
FC	0,99	0,96	0,15
Albuminúria	1,35	1,10	0,12
Cr	1,02	0,96	0,16
FGE	0,85	0,88	0,20

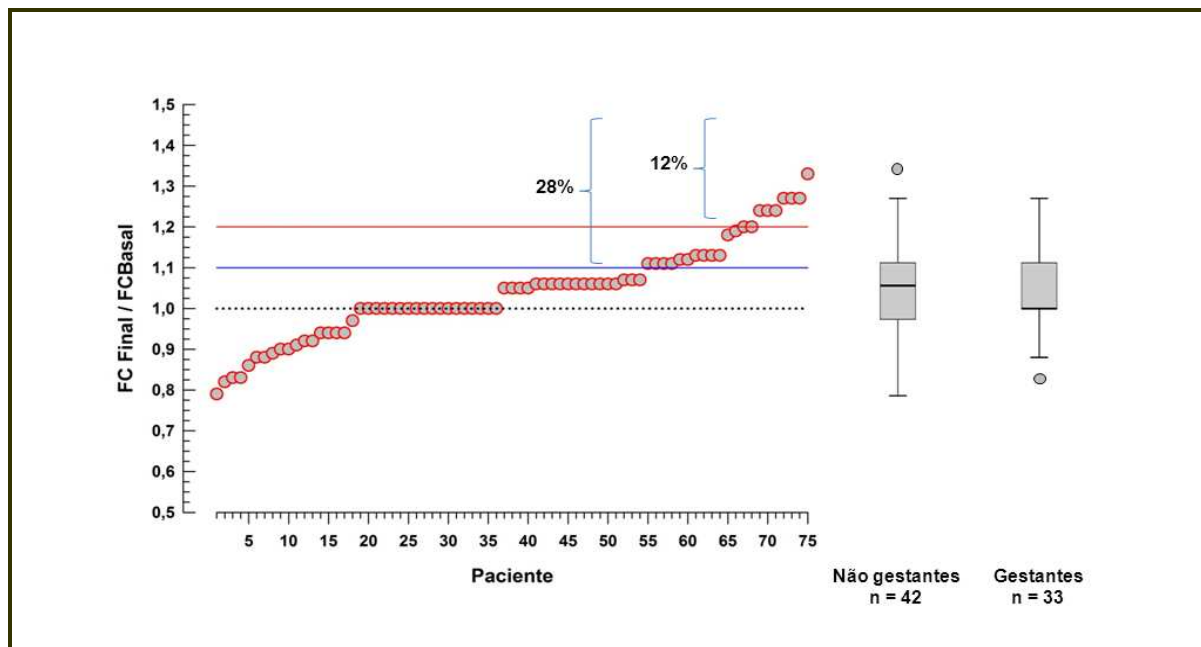


Figura 4. Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da frequência cardíaca em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*.

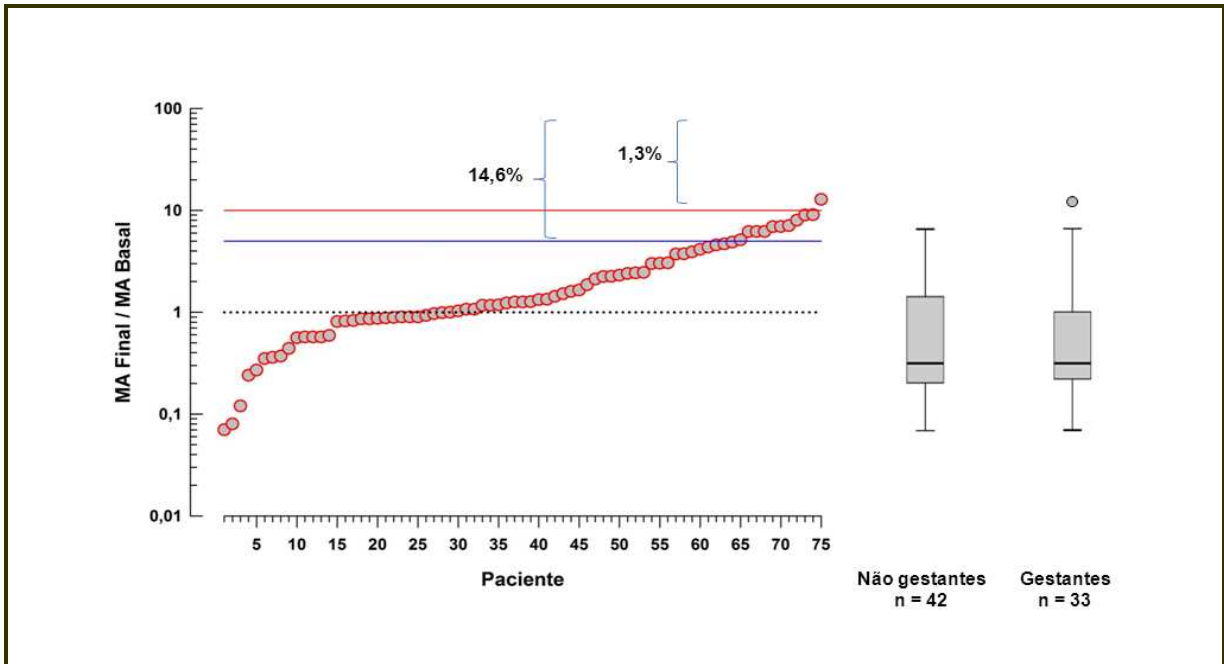


Figura 5. Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da albuminúria em amostra (escala logarítmica).

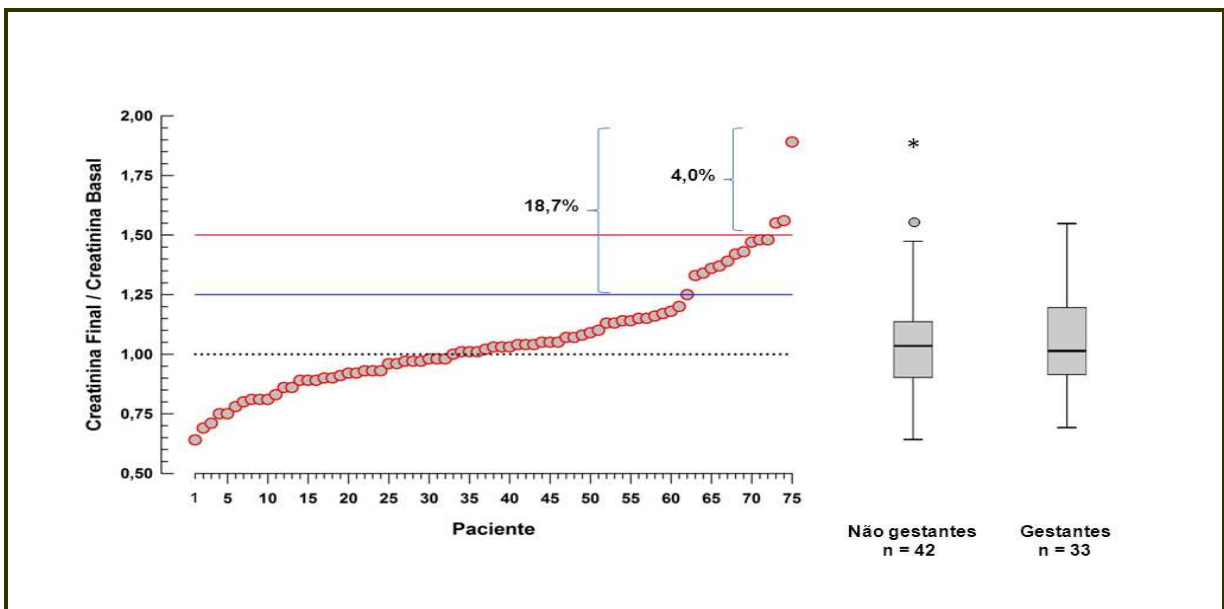


Figura 6. Gráfico de dispersão de pontos e *box-plot* estratificado por gravidez e não-gravidez representando a razão entre os valores finais e basais da creatinina em mulheres submetidas à estimulação ovariana para Fertilização *in vitro*.

Não se evidenciou diferença estatisticamente significativa na modificação das variáveis estudadas antes e após a estimulação no grupo de pacientes que desenvolveu hiperestimulação ovariana em relação ao grupo que não evoluiu com o referido desfecho, como mostra a *Tabela 6*.

Tabela 6: Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das pacientes que desenvolveram hiperestimulação ovariana (n=9) e das pacientes que não desenvolveram hiperestimulação ovariana (n=66), independente da gestação.

VARIÁVEIS	RAZÃO DE MÉDIAS HIPERESTIMULAÇÃO n=9	RAZÃO DE MÉDIAS NÃO HIPERESTIMULAÇÃO n=66	P
PAS	1,00	0,98	0,52
PAD	0,96	0,93	0,13
FC	1,02	1,03	0,23
Albuminúria	1,05	0,97	0,82
Cr	1,08	1,06	0,56
FGE	0,81	0,85	0,24

Quando separamos os grupos em pacientes que gestaram e que desenvolveram hiperestimulação ovariana *versus* aquelas que gestaram e não desenvolveram também não houve diferença. Estes achados estão expostos na *Tabela 7*.

Tabela 7: Análise da variação de PAS, de PAD, de FC, de albuminúria, de creatinina e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana das gestantes que desenvolveram hiperestimulação ovariana (n=6) e das gestantes que não desenvolveram hiperestimulação ovariana (n=27).

VARIÁVEIS	RAZÃO DE MÉDIAS	RAZÃO DE MÉDIAS	P
	GESTANTES +	GESTANTES + NÃO	
	HIPERESTIMULAÇÃO	HIPERESTIMULAÇÃO	
	n=6	n=27	
PAS	1,02	0,99	0,06
PAD	0,92	0,94	0,11
FC	1,03	1,05	0,08
Albuminúria	1,00	0,97	0,80
Cr	1,03	1,05	0,45
FGE	0,94	1,01	0,14

5. DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta as características das pacientes, como se vê com uma alta média de idade a considerar a intenção de gestação, mas denotando claramente que são mulheres que buscam a fertilização ovariana por dificuldade anterior, e tentativas frustradas de gravidez. O grupo de paciente parece refletir o extrato social, ao verificarmos que das 84 pacientes possíveis para o estudo, apenas uma era de cor negra.

Os resultados do presente estudo, expressos nas tabelas dois e três do capítulo de resultados, reforçam os poucos dados contidos na literatura de que o processo de estimulação ovariana para fertilização *in vitro* não altera os níveis basais de pressão arterial sistólica e diastólica, da frequência cardíaca, creatinina sérica e da filtração glomerular estimada das pacientes submetidas ao referido tratamento (49, 50).

Vimos que quatorze pacientes (18,7%) apresentaram um aumento de 25% na creatinina sérica, e três pacientes (4%), como visualizado na *Figura 6*, apresentaram um aumento da creatinina sérica de 50%, passível do diagnóstico de insuficiência renal aguda. No entanto, a variação das pressões arteriais sistólica e diastólica, de frequência cardíaca e de albuminúria destas mulheres não mostrou diferença estatisticamente significativa das restantes. Manteve-se o resultado quando ajustou-se as variáveis para os desfechos ausência ou presença de gestação ou de hiperestimulação.

Então como interpretar os achados em que, após estimulação ovariana, três das 75 pacientes apresentaram insuficiência renal aguda segundo um dos três critérios do *Kidney Disease Improving Global Guidelines (KDIGO)* (51), sem que a variação dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, de frequência cardíaca e de albuminúria

destas três pacientes não se alteraram significativamente antes e após a estimulação ovariana? Novamente estamos lidando com números pequenos, no que se refere à creatinina sérica, e variações atinentes ao próprio método laboratorial podem ter influenciado na diferença já que se tem uma única medida. A mesma consideração pode ser feita se considerarmos que a FGE é calculada pela CKD-EPI. O uso de diferentes fórmulas para cálculo da taxa de filtração glomerular estimada não alterou os resultados do estudo no que concerne à variação de seus níveis antes e após estimulação ovariana controlada.

Em relação à frequência cardíaca e à albuminúria em amostra, houve diferença estatística significativa das medidas após a estimulação ovariana. Todavia, a variação não parece configurar-se em achados clinicamente relevantes, já que em números absolutos a variação é pequena. A diferença estatística ocorreu devido ao número de pacientes incluídos no estudo, que possibilitaram que se evidenciasse este significado dos números. Cabe salientar que, uma vez que o início da estimulação ovariana ocorre nos primeiros dias do ciclo menstrual, e que o sangramento transvaginal proveniente da menstruação pode gerar falsos-positivos nos níveis da proteinúria em amostra (49), optamos por obter sua amostra pré-estimulação até os seis meses que antecederam a pesquisa.

Após os 35 anos, o aumento da idade da mulher reduz drasticamente suas taxas de fertilidade (52). Isto se mostra mesmo neste estudo, quando nos reportamos ao algoritmo da figura 1, que inicia a apresentação do capítulo de resultados, e verificamos que 42 pacientes, ou 56% das 75 pacientes que realizaram estimulação ovariana não gestaram. A análise mostrou que pacientes com maior idade apresentaram um aumento dos níveis de frequência cardíaca e de albuminúria em relação aos seus níveis basais,

após submetidas à estimulação ovariana, com significado estatístico. A influência da idade das mulheres não se reproduziu quando avaliamos seus níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, da creatinina sérica e da filtração glomerular estimada. É sabido que a Hipertensão Arterial Sistêmica na gravidez tem como grupo de risco gestantes com idade mais avançada, e o fato de apresentação de Hipertensão Arterial está relacionada a um maior risco futuro de elevação dos níveis de albuminúria destas pacientes (53). Talvez os dados encontrados estejam mais relacionados à própria idade do que à gestação ou ocorrência de hiperestimulação, pois como vemos nas tabelas 5, 6 e 7 do capítulo de resultados, e como comentado abaixo, gestação ou hiperestimulação não fizeram diferença no exame das variáveis examinadas.

Quando é analisado o grupo de participantes que engravidaram e o comparamos com o grupo em que não houve gestação, não se evidencia mudança estatisticamente significativa entre os níveis basais de pressão arterial sistólica e diastólica, de frequência cardíaca e de filtração glomerular estimada antes e após o tratamento. Todavia é sabido que os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica bem como os de frequência cardíaca se alteram durante a gravidez (54). Observa-se pouca diferença na pressão arterial sistólica, sendo que corre uma redução de 5 a 10 mmHg na pressão arterial diastólica entre a 12^a e a 26^a semanas de gestação, bem como um aumento da frequência cardíaca em cerca de quinze batimentos por minuto. São observações conhecidas na gestação e que pelo que se vê iniciam mesmo após o início da gestação e não estão presentes durante o período da estimulação ovariana para fertilização *in vitro*.

A síndrome de hiperestimulação ovariana é uma complicação suprafisiológica do estímulo ovariano com gonadotrofinas, que ocorre na dependência de fatores de risco como a presença de síndrome de ovários policísticos e história prévia da referida

síndrome, entre outros (55). No presente estudo, procurou-se identificar o comportamento destas variáveis na gestante quando ocorria hiperestímulo ovariano identificado pela imagem. Não houve diferença estatisticamente significativa das variáveis pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca, albuminúria em amostra, creatinina sérica e filtração glomerular estimada das pacientes que apresentaram hiperestimulação ovariana em comparação com as mulheres que não evoluíram com o referido desfecho. Da mesma forma, não houve significância estatística na variação das referidas variáveis antes e após a estimulação ovariana entre as pacientes que gestaram além de desenvolver hiperestimulação ovariana *versus* as gestantes que não evoluíram com o referido desfecho.

Como restrições deste estudo, apontamos a falta de um ou mais momentos intermediários entre as aferições de pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca, albuminúria e creatinina sérica antes e após a estimulação ovariana com vistas à detecção de uma possível alteração de seus níveis nos referidos intervalos. Não sabemos, também, se os resultados obtidos no presente estudo podem ser aplicados em gestações espontâneas, uma vez que estes se relacionam às técnicas de reprodução assistida.

Assim, tornam-se necessários mais estudos, envolvendo mulheres que gestaram espontaneamente e com aferições de pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca e cálculo de filtração glomerular estimada nos diversos momentos desde a pré-concepção até a detecção de gestação clínica para melhor elucidação da variação destes parâmetros nesta fase do menacme. De outro lado, seria também interessante a avaliação destas mulheres durante a gestação, comparando a variação das mesmas

variáveis em um grupo de pacientes com gestação não ocorrida pela estimulação ovariana *in vitro*, situação já bem estudada.

6. CONCLUSÕES

Neste estudo, com a metodologia proposta e com uma amostra de 75 mulheres participantes, com média de idade de 36,89 anos, verificou-se que após estimulação ovariana para fertilização *in vitro* 33 (44%) delas gestaram e 9 (12%) evoluíram com hiperestimulação ovariana, e que:

1. não houve alteração dos níveis basais de pressão arterial sistólica e diastólica, de creatinina sérica e da filtração glomerular estimada;
2. houve significativa diferença estatística no que concerne ao aumento da frequência cardíaca e à albuminúria em amostra, sem significado clínico;
3. três pacientes (4%) apresentaram insuficiência renal aguda sem repercussão clínica segundo um dos critérios do KDIGO, sem, todavia, apresentarem variação estatisticamente significativa dos níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, de frequência cardíaca, de albuminúria e de filtração glomerular estimada antes e após a estimulação ovariana;
4. em relação à análise ajustada para a idade, houve diferença estatisticamente significativa na elevação dos níveis de frequência cardíaca e de albuminúria com o aumento da idade, o mesmo não ocorrendo para a variação das pressões arteriais sistólica e diastólica, da creatinina sérica e da filtração glomerular estimada;
5. as pacientes que gestaram não mostraram diferença estatisticamente significativa dos níveis das pressões arteriais sistólica e diastólica, da frequência cardíaca, da

albuminúria, da creatinina sérica e da filtração glomerular estimada em comparação àquelas que não gestaram ao final do tratamento;

6. nas pacientes que evoluíram com hiperestimulação ovariana, não se evidenciou níveis de pressões arteriais sistólica e diastólica, da frequência cardíaca, da albuminúria, da creatinina sérica e da filtração glomerular estimada significativamente diferentes do ponto de vista estatístico em comparação às mulheres que não evoluíram com tal desfecho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Willem Ombet, Ian Cooke, Silke Dyer, GamalSerour, Paul Devroey. *Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries*. Hum Reprod Update. 2008 Nov-Dec; 14(6): 605–621.
- 2) Araoye MO. *Epidemiology of Infertility: social problems of the infertile couple*. West Afr J Med. 2003;22:190–196
- 3) Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, Buck Louis GM. *Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach*. FertilSteril. 2013;99(5):1324.
- 4) Huynh L, McCoy M, Law A, Tran KN, Knuth S, Lefebvre P, Sullivan S, Duh MS. *Systematic Literature Review of the Costs of Pregnancy in the US*. Pharmacoeconomics. 2013 Nov;31(11):1005-30.
- 5) Farquhar C, Rishworth JR, Brown J, Nelen WL, Marjoribanks J. *Assisted reproductive technology: an overview of Cochrane Reviews*. Cochrane Database Syst Rev. 2013 Aug 22.
- 6) Fulghesu AM, Magnini R, Piccaluga MP, Porru C. *Ovulation induction in young girls with menometrorragia: a safe and effective treatment*. Gynecol Endocrinol. 2013 Dec 17.
- 7) Nasser S, Ledger WL. *Clomiphene citrate in the twenty-first century*. Hum Fertil 2001; 4:145-151.

- 8) García-Velasco JA, Moreno L *et al.* *The aromatase inhibitor letrozole increases the concentration of intraovarian androgens and improves in vitro fertilization outcome in low responder patients.* Fertil Steril 2005; 84(1): 82-87.
- 9) Lunenfeld B. *Historical perspectives in gonadotrophin therapy.* Hum Reprod Update 2004; 10:453-467.
- 10) Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt *et al.* *Human menopausal gonadotrophin versus recombinant follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles.* The Cochrane Library 2003.
- 11) Ludwig M, Rabe T *et al.* *Efficacy of recombinant human FSH in comparison to hMG following a long down-regulation protocol – an analysis of over 38,000 ART cycles in Germany.* Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie 4/2004.
- 12) Cohen J. *A short review of ovarian stimulation in assisted reproductive techniques.* Reprod Biomed Online 2003; 6:361-366.
- 13) Filicori M, Cognigni GE. *Role of different GnRH agonist regimens in pituitary suppression and the outcome of controlled ovarian hyperstimulation.* Hum Reprod 1996; Suppl 3:123-132.
- 14) Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R. *The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation.* Hum Reprod Update 2002; 8:279-290.
- 15) Nader S, Bekovitz A. *Study of the pharmacokinetics of human chorionic gonadotropin and its relations to ovulation.* J In Vitro Fert Embryo Transf 1990;7:114-118.
- 16) Tay CC. *Use of gonadotrophin – releasing hormone agonists to trigger ovulation.* Hum Fertil 2002; 5:G35-37.

- 17) Tan SI, Bennet S. *Surgical Techniques for oocyte recovery and embryo transfer*. London: Churchill Livingstone, 1990.
- 18) Schoolcraft WB, Surrey ES. *Embryo transfer: techniques and variables affecting success*. Fertil Steril 2001; 76:863-870.
- 19) Daya S. *Luteal Support: progestogens for pregnancy protection*. Maturitas. 2009;65. Suppl 1:S29-34.
- 20) Edwards RG, Brody AS. *Principles and practice of assisted human reproduction*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1995.
- 21) The ESHRE Capri Workshop Group. *Multiple Gestation Pregnancy*. Hum Reprod 2000; 15:1856-1864.
- 22) Martin PM, Welch HG. *Probabilities for singleton and multiple pregnancies after in vitro fertilization*. Fertil Steril 1998; 70:478-481.
- 23) Balen A. Ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Fertil (Camb). 2013 Sep;16(3):143.
- 24) Ajonuma LC, Ajuonuma MU, Ajuonuma BC, Ogbedeagu VM, Ajuonuma JU, Chukwu CL. *EG-VEGF concentrations may predict OHSS*. Fertil Steril. 2011 Jun;95(7):e37.
- 25) Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. *Administration of moderate and high doses of gonadotropins to female rats increases ovarian vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor-2 expression that is associated to vascular hyperpermeability*. Biol Reprod. 2003;68:2164–71. doi:10.1095/biolreprod.102.010801.

- 26) Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS, et al. *Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor.* *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3300–8. doi: 10.1210/jc.87.7.3300.
- 27) Fernandez LA, Tarlatzis BC, Rzasz PJ, Caride VJ, Laufer N, Negro-Vilar AF, et al. *Renin-like activity in ovarian follicular fluid.* *Fertil Steril.* 1985;44:219–23.
- 28) Manno M, Tomei F. *Renin-angiotensin system activation during severe OHSS: cause or effect?* *Fertil Steril.* 2008;89:488. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.12.003.
- 29) Youssef MA, Al-Inany HG, Evers JL, Aboulghar M. *Intra-venous fluids for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome.* *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 Feb 16;(2):CD001302.
- 30) Budev MM, Arroliga AC, Falcone T. *Ovarian hyperstimulation syndrome.* *Crit Care Med.* 2005; 33(10 Suppl):S301-6.
- 31) Nardo LG, Cheema P, Gelbaya TA, Horne G, Fitzgerald CT, Pease EH, et al. *The optimal length of 'coasting protocol' in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome undergoing in vitro fertilization.* *Hum Fertil (Camb)* 2006;9:175–80. doi: 10.1080/14647270600787575.
- 32) Yilmaz N, Uygur D, Ozgu E, Batioglu S: *Does coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome, affect assisted reproduction cycle outcome?* *Fertil Steril.* 2009.
- 33) Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. *Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review.* *Reprod Biomed Online.* 2007;14:640–9.

- 34) Alserri A, Holzer H, Tulandi T. *Serum albumin levels in women with ovarian hyperstimulation syndrome with or without polycystic ovaries*. J Obstet Gynaecol Can. 2012 Sep;34(9):866-9.
- 35) J Hum Reprod Sci. 2010 May;3(2):85-90. *Effect of bromocriptine on the severity of ovarian hyperstimulation syndrome and outcome in high responders undergoing assisted reproduction*. Sherwal V, Malik S, Bhatia V.
- 36) Varnagy A, Bodis J, Manfai Z, Wilhelm F, Busznyak C, Koppan M: *Low-dose aspirin therapy to prevent ovarian hyperstimulation syndrome*. Fertil Steril. 2009.
- 37) Aboulghar M. *Treatment of ovarian hyperstimulation syndrome*. Semin Reprod Med. 2010 Nov;28(6):532-9. Epub 2010 Nov 16.
- 38) Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy .Am J Obstet Gynecol.2000;183:S1–S22.
- 39) Reem Mustafa, Sana Ahmed, Anu Gupta, Rocco C. Venuto. *A Comprehensive Review of Hypertension in Pregnancy*.J Pregnancy 2012: 105918. Published online 2012 May 23. doi: 10.1155/2012/105918.
- 40) Wai Yee Lim, Seang Mei Saw, KokHian Tan, George SH Yeo, Kenneth YC Kwek. *A cohort evaluation on arterial stiffness and hypertensive disorders in pregnancy*.BMC Pregnancy Childbirth. 2012; 12: 160.
- 41) Odotayo A, Hladunewich M. *Obstetric nephrologic: renal hemodynamic and metabolic physiology in Normal Pregnancy*. Clin J Am SocNephrol. 2012 Dec; 7(12): 2073-80.

42) National Kidney Foundation. *K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. Am J Kidney Dis 2002; 39:S1.

43) Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, Stadtmauer L, Oehninger S. *Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr*. Fertil Steril. 2005;84(3):555.

44) Gilliam ML. *Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology*. Obstet Gynecol. 2011 Sep;118(3):706-7.

45) Oehninger S. *Ovulation induction in IVF*. Minerva Ginecol. 2011 Apr;63(2):137-56.

46) GFR Calculators: Serum Creatinine and Cystatin C (2012) [internet]. 4 variable MDRD Study Equation, CKD-EPI Creatinine Equation (2009), CKD-EPI Cystatin C Equation (2012) and CKD-EPI Creatinine-Cystatin C Equation (2012) (with SI Units) using standardized serum creatinine, age, race, gender and serum cystatin C programmed by Stephen Z. Fadem, M.D., FACP, FASN and Brian Rosenthal; [cited 2014 Jan 10]. Available from: <http://www.mdrd.com>.

47) Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. *Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate*. Ann Intern Med. 2006 Aug 15;145(4):247-54.

48) Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada-Canadian Fertility Andrology Society Clinical Practice Guidelines Committee; Reproductive Endocrinology and Infertility Committee of the SOGC; Executive and Council of the

Society of Obstetricians; Gynaecologists of Canada; Board of the Canadian Fertility and Andrology Society, Shmorgun D, Claman P. *The diagnosis and management of ovarian hyperstimulation syndrome*. J ObstetGynaecol Can.2011 Nov;33(11):1156-62.

49) Remohí J, Bellver J, Pellicer A. *Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana*. 2007: 179-188.

50) Manau D, Balasch J, Creus M. *Circulatory Dysfunction in Asymptomatic in Vitro Fertilization Patients. Relationship with Hyperestrogenemia and Activity of Endogenous Vasodilators*. J Clin Endocrinology and Metabolism 1998; Vol83, nº5: 1489-1493.

51) Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. *Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)*. Kidney Int 2005; 67:2089.

52) Te Velde, E. R., Pearson, P. L. *The variability of female reproductive ageing*. Hum. Reprod. Update. 2008, 141-154.




53) Andrea G, ReemAsad, Dawn C. *Hypertension in Pregnancy Is a Risk Factor for Microalbuminuria Later in Life*. The Journal of Clinical Hypertension, 2013; Vol 15(617-623).

54) Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, et al. *Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy*. Kidney Int 1998; 54:2056.

55) Kumar P, Sait SF, Sharma A, Kumar M. Ovarian hyperstimulation syndrome. J Hum Reprod Sci. 2011 May;4(2):70-5.

ANEXOS

Anexo 1 – Carta de Aprovação da Comissão Científica do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

 	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul FACULDADE DE MEDICINA COMISSÃO CIENTÍFICA
PARECER DO RELATOR	
<p>1. Título: adequado, claro, conciso? Sim.</p> <p>2. Introdução: fundamentação, justificativa e relevância adequadas e pertinentes? Hipótese é apresentada? Sim.</p> <p>3. Objetivos: claros e adequados? Sim.</p> <p>4. Métodos</p> <p>a. Delineamento: clareza, mascaramento,... Delimitação adequada para o propósito do estudo.</p> <p>b. Pacientes ou material: critérios de inclusão e exclusão, fatores de confusão,... A metodologia está apresentada no projeto.</p> <p>c. Aferição das variáveis: limitações, subjetividade,... O protocolo inclui as medidas e informações que são necessárias para o propósito do estudo.</p> <p>d. Estatística: cálculo do tamanho da amostra, valor de p, poder, testes estatísticos,... O cálculo do tamanho amostral será feito a partir de um experimento piloto com 15 pacientes.</p> <p>5. Referências bibliográficas: revisão da literatura, estudos prévios relevantes,... Bibliografia adequada.</p> <p>6. Avaliação final</p> <p>a. Aprovado <input checked="" type="checkbox"/> 06-11-12</p> <p>b. Retornar com modificações para avaliação <input type="checkbox"/></p> <p>c. Reprovado <input type="checkbox"/></p>	
<p>• Questões específicas (em caso de retorno para modificações): -----</p>	
	FACULDADE DE MEDICINA – HSL/PUCRS Av. Ipiranga, 6690 – P. 60 – 3º andar – CEP 90610-000 Porto Alegre – RS – Brasil Fone: (51) 3320-3304 – Fax (51) 3320-3040 E-mail: nuclcm@pucrs.br www.pucrs.br/medicina

Anexo 2 – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

*Roberta
Solutti Muscolato*

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da Pressão Arterial e da Filtração Glomerular Estimada em Pacientes Submetidas à Estimulação Ovariana para Fertilização in Vitro

Pesquisador: Ivan Carlos Ferreira Antonello

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 11183912.0.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 216.451 ✓

Data da Relatoria: 07/03/2013 ✓

Apresentação do Projeto:

O projeto visa avaliar a pressão arterial, frequência cardíaca e filtração glomerular estimada nas pacientes realizando FIV no momento da estimulação com gonadotrofinas e no momento do bloqueio do eixo quando com folículo com 14mm.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a TA, FC e filtração glomerular estimada em mulheres submetidas a FIV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco da pesquisa resume-se a retirada de sangue e obtenção de TA e FC em mulheres realizando FIV

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não existem dados na literatura.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Pendências resolvidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências resolvidas.

Endereço: Av.Ipiranga, 6681

Bairro:

CEP: 90.619-900

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)320-3345

Fax: (51)320-3345

E-mail: cep@pucrs.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PORTO ALEGRE, 11 de Março de 2013

Assinador por:
Rodolfo Herberto Schneider
(Coordenador)

Endereço: Av. Ipiranga, 6681

Bairro:

CEP: 90.619-900

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)320-3345

Fax: (51)320-3345

E-mail: cep@puocs.br

Anexo 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para o estudo.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Avaliação da Pressão Arterial e da Filtração Glomerular Estimada em Pacientes Submetidas à Estimulação Ovariana para Fertilização *in Vitro*”

Você está sendo convidada a participar de uma pesquisa de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina do Hospital São Lucas da PUCRS que tem como objetivo principal avaliar a pressão arterial e o funcionamento renal das pacientes que serão submetidas à fertilização *in vitro* – FIV (união do óvulo ao espermatozóide para formação de um embrião em laboratório, com sua posterior transferência para o útero).

O trabalho está sendo realizado pela ginecologista Roberta Soletti Musachio, sob a orientação dos professores Dr Ivan Carlos Ferreira Antonello e da Dra Mariangela Badalotti.

Você será submetida à coleta de sangue e urina em dois momentos: no primeiro dia do processo de estimulação ovariana e no dia em que os folículos atingirem determinado tamanho (em torno do 6º dia do ciclo menstrual), visualizados por ecografia transvaginal.

O estudo não trará riscos além daqueles já relacionados ao tratamento empregado, como gravidez múltipla, sangramento vaginal ou risco anestésico no momento da punção dos ovários.

Dentre os benefícios, podemos citar a oportunidade de conhecermos melhor a variação da pressão arterial e do funcionamento dos rins das pacientes em estimulação dos ovários para FIV.

Ressaltamos que a concordância em participar deste estudo não implica necessariamente em qualquer modificação no tratamento a que você está sendo submetida. Da mesma forma, a não concordância em participar deste estudo não alterará de maneira nenhuma o tratamento já estabelecido.

Rubrica da pesquisadora

Rubrica da paciente

Eu, _____ (paciente ou responsável) fui informada a respeito dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito do tratamento recebido e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu o desejar. A Dra Roberta Soletti Musachio certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais, bem como do fato de que o meu tratamento não será alterado em função deste estudo. Fui informada de que, caso haja danos à minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que, caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, possa ligar para Dra Roberta Soletti Musachio no telefone (51) 33361715. Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Assinatura da Paciente Nome Data

Assinatura da Pesquisadora Nome Data

Este formulário foi lido para _____ (paciente) em
___/___/___ pela Dra Roberta Soletti Musachio enquanto eu estava presente.

Assinatura de testemunha Nome Data

Anexo 4 - **Artigo Original em Inglês.**

**BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND RENAL FUNCTION IN
OVARIANSTIMULATION TOIN VITRO FERTILIZATION**

*ROBERTA SOLETTI MUSACHIO¹, MARIANGELA BADALOTTI², IVAN CARLOS
FERREIRA ANTONELLO^{1,3},*

¹Medicine Pos Graduation Program at Medicine School of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Avenida Ipiranga, 6690, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: robertamusachio@gmail.com

²Gynecology Service at Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Avenida Ipiranga, 6690, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: mariangela@fertilitat.com.br

³Nephrology Service at Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Avenida Ipiranga, 6690, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: ivan.antonello@pucrs.br

Running tittle: BLOOD PRESSURE, KIDNEY AND *IN VITRO* FERTILIZATION

Correspondence to:

Roberta Soletti Musachio

Avenida Ipiranga, 6690/201

CEP: 90.610-000 - Porto Alegre, RS, Brasil

Tel: +55 51 33361715

E-mail: robertamusachio@gmail.com

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate blood pressure (BP), heart rate (HR), albuminuria (AL), and glomerular filtration rate (GFR) of patients undergoing ovarian stimulation to *in vitro* fertilization (IVF).

METHODS: From March to September 2013 this quasi-experimental design analyzed the variation of baseline and after BP levels, HR, AL, and GFR from 75 subjects. Blood pressure was measured after a five minutes at rest. Glomerular filtration was estimated by CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) equation. Follicular growth was assessed using serial ultrasound scans.

RESULTS: Median patient age was 36,89 years. Thirty-three (44%) women got pregnant, and 9 (12%) cycles were complicated by ovarian hyperstimulation. No statistically significant associations were found between systolic BP levels ($P=0,945$), diastolic BP levels ($P=0,802$), and GFR ($P=0,301$) before and after ovarian stimulation. However, this study found a statistically significant correlation of HR ($P=0,012$) and AL ($P=0,002$) with ovarian stimulation. There was no statistically significant difference in the modification of variables before and after stimulation between patients who got pregnant from those who did not pregnant, as well as the group who developed ovarian hyperstimulation compared with group that developed the expected number of follicles. Three patients developed acute kidney injury.

CONCLUSION: Ovarian stimulation to IVF does not change the BP levels, and GFR of patients undergoing it. There is statistically significant increasing of HR and AL, but without clinical relevance. Pregnancy and ovarian hyperstimulation does not alter the pattern of the study variables.

Keywords: Arterial blood pressure, renal function, ovarian stimulation, *in vitro* fertilization, pregnancy.

INTRODUCTION

Worldwide more than 70 million couples are infertile (1). Infertility is the absence of clinically detected pregnancy after twelve months of regular sexual life without the use of contraception (2). Due to the choice of delaying motherhood, nowadays, and the increasing prevalence of the disease, the techniques of assisted reproduction occupy large space in medical care to infertile couples (3).

Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) is an iatrogenic complication of assisted reproduction technology (4). The mild form, which has little clinical consequence, occurs in about 25% of *in vitro* fertilization (IVF) cycles. There are changes related to stimulation, particularly in the ovarian hyperstimulation, which increase vascular permeability and activate the renin-angiotensin-aldosterone system (5), as well as a straight correlation between plasma renin activity and OHSS severity. Follicular fluid and ascetic angiotensin II concentration is higher than the one found in the plasma (6). It's unknown if patients undergoing IVF cycles have hemodynamic changes or renal damage previous to pregnancy considering the knowledge of hemodynamic and renal physiology pattern owned to pregnancy onset.

Due to rising searches for treatments in reproductive medicine and toward the best understanding of renal and hemodynamic pattern in this situation, the study assessed BP, HR, and AL of patients undergoing controlled ovarian stimulation to IVF. It also evaluates this variable pattern in accordance with chronological age comparing its evolution to pregnancy or absence of pregnancy as well as physiologic stimulation or ovarian hyperstimulation.

MATERIAL AND METHODS

Study Design

This quasi-experimental design analyzed the variation of baseline and after BP levels, HR, AL, and GFR from infertile patients seen in the Clínica Fertilitat - Reproductive Medicine Center, from March to September 2013.

This study included women undergoing ovarian stimulation to IVF. Exclusion criteria were arterial systemic hypertension (ASH), previous chronic kidney disease (CKD), use of drugs that could change BP or serum creatinine, and poor ovarian response to hormonal stimulation.

ASH includes previous arterial hypertension, use of antihypertensive drugs, two blood pressure measurements showing systolic BP ≥ 140 mmHg or diastolic BP ≥ 90 mmHg obtained on first visit. We considered CKD (7) the presence of hematuria, increased AL levels or GFR < 60 ml/min per 1.73 m².

It is thought poor ovarian response to hormonal stimulation controlled by not producing ovarian follicles with a mean diameter greater than 10 mm until Day 8 of the menstrual cycle.

This study was approved by the Ethics and Research Committee of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil. All patients signed an informed consent term to participate in the study.

Treatment Protocol

The patients underwent controlled ovarian hyperstimulation using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist. Ovarian maturation was achieved by the administration of recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) and/or human menopausal gonadotropin (hMG) until at least 3 follicles reached a mean diameter of 18 mm, and then recombinant human chorionic gonadotropin (hCG) was administered for oocyte maturation. Follicle puncture was performed 36 hours after hCG injection.

Measurement of study variables

Baseline creatinine and AL levels were measured. Creatinine was measured by an automated Jaffé reaction; AL was determined by turbidimetric immunoassay. On day 2 or 3 of the menstrual cycle, BP and HR were measured and the first vaginal ultrasound scan was performed.

BP was measured using an aneroid sphygmomanometer after the participants had rested for 5 minutes in a sitting position. The lower end of the blood pressure cuff was placed two to three centimeters above the left arm's antecubital fossa. It was told that they did not smoke, eat or practice physical exercises for at least 30 minutes before measurements. We obtained two measures separated by one or two minutes and it was used the second one for record. The per minute HR verification was performed after the BP measurement, using the pulse of radial artery by counting over 30 seconds and doubling the result.

GFR was estimated from serum creatinine, sex, age, and race using the CKD-EPI equation (9, 10). This equation was developed to provide a more accurate estimate of GFR, especially when it's higher than 60 mL/min per 1.73 m².

The patients were followed up using serial ultrasound scans (every 3 or 4 days) to visualize the growing follicle. When the ovarian follicles are judged to be mature, we proceeded to oocyte retrieval, it was measures BP, HR, creatinine, and AL for the second time. Use of vaginal progesterone for luteal phase support was initiated on the day of oocyte retrieval. Embryo transfer was performed about 72 hours after egg retrieval.

Pregnancy outcome was defined as a positive beta-hCG test and an ultrasound scan showing a gestational sac and a live embryo. Ovarian hyperstimulation included a large number of small follicles (8 to 12 mm) seen on ultrasound scans (11).

Statistical analysis

The study data were analyzed using the *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) for windows (version 16). Continuous variables were expressed as means with standard deviations. We use *Student t-test* for comparing the means of two samples. Categorical variables were expressed as proportions. The level of significance was established at $P < 0.05$.

RESULTS

The study began with 84 participants undergoing ovarian stimulation. Of these, nine were excluded, leaving 75. An algorithm, including exclusions, is shown in *Figure 1*.

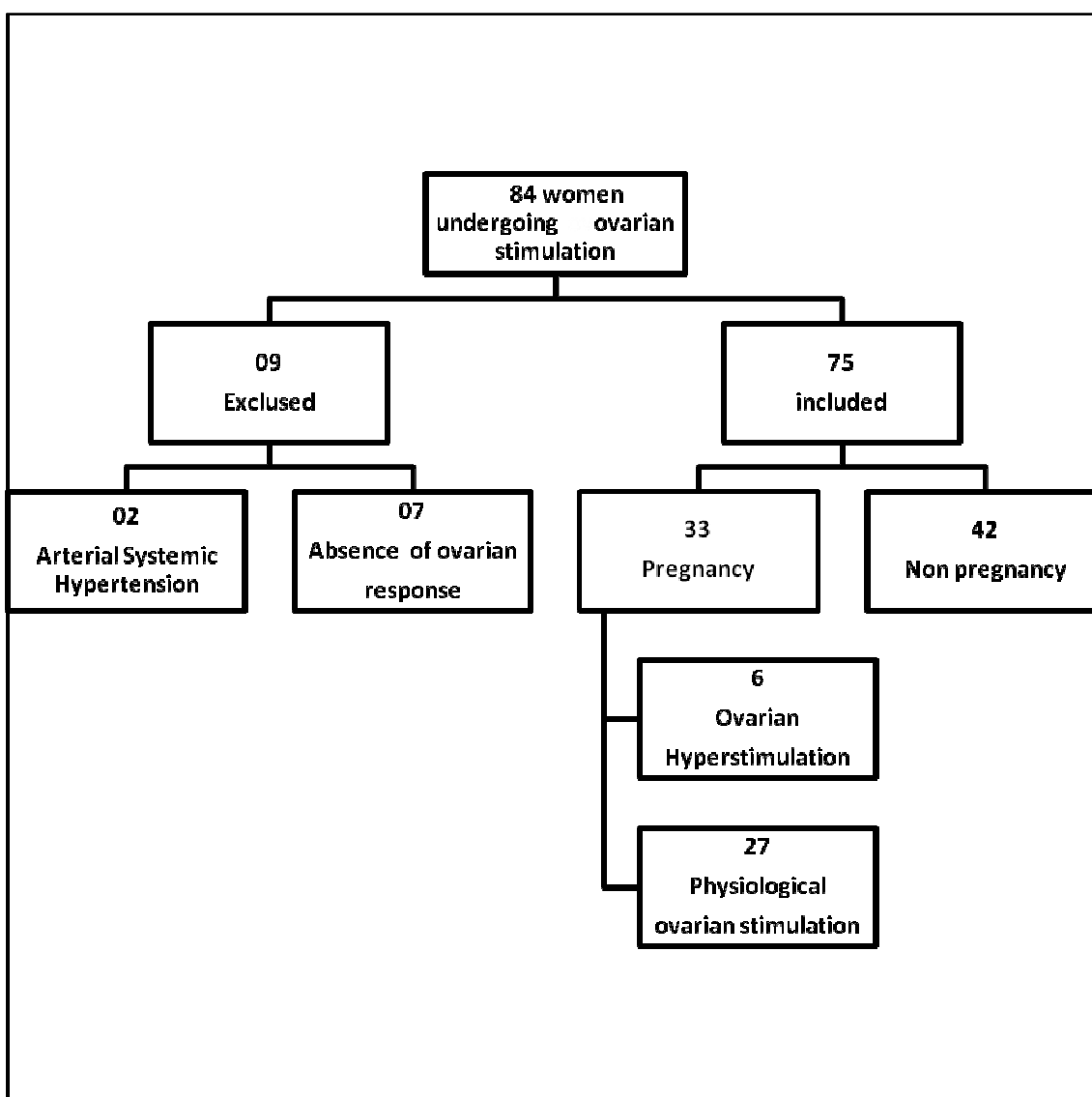


Figure 1. Algorithm of distribution of participants in study.

Median patient age \pm standard deviation was 36.89 ± 3.9 years. One patient (0,75 %) was african american, and everyone else were caucasian women. Thirty-three (44%) women got pregnant, and 9 (12%) cycles were complicated by ovarian hyperstimulation. This data are available in *Table 1*.

Table 1: Patients undergoing *in vitro* fertilization included in study (n=75).

Variables	Médian \pm Standard Deviation or Absolute Number and Percentage
Age	$36,89 \pm 3,9$
Ethnic	74 (99,25%)
Pregnancy	33 (44%)
OvarianHyperstimulation	9 (12%)
Pregnancy + Ovarian Hyperstimulation	6 (8%)
Non Pregnancy + Ovarian Hyperstimulation	3 (4%)

Prior the start of the study, the mean systolic BP was 110,23 mm Hg (95 to 125), the mean diastolic BP was 69,53 mm Hg (53 to 82), the mean HR was 69,17bpm (60 to 84), the mean AL was 4,47 mg/dl (0,7 to 27,5), the mean creatinine was 63,64 μ mol/L (35,36 to 97,24), and the mean estimated GFR was 103,48 ml/min/1,73m² (64 to 144).

On the other hand, after the ovarian stimulation, the mean systolic BP was 110,10 mm Hg (92 to 130), the mean diastolic BP was 69,17 mm Hg (56 to 85), the mean HR was 71,42bpm (60 to 84), the mean AL was 6,57 mg/dl (0,7 to 18,4), the mean creatinine was 66,30 μ mol/L (59,04 to 97,24), and the mean estimated GFR was 100,98 ml/min/1,73m² (64 to 120).

No statistically significant associations were found between systolic BP levels, diastolic BP levels, and GFR before and after ovarian stimulation. However, this study found a statistically significant correlation of HR and AL with ovarian stimulation, with no clinical relevance. This data are shown in *Table 2*.

Table 2: Variation of systolic blood pressure, diastolic blood pressure, heart rate, albuminuria, creatinine, and e estimated glomerular filtration of patients before and after ovarian stimulation (n=75).

Variables	Beforestimulation	Afterstimulation	P
Median SBP*(mmHg)	110,23 \pm 7,93	110,10 \pm 8,22	0,945
Median DBP** (mmHg)	69,53 \pm 5,68	69,17 \pm 6,74	0,802
Median HR*** (bpm)	69,17 \pm 6,08	71,42 \pm 6,78	0,012
MedianAlbuminuria (mg/dL)	4,47 \pm 4,38	6,57 \pm 4,92	0,002
Creatinine (μmol/L)	63,64 \pm 12,37	66,30 \pm 10,60	0,202
Median EGFR**** (mL/min/1,73m²)	103,48 \pm 17,00	100,98 \pm 15,19	0,301

*Systolic Blood Pressure; **Diastolic Blood Pressure; *** Heart Rate; **** Estimated Glomerular Filtration Rate

Considering analysis adjusted for age, our study found a statistically significant correlation of rise of HR and AL with increase of age. Systolic BP, diastolic BP, and creatinine levels does not change with age as seen in *Table 3*.

Table 3: Variation of systolic blood pressure, diastolic blood pressure, heart rate, albuminuria, creatinine, and e estimated glomerular filtration of patients before and after ovarian stimulation adjusted by age (n=75).

VARIABLES	MEDIAN RATES	LOWER LIMIT	UPPER LIMIT	P
SBP	1,00	0,97	1,02	0,933
DBP	0,99	0,96	1,02	0,744
HR	1,03	1,00	1,05	0,015
Albuminuria	1,46	1,14	1,88	0,003
Creatinine	1,03	0,98	1,08	0,125
EGFR	1,01	0,88	1,03	0,201

Three patients (2,25%) developed acute kidney injury according criterion of international guideline group KDIGO (*Kidney Disease Improvement Global Outcomes*).As isolated group, they did not show statistical significant difference in others variables.

Nine patients (12%) developed ovarian hyperstimulation. In this group, the variables pattern showed no statistical significant difference before and after ovarian stimulation.

During the ovarian stimulation, there was no statistical significant difference in systolic BP levels, diastolic BP levels, HR, AL, and estimated GFR of the patients who got pregnant from those who did not.

When we separate the group who got pregnant and developed ovarian hyperstimulation *versus* those got pregnant and obtained expected number of follicles, there was also no statistical significant difference.

DISCUSSION

Table 1 provides profile of patients. There is high average of age considering intention to pregnancy, but clearly show that women are seeking *in vitro* fertilization after previous difficulties and unsuccessful attempt pregnancy. It is also evident that the group of patients reflects the social stratum to discover that, of 84 possible patients for the study, only one was african american.

Our results expressed in Tables 2 and 3 reinforce the few data in the scientific literature that ovarian stimulation does not change systolic and diastolic BP levels, creatinine, and estimated GFR of patients undergoing *in vitro* fertilization (12, 13).

Regarding HR and AL, the study found a statistically significant correlation after ovarian stimulation. However, it is possible this data does not have clinical relevance because the variation is small in absolute numbers. The statistical difference occurs because of large number of patients included in study.

In addition, since the start of ovarian stimulation occurs in the first days of the menstrual cycle and menstrual bleeding can engender false positive rates in a AL (14), we chose to obtain AL sample until six months previous to research.

The well-documented decline of female fertility with ageing has been associated with decreases in oocyte number and quality. Fertility decline starts at 30 years of age

and accelerates after 35 (15). As we can see in *Figure 1*, 42 patients (56% of 75 patients undergoing ovarian stimulation) did not get pregnant. Women with higher age showed increased levels of HR and AL compared to their baseline levels after undergoing ovarian stimulation with statistical significance. On the other hand, our findings did not reveal any association between age and systolic BP, diastolic BP, creatinine, and estimated GFR.

It is well documented that age is an important risk factor for ASH in pregnancy. In the same way, arterial hypertension is associated with increased risk of higher levels of AL (16). Maybe data are more related to age than pregnancy or ovarian hyperstimulation.

When we compare woman who got pregnant from those who did not, we found no significant associations of variables levels before and after ovarian stimulation. However, we know systolic and diastolic BP levels and HR change during pregnancy (17). There is a small difference in systolic BP, and diastolic BP increases 5-10 mm Hg by the middle of the second trimester as well as a 20% increase in maternal HR. There are known pregnancy findings and, as we can see, it starts even after the beginning of pregnancy and it seems to be absent during ovarian stimulation to fertilization.

Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) is an iatrogenic complication of supraphysiologic ovarian stimulation, almost exclusively associated with exogenous gonadotropin therapy, which is dependent on several risk factors such as polycystic ovaries syndrome and past history of polycystic ovaries syndrome (18). We sought to identify pattern of variables in pregnancy during ovarian stimulation identified by ultrasound imaging. There was no statistically significant difference in the modification of variables among participants who developed ovarian hyperstimulation compared with

group that developed the expected number of follicles. Similarly, no statistically significant difference was seen of variables before and after ovarian stimulation among pregnant who developed ovarian hyperstimulation compared with pregnant who developed the expected number of follicles.

Limitations of these data should be considered as absence of one or more intermediate moments among measurements of systolic and diastolic BP, HR, AL, and creatinine before and after ovarian stimulation in order to detect a possible change of their levels in these intervals. In addition, we do not know if the results obtained in this study can be applied in spontaneous pregnancies once they are related to assisted reproduction techniques.

REFERENCES

1. Willem Ombet, Ian Cooke, Silke Dyer, GamalSerour, Paul Devroey. *Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries*. HumReprod Update. 2008 Nov-Dec; 14(6): 605–621.
2. Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, Buck Louis GM. *Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach*. FertilSteril. 2013;99(5):1324.
3. Huynh L, McCoy M, Law A, Tran KN, Knuth S, Lefebvre P, Sullivan S, Duh MS. *Systematic Literature Review of the Costs of Pregnancy in the US*. Pharmacoeconomics. 2013 Nov;31(11):1005-30.
4. Nasseri S, Ledger WL. *Clomiphene citrate in the twenty-first century*. Hum Fertil 2001; 4:145-151.
5. Ajonuma LC, Ajuonuma MU, Ajuonuma BC, Ogbedeagu VM, Ajuonuma JU, Chukwu CL. *EG-VEGF concentrations may predict OHSS*. FertilSteril. 2011 Jun;95(7):e37.
6. Fernandez LA, Tarlatzis BC, Rzasz PJ, Caride VJ, Laufer N, Negro-Vilar AF, et al. *Renin-like activity in ovarian follicular fluid*. FertilSteril. 1985;44:219–23.
7. National Kidney Foundation. *K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. Am J Kidney Dis 2002; 39:S1.
8. Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, Stadtmauer L, Oehninger S. *Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr*. FertilSteril. 2005;84(3):555.

9. GFR Calculators: Serum Creatinine and Cystatin C (2012) [internet]. 4 variable MDRD Study Equation, CKD-EPI Creatinine Equation (2009), CKD-EPI Cystatin C Equation (2012) and CKD-EPI Creatinine-Cystatin C Equation (2012) (with SI Units) using standardized serum creatinine, age, race, gender and serum cystatin C programmed by Stephen Z. Fadem, M.D., FACP, FASN and Brian Rosenthal; [cited 2014 Jan 10]. Available from: <http://www.mdrd.com>.
10. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. *Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate.* Ann Intern Med. 2006 Aug 15;145(4):247-54.
11. Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada-Canadian Fertility Andrology Society Clinical Practice Guidelines Committee; Reproductive Endocrinology and Infertility Committee of the SOGC; Executive and Council of the Society of Obstetricians; Gynaecologists of Canada; Board of the Canadian Fertility and Andrology Society, Shmorgun D, Claman P. *The diagnosis and management of ovarian hyperstimulation syndrome.* J ObstetGynaecol Can. 2011 Nov;33(11):1156-62.
12. Remohí J, Bellver J, Pellicer A. *Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana.* 2007: 179-188.
13. Manau D, Balasch J, Creus M. *Circulatory Dysfunction in Asymptomatic in Vitro Fertilization Patients. Relationship with Hyperestrogenemia and Activity of Endogenous Vasodilators.* J Clin Endocrinology and Metabolism 1998; Vol83, nº5: 1489-1493.

14. Zanella MT. *Microalbuminúria: Fator de Risco Cardiovascular e Renal Subestimado na Prática Clínica*. Arq Bras Endocrinol Metab vol 50 nº 2 Abril 2006.
15. Te Velde, E. R., Pearson, P. L. *The variability of female reproductive ageing*. Hum. Reprod. Update. 2008, 141-154.
16. Andrea G, ReemAsad, Dawn C. *Hypertension in Pregnancy Is a Risk Factor for Microalbuminuria Later in Life*. The Journal of Clinical Hypertension, 2013; Vol 15(617-623).
17. Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, et al. *Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy*. Kidney Int 1998; 54:2056.
18. Kumar P, Sait SF, Sharma A, Kumar M. *Ovarian hyperstimulation syndrome*. J Hum ReprodSci. 2011 May;4(2):70-5.

Anexo 5 – Artigo em português.

**PRESSÃO ARTERIAL, FREQUENCIA CARDÍACA E AVALIAÇÃO RENAL
APÓS ESTÍMULO OVARIANO EM FERTILIZAÇÃO *IN VITRO***

*ROBERTA SOLETTI MUSACHIO¹, MARIANGELA BADALOTTI^{1,2}, IVAN CARLOS
FERREIRA ANTONELLO^{1,3},*

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de
Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

²Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS

³Serviço de Nefrologia do Hospital São Lucas da PUCRS

Título resumido: PRESSÃO ARTERIAL E AVALIAÇÃO RENAL NA
FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*

Correspondência para:

Roberta Soletti Musachio

Avenida Ipiranga, 6690/201

CEP: 90.610-000 - Porto Alegre, RS, Brasil

Tel: +55 51 33361715

E-mail: robertamusachio@gmail.com

RESUMO

OBJETIVO: Avaliar pressão arterial, frequência cardíaca, albuminúria e filtração glomerular estimada de pacientes submetidas à estimulação ovariana para fertilização *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODO: De março a setembro de 2013, este quase experimento intra-grupos analisou a variação da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC), albuminúria (AL) e filtração glomerular estimada (FGE) basais e após estimulação ovariana de 75 pacientes para fertilização *in vitro* (FIV). A PA foi verificada após repouso de cinco minutos, em duas medidas, sendo registrada a segunda. A filtração glomerular foi estimada pela fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*). O crescimento folicular foi avaliado por ecografias transvaginais seriadas.

RESULTADOS: a média de idade foi 36,89 anos. Trinta e três mulheres (44%) gestaram e 9 (12%) desenvolveram hiperestimulação ovariana. Não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de PA sistólica ($P=0,945$) e diastólica ($P=0,802$) e da FGE ($P=0,301$) antes e após a estimulação, porém houve diferença estatística no que concerne à FC ($P=0,012$) e à AL ($P=0,002$). Não houve diferença estatisticamente significativa na modificação das variáveis antes e após a estimulação entre gestantes e não gestantes, bem como em relação ao grupo que desenvolveu hiperestimulação ovariana em relação ao grupo com estimulação normal. Três pacientes desenvolveram perda aguda de função renal.

CONCLUSÕES: Estimulação ovariana não altera significativamente PA e FGE das pacientes submetidas à fertilização *in vitro*. A significância estatística no que concerne ao aumento da FC e da AL não apresentou significado clínico. Gestação e hiperestimulação ovariana não alteraram o padrão das variáveis do estudo.

Palavras-chaves: Pressão arterial, função renal, estimulação ovariana, fertilização *in vitro*, gestação.

INTRODUÇÃO

Mais de 70 milhões de casais sofrem de infertilidade no mundo (1), a ausência de gestação detectada clinicamente após doze meses de vida sexual regular, sem o uso de contracepção (2). Devido à deliberada postergação da maternidade, própria dos dias atuais, e à crescente prevalência da doença, as técnicas de reprodução assistida ocupam amplo espaço na assistência médica ao casal infértil (3).

A Síndrome da Hiperestimulação Ovariana (SHO) é uma complicação iatrogênica da estimulação ovariana, que afeta 1% a 14% dos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) (4). Há alterações relacionadas à estimulação, principalmente na hiperestimulação ovariana, que aumentam a permeabilidade vascular e ativam o sistema renina-angiotensina-aldosterona (5), bem como uma correlação direta entre atividade da renina plasmática e gravidade da SHO, sendo que a concentração de angiotensina II folicular e no líquido de ascite é maior do que seus níveis séricos (6). Ignora-se já há alteração hemodinâmica ou repercussão renal da estimulação ovariana nestas pacientes submetidas ao método considerando as já conhecidas modificações hemodinâmicas e da fisiologia renal próprias do início da gestação.

Devido à crescente busca por tratamentos em medicina reprodutiva e com vistas a um melhor entendimento do padrão hemodinâmico e renal nesta situação, este estudo avaliou PA, FC, AL e FGE de pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada para FIV. Também analisa o padrão destas variáveis considerando a idade cronológica das pacientes e comparando sua evolução para gravidez ou ausência de gravidez, bem como em relação aos desfechos estimulação fisiológica ou hiperestimulação ovariana.

MATERIAIS E MÉTODO

Delineamento

Este quase experimento intra-grupos analisou a variação da PA, da FC e da FGE de pacientes inférteis acompanhadas na clínica Fertilitat – Centro de Medicina Reprodutiva, de março a setembro de 2013.

O estudo incluiu mulheres sob estimulação ovariana para fertilização *in vitro*. Foram excluídas as participantes com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (HAS), nefropatia prévia, em uso de medicações que alterassem seus níveis de PA ou sem resposta ovariana ao tratamento.

HAS englobou pacientes com história prévia de hipertensão arterial, em uso de anti-hipertensivos ou com PA em duas medidas evidenciando PA sistólica igual ou maior do que 140 mmHg e/ou PA diastólica igual ou maior do que ou igual a 90 mmHg, obtidas na primeira consulta para estimulação ovariana. Para este estudo, considerou-se nefropatia (7) hematúria, aumento de AL ou FGE menor do que 60 ml/minuto/1,73 m².

Conceituou-se ausência de resposta ovariana à estimulação hormonal controlada a não produção de folículos ovarianos com diâmetro médio acima de 10 mm até o oitavo dia do ciclo menstrual (8).

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil (*Anexos 1 e 2*). Todas as pacientes assinaram um termo de consentimento informado previamente ao início da pesquisa.

Protocolo de Tratamento

As pacientes foram submetidas à estimulação ovariana controlada usando hormônio folículo-estimulante (FSH - *Follicle-stimulating hormone*) e/ou hormônio luteinizante (LH - *Luteinizing hormone*) recombinante. O bloqueio hipofisário foi realizado com antagonista do hormônio liberador de gonadotrofinas hipofisárias (GnRH - *gonadotropin-releasing hormone*). A maturação dos ovários foi alcançada quando pelo menos 3 folículos atingiram um diâmetro médio de 18mm. Neste momento, foi administrada gonadotrofina coriônica humana (hCG - *human chorionic gonadotropin*) recombinante para promover a maturação oocitária. A punção folicular foi realizada 36 horas após a administração do hCG.

Mensuração das Variáveis

Foram obtidas creatinina e AL basais de cada participante. A creatinina sérica foi mensurada pela reação de *Jaffé* modificada, e a AL em amostra pela técnica de turbidimetria. No segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual, foram medidas PA e FC e realizada a primeira ecografia transvaginal.

A PA foi mensurada utilizando-se esfigmomanômetro mecânico aneróide, com a braçadeira posicionada dois dedos acima do cotovelo do membro superior esquerdo. Foi solicitado às participantes que não fumassem, comessem ou praticassem exercícios físicos nos 30 minutos prévios à verificação e que descansassem por 5 minutos antes das medidas. Realizaram-se duas mensurações com intervalo de um minuto, e utilizada para registro a segunda medida. A verificação da frequência cardíaca foi realizada após

a medida da PA, contando-se em 30 segundos o número de pulsações na artéria radial e multiplicado por dois para obter o número de batimentos por minuto.

Para estimativa da filtração glomerular usamos a fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*), que constitui de quatro variáveis, a saber creatinina sérica, raça, idade e gênero dos indivíduos (9, 10). Esta equação foi desenvolvida na tentativa de criar uma fórmula mais precisa do que as habituais, especialmente quando a TFG é maior que 60 mL/min por 1.73 m².

As pacientes realizaram ecografias seriadas - a cada 3 ou 4 dias - para acompanhamento do crescimento folicular. Uma vez alcançada a maturidade folicular, foram submetidas à aspiração dos oócitos, momento no qual foram mensuradas pela segunda vez pressão arterial, frequência cardíaca, creatinina sérica e albuminúria em amostra. A partir daí, as participantes iniciaram a administração de progesterona intravaginal para suplementação da fase lútea. A transferência dos embriões para a cavidade uterina foi realizada cerca de 72 horas após a aspiração folicular.

O desfecho gravidez foi considerado na presença de um exame beta-hCG positivo e de uma ecografia transvaginal contendo saco gestacional com embrião e batimentos cardíacos presentes. Hiperestimulação ovariana foi constatada quando houve a produção de um grande número de folículos com 8 a 12 mm ao longo do seguimento ecográfico (11).

Análise Estatística

Para a análise estatística, os dados foram organizados e registrados no programa Excel® 97-2003 e inseridos no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 16 para o Windows. As variáveis contínuas foram apresentadas em média e desvio-padrão (DP) na análise descritiva, e foi utilizado o teste *t - Student* para a comparação entre os grupos. Já as variáveis categóricas foram apresentadas por número de ocorrências e porcentagem.

RESULTADOS

O estudo iniciou com 84 pacientes submetidas à estimulação ovariana. Destas, nove foram excluídas, restando 75. A *Figura 1* apresenta um algoritmo do estudo, incluindo exclusões.

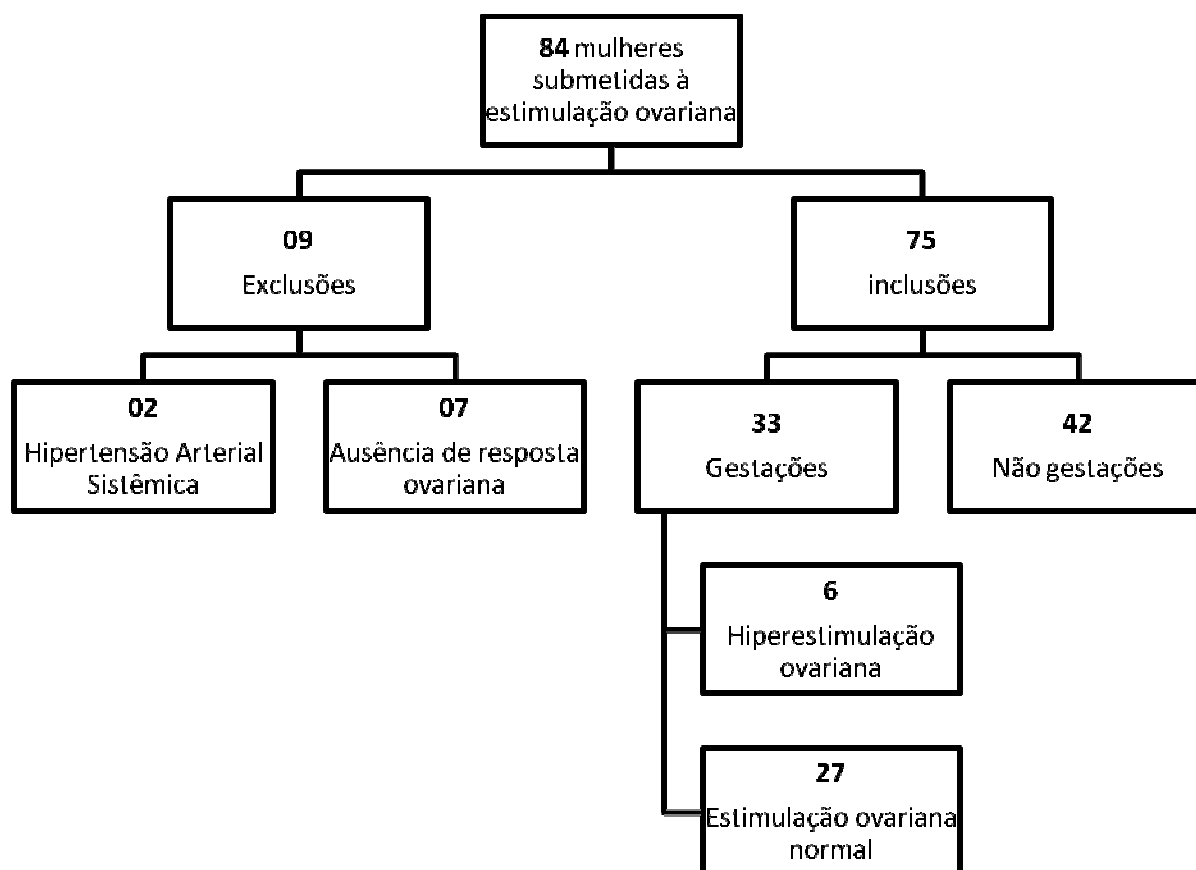


Figura 1. Algoritmo da distribuição de participantes no estudo

A amostra final das 75 mulheres incluídas no estudo evidenciou uma média de idade de 36,89 anos, com desvio padrão $\pm 3,9$ anos. Uma paciente (0,75%) era de cor negra, e todas as demais brancas. Trinta e três mulheres (44%) gestaram, e 9 (12%) evoluíram com hiperestimulação ovariana. Estes dados estão expostos na *Tabela 1*.

Tabela 1: Pacientes submetidas à fertilização *in vitro* incluídas no estudo (n=75).

Variáveis	Média \pm Desvio Padrão ou Número Absoluto e Percentagem
Idade	36,89 \pm 3,9
Cor Branca	74 (99,25%)
Gestação	33 (44%)
Hiperestimulação Ovariana	9 (12%)
Gestação e Hiperestimulação	6 (8%)
Não Gestação e Hipertimulação	3 (4%)

Previamente ao início da estimulação ovariana, a média da PA sistólica das pacientes foi 110,23 mmHg (95 a 125), e a média da PA diastólica foi 69,53 mmHg (53 a 82). A FC das participantes teve média 69,17 bpm (60 a 84). A média da AL em amostra foi 4,47 mg/dL (0,7 a 27,5). A média da creatinina sérica foi 63,64 μ mol/L (35,36 a 97,24), e a da FGE foi de 103,48 mL/min/1,73m² (64 a 144).

Já após a estimulação folicular, a média da PA sistólica foi 110,10 mmHg (92 a 130), e a média da PA diastólica foi 69,17 mmHg (56 a 85). A FC mostrou média 71,42 bpm (60 a 84). A média da AL em amostra foi 6,57 mg/dL (0,7 a 18,4). A média da creatinina sérica foi 66,30 $\mu\text{mol/L}$ (53,04 a 97,24), e a da FGE foi de 100,98 mL/min/1,73m² (64 a 120).

Não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de PA sistólica e diastólica e da FGE antes e após a estimulação ovariana. Já no que concerne à FC e à AL em amostra, houve significativa diferença estatística, sem relevância clínica. Estes achados estão agrupados na *Tabela 2*.

Tabela 2: Análise não ajustada da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana (n=75).

Variáveis	Pré-estimulação	Pós-estimulação	P
PAS* média (mmHg)	110,23± 7,93	110,10± 8,22	0,945
PAD** média (mmHg)	69,53± 5,68	69,17± 6,74	0,802
FC*** média (bpm)	69,17± 6,08	71,42± 6,78	0,012
Albuminúria média (mg/dL)	4,47± 4,38	6,57± 4,92	0,002
Creatinina média (µmol/L)	63,64±12,37	66,30±10,60	0,202
FGE**** média (mL/min/1,73m²)	103,48 ± 17,00	100,98 ± 15,19	0,301

*Pressão Arterial Sistólica; **Pressão Arterial Diastólica; ***Frequência Cardíaca; ****Filtração Glomerular Estimada.

Em relação à análise ajustada para a idade, houve diferença estatisticamente significativa na elevação dos níveis de FC e de AL com o aumento da idade. Os níveis de PA sistólica e diastólica e da creatinina sérica não sofreram influência com a variação da idade das mulheres, como visto na *Tabela 3*.

Três pacientes (2,25%) desenvolveram perda aguda de função renal, se usarmos as orientações para prática clínica do KDIGO (*Kidney Disease Improvement Global*

Outcomes). Se as consideramos como um grupo isolado, não mostraram diferenças significativas para o restante do grupo quanto às demais variáveis estudadas.

Tabela 3: Análise da variação de PAS, PAD, FC, albuminúria, creatinina e filtração glomerular estimada das pacientes antes e após a estimulação ovariana ajustada para a idade (n=75).

VARIÁVEIS	RAZÃO DE MÉDIAS	LIMITE INFERIOR	LIMITESUPERIOR	P
PAS	1,00	0,97	1,02	0,933
PAD	0,99	0,96	1,02	0,744
FC	1,03	1,00	1,05	0,015
Albuminúria	1,46	1,14	1,88	0,003
Cr	1,03	0,98	1,08	0,125
FGE	1,01	0,88	1,03	0,201

Nove pacientes (12%) desenvolveram hiperestimulação ovariana. Neste grupo, o padrão das variáveis antes e após a estimulação não diferiu com significância estatística para nenhuma das variáveis estudadas.

Antes e após estimulação ovariana, não houve diferença estatisticamente significativa na variação dos níveis de PA sistólica, de PA diastólica, de FC, de AL em amostra e de FGE das pacientes que engravidaram em relação àquelas que não engravidaram.

Quando separamos os grupos em pacientes que gestaram e que desenvolveram hiperestimulação ovariana *versus* aquelas que gestaram e não desenvolveram também não houve diferença.

DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta as características das pacientes, como se vê com uma alta média de idade a considerar a intenção de gestação, mas denotando claramente que são mulheres que buscam a fertilização ovariana por dificuldade anterior e por tentativas frustradas de gravidez. Também fica evidente que o grupo de pacientes reflete o extrato social ao verificarmos que, das 84 pacientes possíveis para o estudo, apenas uma era de cor negra.

Os resultados do estudo, expressos nas tabelas dois e três do capítulo de resultados, reforçam os poucos dados contidos na literatura de que o processo de estimulação ovariana para fertilização *in vitro* não altera os níveis basais de PA sistólica e diastólica, creatinina sérica e FGE das pacientes submetidas ao referido tratamento (12, 13).

Em relação à FC e à AL em amostra, houve diferença estatística significativa das medidas após a estimulação ovariana. Todavia, a variação não parece configurar-se em achados clinicamente relevantes, já que em números absolutos a variação é pequena. A diferença estatística ocorreu devido ao número de pacientes incluídos no estudo, que possibilitaram que se evidenciasse este significado dos números.

Cabe salientar que, uma vez que o início da estimulação ovariana ocorre nos primeiros dias do ciclo menstrual, e que o sangramento transvaginal proveniente da

menstruação poderia gerar falsos-positivos nos níveis da proteinúria em amostra (14), optamos por obter sua amostra pré-estimulação até os seis meses que antecederam a pesquisa.

Após os 35 anos, o aumento da idade da mulher reduz drasticamente suas taxas de fertilidade (15). Isto se mostra mesmo neste estudo, quando nos reportamos ao algoritmo da figura 1, que inicia a apresentação do capítulo de resultados, e verificamos que 42 pacientes, ou 56% das 75 pacientes que realizaram estimulação ovariana, não gestaram. A análise mostrou que pacientes com maior idade apresentaram um aumento dos níveis de frequência cardíaca e de albuminúria em relação aos seus níveis basais, após submetidas à estimulação ovariana, com significado estatístico. A influência da idade das mulheres não se reproduziu quando avaliamos seus níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, da creatinina sérica e da filtração glomerular estimada.

É sabido que a Hipertensão Arterial Sistêmica na gravidez tem como grupo de risco gestantes com idade mais avançada, e o fato de que Hipertensão Arterial está relacionada a um maior risco futuro de elevação dos níveis de albuminúria destas pacientes (16). Talvez os dados encontrados estejam mais relacionados à própria idade do que à gestação ou à ocorrência de hiperestimulação.

Quando é analisado o grupo de participantes que engravidaram e o comparamos com o grupo em que não houve gestação, não se evidencia mudança estatisticamente significativa entre os níveis das variáveis antes e após o tratamento. Todavia é sabido que os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica bem como os de frequência cardíaca se alteram durante a gravidez (17). Observa-se pouca diferença na pressão arterial sistólica, sendo que ocorre uma redução de 5 a 10 mmHg na pressão arterial diastólica entre a 12^a e a 26^a semanas de gestação, bem como um aumento da frequência

cardíaca em cerca de quinze batimentos por minuto. São observações conhecidas na gestação e que, pelo que se vê, iniciam mesmo após o início da gestação e parecem não presentes durante o período da estimulação ovariana para fertilização.

A síndrome de hiperestimulação ovariana é uma complicação suprafisiológica do estímulo ovariano com gonadotrofinas, que ocorre na dependência de fatores de risco como a presença de síndrome de ovários policísticos e história prévia da referida síndrome, entre outros (18). Neste estudo, procurou-se identificar o comportamento destas variáveis na gestante durante o hiperestímulo ovariano identificado pela imagem. Não houve diferença estatisticamente significativa das variáveis nas pacientes que apresentaram hiperestimulação ovariana em comparação com as mulheres que não evoluíram com o referido desfecho. Da mesma forma, não houve significância estatística na variação das referidas variáveis antes e após a estimulação ovariana entre as pacientes que gestaram além de desenvolver hiperestimulação ovariana *versus* as gestantes que não evoluíram com o referido desfecho.

Como restrições deste estudo, apontamos a falta de um ou mais momentos intermediários entre as aferições de pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca, albuminúria e creatinina sérica antes e após a estimulação ovariana com vistas à detecção de uma possível alteração de seus níveis nos referidos intervalos. Não sabemos, também, se os resultados obtidos no presente estudo podem ser aplicados em gestações espontâneas, uma vez que estes se relacionam às técnicas de reprodução assistida.

REFERENCES

1. Willem Ombelet, Ian Cooke, Silke Dyer, GamalSerour, Paul Devroey. *Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries*. HumReprod Update. 2008 Nov-Dec; 14(6): 605–621.
2. Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, Buck Louis GM. *Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach*. FertilSteril. 2013;99(5):1324.
3. Huynh L, McCoy M, Law A, Tran KN, Knuth S, Lefebvre P, Sullivan S, Duh MS. *Systematic Literature Review of the Costs of Pregnancy in the US*. Pharmacoeconomics. 2013 Nov;31(11):1005-30.
4. Nasser S, Ledger WL. *Clomiphene citrate in the twenty-first century*. Hum Fertil 2001; 4:145-151.
5. Ajonuma LC, Ajuonuma MU, Ajuonuma BC, Ogbedeagu VM, Ajuonuma JU, Chukwu CL. *EG-VEGF concentrations may predict OHSS*. FertilSteril. 2011 Jun;95(7):e37.
6. Fernandez LA, Tarlatzis BC, Rzasas PJ, Caride VJ, Laufer N, Negro-Vilar AF, et al. *Renin-like activity in ovarian follicular fluid*. FertilSteril. 1985;44:219–23.
7. National Kidney Foundation. *K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. Am J Kidney Dis 2002; 39:S1.
8. Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, Stadtmauer L, Oehninger S. *Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr*. FertilSteril. 2005;84(3):555.

9. GFR Calculators: Serum Creatinine and Cystatin C (2012) [internet]. 4 variable MDRD Study Equation, CKD-EPI Creatinine Equation (2009), CKD-EPI Cystatin C Equation (2012) and CKD-EPI Creatinine-Cystatin C Equation (2012) (with SI Units) using standardized serum creatinine, age, race, gender and serum cystatin C programmed by Stephen Z. Fadem, M.D., FACP, FASN and Brian Rosenthal; [cited 2014 jan 10]. Available from: <http://www.mdrd.com>.
10. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. *Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate.* Ann Intern Med. 2006 Aug 15;145(4):247-54.
11. Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada-Canadian Fertility Andrology Society Clinical Practice Guidelines Committee; Reproductive Endocrinology and Infertility Committee of the SOGC; Executive and Council of the Society of Obstetricians; Gynaecologists of Canada; Board of the Canadian Fertility and Andrology Society, Shmorgun D, Claman P. *The diagnosis and management of ovarian hyperstimulation syndrome.* J ObstetGynaecol Can.2011 Nov;33(11):1156-62.
12. Remohí J, Bellver J, Pellicer A. *Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana.* 2007: 179-188.
13. Manau D, Balasch J, Creus M. *Circulatory Dysfunction in Asymptomatic in Vitro Fertilization Patients. Relationship with Hyperestrogenemia and Activity of Endogenous Vasodilators.* J Clin Endocrinology and Metabolism 1998; Vol83, nº5: 1489-1493.

14. Zanella MT. *Microalbuminúria: Fator de Risco Cardiovascular e Renal Subestimado na Prática Clínica*. Arq Bras Endocrinol Metab vol 50 nº 2 Abril 2006.
15. Te Velde, E. R., Pearson, P. L. *The variability of female reproductive ageing*. Hum. Reprod. Update. 2008, 141-154.
16. Andrea G, ReemAsad, Dawn C. *Hypertension in Pregnancy Is a Risk Factor for Microalbuminuria Later in Life*. The Journal of Clinical Hypertension, 2013; Vol 15(617-623).
17. Chapman AB, Abraham WT, Zamudio S, et al. *Temporal relationships between hormonal and hemodynamic changes in early human pregnancy*. Kidney Int 1998; 54:2056.
18. Kumar P, Sait SF, Sharma A, Kumar M. *Ovarian hyperstimulation syndrome*. J Hum Reprod Sci. 2011 May;4(2):70-5.

Anexo 6 – Confirmação de submissão do artigo.**Submission Confirmation**

The Green Journal (em@greenjournal.org)

14/01/2014

Para: Roberta Soletti Musachio

Dear Dr. Musachio:

RE: ONG-14-86

Thank you for submitting your manuscript for consideration for publication in Obstetrics & Gynecology. The manuscript has been assigned the number given above. Please refer to this number in any correspondence.

Your manuscript has been assigned to one of the Editors for processing. Please log on to Editorial Manager at <http://ONG.editorialmanager.com> as an AUTHOR for details on your Manuscript titled "BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND RENAL FUNCTION IN OVARIAN STIMULATION TO IN VITRO FERTILIZATION."

If you have not already done so, please submit an author agreement form (available in each issue of the journal and online at <http://ong.edmgr.com>) to the editorial office. Currently, the journal can accept original, electronic, or fax copy signatures.

Best regards,

The Editors of Obstetrics & Gynecology

2012 IMPACT FACTOR: 4.798

2012 IMPACT FACTOR RANKING: 2nd out of 77 ob/gyn journals