

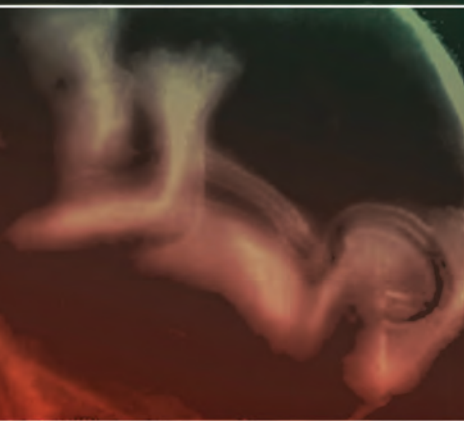
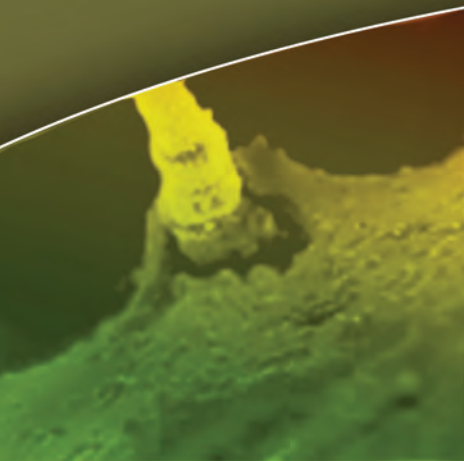
Volume 15
Number 5
Sep-Oct 2011
ISSN 1517-5693

JBRA

Assisted Reproduction



JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA



Fotos: Lennart Nilsson "Images of Life"



*Veja a
obra de arte
que fizemos
juntos.*



Fertilidade.

Você. Nós. Somos os pais da fertilidade

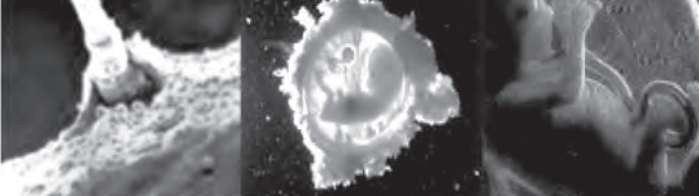
Merck Serono

SAC Merck Serono: 0800.113320

Anúncio veiculado em Maio de 2011.

Merck Serono é uma divisão da Merck.





JBRA

Assisted Reproduction

ÓRGÃO DE DIVULGAÇÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO
ASSISTIDA E DA REDE LATINOAMERICANA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

ISSN: 1517-5693 - V. 15 | nº5 | Sep-Oct / 2011

INDEXADO NAS SEGUINTE BASES DE DADOS – Indexed on the following databases:

Compendex

EMBASE

Excepta Médica

Geobase

PERIODICA (México)

Plataforma SCImago Journal & Country Rank

PORTAL DE PERIÓDICOS DA CAPES

Scopus (Holanda)

JBRA - Assisted Reproduction

Jornalista Responsável:
Heber Maia – MTb 31.660

Endereço para Correspondência:
Dra. Maria do Carmo Borges de Souza
Av. das Américas, 4666 - Sl. 312 / 313
Barra da Tijuca - RJ CEP 22649-900
E-mail: journalsbra@cmb.com.br
Fone: (21) 2430-9060
Fax: (21) 2430-9070



Produção Editorial e Gráfica:
AlamTec Tecnologia em Informação LTDA
Rua Cabo José Clemeneano de Carvalho, 3
Jardim Avelino CEP 03226-000
São Paulo-SP
Tel/Fax: (11) 2341-8045
e-mail: alamtec@br.inter.net
www.alamtec.com.br

CORPO EDITORIAL – EDITORIAL BOARD

Editor – Editor

Maria do Carmo Borges de Souza (G&O Barra/
UFRJ RJ Brasil)

Editor Adjunto – Assistant Editor

Paulo Franco Taitson (ARQ / PUCMG Brasil)

Consultor Editorial - Editorial Consultant

José Gonçalves Franco Jr (UNESP – Botucatu /
CRH SP Brasil)

Editores Associados – Associate Editors

Edson Borges Jr (Fertility / Faculdade de Medicina
de Jundiaí - Inst Sapientiae SP Brasil)

João Batista A Oliveira (CRH SP Brasil)

Selmo Geber (Origen / UFMG Brasil)

Weydson Barros Leal (UFPE Brasil)

CONSULTORES CIENTÍFICOS –

Scientific Reviewers

Adelino Amaral Silva (Gênesis / Escola Superior de
Ciências da Saúde DF Brasil)

Agnaldo Lopes da Silva Filho (UFMG Brasil)

Alessandro Schuffner (Conceber PR Brasil)

Álvaro Petracco (Fertilitat/ PUC RS Brasil)

Ana Cristina Allemand Mancebo (G&O Barra RJ Brasil)

Anne R Greenlee (OHSU EUA)

Antonio Requena (IVI Madrid Espanha)

Aroldo Camargos (UFMG Brasil)

Bela Zausner (Gênese BA Brasil)

Bruno Scheffer (IBRRA MG Brasil)

Carlos André Henriques (UFRJ / G&O Barra RJ Brasil)

Carlos María Romeo-Casabona (Universidade de
Deusto e do País Basco Espanha)

Cesar Cafatti (Clin Los Dominicos Chile)

Claudia Borrero (Conceptum Colombia)

Claudia G Petersen (CRH SP Brasil)

Cláudio Chillik (CEGYR Argentina)

Condesmar Marcondes Filho (Nucl Santista
RH SP Brasil)

David Vantman (CER Chile)

Dirceu H Mendes Pereira (Profert SP Brasil)

Eduardo Pandolfi Passos (SEGIR / UFRGS RS Brasil)

Ernesto Gallardo Lozano (IMER México)

Fabio Firmbach Pasqualotto (Conception /
UCS RS Brasil)

Fernando Zegers-Hochschild (Clin Las Condes Chile)

Francisco Risquez (Clin La Trinidad Venezuela)

Francisco J.B. Sampaio (UERJ Brasil)

Humberto Ikuo Shibasaki (UFMT Brasil)

Jorge Blaquier (Fertilab Argentina)

João Pedro Junqueira Caetano (Pro-Criar/
Mater Dei MG Brasil)

Joaquim Roberto C Lopes (Cenafert BA Brasil)

Jonathas Borges Soares (Faculdade Medicina do ABC /
Projeto Alfa SP Brasil)

Juan Manuel Montoya (Conceptum Colombia)

Ivan Valencia Madera (CEMEFES Equador)

Karen Sermon (VUB Bélgica)

Leila Montenegro S Farah (Fertility / Faculdade de
Medicina de Jundiaí - Inst Sapientiae SP Brasil)

Leticia Urdapilleta (Cegyr Argentina)

Lídio Jair Ribas Centa (Androlab/ UFPR Brasil)

Luiz Fernando Dale (C Medicina RJ Brasil)

Madalena Caldas (GERAR PE Brasil)

Marcos Sampaio (Origen MG Brasil)

Mariângela Badalotti (Fertilitat PUC RS Brasil)

Marilena Correa (IMS-UERJ Brasil)

Mario Cavagna (H Perola B/ CRH SP Brasil)

Marisa Decat de Moura (IBBRA/Universidade
FUMEC BH Brasil)

Newton Eduardo Busso (Fac. CM Santa Casa de SP /
Unifert SP Brasil)

Paulo Serafini (Huntington/ USP SP Brasil)

Ricardo Melo Marinho (FCMMG MG Brasil)

Roberta Wonchockier (Projeto Alfa SP Brasil)

Roberto Coco (Fecunditas Argentina)

Rose Marie M Melamed (Fertility SP Brasil)

Sidney Glina (Fac. Medicina do ABC /
Hosp Albert Einstein SP Brasil)

Silvana Chedid Chedid-Grieco (SP Brasil)

Sergio Reis Soares (IVI Lisboa Portugal)

Renato Fanchin (Hôpital A. Béclère,
University Paris-Sud 11 França)

*Veja a
obra de arte
que fizemos
juntos.*



Você. Nós. Somos os pais da fertilidade

Fertilidade.

Merck Serono

SAC Merck Serono: **0800.113320**

Anúncio veiculado em Maio de 2011.

Merck Serono é uma divisão da Merck.



DIRETORIA DA SBRA - 2011/2012

PRESIDENTE

 Adelino Amaral Silva

VICE PRESIDENTE

 Edson Borges Júnior

SECRETÁRIO

 Paulo Franco Taitson

TESOUREIRA

 Hitomi Miura Nakagava

DEPARTAMENTO DE PUBLICAÇÕES

EDITORA

 Maria do Carmo Borges de Souza

EDITOR ADJUNTO

 Paulo Franco Taitson

 e-mail: journalsbra@cmb.com.br

Diretoria da REDLARA - 2009/2010

DIRETOR EXECUTIVO

 Ernesto Gallardo Lozano

 México

 E-mail: direjecutiva@redlara.com

www.redlara.com

VICE DIRETORA EXECUTIVA

 Maria do Carmo Borges de Souza

 Brasil

 E-mail: mariadocarmo@cmb.com.br

DIRETORES REGIONAIS

REGIÃO: Costa Rica, El Salvador, Guatemala,
 México, Panamá, República Dominicana

 Carlos Félix Arce

 México

carfelar@infosel.net.mx

REGIÃO: Bolívia, Chile & Peru

 Fabrizio Vizcarra Alosilla

 Peru

favizcarraredlara@gmail.com

REGIÃO: Colômbia, Equador & Venezuela

 María Teresa Urbina

 Venezuela

 E-mail: mturbina@hotmail.com

REGIÃO: Argentina, Paraguai & Uruguai

 Gabriel Fiszbajn

 Argentina

 E-mail: fiszbajn@cegyr.com

REGIÃO: Brasil

 Selmo Geber

 Brasil.

 E-mail: selmogeber@origen.com.br

SECRETÁRIA EXECUTIVA

 Marina Diaz

 México

 E-mail: info@redlara.com

INFORMAÇÕES GERAIS

1. O JBRA Assisted Reproduction (JBRA Assist. Reprod) é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA – www.sbra.com.br) e da Rede Latino-americana de Reprodução Assistida (www.redlara.com) para conteúdos científicos, com periodicidade bimestral. É dirigido a especialistas e pesquisadores em saúde, particularmente ginecologistas, andrologistas, biólogos, urologistas e embriologistas. São aceitos para avaliação estudos básicos e clínicos nas áreas de reprodução assistida, infertilidade, genética reprodutiva, imunologia reprodutiva, andrologia, microbiologia reprodutiva, laboratório em reprodução assistida e endocrinologia ginecológica, sob a forma de artigos originais, artigos de revisão, artigos de atualização e relatos de caso (conforme detalhamento a seguir). Os artigos podem ser submetidos nos idiomas português, espanhol ou inglês. Autores interessados em traduzir seu artigo para inglês podem solicitar um orçamento de tradução ao J Bras Rep Assist.

2. Artigos submetidos ao JBRA Assisted Reproduction devem ser inéditos, isto é, não devem ter sido publicados nem submetidos para análise por outras revistas, no todo ou parcialmente. Em casos de figuras já publicadas, autorização deve ser obtida e a fonte deve ser citada. Uma vez publicados, os artigos passam a ser de propriedade da SBRA.

3. As Instruções para Autores do JBRA Assisted Reproduction incorporam as recomendações dos Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. A versão completa do texto está disponível em www.icmje.org. Manuscritos que estiverem em desacordo com as instruções aqui apresentadas serão devolvidos para a incorporação de ajustes antes da avaliação pelo Conselho Editorial.

4. Todo artigo publicado no JBRA Assisted Reproduction passa pelo processo de revisão por especialistas (peer review). Os artigos submetidos são primeiramente encaminhados aos editores para uma avaliação inicial quanto ao escopo do trabalho e às exigências editoriais do Jornal. Se a avaliação é positiva, o artigo é enviado a dois revisores especialistas na área pertinente. Todo o processo é anônimo, ou seja, os revisores são cegos quanto à identidade dos autores e seu local de origem e vice-versa. Após a avaliação do artigo pelos revisores, os artigos podem ser aceitos sem modificações, recusados ou devolvidos aos autores com sugestões de modificações, sendo que cada artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e modificações, sem que isso implique necessariamente a aceitação futura do trabalho.

5. O número de autores de cada manuscrito fica limitado a seis. O conceito de co-autoria implica contribuição substancial na concepção e planejamento do trabalho, análise e interpretação dos dados e redação ou revisão crítica do texto. Contribuições significativas feitas ao estudo, mas que não se enquadram nesses critérios, podem ser citadas na seção de agradecimentos.

6. Artigos de pesquisas clínicas (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors (por exemplo, www.actr.org.au, www.clinicaltrials.gov, www.ISRCTN.org, www.umin.ac.jp/ctr/index/htm e www.trialregister.nl). O número de identificação do estudo deverá ser apresentado ao final do resumo.

7. Para textos que forem aceitos para publicação, uma declaração, assinada por todos os autores deverá ser enviada à revista, contendo as seguintes informações: a) o manuscrito é original; b) o manuscrito não foi publicado nem submetido a outra revista, nem o será se vier a ser publicado no JBRA Assisted Reproduction; c) todos os autores participaram ativamente na elaboração do estudo e aprovaram a versão final do texto; d) situações de potencial conflito de interesse (financeiro ou de outra natureza) estão sendo informadas; e) foi obtida aprovação do estudo pelo comitê de ética da instituição à qual o trabalho está vinculado

(para artigos que relatam dados de pesquisa experimental; f) foi obtido consentimento informado dos pacientes incluídos no estudo (quando aplicável). As informações sobre a aprovação do estudo por comitê de ética e a obtenção de consentimento informado também devem constar na seção Métodos do artigo.

8. Antes da publicação dos artigos aceitos, os autores correspondentes receberão, via e-mail, em arquivo PDF, o artigo editorado para aprovação. Nessa fase, as correções devem limitar-se a erros tipográficos, sem alteração do conteúdo do estudo. Os autores deverão devolver as provas aprovadas via e-mail ou fax até 48 horas após o recebimento da mensagem.

TIPOS DE ARTIGOS PUBLICADOS

Artigos originais. Trabalhos resultantes de pesquisa científica que apresentam dados originais sobre aspectos experimentais ou observacionais de caráter médico, biológico, bioquímico e psicossocial e incluem análise estatística descritiva e/ou inferências de dados próprios. Esses artigos têm prioridade para publicação. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto (dividido nas seções Introdução, Métodos, Resultados, Discussão ou equivalentes, Conclusões), agradecimentos (se aplicável), lista de referências (máximo de 40), tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Artigos de revisão. Trabalhos que têm por objetivo resumir, analisar, avaliar ou sintetizar trabalhos de investigação já publicados em revistas científicas. Devem incluir síntese e análise crítica da literatura levantada e não ser confundidos com artigos de atualização. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, lista de referências, tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Artigos de atualização ou opinião. Trabalhos que relatam informações geralmente atuais sobre tema de interesse para determinadas especialidades (por exemplo, uma nova técnica ou método). Têm características distintas de um artigo de revisão, visto que não apresentam análise crítica da literatura. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, lista de referências, tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Relatos de caso. Artigos que representam dados descritivos de um ou mais casos, explorando um método ou problema através de exemplo(s). Os casos escolhidos devem ser de grande interesse, com doença ou evolução incomuns ou submetidos a tratamentos inusitados ou alternativos. Podem envolver humanos ou animais e devem apresentar as características do indivíduo estudado (sexo, idade, etc.). Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto (dividido nas seções Introdução, Descrição do caso e Discussão ou equivalentes), lista de referências, legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

Cartas ao leitor. Cartas ao editor comentando, discutindo ou criticando os artigos publicados no JBRA Assisted Reproduction serão bem recebidas e publicadas desde que aceitas pelo Conselho Editorial. Devem ser compostas de: título, nome do autor, identificação da publicação que está sendo comentada e lista de referências (se houver). Recomenda-se um máximo de 500 palavras, incluindo referências. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada juntamente com a carta.

PREPARAÇÃO DOS ORIGINAIS

Utilize preferencialmente o processador de texto Microsoft Word®. Os trabalhos devem ser digitados em fonte Times New Roman tamanho 12, espaço simples, alinhados à esquerda, iniciando cada seção em página nova, na seguinte ordem: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, agradecimentos, lista de referências, tabelas, legendas de figuras e figuras. Todas as páginas devem ser numeradas.

Siglas devem ser definidas por extenso na primeira ocorrência no texto; após a primeira ocorrência, somente a sigla deverá ser utilizada. No resumo, o uso de siglas deve ser evitado. Substâncias devem ser apresentadas utilizando seu nome genérico. Se relevante, o nome comercial da substância e o fabricante podem ser informados entre parênteses.

A apresentação de unidades de medida deve seguir o sistema internacional (SI).

Genes de animais devem ser apresentados em itálico com inicial maiúscula (exemplo: Sox2); genes de seres humanos também devem ser apresentados em itálico, porém com todas as letras maiúsculas (exemplo: SOX2). Proteínas devem seguir o mesmo padrão de maiúsculas/minúsculas, porém sem itálico.

PÁGINA DE ROSTO

A página de rosto deve conter:

- Título conciso e explicativo, representando o conteúdo do trabalho, em português e inglês
- Título resumido (máximo de 40 caracteres)
- Nomes dos autores
- Afiliação dos autores, indicando departamento/unidade, instituição e região geográfica
- Nome da instituição onde o trabalho foi executado
- Informações sobre auxílios recebidos sob a forma de financiamento, equipamentos ou medicamentos
- Congressos onde o estudo foi apresentado
- Nome, endereço, telefone, fax e email do autor correspondente

RESUMO E ABSTRACT

Todos os trabalhos devem apresentar um resumo em português e um abstract em inglês. Trabalhos escritos em espanhol devem apresentar, além do resumo no idioma original, também um resumo em português e um abstract em inglês. O conteúdo dos textos deve ser idêntico, e não deve ultrapassar 250 palavras. Para artigos originais, o resumo deve ser estruturado como segue: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. Para relatos de caso, artigos de revisão e artigos de atualização, o resumo não deve ser estruturado. Deve-se evitar o uso de abreviações no resumo, e não devem ser citadas referências.

Logo após o resumo/abstract/resumen, deverão ser apresentadas de três a seis palavras-chave que sejam integrantes da lista de Descritores em Ciências da Saúde (<http://decs.bvs.br>).

AGRADECIMENTOS

Esta seção é dedicada a reconhecer o trabalho de pessoas que tenham colaborado intelectualmente, mas cuja contribuição não justifica co-autoria, ou de pessoas ou instituições que tenham dado apoio material.

REFERÊNCIAS

No texto, as citações serão identificadas entre parênteses, pelo sobrenome do autor seguido do ano de publicação. Exemplos: um autor (Steptoe, 1978), dois autores (Edwards & Steptoe, 1980), mais de dois autores (Van Steirteghem et al., 1988).

A lista de referências deve ser apresentada em ordem alfabética (último sobrenome de cada autor seguido das duas primeiras iniciais), e não deve ser numerada. Trabalhos do mesmo autor devem ser ordenados cronologicamente; trabalhos de mesmo autor e ano devem ser identificados com letras após o ano (2000a, 2000b, etc.). A apresentação das referências seguirá os modelos propostos nos Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (ver exemplos a seguir). Todas as referências citadas na lista devem ser mencionadas no texto e vice-versa.

1. Artigo de periódico

Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol.* 1980;87:737-56.

2. Livro

Wolf DP, Quigley MM, eds. *Human in vitro fertilization and embryo transfer.* New York: Plenum Press; 1984.

3. Capítulo de livro

Simpson JL. Gonadal dysgenesis and sex abnormalities: phenotypic-karyotypic correlations. In: Vallet HL, Porter IH, eds. *Genetic mechanisms of sexual development.* New York: Academic Press; 1979. p. 365-77.

4. Artigo de revista eletrônica

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs [revista eletrônica].* 2002 Jun [citado 2002 ago 12];102(6): [aproximadamente 3 p.]. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

5. Artigo publicado na Internet:

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-web-based interventions: a meta-analysis of behavioral change outcomes. *J Med Internet Res.* 2004;6(4):e40. Disponível em: <http://www.jmir.org/2004/4/e40/>. Acessado: 29/11/2004.

6. Site

OncoLink [site na Internet]. Philadelphia: University of Pennsylvania; c1994-2006. [atualizado 2004 set 24; citado 2006 mar 14]. Disponível em: <http://cancer.med.upenn.edu/>.

7. Software

Smallwaters Corporation. Analysis of moment structures: AMOS [software]. Version 5.0.1. Chicago: Smallwaters; 2003.

TABELAS E FIGURAS

Tabelas e figuras (gráficos, fotografias, etc.) devem ser numeradas em algarismos arábicos conforme a ordem de aparecimento no texto e devem ter legendas individuais, apresentadas ao final do trabalho. Cada tabela e figura deve ser submetida em folha separada.

Nas tabelas, deverão ser utilizadas apenas linhas horizontais, e cada dado deverá constar em uma célula independente. Explicações sobre itens das tabelas devem ser apresentadas em notas de rodapé identificadas pelos seguintes símbolos, nesta seqüência: *,†, ‡, §, ||,¶,*,††,‡‡.

Figuras em geral (gráficos, fotografias, etc.) serão publicadas em preto e branco. Despesas com a eventual reprodução de fotografias em cor serão de responsabilidade do autor.

Figuras podem ser submetidas eletronicamente, nas extensões .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi (para possibilitar uma impressão nítida), ou por correio (ver instruções de envio mais adiante). Todas as figuras enviadas pelo correio devem ser identificadas no verso com o uso de etiqueta colante contendo o nome do primeiro autor, o número da figura e uma seta indicando o lado para cima.

Fotografias escaneadas não serão aceitas; fotografias em papel devem ser encaminhadas pelo correio. Fotografias de pacientes não devem permitir sua identificação.

Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões. Figuras já publicadas e incluídas em artigos submetidos devem indicar a fonte original na legenda e devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos (editora ou revista).

ENVIO/SUBMISSÃO DE ARTIGOS

Os artigos devem ser submetidos preferencialmente por email (journalsbra@cmb.com.br). Texto e figuras devem ser enviadas como um anexo à mensagem. Figuras (exclusivamente gráficos e fotografias digitais) podem ser enviadas nas extensões .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi e tamanho máximo total (do conjunto de figuras) de 3 MB. Se a submissão por email não for possível, duas cópias do texto e figuras devem ser enviadas para o endereço a seguir:

Profa. Dra. Maria do Carmo Borges de Souza
 Editora do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida
 Centro Médico BarraShopping
 Av. das Américas, 4666, salas 312/313
 CEP 22649-900 □ Rio de Janeiro, RJ
 Fone: (21) 2430.9060
 Fax: (21) 2430.9070
<http://www.sbra.com.br>

GENERAL INFORMATION

1. JBRA Assisted Reproduction (JBRA Assist. Reprod) is the official publication by both the Brazilian Society of Assisted Reproduction (SBRA – www.sbra.com.br) and the Latin America Network of Assisted Reproduction (www.redlara.com) destined to scientific-based and bimonthly issued papers. It is designated to specialists and researchers in the health area, in particular to gynecologists, andrologists, biologists, urologists and embryologists. Basic and clinical studies in the areas of assisted reproduction, infertility, reproductive genetics, reproductive immunology, andrology, reproductive microbiology, laboratory in assisted reproduction and gynecological endocrinology will be accepted for evaluation in the form of original articles, reviews, update articles and case reports (as detailed below). Articles may be submitted in Portuguese, Spanish or English. Authors interested in having their articles translated into English may request an estimate at J Bras Rep Assist.

2. Papers submitted to JBRA Assisted Reproduction must be original, that is, they cannot have been either published or submitted for analysis by other journals, partially or in the whole. In cases where the illustrations have been published previously, an authorization must be granted and the source cited. Once published, the copyright of the articles belongs to SBRA.

3. The Instructions for Authors by JBRA Assisted Reproduction is comprised of the recommendations given by the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. The complete version of the text is available at www.icmje.org. Manuscripts not in accordance with the instructions presented herein will be returned for modifications to be made before the Editorial Board has evaluated them.

4. Every article published in JBRA Assisted Reproduction undergoes a review process by specialists (peer review). Submitted articles are primarily sent to editors for an initial evaluation as to the scope of the work and the editorial demands of the journal. In case of a positive evaluation, the article is then sent to two reviewers specialized in the appropriate area. Every process is anonymous, that is, reviewers are not aware of author's identity and place of origin and vice versa. After the articles are evaluated by reviewers, they can be accepted without alterations, refused or returned to authors along with suggestions for modifications. Each article may return to its author several times for clarification and alteration, without necessarily meaning a future acceptance of the article.

5. The number of authors for each manuscript is limited to six. The co-authorship concept connotes substantial contribution in the creation and planning of the paper, analysis and interpretation of data not to mention the writing and critical revision of the text. Significant contributions given to the study which do not fit these criteria may be cited in the acknowledgements section.

6. Clinical trials articles should be registered in the Clinical Trials Registry validated by the criteria established by the World Health Organization and by the International Committee of Medical Journal Editors (for instance, www.actr.org.au, www.clinicaltrials.gov, www.ISRCTN.org, www.umin.ac.jp/ctr/index/htm and www.trialregister.nl). The study identification number shall be presented at the end of the abstract.

7. For texts accepted for publication, a statement signed by all authors shall be sent to the journal, including the following information: a) the manuscript is original; b) the manuscript has not been previously published nor submitted to any other journal, and will not be published in case it is accepted by JBRA Assisted Reproduction; c) all authors have actively taken part in the preparation of the study and have approved of the final version of the text; d) situations on potential conflict of interests (either financial or of any other nature) are being informed; e) an approval of the study by the Ethics Committee of the institution to which the paper is linked was obtained (for articles reporting experimental research data; f) an informed consent by the patients included in the

study was obtained (when applicable) . All information on the approval of the study by the Ethics Committee and the possession of an informed consent should also be mentioned in the Methods section of the article.

8. Before the publication of accepted articles, the corresponding authors will receive the published article via e-mail attachment in a PDF archive for approval. At this point, corrections should be limited to typographic mistakes, without altering the content of the study. Authors should return approved papers by e-mail or fax 48 hours after receiving the message.

TYPES OF PUBLISHED ARTICLES

Original articles. Pieces of work resulting from scientific research presenting original data about experimental or observational aspects of medical, biological, biochemical and psychosocial character and including descriptive statistical analysis and/or inferences of own data. These articles have priority for publication. They must be composed of: title page, resumo e palavras-chave (in Portuguese)abstract and keywords, text (divided in Introduction, Methods, Results, Discussion or equivalent, Conclusion), acknowledgments (if applicable), references (40 at the most), tables (if available) figure legends (if available) and figures (if available).

Reviews. Papers whose aim is to summarize, analyze, evaluate or synthesize investigative papers already published in scientific journals. They must include a synthesis and critical analysis of the researched literature and cannot be confused with update articles. They must be composed of: title page, resumo e palavras-chave (in Portuguese), abstract and keywords, text, references, tables (if available) ,figure legends (if available) and figures (if available).

Update or opinion articles. Papers reporting usually current information on themes of interest to certain specialties (such as a new technique or method). They have different characteristics from reviews , since they do not display critical analysis of the literature. They must be composed of: title page, resumo e palavras-chave (in Portuguese), abstract and keywords, text, references, tables (if available) ,figure legends (if available) and figures (if available).

Case reports. Articles representing descriptive data of one or more cases, exploiting a method or problem through example(s). The selected cases should be of great interest, with unusual disease or evolution or submitted to unexpected or alternative treatments. They may involve humans or animals and should present the studied individual's characteristics (gender, age, etc.). They must be composed of: title page, resumo e palavras-chave (in Portuguese), abstract and keywords, text (divided in: Introduction, Case Description and Discussion or equivalent), references, figure legends (if available) and figures (if available).

Letters to the reader. Letters to the editor commenting, discussing or criticizing articles published in JBRA Assisted Reproduction will be welcome and published as long as they are accepted by the Editorial Board. They must be composed of: title, name of author, identification of the publication being commented on and references (if available). It is recommended to include 500 words at the most, references inclusive. Whenever possible, a reply by the authors will be published alongside with the letter.

PREPARATION OF ORIGINAL PAPERS

Preferably use Microsoft Word® processor. Papers should be typed in Times New Roman font sized 12, single-spaced and aligned to the left. Every section should be started on a new page in the following order: title page, resumo e palavras-chave (in Portuguese), abstract and keywords, text, acknowledgements, references, tables, figure legends and figures. All of the pages should be numbered consecutively. Abbreviations should be spelled out in the first mention in the text; and after the first appearance, only the abbreviation should be used. In the abstract, the use of abbreviations should be avoided.

Chemicals should be presented by their generic name. If relevant, commercial name of the substance and the manufacturer's name may be informed in parentheses.

The presentation of units of measurements should follow the International System (IS).

Genes of animals should be presented in italics with capital letter initials (example: Sox2); genes of human beings should also be presented in italics; however, with all capital letters (example: SOX2). Proteins should follow the same pattern: capital/small, without italics, though.

TITLE PAGE

The title page should carry the following information:

- Concise and comprehensive title, representing the content of the article, both in Portuguese and English
- Short running head (no more than 40 characters including letters and spaces)
- Authors' names
- Authors' institutional affiliation, showing department/unit, institution and geographic region
- Name of the institution where the work was carried
- Information about support given in the form of loan, equipment or drugs
- Congresses where the study was presented
- Name, mailing address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the corresponding author

RESUMO AND ABSTRACT

All articles should present an abstract both in Portuguese and in English. Papers written in Spanish should present, besides their abstracts in the original language, one abstract in Portuguese and another one in English. The content of both texts should be identical, and should not exceed 250 words. For original articles, the abstract should be structured as follows: Objective, Methods, Results and Conclusion. For case reports, reviews and update articles, the abstract should not be structured. The use of abbreviations should be avoided in the abstract, and references should not be cited.

Right after the resumo/abstract/resumen, three to six keywords belonging to the list of Health Sciences Descriptors (<http://decs.bvs.br>) should be presented.

ACKNOWLEDGEMENTS

This part is dedicated to acknowledging the work of those who have helped intellectually, but whose contribution does not justify co-authorship or those people or institutions who have given material support.

REFERENCES

In the text, the citations will be identified by the author's last name in parentheses followed by the publication year. Examples: one author (Steptoe, 1978), two authors (Edwards & Steptoe, 1980), and more than two authors (Van Steirteghem et al., 1988).

The references should be presented in alphabetical order (each author's surname followed by his/her first two initials), and should not be numbered. Papers by the same author should be chronologically organized; papers by the same author in the same year should be identified with letters after each year (2000a, 2000b, etc.). The presentation of references will follow the format proposed in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (see examples below). All references cited in the list should be mentioned in the text and vice-versa.

1. Journal Article

Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol.* 1980;87:737-56.

2. Book

Wolf DP, Quigley MM, eds. *Human in vitro fertilization and embryo transfer.* New York: Plenum Press; 1984.

3. Book Chapter

Simpson JL. Gonadal dysgenesis and sex abnormalities: phenotypic-karyotypic correlations. In: Vallet HL, Porter IH,

eds. *Genetic mechanisms of sexual development.* New York: Academic Press; 1979. p. 365-77.

4. Electronic Journal Article

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs [electronic journal].* 2002 June [cited 2002 aug 12];102(6): [approximately 3 p.]. Available at: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

5. Article published in the Internet:

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-web-based interventions: a meta-analysis of behavioral change outcomes. *J Med Internet Res.* 2004;6(4):e40. Available at: <http://www.jmir.org/2004/4/e40/>. Accessed: 29/11/2004.

6. Site

OncoLink [site in the Internet]. Philadelphia: University of Pennsylvania; c1994-2006. [updated 2004 Sept 24; cited 2006 March 14]. Available at: <http://cancer.med.upenn.edu/>.

7. Software

Smallwaters Corporation. Analysis of moment structures: AMOS [software]. Version 5.0.1. Chicago: Smallwaters; 2003.

TABLES AND FIGURES

Tables and figures (graphs, photographs, etc.) should be numbered in Arabic numerals according to the order in which they appear in the text and should have individual legends, presented at the end of the paper. Each table and figure should be submitted on a separate sheet of paper.

In the tables, use horizontal lines only, and each piece of information should be in an independent cell. Explanations about items in the tables should be presented in footnotes identified by the following symbols, in this sequence: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Figures in general (graphs, photographs, etc.) will be published in black and white. Expenses due to the eventual reproduction of photographs in color will be the author's responsibility.

Figures may be submitted in electronic formats such as .jpg, .gif or .tif, with a minimum resolution of 300 dpi (in order to guarantee clear printing), or by mail (see further mailing instructions). All figures sent by mail should be identified on the back with an adherent sticker containing author's first name, number of the figure and an arrow indicating which side is up. Scanned photographs will not be accepted; photographs in paper must be sent by mail. Photographs of patients should not allow their identification.

Graphs should be two-dimensional only.

Figures previously published and included in submitted articles should include the original source in the legend and should be accompanied by a permission letter from the copyright's holder (publisher or journal).

MAILING/SUBMISSION OF ARTICLES

Articles should be submitted preferably by e-mail (journalsbra@cmb.com.br). Text and figures should be sent as attachments together with the message. Figures (graphs and digital photographs exclusively) may be sent in the formats .jpg, .gif ou .tif, with minimum resolution of 300 dpi and total maximum size of 3 MB (all figures).

If submission by e-mail is not possible, two copies of the text must be sent to the address below:

Profa. Dra. Maria do Carmo Borges de Souza
 Editora do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida
 Centro Médico Barra Shopping
 Av. das Américas, 4666, salas 312/313
 CEP 22649-900 □ Rio de Janeiro, RJ
 Fone: (55)(21) 2430.9060
 Fax: (55)(21) 2430.9070
<http://www.sbra.com.br>

INFORMACIONES GENERALES

1. El JBRA Assisted Reproduction (JBRA Assist. Reprod) es una publicación oficial de la Sociedad Brasileña de Reproducción Asistida (SBRA – www.sbra.com.br) y de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (www.reclara.com) para contenidos científicos, con periodicidad bimestral. Es dirigido a especialistas e investigadores en salud, particularmente ginecólogos, andrólogos, biólogos, urólogos y embriólogos. Se recibe para evaluación estudios básicos y clínicos en los siguientes áreas: reproducción asistida, infertilidad, genética reproductiva, inmunología reproductiva, andrología, microbiología reproductiva, laboratorio en reproducción asistida y endocrinología ginecológica, bajo la forma de artículos originales, de revisión, de actualización y relatos de caso (conforme detallamos a continuación). Se reciben artículos en portugués, español o inglés. Autores interesados en traducir sus artículos al inglés pueden solicitar un presupuesto de traducción al J Bras Rep Assist.

2. Artículos sometidos al JBRA Assisted Reproduction deben ser inéditos, o sea, no deben haber sido publicados ni sometidos para análisis por otras revistas, en su totalidad o parcialmente. En casos de imágenes ya publicadas, se debe obtener autorización y nombrar la fuente. Una vez que su artículo(s) haya(n) sido publicado(s), pasa(n) a ser propiedad de la SBRA.

3. Las Instrucciones para Autores del JBRA Assisted Reproduction incorporan las recomendaciones de los *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*. La versión completa del texto está disponible en www.icmje.org. Manuscritos que no estén conforme las instrucciones aquí presentadas serán devueltos para la incorporación de ajustes antes de la evaluación por el Consejo Editorial.

4. Todo artículo publicado en el JBRA Assisted Reproduction pasa por un proceso de revisión por especialistas (*peer review*). Los artículos sometidos son primeramente enviados a los editores para una evaluación inicial respecto al objetivo del trabajo y a las exigencias editoriales del JBRA. Si la evaluación es positiva, el artículo es enviado a dos revisores especialistas del área pertinente. Todo el proceso es anónimo, o sea, los revisores desconocen la identidad de los autores y su local de origen y viceversa. Después de la evaluación del artículo por los revisores, se puede: a-aceptar el artículo sin modificaciones, b-rechazar el artículo, c-devolverlo a los autores con sugerencias de modificaciones; en el último caso, un artículo puede regresar varias veces a sus autores para aclaraciones y modificaciones, sin que eso implique necesariamente la aceptación futura del trabajo.

5. Se limita a seis el número de autores de cada manuscrito. El concepto de coautoría implica contribución substancial en la concepción y planeamiento del trabajo, análisis e interpretación de los datos y redacción o revisión crítica del texto. Contribuciones significativas hechas al estudio, pero que no se cuadran en esos criterios, pueden ser descritas en la sección de agradecimientos.

6. Artículos de investigaciones clínicas (*clinical trials*) deben ser registrados en uno de los Registros de Ensayos Clínicos validados por los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud y por el International Committee of Medical Journal Editors (por ejemplo, www.actr.org.au, www.clinicaltrials.gov, www.ISRCTN.org, www.umin.ac.jp/ctr/index/htm y www.trialregister.nl). El número de identificación del estudio deberá ser presentado al final del resumen.

7. Caso se acepte su trabajo para publicación, débese enviar al JBRA una declaración firmada por todos los autores, con la siguiente información: a) el manuscrito es original; b) el manuscrito no fue publicado ni sometido a otra revista, ni será, en el caso de su publicación por el JBRA Assisted Reproduction; c) todos los autores participaron activamente en la elaboración del estudio y aprobaron la versión final del texto; d) situaciones de potencial conflicto de interés (financiero o de otra naturaleza) serán informadas; e) se

obtuvo aprobación del estudio por el comité de ética de la institución a la cual el trabajo está vinculado (para artículos que relatan datos de pesquisa experimental); f) se obtuvo consentimiento informado de los pacientes incluidos en el estudio (cuando se aplica). Se debe informar en la sección Métodos del artículo los datos sobre la aprobación del estudio por el comité de ética y la obtención de consentimiento informado.

8. Antes de la publicación de los artículos aprobados, los autores correspondientes recibirán, por e-mail, en documento PDF, el artículo listo para publicación, para aprobación. En esta etapa, las correcciones deben limitarse a errores tipográficos, sin cambios de contenido del estudio. Los autores deberán devolver las pruebas aprobadas por e-mail o fax antes de 48 horas después de haberlo recibido.

TIPOS DE ARTÍCULOS PUBLICADOS

Artículos originales. Trabajos resultantes de pesquisa científica que presentan datos originales sobre aspectos experimentales u observacionales de carácter médico, biológico, bioquímico y psicosocial e incluyen análisis estadística descriptiva y/o inferencias de datos propios. Estos artículos tienen prioridad para publicación. Deben contener: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto (dividido en las secciones Introducción, Métodos, Resultados, Discusión o equivalentes, Conclusiones), agradecimientos (si se aplica), listado de referencias (máximo de 40), tablas (si hay), notas al pie de imágenes (si hay) e imágenes (si hay).

Artículos de revisión. Trabajos que tienen por objetivo resumir, analizar, evaluar o sintetizar trabajos de investigación ya publicados en revistas científicas. Deben incluir síntesis y análisis crítica de la literatura levantada y no ser confundidos con artículos de actualización. Deben contener: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto, listado de referencias, tablas (si hay), notas al pie de imágenes (si hay) e imágenes (si hay).

Artículos de actualización u opinión. Trabajos que reportan informaciones generalmente actuales sobre tema de interés para determinadas especialidades (por ejemplo, una nueva técnica o método). Tienen características diferentes de un artículo de revisión, pues no presenta análisis crítica de la literatura. Deben contener: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto, listado de referencias, tablas (si hay), notas al pie de imágenes (si hay) e imágenes (si hay).

Relatos de caso. Artículos que representan datos descriptivos de uno o más casos, explorando un método o problema a través de ejemplo(s). Los casos elegidos deben ser de gran interés, con enfermedad o evolución anormal o sometidos a tratamientos inusitados o alternativos. Pueden involucrar humanos o animales y deben presentar las características del individuo en estudio (sexo, edad, etc.). Deben contener: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto (dividido en las sesiones Introducción, Descripción del caso y Discusión o equivalentes), listado de referencias, notas al pie de imágenes (si hay) e imágenes (si hay).

Cartas al lector. Con gusto recibiremos cartas al editor comentando, discutiendo o criticando los artículos publicados en el JBRA Assisted Reproduction; estas serán publicadas desde que el Consejo Editorial las apruebe. Deben contener: título, nombre del autor, identificación de la publicación que se comenta y listado de referencias (si hay). Recomendase un máximo de 500 palabras, incluyendo referencias. Siempre que posible, se publicará una respuesta de los autores junto a la carta.

PREPARO DE LOS ORIGINALES

Utilice preferentemente Microsoft Word®. Los trabajos deben ser teclados en Times New Roman tamaño 12, espacio sencillo, alineados a la izquierda, iniciando cada sección en página nueva, en el siguiente orden: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto, agradecimientos, listado de referencias, tablas, notas al pie de imágenes e imágenes. Todas las páginas deben de ser numeradas. Siglas deben ser definidas por extenso en la primera ocurrencia en el texto; después de la primera ocurrencia, solamente la sigla deberá ser utilizada. En el resumen, el uso

de siglas debe ser evitado.

Substancias deben ser presentadas utilizando su nombre genérico. Si es relevante, el nombre comercial de la substancia y el fabricante pueden ser informados entre paréntesis.

La presentación de unidades de medida debe seguir el sistema internacional (SI).

Genes de animales deben ser presentados en *itálico* con inicial mayúscula (ejemplo: *Sox2*); genes de seres humanos también deben ser presentados en *itálico*, pero con todas las letras mayúsculas (ejemplo: *SOX2*). Proteínas deben seguir el mismo patrón de mayúsculas / minúsculas, pero sin *itálico*.

HOJA FRONTAL

La hoja frontal debe contener:

- Título conciso y explicativo, representando el contenido del trabajo, en portugués e inglés. (no sería: portugués, inglés y español ¿)
- Título resumido (máximo de 40 caracteres).
- Nombres de los autores.
- Afiliación de los autores, indicando departamento/unidad, institución y región geográfica.
- Nombre de la institución donde el trabajo fue ejecutado.
- Informaciones sobre ayudas recibidas bajo la forma de financiamiento, equipamientos o medicamentos.
- Congresos donde el estudio fue presentado.
- Nombre, dirección, teléfono, fax y e-mail del autor correspondiente.

RESUMEN Y ABSTRACT

Todos los trabajos deben presentar un resumen en portugués y un *abstract* en inglés. Trabajos escritos en español deben presentar, además del resumen en su idioma original, también un resumen en portugués y un *abstract* en inglés. El contenido de los textos debe ser idéntico, y no debe sobrepasar 250 palabras. Para artículos originales, el resumen debe ser estructurado como detallamos a continuación: Objetivo, Métodos, Resultados y Conclusiones. Para relatos de caso, artículos de revisión y artículos de actualización, el resumen no debe ser estructurado. Débese evitar el uso de abreviaciones en el resumen, y no deben ser mencionadas referencias.

Luego después del *resumo/abstract/resumen*, deberán ser presentadas de tres a seis palabras-clave que sean integrantes de la lista de Descriptores en Ciencias de la Salud (<http://decs.bvs.br>).

AGRADECIMIENTOS

Esta sección es dedicada a reconocer el trabajo de personas que hayan colaborado intelectualmente, pero cuya contribución no justifica coautoría, o personas o instituciones que hayan dado apoyo material.

REFERENCIAS

En el texto, las citaciones serán identificadas entre paréntesis, por el apellido del autor seguido del año de publicación. Ejemplos: un autor (Steptoe, 1978), dos autores (Edwards & Steptoe, 1980), más de dos autores (Van Steirteghem et al., 1988).

El listado de referencias debe ser presentado en orden alfabético (último apellido de cada autor seguido de las dos primeras iniciales), y no debe ser numerada. Trabajos del mismo autor deben ser ordenados cronológicamente; trabajos del mismo autor y año deben ser identificados con letras después el año (2000a, 2000b, etc.). La presentación de las referencias seguirá los modelos propuestos en los *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (ver ejemplos a continuación). Todas las referencias citadas en la lista deben ser mencionadas en el texto y viceversa.

1. Artículo de periódico

Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol*. 1980;87:737-56.

2. Libro

Wolf DP, Quigley MM, eds. *Human in vitro fertilization and embryo transfer*. New York: Plenum Press; 1984.

3. Capítulo de libro

Simpson JL. Gonadal dysgenesis and sex abnormalities: phenotypic-karyotypic correlations. In: Vallet HL, Porter IH, eds. *Genetic mechanisms of sexual development*. New York: Academic Press; 1979. p. 365-77.

4. Artículo de revista electrónica

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [revista electrónica]. 2002 Jun [citado 2002 ago 12];102(6):[aproximadamente 3 p.]. Disponible en: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

5. Artículo publicado en Internet:

Wantland DJ, Portillo CJ, Holzemer WL, Slaughter R, McGhee EM. The effectiveness of web-based vs. non-web-based interventions: a meta-analysis of behavioral change outcomes. *J Med Internet Res*. 2004;6(4):e40. Disponible en: <http://www.jmir.org/2004/4/e40/>. Acceso en: 29/11/2004.

6. Sitio web

OncoLink [sitio web en Internet]. Philadelphia: University of Pennsylvania; c1994-2006. [actualizado 2004 set 24; citado 2006 mar 14]. Disponible en: <http://cancer.med.upenn.edu/>.

7. Software

Smallwaters Corporation. *Analysis of moment structures: AMOS* [software]. Versión 5.0.1. Chicago: Smallwaters; 2003.

Tablas y figuras

Tablas y figuras (gráficos, fotografías, etc.) deben ser numeradas en arábigo conforme el orden que aparezca en el texto y deben tener explicaciones individuales, presentadas al final del trabajo. Cada tabla y figura debe ser sometida en hoja separada.

En las tablas, deben ser utilizadas solamente líneas horizontales, y cada dato deberá de tener una celda independiente. Explicaciones sobre ítems de las tablas deben ser presentadas en notas de rodapé identificadas por los siguientes símbolos, en esa secuencia: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Figuras en general (gráficos, fotografías, etc.) serán publicadas en negro y blanco. Gastos con eventual reproducción de fotografías en color serán de responsabilidad del autor.

Figuras pueden ser sometidas electrónicamente, en las extensiones .jpg, .gif ou .tif, con resolución mínima de 300 dpi (para hacer posible una impresión nítida), o por correo (ver instrucciones de envío más adelante). Todas las figuras enviadas por correo deben ser identificadas en el anverso con el uso de etiqueta que contenga el nombre del primero autor, el número de la figura y una flecha que indique el lado para arriba.

No se aceptan fotografías escaneadas; fotografías en papel deben ser enviadas por correo. Fotografías de pacientes no deben permitir su identificación.

Gráficos deben ser presentados solamente en dos dimensiones. Figuras ya publicadas e incluidas en artículos sometidos deben indicar la fuente original en la explicación y deben venir con una carta de permiso del dueño de los derechos (editora o revista).

ENVÍO DE ARTÍCULOS

Los artículos deben ser sometidos preferentemente por e-mail (journalsbra@cmb.com.br). Texto y figuras deben ser enviadas como un adjunto al mensaje. Figuras (exclusivamente gráficos y fotografías digitales) pueden ser enviadas en las extensiones .jpg, .gif ou .tif, con resolución mínima de 300 dpi y tamaño máximo total (del conjunto de figuras) de 3 MB. Si el envío por e-mail no es posible, dos copias del texto y figuras deben ser enviadas para la siguiente dirección:

Profa. Dra. Maria do Carmo Borges de Souza
 Editora do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida
 Centro Médico BarraShopping
 Av. das Américas, 4666, salas 312/313
 CEP 22649-900 □ Rio de Janeiro, RJ
 Fone: (21) 2430.9060
 Fax: (21) 2430.9070
<http://www.sbra.com.br>

Editorial

Agosto de 2011- SBRA se reúne em Florianópolis

Kazue Harada Ribeiro17

Artigo Original

Apoptose e expressão de proteína bcl-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose

Liv Braga de Paula, Luciana Moro, Núbia Pereira Braga, Marcos Mendonça, Selmo Geber18

Avaliação dos resultados de vitrificação de blastocistos

Ana Márcia de Miranda Cota, Elisa Lopes e Lages, Hérica Cristina Mendonça¹, Ana Luísa Menezes Silva, Maria Clara Magalhães dos Santos Amaral, João Pedro Junqueira Caetano22

Effects of washed and autoclaved mineral oil overlay used during IVM of bovine oocytes on steroid concentration and preimplantational embryo development.

Vireque AA, Watanabe YF, Resende LOT, Bernuci MP, Martins WP, Ferriani RA26

Avaliação dos resultados do "assisted hatching" em ciclos de fertilização in vitro em mulheres acima de 35 anos

Ana Márcia de Miranda Cota, Alexon Melgaço Racilan, Maria Clara Magalhães dos Santos Amaral, Rívia Mara Lamaita, Ana Luísa Menezes Silva, João Pedro Junqueira Caetano30

The prognostic value of the testicular histopathological pattern for sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection outcomes in non-obstructive azoospermic patients

Edson Borges Jr., Daniela Paes de Almeida Bragaa, Rita de Cássia Savio Figueira, Amanda Souza Setti, Assumpto Iaconelli Jr, Fabio Firmbach Pasqualotto34

Artigo de Opinião

Adjuvant therapy with GnRH agonists/tamoxifen in breast cancer could be a good council for patients with hormone receptor-positive tumors and wish to preserve fertility

José G Franco Jr, Joao Batista A Oliveira, Claudia G Petersen, Ana L Mauri, Ricardo LR Baruffi, Mario Cavagna39

Artigo de Revisão

Conhecimento atual do Hormônio Anti-Mulleriano (AMH)

Juliano Brum Scheffer, Rafaela Friche Brum Scheffer, Erika Lima Pimenta, Bruno Brum Scheffer44

Resumos do XV Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida

ORAIS

O1 - Associação de variantes alélicas de HLA-G e múltiplas falhas de implantação embrionária

Nardi, F.S.; Slowik, R; Wowk, P.F.; Michelon, T.; Neumann, J; Bicalho, M.G.49

O2 - Relação entre alterações cromossômicas e qualidade morfológica de blastocistos humanos

Cuzzi, J.F.; Serafini, P.; Motta, E.L.A.; Alegretti, JR.; Criscuolo, T.C.; Hassun, P.A.49

O3 - Gestação por ICSI após 28 anos de vasectomia

Nogueira, A.C.T.; De Souza, L.R.; Wolff, P.; Heibel, M.49

O4 - Primeira experiência brasileira em seleção embrionária para HLA e doença monogênica.

Andari, V.C.M; Melo, A. V; Angelozzi de Oliveira, M.; Borges Jr, E; Martinhago, CD50

O5 - Dismorfismos oocitários influenciam anormalidades cromossômicas em embriões gerados in vitro

Setti, A.S.; Figueira, R.C.S.; Braga, D.P.A.F.; Colturato, S.S.; Iaconelli Jr, A.; Borges Jr, E.50

O6 - Efeito da metformina sobre a expressão gênica e proteica de receptores de insulina, de IGF-1 e aromatase em células da granulosa in vitro

Fuhrmeister; Branchini, G.; Pimentel, Anita; Kussler, Ana P.; Brum, Ilma; von Eye Corleta, H.51

O7 - Contagem de folículos antrais (CFA) ou idade: o que é determinante para a resposta ovariana e para a gravidez ?

Telles de Souza, I.D.; Telles, A.P.P.; Abud, P.D.N.; Araujo, A.A.S.; Freitas, D.P.; Nascimento, V.C.P.S.51

O8 - Estudo da toxicidade reprodutiva e potencial mutagênico de um fitoterápico contendo *cinchona calisaya*; *jateorhiza palmata*; *centaurim erythraea*; *baccharis**trimera*; *artemisia absinthium*; *matricaria chamomilla* e *cinnamomum cassia*.

Amaral, V.L.L.; Cordini, M.; Frajblat, M.; Graf, A.C.L.; Artuso, S.; Andrade, S.F.51

O9 - Acolhimento a usuários com infertilidade em hospital público de referência no Rio de Janeiro: alternativa de construção de saúde reprodutiva de qualidade

Costa, T.; Oliveira, E.A.; Mohamed, R.; Duarte, M.C.P.M.; Silva, W.J.J.; Souza, M.C.B.52

O10 - Impacto clínico da nova lei brasileira de reprodução assistida: um avanço real na redução de múltiplos?

Schneider, D.T.; Esteves, S.C.52

O11 - A idade materna não afeta as taxas de implantação embrionária em embriões euploides: o valor do CGH-array associado a biópsia de blastocisto em ciclos de FIV

Alegretti, J.R.; De Paula, T.S.; Mattila, M.C.; Hassun, P.A.; Serafini, P.; Eduardo Motta53

O12 - Análise comparativa entre diferentes sistemas de criopreservação de tecido ovariano de ratas wistar

Oliveira, I.C.L.; Montenegro, I.S.; Terraciano, P.B.; Paz, A.H.; Cirne-Lima, E.O.; Passos, E.P.53

O13 - Aspectos nutricionais na infertilidade: um estudo caso-controle

Santos, L.P.; Nicoletto, B.B.; Becker, G.F.; Montenegro, I.S.; Passos, E.P.; Moulin, C.C.53

O14 - Efeito da injúria local ao endométrio prévia a indução da ovulação em técnicas de reprodução assistida: resultados preliminares

Nastri, C.O.; Ferriani, R.A.; Martins, W.P.54

O15 - Impacto dos hábitos alimentares e sociais masculinos nos resultados dos ciclos de reprodução assistida

Figueira, R.C.S.; Braga, D.P.A.F.; Setti, A.S.; Halpern, G.; Iaconelli Jr, A.; Borges Jr, E.54

O16 - Infertilidade e configurações emocionais identificadas pelo diagnóstico psicológico

Melamed, R.M.; Cortezzi, S.S.; Setti, A.S.; Vingris, L.; Iaconelli Jr, A.; Borges Jr, E.55

POSTERES

P01 - Influência dos fatores masculinos e femininos de infertilidade nas dosagens de progesterona e β -HCG após a utilização de duas formas de progesteronas administradas via vaginal.

Macedo, J.F.; Gomes, L.M.O.; Ferreira, D.A.F.; Melo, K.R.B.55

P02 - Protocolo com uso de clomifeno, gonadotrofinas e antagonista vs. protocolo com uso de agonista e gonadotrofinas para indução da ovulação em reprodução assistida: metanálise de estudos controlados com alocação aleatória

Martins, W.P.; Figueiredo, J.B.P.; Vieira, A.D.D.; Ferriani, R.A.; Nastri, C.O.55

P03 - Queda na produção espermática : análise de 23.342 casos durante um período de 20 anos

Nascimento, J.A.A.; Fazano, F.A.T.; Morais, S.; Gabiatti, J.R.E.; Bahamondes, L.56

P04 - Resposta dos folículos antrais após administração de hormônio folículo-estimulante mensurada através da follicular output rate (FORT) não é influenciada pelos frequentes polimorfismos do receptor do hormônio folículo-estimulante

Genro, V.K.; Andreoli, C.G.; Matte, U.; Souza, C.A.B.; Schmitz, C.R.; Cunha-Filho, J.S.56

P05 - Utilização de biópsia embrionária associada à CGH-array em ciclos de fertilização in vitro de pacientes com sucessivas falhas de implantação

Criscuolo, T.S.; Alegretti, J.R.; Hassun, P.A.; Nicolielo, M.; Motta, E.L.A.; Serafini, P.57

P06 - Efeitos da vitrificação em uma cubeta metálica sobre a morfologia de ovários murinos

Bos-Mikich, A.; Orlandi, A.P.; Marques, L.; Rodriguez, J.L.; Oliveira N.P.; Lothammer, N.57

P07 - Estudo comparativo entre IMC (índice de massa corporal) e número de oócitos recuperados em ciclos de reprodução humana assistida

Lima, A.M.; Torquato, S.E.F.; Freitas, T.A.; Rodrigues, F.E.M.; Sá, E.G.57

P08 - Prevalência de clamídia e infertilidade em pacientes submetidas a procedimento de reprodução assistida no hospital de clínicas de Porto Alegre

Montenegro, I.S.; Oliveira, I.C.L.; Terraciano, P.B.; Paz, A.H.; Cirne-Lima, E.O.; Passos, E.P.58

P09 - A importância da biologia molecular na reprodução humana assistida em casais sorodiscordantes

Gaulke, R.; Herkenhoff, M.E.; Amaral, V.L.L.; Pitlovancik, A.K.; Remualdo, V.R.58

P10 - Associação entre níveis basais de testosterona sérica e resposta ovariana em mulheres submetidas à estimulação ovariana com FSH recombinante isolado ou associado ao LH recombinante Nakano, F.Y.; Verza Jr, S.; Esteves, S.C.	59	apresentam potenciais semelhantes e aumentados de implantação e gestação Bos-Mikich, A.; Carvalho, T.J.; Oliveira, N.P.; Frantz, G.; Ferreira, M.O.; Hoher, M.; Frantz, N.	65
P11 - Avaliação seminal avançada: análise da motilidade e progressão dos espermatozoides 24 hs após a capacitação para inseminação intra-uterina Araujo, L.F.P.; Araujo, E.A.; Araujo, L.F.P.; Araujo, L.F.P.	59	P30 - Estudo de avaliação dos efeitos da acupuntura adjuvante a fertilização <i>in vitro</i> Cerqueira, G.; Cerqueira, C.; Cerqueira, M.; Ribeiro, K.	66
P12 - Comparação entre dois protocolos de vitrificação de tecido ovariano humano Almodin, C.G.; Radaelli, M.R.M.; Câmara, V.M.; Nakamo, R.; Oliveira, C.M.; Fujihara, L.S.; Rulli-Costa, Silva, B.M.; Segura, M.E.A.; Rulli-Costa, R. - Silva, B.M. - Segura, M.E.A.; Oliveira, C.M. - Fujihara, L.S.	59	P31 - Influência do índice de massa corpórea no laboratório de FIV Prates, N.L.; Gomes, F.C.; Fernandes, P.A.L.; Nogueira, R.S.P.; Auler, J.R.	66
P13 - Efeito da estação do ano nos resultados de ciclos de reprodução humana assistida Braga, D.P.A.F.; Setti, A.S.; Figueira, R.C.S.; Ferreira, R.C.; Iaconelli Jr, A.; Borges Jr, E.	60	P32 - Prevalência de <i>chlamydia tracomathis</i> em pacientes dos Estados de Santa Catarina e São Paulo, obtidas em um laboratório de análises genéticas de Blumenau (SC) Gaulke, R.; Herkenhoff, M.E.; Amaral, V.L.L.; Pitlovanciv, A.K.; Remualdo, V.R.	66
P14 - Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e receptores intrafoliculares como marcador de qualidade embrionária em ciclos de ICSI Bonetti, T.C.S.; Salomão R.; Brunialti, M.; Braga, D.P.A.F.; Borges Jr, E.; Silva, I.D.C.G.	60	P33 - Programa de transferência de embriões congelados no IVI Salvador: dados de 2010 Borges, M. S.; Coelho, G. M.	67
P15 - Morfologia oocitária: a influência da idade materna Cota, A.M.M.; Silva, A.L.M.; Amaral, M.C.M.S.; Marinho, R.M.; Caetano, J.P.J.	61	P34 - Saúde reprodutiva masculina e ambiente: história de vida, exposição ocupacional e/ou ambiental e parâmetros seminais Silva, W.J.J.; Costa, T.; Moura, S.L.; Souza, M.C.B.	67
P16 - Morfologia oocitária: impacto nos resultados da fertilização <i>in vitro</i> Cota, A.M.M.; Silva, A.L.M.; Amaral, M.C.M.S.; Marinho, R.M.; Caetano, J.P.J.	61	P35 - Taxa cumulativa de gravidez em primeiro ciclo de tratamento de FIV: estudo comparativo agonista x antagonista Rodrigues, R.J.M.; Gonçalves, S.P.; Crepaldi, A.C.F.; Gomes, M.; Montealeone, P.A.A.	68
P17 - O intervalo entre a aspiração folicular e a ICSI pode influenciar na fertilização e no desenvolvimento embrionário? Lima, A.M.; Torquato, S.E.F.; Sá, E.G.; Freitas, T.A.; Paiva, M.A.B.	61	P36 - Alterações endometriais à histeroscopia diagnóstica em pacientes com falha de implantação e resultados de gestação após antibioticoterapia Francisco L.S.; Tomioka R.B.; Mizumoto J.K.; Bonetti T.C.S.; Carvalho F.M.; Ueno J.	68
P18 - Os melhores embriões escolhidos no dia 2 são transferidos no dia 3? Azambuja R.; Dorfman L.E.; Okada L.; Lazzari V.; Badalotti M.; Petracco A.	62	P37 - Apoptose e expressão de proteína BCL-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose Paula, L.B.; Braga, N.P.; Mendonça, M.; Moro, L.; Geber, S.	68
P19 - Receptoras de óvulos doados: experiência psicológica Avelar, C.C.; Peixoto, A.; Cota, A.M.M.; Lamaita, R.M.; Caetano, J.P.J.	62	P38 - Chance de gravidez e concentração plasmática de estradiol na fase lútea média e correlação com microconcentrações de gonadotrofina corionica Florencio, R.S.; Oliveira, V.A.; Santos, F.C.; Castro, C.L.A.	69
P20 - Sobrevivência de oócitos murinos em temperatura ambiente Artuso, S.; Amaral, V.L.L.; Frajblat, M.	62	P39 - Criopreservação de espermatozoides com ou sem o plasma seminal Cardoso, E.A.; Amaral, V.L.L.; Pincin, G.D.; Mietz, M.N.; Frajblat, M.	69
P21 - ICSI assistido por laser aumenta taxa de fertilização e diminui degeneração oocitária Schneider, D.T.; Verza Jr, S.; Esteves, S.C.	63	P40 - Injúria endometrial em mulheres submetidas a procedimentos de reprodução assistida: metanálise de ensaios clínicos com alocação aleatória Nastri, C.O.; Ferriani, R.A.; Martins, W.P.	69
P22 - Perfil proteômico endometrial e análise do valor preditivo da apolipoproteína-A1 de pacientes que se submetem a fertilização <i>in vitro</i> Ferreira, F.P.; Maia Filho, V.O.A.; Magalhães, A.C.M.; Rocha, A.M.; Serafini, P.C.; Motta, E.L.A.	63	P41 - O que fazer com os embriões criopreservados em dia 3: transferência imediata ou cultivo até blastocisto? Bonavita, M.B.; Barros, B.C.; Negrão, P.M.; Tanada, M.; Motta, E.L.A.; Serafini, P.	70
P23 - Sentimentos e significados construídos por casais frente ao diagnóstico de infertilidade Avelar, C.C.; Cota, A.M.M.; Marinho, R.M.; Caetano, J.P.J.	63	P42 - PGD em paciente com translocação recíproca balanceada: relato de caso Dorfman, L.E.; Sanseverino, M.A.; Okada, L.; Azambuja, R.; Badalotti, M.; Petracco, A.	70
P24 - Trauma endometrial pelo cateter de transferência melhora as taxas de gestação? Souza, M.C.B.; Antunes, R.A.; Mancebo, A.C.A.; Areas, P.C.F.; Souza, M.M.; Henriques, C.A.	64	P43 - Resultados após vitrificação de oócitos excedentes de um programa de fertilização <i>in vitro</i>, em pacientes com menos de 40 anos Fujihara, L.S.; Maruyama, L.K.; Marcondes, C.; Ceschin, A.P.; Almodin, C.G.; Nakano, R.E.	71
P25 - Um polimorfismo comum da subunidade β do hormônio luteinizante não está associado à endometriose e infertilidade Schmitz, C.R.; Andreoli, C.G.; Genro, V.K.; Souza, C.A.B.; Alfonsi, M.; Cunha-Filho, J.S.	64	P44 - Achados histopatológicos em biopsias endometriais de pacientes inférteis candidatas a fertilização <i>in vitro</i> Ueno J.; Schor E.; Bonetti T.C.S.; Tomioka, R.B.; Mizumoto J.K.; Carvalho F.M.	71
P26 - A origem do espermatozoide influencia os índices de embrioredução espontânea? Michelon, J.; Rodrigues, C.D.; Okada, L.; Azambuja, R.; Badalotti, M.; Petracco, A.	64	P45 - Comparação entre as taxas de gravidez com embriões transferidos no 3º ou no 5º dia Pozzer, M.A.; Peruzzato, F.S.; Sartori, N.C.; Correa, C.M.; Link, C.A.	72
P27 - Associação entre estilo de vida e exposição ambiental de homens de casais inférteis sergipanos e alterações do espermograma, em uma clínica de reprodução de Aracaju Telles de Souza, I.D.; Telles, A.P.P.; Nascimento, V.C.P.N.; Freitas, D.P.; Abud, P.D.N.; Araujo, A.A.S.	65	P46 - Extração de espermatozoides testiculares por biópsia única convencional versus microcirúrgica em azoospermia não obstrutiva: estudo prospectivo controlado Verza Jr, S.; Schneider, D.T.; Esteves, S.C.	72
P28 - Atuação do enfermeiro na prevenção e controle do hiperestímulo ovariano em tratamentos de reprodução assistida Dias, G.S.; Magalhães, A.; Kimati, C.T.; Freitas, F.S.; Semaco, E.O.; Ricardo, A.T.	65	P47 - Perfil seminal após 11 anos de congelamento em nitrogênio líquido Taitson, P.F.; Ribeiro, A.S.; Paz, D.S.; Jacome D.C.; Oliveira, E.N.G.; Mourth Filho, A.	72
P29 - Embriões de clivagem e compactação precoce		P48 - Resposta a estimulação ovariana controlada em pacientes de diferentes faixas etárias	

Lucca, J.A.; Rosa, V.B.; Peixoto, A.P.; Schuffner, A.	73	to embrionário e resultados de gestação em ciclos de ICSI	
		Ribeiro, K.; Cerqueira, M.; Cerqueira, G.; Perez, V.	80
P49 - Resultados em ciclos para transferência de embriões a fresco versus criopreservados ao segundo ou ao terceiro dia de cultivo		P69 - Correlação de varicocele com alterações da qualidade seminal em um clínica de reprodução de Sergipe	
Carvalho B.R.; Cabral I.O.; Ribeiro L.M.; Braun L.R.; Silva A.A.; Nakagava H.M.	73	Telles de Souza, I.D.; Telles, A.P.P.; Nascimento, V.C.P.S.; Freitas, D.P.; Abud, P.D.N.; Araujo, A.A.S.	80
P50 - Supressão pituitária com agonista de gnRH em dias alternados: custos, eficácia e conforto reunidos?		P70 - Efeitos da acupuntura auricular na reprodução assistida	
Maldonado, L.G.; Setti, A.S.; Braga, D.P.A.F.; Azevedo, M.C.; Iaconelli Jr., A.; Borges Jr., E.	73	Cerqueira, G.; Cerqueira, C.; Cerqueira, M.; Ribeiro, K.	80
P51 - Uso de metformina isolada ou combinada com citrato de clomifeno em mulheres com síndrome dos ovários policísticos: revisão sistemática		P71 - Embriões implantados após vitrificação/desvitrificação produzem níveis mais elevados de beta HCG do que embriões implantados apos ciclo fresco	
Moresco, T.C.; Andreoli, C.G.; Genro, V.K.; Souza, C.A.B.; Schmitz, C.R.; Cunha-Filho, J.S.	74	Valle, M.; Cavagnoli, M.; Alvarez, A.; Teixeira, P.; Sampaio, M.; Geber, S.	81
P52 - Efeito do tempo de exposição ao corante azul cresil brilhante sobre a maturação nuclear <i>in vitro</i> de oócitos de <i>rattus norvegicus</i>		P72 - Faixas de concentração de gonadotrofina corionica 7 dias pós inseminação artificial e relação com gravidez	
Alcoba, D.D.; Braga B.L.R.; Sandi-Monroy, N.L.S.; Lopes R.F.F.; Oliveira A.T.D.	74	Florencio, R.S.; Rocha, J.P.; Borges, M.R.; Zanatta, L.	81
P53 - Existe correlação entre parâmetros seminais e índice de fragmentação do dna espermático?		P73 - Média de idade das mulheres que procuram clínica de reprodução assistida aumenta com o passar dos anos	
Lima, A.M.; Torquato Filho, S.E.; S.A., E.G.; Freitas, T.A.; Paiva, M.A.B.	74	Dias, M.L.C.M.; Cavalcante, M.B.; Rocha, M.P.; Rocha, M.G.; Viana, I.G.R.; Souza, D.O.A.	81
P54 - Gestação gemelar decorrente de transferência de blastocistos desvitrificados provenientes de oócitos criopreservados - relato de caso		P74 - O diálogo bioético no jornal brasileiro de reprodução assistida	
Crepaldi, A.C.F.; Rodrigues, R.J.M.; Gonçalves, S.P.; Gomes, M.N.; Gomes, A.P.; Gomes, F.G.; Monteleone, P.A.A.	75	Aranha, A.V.	82
P55 - O uso da CGH-array no diagnóstico genético pré-implacional de casais portadores de translocação		P75 - Qual a importância da contagem de folículos antrais (CFA) antes da hiperestimulação ovariana controlada em ciclos de ICSI ?	
Cuzzi, J.F.; Vulcani-Freitas, T.M.; Motta, P.C.R.; Harutunian, A.; Hughes, M.; Hassun, P.A.	75	Telles de Souza, I.D.; Telles, A.P.P.; Araujo, A.A.S.; Abud, P.D.N.; Freitas, D.P.; Nascimento, V.C.P.S.	82
P56 - Uso do SONOAVC na identificação de hidrossalpinge com desenvolvimento durante a estimulação da ovulação: relato de caso		P76 - Bloqueio hipofisário para más-responderas: agonista ou antagonista do GnRH?	
Scaranari, C.A.; Reis, R.M.; Martins, W.P.	76	Rodrigues, R.J.M.; Gonçalves, S.P.; Gomes, M.; Crepaldi, A.C.F.; Gomes, F.G.; Monteleone, P.A.A.	82
P57 - A biópsia endometrial prévia a ciclos de FIV e sua relação com as taxas de implantação e gestacao: análise prospectiva inicial		P77 - Congelamento eletivo de embriões em SHO: mediada preventiva de impacto	
Ferreira, F.P.; Bueno, M.B.; Maia Filho, V.O.A.; Lopes, L.; Serafini, P.C.; Motta, E.L.A.	76	Rodrigues, R.J.M.; Gonçalves, S.P.; Crepaldi, A.C.F.; Gomes, M.; Gomes, F.G.; Monteleone, P.A.A.	83
P58 - Avaliação super morfológica pré e pós preparo seminal para inseminação intrauterina		P78 - Transferência eletiva de um embrião, 3 anos de experiência	
Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.	76	Monteleone, P.A.A.; Gonçalves, S.P.; Mirissola, R.J.; Crepaldi, A.F.; Gomes, A.P.; Gomes, M.N.	83
P59 - Avaliação sobre relacionamento sexual dos adolescentes pense 2009		P79 - Agonista x antagonista na fertilização <i>in vitro</i>: há diferença na resposta ovariana de pacientes com endometriose?	
Sasaki, R.S.A.; Freire, M.C.M.; Silva, T.M.; Arruda, J.T.	77	Evangelista, A.; Erthal, M.C.; Gallo, P.; Cardoso, M.C.; Sartorio, C.A.; Aguiar, A.P.S.	83
P60 - Dor pélvica crônica e infertilidade associado à retenção intra-uterina de osso fetal: relato de caso.		P80 - Comparação entre as taxas de gravidez obtidas após uso de diferentes protocolos de preparo endometrial para transferência de embriões desvitrificados	
Borges, A.S.A.; Costa, A.L.E.; Pinheiro, R.C.; Sousa, M.A.; Borges, M.L.S.A.	77	Valle, M.; Cavagnoli, M.; Vitorino, R.; Bettiol, A.; Sampaio, M.; Geber, S.	84
P61 - Hormônio de crescimento pode melhorar a qualidade embrionária e a taxa de gestação?		P81 - É possível recongelar as amostras seminais?	
Link, C.A.; Pozzer, M.A.; Sartori, N.C.; Peruzzato, F.S.	77	Artuso, S.; Kormann, J.; Amaral, V.L.L.; Frajblat, M.	84
P62 - Relação entre aspiração do muco cervical pós-captção oocitária e taxa de gestação		P82 - Inserção da psicologia nas clínicas de reprodução assistida: um suporte aos casais que correm contra o tempo	
Silva, B.M.; Macedo, Y.A.; Sousa, V.E.T.; Correa, F.J.S.; Barbosa, A.H.; Rulli-Costa, R.	78	Travain, A.S.A.; Tardin, R.M.M.; Lucca, J.A.; Schuffner, A.	84
P63 - Transporte de óvulos entre longas distâncias		P83 - Transferência de embriões ao segundo versus ao terceiro dia de cultivo, em ciclos de fertilização <i>in vitro</i> com injeção intracitoplasmática de espermatozoides	
Cavalcanti, MAT; Machulis, FM; Fracasso, Adriana; Mateus, P	78	Carvalho B.R.; Cabral I.O.; Gomes Sobrinho D.B.; Silva A.A.; Barbosa A.C.P.; Nakagava H.M.	85
P64 - Anomalias congênicas em crianças concebidas por fertilização <i>in vitro</i> em centro de assistência em reprodução humana do centro-oeste brasileiro		P84 - A relevância do banco de sêmen para a oncologia	
Cortes L.S.; Cabral I.O.; Nakagava H.M.; Carvalho B.R.; Barbosa A.C.P.; Silva A.A.	78	Taitson, P.F.; Rocha, D.F.; Lima, E.C.S.; Pereira, E.F.; Teodoro, G.M.D.; Nazaré, M.N.	85
P65 - Avaliação da taxa de fertilização quando realizados mais de um procedimento por dia em reprodução assistida		P85 - Avaliação dos resultados obtidos com a criopreservação embrionária através da técnica de vitrificação. Análise do índice de sobrevivência dos blastômeros e gravidez	
Arruda, J.T.; Approbato, M.A.; Silva, T.M.; Maia, M.C.S.; Florencio, R.S.	79	Cornel, C.A.; Mansur, A.L.; Munoz, P.; Cequinel, M.G.	86
P66 - CA de mama e SOP: estímulo controlado imediato visando preservação da fertilidade		P86 - correlação entre número de oócitos coletados e taxas de fertilização em ciclos de FIV e ICSI	
Antunes, R.A.; Souza, M.C.B.; Mancebo, A.C.A.; Areas, P.C.F.; Souza, M.M.; Henriques, C.A.	79	Silva, T.M.; Approbato, M.S.; Arruda, J.T.; Maia, M.C.S.; Approbato, F.C.	86
P67 - Comparação de parâmetros do teste prognóstico seminal (TPS) de pacientes submetidos a ICSI durante o tratamento e a investigação		P87 - Desenvolvimento embrionário normal e formação de blastocisto em embrião livre de zona pelúcida	
Telles de Souza, I.D.; Telles, A.P.P.; Nascimento, V.C.P.S.; Freitas, D.P.; Abud, P.D.N.; Araujo, A.A.S.	79	Lucca Neto, J.A.; Rosa, V.B.; Peixoto, A.P.B.M.L.; Schuffner, A.	86
P68 - Correlação da clivagem precoce com desenvolvimen-			

P88 - Diagnóstico genético pré-implantacional em ciclos de FIV com idade materna avançada: eficiência das técnicas de CGH-array e fish para embriões clivados	
Tanada, M.; Negrão, PM; Alegretti, JR; Cuzzi, J; Motta, ELA; Serafini, P	87
P89 - Indicador da viabilidade de fertilização em casais onde o homem é sorodiscordante	
Taitson, P.F.; Valentim, A.M.; Costa, E.G.; Ferreira, I.P.F.; Ribeiro, J.C.; Marques, L.K.R.	87
P90 - Perfil das pacientes em busca de tratamentos para infertilidade em Curitiba – PR	
Lucca Neto, J.A.; Rosa, V.B.; Peixoto, A.P.B.M.L.; Schuffner, A.	87
P91 - Sucesso no tratamento de infertilidade devido ejaculação retrógrada através da reprodução assistida: relato de caso	
Ribeiro, K.; Cerqueira, M.; Cerqueira, G.; Perez, V.; Novotny, C.	88
P92 - Tratamento de fertilização <i>in vitro</i>: perspectiva de gênero nos sentimentos vivenciados por casais inférteis	
Avelar, C.C.; Cota, A.M.M.; Marinho, R.M.; Caetano, J.P.C.	88
P93 - DES efeitos ainda vistos hoje 40 anos após sua proibição - relato de 3 casos	
Santos, M.J.B.; Souza, M.C.B.	88
P94 - Prevalencia das causas de infertilidade em um laboratório de reprodução humana do serviço público	
Arruda, J.T.; Approbato, M.S.; Silva, T.M.; Maia, M.C.S.; Florencio, R.S.	89
P95 - Protocolo com baixa dose de FSH para estimulação da ovulação em mulheres acima de 35 anos de idade	
Arruda, J.T.; Approbato, M.S.; Silva, T.M.; Maia, M.C.S.; Florencio, R.S.	89
P96 - Qual a melhor conduta para ciclos de ovulação: transferências em dia 3 ou dia 5?	
Barros, B.C.; Miranda, R.; Rossi, A.L.S.; Alegretti, J.R.; Nichi, M.; Motta, E.L.A.	90
P97 - Assisted <i>hatching</i> laser x taxas de gravidez. Um estudo retrospectivo	
Franco, G.R.; Franco, A.C.C.	90
P98 - Seis anos de experiência em diagnóstico genético pré-implantacional para doenças monogênicas conduzido por um laboratório de referência no Brasil	
Martinhago, C.D.; Andari, V.C.M.; Angelozzi, M.; Melo, A.V.; Fariello, R.M.; Oliveira, R.M.	90
P99 - Concentração plasmática de estradiol na fase lútea média, como avaliador de chance de gravidez, em ciclos de inseminação artificial	
Florencio, R.S.; Castro, E.C.; Finoti, M.F.; Rocha Camarço, M.N.C.	91
P100 - Estudo comparativo entre a FIV convencional e o dispositivo intra-vaginal INVO: impacto psicológico.	
Vieira, Gabriella; Carvalho, Rosa; Colucci Coelho, Francisco	91
P101 - Obesidade como uma possível causa na infertilidade masculina	
Mazetto, R.; Silveira, CF	91
P102 - Prevalência de alterações no exame seminal de pacientes submetidos à FIV/ICSI em um laboratório de reprodução assistida	
Silva, T.M.; Approbato, M.S.; Maia, M.C.S.; Arruda, J.T.; Approbato, F.C.	92
P103 - Punção percutânea transabdominal guiada por ultrassom para aspiração de ovócitos em paciente com síndrome de rokitanski em um programa de FIV com cessão temporária de útero	
Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.; Araujo, E.A.	92
Eventos	93

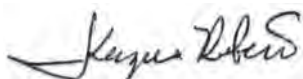
Agosto de 2011- SBRA se reúne em Florianópolis

O XV Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida teve a grata surpresa de receber um número recorde de trabalhos para submissão, contemplando diversos temas clínicos e de laboratório.

A Comissão de Temas livres desempenhou com muita seriedade e dedicação a avaliação dos mesmos. A SBRA já havia decidido aumentar a participação dos temas livres na programação científica passando de 3 para 04 sessões, totalizando 16 trabalhos para apresentação oral, com objetivo de valorizar e dignificar a produção científica brasileira.

A constatação da presença de profissionais despontando em nossos Congressos e em outros mundiais é, sem dúvida, motivo de orgulho para a nossa sociedade, reafirmando o papel da SBRA, cada vez mais forte e atuante pelos interesses dos especialistas em Reprodução Assistida.

Todos poderão conferir, neste número especial da revista da SBRA, o JBRA, o resumo dos trabalhos enviados para o Congresso. Montamos uma esmerada programação científica, leve e abrangente, para que possa também desfrutar momentos de lazer, descontração e confraternização em nossa "ilha da magia". É uma honra recebê-los em Florianópolis!



Kazue Harada Ribeiro
Presidente do Congresso

Apoptose e expressão de proteína bcl-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose

Apoptosis and bcl-2 expression in ectopic endometrium of patient with endometriosis

Liv Braga de Paula¹, Luciana Moro², Núbia Pereira Braga³, Marcos Mendonça⁴, Selmo Geber⁴

¹Programa Saúde da Mulher UFMG. Rua Sergipe 330 apto601 Funcionários Belo Horizonte, MG, CEP 30130 170, TEL 31 84545431/ 32263638, livbraga@yahoo.com.br

²Departamento de Patologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

³Programa de patologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

⁴Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG

RESUMO

Objetivo: Avaliar a apoptose e a expressão do oncone Bcl-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose e no endométrio eutópico de pacientes não portadoras dessa doença.

Pacientes e métodos: Entre março de 2007 e janeiro de 2008, foram selecionadas 16 pacientes que foram divididas em dois grupos, com endometriose pélvica (n=8) e sem endometriose (n=8). A coleta do material para análise foi feita durante cirurgias e os fragmentos de útero eutópico e de implantes ectópicos foram fixados em formol tamponado a 10% e processados para inclusão em parafina. Cortes de 4µm foram corados em Hematoxilina-eosina e submetidos à morfometria para cálculo do índice apoptótico. Alguns fragmentos foram submetidos à reação de TUNEL para a marcação "in situ" da apoptose e à imunohistoquímica para avaliar a expressão da proteína Bcl-2.

Resultados: Observou-se que o índice apoptótico foi significativamente menor no endométrio ectópico das pacientes com endometriose, quando comparado ao endométrio tópico das mulheres sadias independente da fase do ciclo menstrual. A expressão de bcl-2 foi maior no endométrio ectópico das pacientes com endometriose.

Conclusão: Os presentes resultados sugerem que os implantes ectópicos apresentam deficiência do processo de morte celular via apoptose. Conseqüentemente, essas células apresentam maior sobrevivência e mais chance de colonizar e se desenvolver em sítios ectópicos. Esse fator parece ser fundamental na patogenia da endometriose.

Palavras-chave: apoptose, endometriose, Bcl-2

ABSTRACT

This study evaluated and compared spontaneous apoptosis and Bcl-2 expression in eutopic endometrium from women without endometriosis and ectopic endometrium of women with the disease. Between March 2007 and December 2008, 16 women who underwent to a gynecology surgery in HC UFMG participated in this study: 8 with endometriosis and 8 controls. The specimens collected were analysed for apoptosis and expression of Bcl-2. Apoptotic cells were detected with the use of dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay. Bcl-2 expression was assessed with the use of the immunohistochemical technique. Spontaneous apoptosis was significantly lower in ectopic endometrium from patients with endometriosis,

compared with eutopic endometrium of controls and was independent of the cycle phase. The expression of Bcl-2 was increased in ectopic endometrium of women with endometriosis, mainly in secretory phase. In conclusion, the present study indicates that ectopic endometrium from patients with endometriosis is less susceptible to apoptosis than endometrium from controls due to a higher expression of Bcl-2. So, these cells present increased survival ability that results in continuous growth into ectopic locations. This factor would be fundamental to the pathogenesis of the disease.

Key words: apoptosis, endometriosis, Bcl-2

INTRODUÇÃO

Endometriose é o termo que define a presença de tecido glandular e/ou estroma endometrial funcionando fora do útero (Harada et al., 2004; Orazi et al., 2001; Bulun, 2009). É uma afecção benigna, progressiva e dependente de estrogênio que acomete 2 a 18% das mulheres da população geral e 5 a 50% das mulheres com dor pélvica crônica e/ou infertilidade (Missmer & Crammer, 2003). Apesar da alta prevalência da endometriose e da sua primeira descrição ter sido feita há três quartos de século (Sampson, 1927), o conhecimento sobre a etiologia e fisiopatologia da mesma é incerto.

Com relação à etiopatogenia, três teorias principais têm sido propostas para o desenvolvimento do tecido endometrial: metaplasia celômica; remanescentes mullerianos e implante de células endometriais advindas de fluxo menstrual retrógrado (Orazi et al., 2001; Bulun, 2009; Osteen et al., 2005; Laschke & Menger; 2007). A teoria da menstruação retrógrada é também descrita como teoria da implantação ou de Sampson. Esta propõe que o tecido endometrial viável reflui através das trompas uterinas durante a menstruação e se implanta no peritônio ou órgãos pélvicos (Seli et al., 2003). A teoria da menstruação retrógrada, apesar de bem embasada por diversos estudos, não responde a algumas questões essenciais, quais sejam: por que somente 10 a 15% das mulheres da população apresentam a endometriose se 100% delas têm fluxo retrógrado durante a menstruação? Por que existe diferença entre os graus de apresentação da doença?

Após a disseminação das células na cavidade peritoneal, para que a endometriose progrida, devem ocorrer

os seguintes estágios: adesão, proteólise, proliferação, angiogênese e cicatrização. Para tanto, Vinatier (2001) sugeriu que além da presença das células endometriais ectópicas, outros fatores devem estar associados ao desenvolvimento da endometriose. Possíveis alterações nos implantes de endométrio ectópico seriam responsáveis pelo aumento da resistência à defesa peritoneal local. Em pacientes portadoras de endometriose encontram-se alterações no endométrio, também observadas nos implantes ectópicos. Uma das alterações evidenciadas tanto nos implantes ectópicos quanto no endométrio eutópico de pacientes com endometriose é a alteração na regulação da apoptose (Kennedy et al., 2005; Sharpe-Timmis, 2005).

Há indícios de que a deficiência da apoptose esteja envolvida com a maior sobrevivência das células endometriais presentes na cavidade abdominal após refluxo menstrual. Um possível responsável pelo aumento da sobrevivência dessas células seria o aumento da expressão de algum membro anti-apoptótico da família de proteínas Bcl-2 (Harada et al., 2004; Missmer & Crammer, 2003; Ulukus et al. 2006; Meresman et al., 2000; Suganuma et al., 1997; Tao et al., 1998; Jones et al., 1998; Szymanowski, 2007). O objetivo de nosso estudo foi determinar o índice apoptótico e a expressão da proteína bcl-2 em implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose e comparar com os índices encontrados nas amostras de endométrio tópico das pacientes sem endometriose.

PACIENTES E MÉTODOS

No período de Março de 2007 a Janeiro de 2008, foram selecionadas para o estudo 19 mulheres, que após obtenção de consentimento informado foram divididas em dois grupos: grupo de casos – onze pacientes com endometriose e grupo controle – oito pacientes sem a doença. O grupo de casos constituiu-se de 8 pacientes portadoras de endometriose submetidas à videolaparoscopia no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG. Durante o procedimento cirúrgico foram obtidos fragmentos histológicos das lesões suspeitas de endometriose. O grupo controle foi composto de 8 pacientes submetidas a cirurgias ginecológicas na mesma instituição, cujos procedimentos cirúrgicos permitiam a realização de coleta da amostra de endométrio e não apresentavam suspeita de endometriose.

Foram excluídas da análise: pacientes com ciclos menstruais irregulares (<25 ou >35 dias), pacientes após a menopausa, pacientes em uso de anticoncepcionais ou terapia de reposição hormonal, pacientes cujo exame histológico não confirmou a endometriose, pacientes que apresentaram a endometriose, confirmada à histologia, mas que suas lâminas não preenchem o número mínimo de campos necessários previamente definido para análise estatística.

As secções de 4µm dos fragmentos histológicos obtidos foram coradas pelo método de Hematoxilina e eosina sendo submetidas a estudo morfológico em microscopia de luz para identificação e contagem das células e corpos apoptóticos. Após definição do número mínimo de campos necessários foi realizada a contagem, em cada campo microscópico, do número total de células e o número de células sem apoptose. Os números de células apoptóticas obtidos em cada lâmina foram somados e este resultado foi dividido pela soma do número total de células obtido em todas as lâminas. Esse valor foi multiplicado por 100 resultando assim no índice apoptótico.

A análise da expressão de bcl-2 foi realizada através de estudo imunistoquímico. A marcação positiva do Bcl-2 foi definida como identificação de coloração marrom

Tabela 1. Características das pacientes

	Endometriose (n=8)	Controle (n=8)	p
Idade média	34,8 anos	42,5 anos	0,01
Dor Pélvica	62,5% (5)	12,5% (1)	0,05
Dismenorréia	87,5% (7)	25% (2)	0,03
Infertilidade	75% (6)	12,5% (1)	0,02
Fase proliferativa	2(25%)	4 (50%)	
Fase secretora	6(75%)	4(50%)	

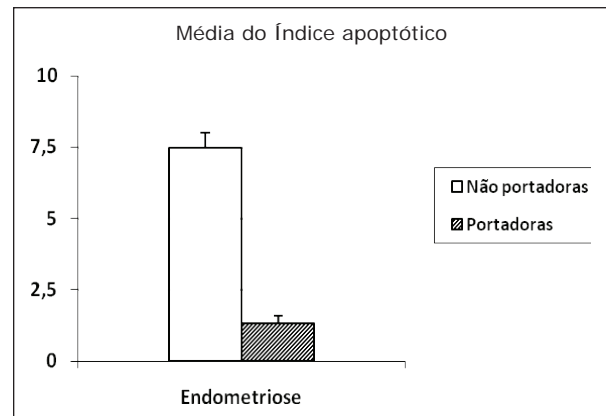


GRÁFICO 1. Comparação do IA no endométrio de pacientes sem a doença e nos implantes de endométrio de portadoras de endometriose

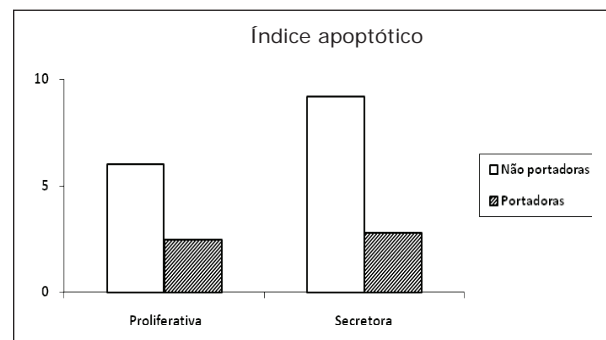


GRÁFICO 2. Avaliação do IA nas pacientes portadoras de endometriose e sem a doença nas fases proliferativa e secretora do ciclo menstrual

citoplasmática. A presença e a intensidade da marcação foram avaliadas em 30 campos de cada corte. A imunoreatividade foi expressa como a porcentagem de células exibindo a imunomarcação. A intensidade foi descrita como (-) negativa se <3 células marcadas por campo, (+) positiva entre 3 e 8 células marcadas por campo e (++) fortemente positiva quando observadas mais de 8 células marcadas por campo.

Reações de TUNEL foram realizadas para validar critérios morfológicos empregados para identificação e quantificação da apoptose no endométrio e implantes de endometriose. Utilizou-se um kit comercial para a detecção in situ da fragmentação do genoma (CALBIOCHEM - TDT - FragEL DNA fragmentation detection kit, QIA33. Além da marcação específica – grumos amarronzados, revelados pela DAB, eram considerados características morfológicas de apoptose: enrugamento celular com projeções digitiformes da membrana, formação de corpos apoptóticos, convolução e fragmentação da membrana nuclear e compactação da cromatina em massas densas uniformes alinhadas no lado interno da membrana nuclear.

Para a análise estatística dos dados obtidos foi utilizado o SPSS 15.0 e Minitab 15. Resultados com distribuição paramétrica foram comparados pelo Teste t de Student para avaliar eventuais diferenças entre as amostras.

Resultados com distribuição não paramétrica foram comparados pelo teste de *Mann Whitney*. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

A caracterização das pacientes segundo a idade e características clínicas - dor pélvica crônica, dismenorréia e infertilidade encontra-se descrita na tabela 1. Ao se comparar o IA dos implantes de endométrio ectópico das pacientes portadoras de endometriose (1,35 +- 0,82) com o IA do endométrio eutópico das pacientes do grupo controle (7,5 +-2,02), observou-se que houve diferença significativa ($p=0,001$) entre os grupos (Gráfico 1).

Quando avaliadas as fases do ciclo menstrual e os índices apoptóticos, foi observado maior IA nas pacientes não portadoras, em ambas as fases. Os índices da fase secretora foram superiores aos da fase proliferativa em ambos os grupos, e houve menor variação dos índices nas pacientes portadoras.

Ao comparar a expressão de Bcl-2 entre as pacientes portadoras de endometriose (27 +-1,93) e as pacientes sem a doença (23 +- 1,56) não se observou diferença significante entre os grupos $p > 0,05$ (Gráfico 2).

DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, diversos estudos sobre a fisiopatologia da endometriose têm sido realizados. Motivados pelo impacto na qualidade de vida à qual estão submetidas as pacientes com a doença, estes estudos buscam superar as limitações das opções terapêuticas disponíveis atualmente. Em 1998, foi avaliada, pela primeira vez, a apoptose no endométrio eutópico de mulheres sem endometriose e nos implantes ectópicos de pacientes portadoras da doença. Constatou-se que a susceptibilidade do tecido endometrial das pacientes com endometriose à apoptose era significativamente menor que nas pacientes sem a doença (Braun et al., 2007). O presente estudo teve como objetivo final a comparação da apoptose e a expressão da proteína Bcl-2 (Inibidora de apoptose) nos implantes de endométrio de pacientes portadoras de endometriose com o endométrio de pacientes sadias.

O grupo de casos foi considerado não homogêneo com relação à idade $p=0,01$. Para a avaliação de um evento endometrial regulado pelos esteróides sexuais, como a apoptose, a presença de ciclos menstruais regulares e ausência de uso de medicações hormonais são os fatores de maior relevância para a comparação da homogeneidade entre os grupos. A exclusão das pacientes em uso de medicamentos como anticoncepcionais orais, terapia de reposição hormonal e inibidores de aromatase é indispensável. O uso dos mesmos encontra-se associado à diminuição da proliferação celular e aumento da apoptose nas pacientes (Meresman et al 2002; Meresman et al 2005). Os grupos das pacientes selecionadas apresentavam ciclos regulares e não faziam uso de nenhuma medicação hormonal, não havendo restrição para sua comparação.

Entre as pacientes portadoras de endometriose, 6 (75%) mulheres encontravam-se na fase secretora do ciclo menstrual e 2 (25%) na fase proliferativa. A seleção de maior número de mulheres portadoras de endometriose na fase secretora do ciclo menstrual é sugerida, uma vez que na fase proliferativa encontram-se apenas esporádicas células apoptóticas e na fase secretora esse número aumenta consideravelmente (Jones et al., 1998; Szymonowisk, 2007).

Foi demonstrada a maior prevalência dos sintomas de dor pélvica crônica, dismenorréia e infertilidade no grupo das pacientes portadoras de endometriose. Tais sintomas são descritos como de prevalência aumentada nas portadoras

de endometriose por diversos autores (Orazi et al., 2001; Bulun, 2009; Seli et al., 2003; Kennedy et al., 2005)

Em presente estudo, o índice apoptótico do endométrio eutópico das pacientes sadias foi maior que o encontrado nos implantes ectópicos. Desta forma, constatou-se menor susceptibilidade dos implantes de endométrio ectópico à apoptose. Gebel et al. (1998) e Béliard et al. (2004) demonstraram que a apoptose dos implantes ectópicos foi significativamente menor que a encontrada no endométrio tópico do grupo controle. Contrariamente, Jones et al. (1998), ao avaliar a apoptose, não identificou diferença significativa entre implantes ectópicos de portadoras de endometriose e amostras de endométrio eutópico de pacientes sadias. Este autor descreve que foi possível avaliar a apoptose em apenas 3/30 (10%) dos implantes ectópicos, o que pode ter dificultado sua análise estatística.

No grupo das portadoras de endometriose, os implantes ectópicos não apresentaram diferença significativa do índice apoptótico entre as fases do ciclo. Esse resultado sugere que, talvez, o controle da apoptose não esteja relacionado apenas com os níveis hormonais nos implantes endometrióticos. Para a descrição da expressão de Bcl-2, utilizou-se a avaliação semi-quantitativa, como descrita por outros autores (Meresman et al., 2000; Braun & Dmowski, 1998). Foi identificada maior expressão de Bcl-2 no grupo das pacientes portadoras de endometriose, embora sem diferença significativa.

Com base nos resultados apresentados constatou-se que os implantes de endométrio ectópico de pacientes com endometriose apresentam alteração na regulação da apoptose. Porém, não houve diferença significativa na expressão de Bcl-2 entre os grupos. A diminuição da ocorrência da apoptose pode resultar em sobrevivência anormal das células endometriais, sendo um dos fatores associados à patogênese da endometriose (Braun & Dmowski, 1998; Donnez et al., 2003; Roberts & Rock, 2003).

Referências Bibliográficas

- Béliard A, Noel A, Foidart JM. Reduction of apoptosis and proliferation in endometriosis. *Fertil Steril*. 2004;82:80-5.
- Braun DP, Dmowski PW. Decreased apoptosis and sensitivity to macrophage mediated cytolysis of endometrial cells in endometriosis. *Hum Reprod Update*. 1998;4:696-701.
- Braun DP, Ding J, Shaheen F, et al. Quantitative expression of apoptosis-regulating genes in endometrium from women with and without endometriosis. *Fertil Steril*. 2007;87:263-268.
- Bulun S. Mechanisms of disease: endometriosis. *N Eng J Med*. 2009;360:268-79.
- Donnez J, Squifflet J, Pirard C, et al. Typical and subtle atypical presentations of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2003;30:83-93.
- Gebel MH, Braun DP, Tambur A, et al. Spontaneous apoptosis of endometrial tissues impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 1998;69:1042-7.
- Harada T, Kaponis A, Iwabe T, et al. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update*. 2004;10:29-38.
- Jones RK, Searle RF and Bulmer NJ. Apoptosis and Bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod*. 1998;13:3496-502.
- Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E; ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod*. 2005;20:2698-704.
- Laschke MW, Menger M. In vitro and in vivo approaches to study angiogenesis in the pathophysiology and therapy of endometriosis. *Hum Reprod Update*. 2007;13:331-42.
- Meresman FG, Vighi S, Buquet AR, et al. Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2000;74:760-6.
- Meresman G, Augé L, Barañao IR et al. Oral contraceptives

- suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2002;77:1141-7.
- Meresman G, Bilotas M, Abello V *et al.* Effects of aromatase inhibitors on proliferation and apoptosis in eutopic endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2005;84:459-63.
- Missmer SA, Cramer WD. The epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003;30:1-19.
- Orazi VD, Cosson M and Dufour P. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;96:21-34.
- Osteen KG, Kaylon BTL, Eisenberg E. Endometrial biology and the etiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2005;84:33-34.
- Roberts CP, Rock JA. The current staging system for endometriosis: does it help? *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003;30:115-132.
- Seli E, Berkkanoglu M, Arici A. Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003;30:41-61.
- Sharpe-Timmis KL. Defining endometrial cells: the need for improved identification at ectopic sites and characterization in eutopic sites for developing novel methods of management for endometriosis. *Fertil Steril.* 2005;84:35-37.
- Suganuma N, Harada M, Furuhashi M. Apoptosis in human endometrial and endometriotic tissues. *Horm Res.* 1997;48:42-7.
- Szymanowisk K. Apoptosis pattern in human endometrium in women with pelvic endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Rep Bio.* 2007;132:107-10.
- Tao XJ, Sayegh RA, Tilly JL, *et al.* Elevated expression of the proapoptotic Bcl -2 family member, Bak, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil Steril.* 1998;70:338-43.
- Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *J Soc Gynecol Investig.* 2006;13:467-76.

Avaliação dos resultados de vitrificação de blastocistos

Outcome of blastocysts vitrification

Ana Márcia de Miranda Cota¹, Elisa Lopes e Lages², Hérica Cristina Mendonça¹, Ana Luísa Menezes Silva²
 Maria Clara Magalhães dos Santos Amaral¹, João Pedro Junqueira Caetano¹

¹Membro do corpo clínico

²Bióloga

Clínica Pró-Criar / Mater Dei

*Apresentado como Poster no 10º Congresso da Rede latinoamericana de reprodução assistida

RESUMO

Objetivo: avaliar os resultados da técnica de vitrificação para o congelamento de blastocistos humanos, na Clínica Pró Criar.

Métodos: Foi realizado um estudo observacional, retrospectivo e descritivo, onde foram avaliados os prontuários das pacientes que se submeteram a um ciclo de congelamento e descongelamento de blastocistos vitrificados durante o período de janeiro/2007 a maio/2010.

Resultados: Foram avaliados 292 ciclos de congelamento e descongelamento de blastocisto, sendo que a idade média das mulheres foi de 34,35 anos. O número médio de blastocistos vitrificados/desvitrificados por paciente foi de $2,08 \pm 0,87$, totalizando 604 blastocistos descongelados. Desses embriões descongelados, 482 blastocistos sobreviveram, sendo a taxa de sobrevivência do blastocisto de 80%. Nos 269 ciclos em que houve transferência, uma média de $1,63 \pm 0,77$ blastocistos foram transferidos por paciente. Das 292 pacientes, 57,53% tiveram os blastocistos congelados no dia 5 e 42,47% tiveram o congelamento no dia 6. A taxa global de gravidez por ciclo de descongelamento foi de 44,5% e a taxa de gravidez clínica por transferência foi 48%. Quando realizada a comparação dos resultados segundo o dia de congelamento (dia 5 x dia 6) não foi encontrado diferença significativa em relação à taxa de gravidez.

Conclusão: Pode-se concluir que o método de vitrificação de blastocistos é uma técnica eficiente, com altas taxas de sobrevivência, possibilitando o armazenamento dos embriões excedentes com boas taxas de gravidez em ciclos de descongelamento.

Palavras-Chaves: vitrificação, blastocisto, congelamento

ABSTRACT

Objective: to evaluate the results of the vitrification of human blastocyst in the Clinic Pró Criar / Mater Dei.

Materials and Methods: It is an observational, retrospective and descriptive study. 292 patients who had submitted a frozen-thawed blastocyst cycle during the period of January of 2007 the May of 2010 had been evaluated.

Results: The mean age of the women was 34,35 years. The mean number of vitrified and defrosted blastocyst for patient was $2,08 \pm 0,87$, totalizing 604 defrosted blastocyst. 482 blastocyst had survived, with a survival rate of 80%. The average number of blastocyst transferred was $1,63 \pm 0,77$. 57,53% patients had had the blastocysts frozen in Day 5 and 42,47% in Day 6. The global pregnancy rate for thawed cycle was 44,5%. The

clinical pregnancy rate for transfer was 48%. There was no statistical difference in pregnancy rate when Day 5 and Day 6 were compared.

Conclusion: the vitrification of blastocyst is an efficient technique, with high survival rate, that allows the storage of the exceeding embryos with a high pregnancy rate in thawed cycles.

Keywords: vitrification, blastocyst, cryopreservation

INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas houve um grande avanço na área de criobiologia, principalmente no que se refere ao congelamento de embriões (Fuller and Paynter, 2004). Isso ocorreu devido a uma grande demanda na área de reprodução assistida sobre o destino dos embriões excedentes. Como não é possível transferir todos os embriões gerados devido ao risco de gestação múltipla e, eticamente não se descarta embriões viáveis, o armazenamento desses embriões excedentes se faz necessária. A criopreservação possibilita uma solução para esse problema, e também permite outras tentativas de gravidez com somente um ciclo de indução e punção folicular. Outra vantagem do programa de congelamento de embriões é reduzir os riscos da síndrome do hiperestímulo ovariano (SHO), através da não transferência dos embriões à fresco nesse ciclo, congelando-os para uma transferência futura (Michelmann and Nayudu, 2006). Assim, o congelamento de embriões permite um aprimoramento e um aumento na segurança das técnicas de reprodução assistida, se tornando uma estratégia terapêutica de extrema importância nas clínicas de reprodução assistida

O primeiro relato de congelamento de embriões de mamífero bem sucedido foi em 1972 (Whittingham et AL., 1972, Wilmut, 1972). Os primeiros nascimentos de crianças originadas de embriões congelados ocorreram em 1983 e 1984 (Trounson and Mohr, 1983, Zeilmaker et AL., 1984) já tendo nascido inúmeros bebês, em todo o mundo, decorrentes desse procedimento (Choi et al., 2000, Yokota et AL., 2001, Mukaida et AL, 2001, Vanderzwalmen et AL., 2002, Son et al., 2003).

Outro grande desafio na reprodução assistida é a tentativa de se minimizar a incidência de gestação múltipla secundária aos tratamentos. Assim, nas técnicas de fertilização *in vitro*, têm-se tentado cada vez mais a transferência de um embrião único (Dare et al., 2004). E a forma para se conseguir isso é a transferência de embriões no estágio de blastocisto, pois assim, há uma melhor seleção embrionária. Normalmente, a transferência dos embriões

ocorre no estágio de clivagem. No entanto, o genoma do embrião só é ativado após o terceiro dia do seu desenvolvimento. Assim, quando se adia a transferência dos embriões para o quinto dia (estágio de blastocisto) há uma melhor seleção dos embriões, pois há a transição do genoma materno para o embrionário, o que permite uma melhor avaliação e a transferência de um menor número de embriões (Rijinders and Jansen, 1998).

Há basicamente duas técnicas de criopreservação de blastocistos: congelamento lento e a vitrificação. O congelamento lento é a técnica mais utilizada para a criopreservação de embriões, principalmente para os embriões no estágio de clivagem. No entanto, esse método não é tão eficiente para a criopreservação de blastocisto. Os blastocistos congelados pela técnica lenta apresentam uma baixa taxa de sobrevivência (Yeoman et al., 2001), o que fez com que a transferência desses embriões não fosse utilizada rotineiramente pelas clínicas de reprodução.

No entanto, hoje com o desenvolvimento da vitrificação essa situação vem sendo modificada. A vitrificação é uma técnica mais eficiente, rápida, segura e barata para armazenar os embriões (em qualquer estágio de desenvolvimento) (Kuwayama et al., 2005, Stehlik et al., 2005). Desta forma, a vitrificação vem substituindo por completo o congelamento lento (Mukaida et al., 2004, Huang et al., 2005, Vatja, 2006, Liebermann and Tucker, 2006, Stachecki et al., 2008).

O objetivo desse estudo é avaliar os resultados da técnica de vitrificação para o congelamento de blastocistos.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional, retrospectivo e descritivo desenvolvido na Clínica Pró Criar/Mater Dei, onde foram avaliados os prontuários de 292 pacientes que se submeteram a um ciclo de congelamento e descongelamento de blastocistos vitrificados segundo a técnica de S³ Vitrification durante o período de janeiro/2007 a maio/2010. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Mater Dei.

Para o congelamento, os embriões que alcançassem no 5º ou 6º dia o estágio de blastocisto eram classificados de acordo com a sua morfologia segundo os critérios de Gardner e colaboradores (Gardner et al., 2000):

1. blastocisto inicial: apresenta pequena cavidade que ocupa menos de 50% do volume total do embrião.
2. blastocisto: apresenta blastocela que representa, pelo menos, 50% do volume total do embrião (aqui, o trofotoderma e a massa celular interna são bem definidos).
3. blastocisto expandido: a blastocela preenche todo o embrião.
4. blastocisto totalmente expandido: apresenta blastocela totalmente expandida, o que resulta no aumento do diâmetro do embrião em relação ao seu tamanho inicial e um afinamento da zona pelúcida.
5. blastocisto em eclosão: observa-se o trofotoderma eclodindo através da zona pelúcida.
6. blastocisto eclodido: blastocisto completamente fora da zona pelúcida.

Apenas os blastocistos excedentes que apresentassem a blastocela bem formada, trofotoderma e massa celular interna bem distintos no 5º ou 6º dia eram então vitrificados pela técnica S³ Vitrification (Stachecki et al., 2008).

A técnica consiste em 3 etapas onde o embrião passava por uma série de 3 soluções compostas por meio PBS (Phosphate-buffered saline solution, Gibco) suplementado com albumina sérica humana (HSA, Irvine) e com crioprotetores penetrantes (ou permeáveis), glicerol (Sigma) e etileno glicol (Sigma) em concentrações crescentes. Os

Tabela 1. Comparação entre os resultados do descongelamento do dia 5 versus dia 6

	Dia 5	Dia 6	P-valor
Idade (em anos) (média ± DP)	34,08±5,48	34,71±5,12	0,16
Número de blastocistos congelados (média ± DP)	2,14±0,96	1,98±0,73	0,36
Número de blastocistos descongelados (média ± DP)	1,69±0,81	1,67±0,84	0,89
Número de blastocistos transferidos (média ± DP)	1,63±0,75	1,62±0,79	0,96
Taxa de sobrevivência	77%	83%	0,30
Taxa de gravidez	54,11%	49,04%	0,50
Taxa de gestação múltipla	26,32%	12,5%	0,13

embriões eram expostos à primeira solução por 5 minutos, depois transferidos para a segunda solução por mais 5 minutos e, finalizando na terceira solução, onde imediatamente eram colocados em uma palheta (0,25 cc) que era selada termicamente nas duas extremidades. Uma vez carregadas e seladas, as palhetas eram resfriadas sob vapor de nitrogênio à uma temperatura de -100°C por 2 minutos antes de serem submersas em nitrogênio líquido. Na desvitrificação, as palhetas, imediatamente após serem retiradas do nitrogênio líquido, eram expostas à temperatura ambiente por 5 segundos e, em seguida, submersas em água destilada à 20°C por 10 segundos. Após este processo, os embriões passavam por uma série de 5 soluções por 5 minutos em cada. As concentrações de sucrose em cada solução eram cada vez mais reduzidas para remoção dos crioprotetores. Após toda a remoção destes crioprotetores, os blastocistos eram lavados e cultivados em meio de cultivo Global (Global® - LifeGlobal) suplementado com HSA, à 37° C e 5,5% de CO₂, por um intervalo de 1 a 4 horas, antes de serem transferidos. No ciclo de transferência do(s) blastocisto(s) descongelado(s), as pacientes recebiam 6mg de estradiol (Estrofem®, Novo Nordisk) por dia, a partir do primeiro dia da menstruação para o preparo endometrial. Em torno do 10º ao 14º dia de uso de medicamento era realizado uma ultrassonografia endovaginal para avaliação da espessura endometrial. Quando visualizado um endométrio com espessura ≥ 8mm, era iniciado a progesterona micronizada 900mg/dia, via vaginal. A transferência do embrião era programada então para 5 dias após o início da progesterona.

Para a análise estatística foi utilizado o teste de Mann-Whitney para avaliação de variáveis quantitativas. Para verificar a associação de frequências foi utilizado o teste de Qui-Quadrado e o Teste Exato de Fisher, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foram avaliados, retrospectivamente, 292 ciclos de congelamento e descongelamento de blastocisto, sendo que a idade média das mulheres foi de 34,35 anos. O número médio de blastocisto vitrificados/desvitrificados por paciente foi de 2,08 ± 0,87 (variando de 1 a 7 blastocistos), totalizando 604 blastocistos descongelados. Desses embriões descongelados, 482 blastocistos sobreviveram (média de 1,68 ± 0,82). A taxa de sobrevivência do blastocisto ao congelamento e descongelamento foi de 80%.

Dos 292 ciclos de descongelamento, não houve transferência embrionária em 23 casos, devido ao fato de não

haver embriões disponíveis. Nos 269 ciclos em que houve transferência, uma média de $1,63 \pm 0,77$ blastocistos foram transferidos por paciente.

Das 292 pacientes, 57,53% tiveram os blastocistos congelados no dia 5 e 42,47% tiveram o congelamento no dia 6. A taxa global de gravidez por ciclo de descongelamento foi de 44,5% (130 gestações em 292 ciclos de descongelamento). A taxa de gravidez clínica por transferência foi 48% (130 gestações em 269 ciclos de descongelamento com transferência). A taxa de implantação foi de 30,5%. Das 130 gestações: 79% (103) gestação única, 20,2% (26) gestação gemelar e 0,8% gestação tripla (1).

Quando realizada a comparação dos resultados segundo o dia de congelamento (dia 5 x dia 6), não foi encontrada diferença significativa em relação à taxa de gravidez (Tabela 1).

DISCUSSÃO

A fertilização *in vitro* é uma das técnicas mais bem sucedidas e tem sido amplamente utilizada no tratamento da infertilidade. Entretanto, com o uso das gonadotrofinas na hiperestimulação ovariana, um maior número de óvulos é obtido e conseqüentemente, há uma maior disponibilidade de embriões viáveis para a transferência. Com o avanço do cultivo celular, houve uma melhora nas taxas de implantação o que acabou gerando um aumento nas taxas de gravidez múltipla. Assim, a gemelaridade, associada ao aumento do risco tanto para os fetos quanto para a mãe, é uma das complicações das técnicas de reprodução assistida que deve ser evitada. A fim de se reduzir o número de embriões transferidos sem, contudo diminuir a taxa de gravidez tem-se optado por prolongar o tempo de cultivo embrionário até o estágio blastocisto, conseguindo dessa forma, uma melhor seleção embrionária. Assim consegue-se diminuir o número de embriões transferidos, permitindo até a transferência de um embrião único, mantendo-se boas taxas de gravidez, além de permitir uma redução na taxa de gestação múltipla. A partir daí, o congelamento de blastocistos passou então a ser uma necessidade. Além do mais, quando se congela embriões apenas no estágio de blastocisto, o número de embriões excedentes se reduz, permitindo um aumento na capacidade de armazenamento do laboratório e uma melhor seleção dos embriões a serem guardados e transferidos futuramente.

As técnicas de criopreservação de blastocistos têm evoluído e a vitrificação tem mostrado melhores resultados. A vitrificação consiste em expor o embrião em pequenos volumes de soluções com altas concentrações de crioprotetores, seguido de um rápido congelamento em nitrogênio líquido, o que permite uma desidratação rápida das células, fazendo com que elas entrem em um estado solidificado, evitando assim, a formação de cristais de gelo intracelular. Os estudos clínicos mostram excelentes taxas de sobrevivência dos embriões e de gestação ((Kuwayama et al., 2005, Youssry et al., 2008). A taxa de sobrevivência dos blastocistos vitrificados neste estudo foi de 80% comprovando a alta eficiência da técnica S³ Vitrification. Em um estudo do nosso grupo publicado em 2009 (Moraes et al., 2009) foi demonstrado uma taxa de sobrevivência menor (58%) do que no estudo atual, demonstrando uma melhora da técnica com a curva de aprendizado. No entanto, a taxa de sobrevivência de 80% está um pouco inferior a taxas apresentadas por outros autores (Kuwayama et al., 2005, Bernal et al., 2008, Loutradi et al., 2008).

A taxa global de gravidez por ciclo de descongelamento foi de 44,5% e a de gravidez clínica por transferência foi

48%, semelhante ao descrito por alguns autores (Liebermann et al., 2006, Mukaida et al., 2008). No entanto, essa taxa de gravidez é superior ao descrito por Liebermann et al., (taxa de gravidez de 42,9%) (Liebermann, 2009), Cho et al., (34%) (Cho et al., 2002) e Mukaida et al., (37%) (Mukaida et al., 2003) e inferior ao descrito por Osada et al., (56%) (Osada et al., 2003), Stehlik et al., (50%) (Stehlik et al., 2005) e Kuwayama et al., (53%) (Kuwayama et al., 2005).

A blastulação dos embriões humanos ocorre usualmente no dia 5 após a fertilização, mas pode atrasar até o dia 6. Vários estudos demonstraram que a transferência a fresco no dia 5 resulta em maiores taxas de gravidez do que a transferência a fresco de blastocisto no dia 6 (Osada et al., 2003, Shapiro et al., 2001, Barrenetxea et al., 2005). Entretanto, em avaliação do nosso grupo publicada em 2009 (Moraes et al., 2009), a transferência de blastocistos vitrificados/desvitrificados no dia 6 resultou em taxas de gravidez semelhantes às do dia 5, estando de acordo com o encontrado no presente estudo. Isto provavelmente se deve à melhor sincronia endométrio-embrião que é obtida com o preparo endometrial nos ciclos de transferência de blastocistos criopreservados (Kader et al., 2009). No estudo de Stehlik et al., 2005 (Stehlik et al., 2005) as taxas de gravidez foram maiores na transferência dos blastocistos vitrificados no dia 5 do que no dia 6, entretanto sem diferença estatística (50% dia 5 x 33% dia 6), assim como no estudo de Liebermann e Tucker, 2006 (48,7% de gravidez dia 5 x 42,8% dia 6). O mesmo ocorreu em nosso estudo, onde a taxa de gravidez foi maior dia 5 que dia 6 (54,1% x 49,04%), mas sem diferença estatística, confirmando os dados da literatura.

Estes resultados mostram que a vitrificação é uma excelente técnica e que os blastocistos têm uma alta taxa de sobrevivência e implantação após o descongelamento e transferência, podendo substituir o congelamento lento como já sugerem outros estudos (Stehlik et al., 2005). Existem várias técnicas de vitrificação. A S³ Vitrification, técnica utilizado neste estudo, é uma técnica rápida, de fácil execução, além de não utilizar o DMSO como crioprotetor. Nossos resultados de gravidez são satisfatórios e promissores. Portanto, pode-se concluir que o método de vitrificação de blastocistos é uma técnica eficiente, com altas taxas de sobrevivência, possibilitando o armazenamento dos embriões excedentes com boas taxas de gravidez em ciclos de descongelamento.

Endereço para Correspondência

Rua Alvarenga Peixoto, 1329 Santo Agostinho BH - MG
Tel: (31) 3292 - 5299 FAX: (31) 3292 5299
e-mail: anamarcia.cota@procriar.com.br

Referências Bibliográficas

- Barrenetxea G, Larruzea AL, Ganzabal T, Jiménez R, Carbonero K and Mandiola M. Blastocyst culture after repeated failure of cleavage stage embryo transfers: a comparison of day 5 and day 6 transfers. *Fertil Steril*. 2005; 83:49-53.
- Bernal DP, Chang CC, Colturato LF, et al. Evaluation of blastocyst recuperation, implantation and pregnancy rates after vitrification/warming or slow freezing/thawing cycles. *Fertil Steril*. 2008; 90:S277-S278.
- Cho HJ, Son WY, Yoon SH, Lee SW, Lim JH: An improved protocol for dilution of cryoprotectants from vitrified human blastocysts. *Hum Reprod*. 2002, 17:2419-2422.
- Choi DH, Chung HM, Lim JM, et al. Pregnancy and delivery of healthy infants developed from vitrified human blastocysts. *Fertil and Steril*. 2000;74:838-839.
- Dare MR, Crowther CA, Dodd JM, Norman RJ. Single or multiple embryo transfer following in vitro fertilization for improved neonatal outcome: a systematic review of the literature. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2004;44(4):283-291.
- Fuller B, Paynter S. Fundamentals of cryobiology in reproductive

- medicine. *Reprod Biomed Online*. 2004;9:680-691.
- Gardner DK, Lane M, Stevens JMT, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil and Steril*. 2000;73(6):1155-1158.
- Huang CC, Lee TH, Chen SU *et al.* Successful pregnancy following blastocyst cryopreservation using super-cooling ultra-rapid vitrification. *Hum Reprod*. 2005;20:122-128.
- Kader AA, Choi A, Orif Y and Agarwal A. Factors affecting the outcome of human blastocyst vitrification. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009;7:99.
- Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, Kato O: Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online*. 2005, 11:608-614.
- Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2005;11:300-8.
- Liebermann J, Tucker MJ. Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application. *Fertil and Steril*. 2006;86(1):20-26.
- Liebermann J. Vitrification of human blastocysts: An update. *Reprod Biomed Online* 2009, 19(Suppl 2).
- Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, *et al.* Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril*. 2008; 90:186-193.
- Michelmann HW, Nayudu P. Cryopreservation of human embryos. *Cell Tissue Bank* 2006; 7:135-141.
- Moraes LAM, Aguiar LPT, Lamaita RM, Marinho RM, Caetano JPJ. Comparação de resultados obtidos com uma nova técnica de vitrificação de blastocistos e com o congelamento lento de embriões no segundo e terceiro dias de cultivo. *JBRA*. 2009;13:16-10.
- Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, *et al.* Successful birth after transfer of vitrified human blastocysts with use of a cryoloop containerless technique. *Fertil and Steril*. 2001;76:618-620.
- Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, *et al.* Vitrification of human blastocysts using cryoloops: clinical outcome of 223 cycles. *Hum Reprod*. 2004;18:384-391.
- Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, Wada S, Oka C, Kasai M, Takahashi K. Vitrification of human blastocysts using cryoloops: clinical outcome of 223 cycles. *Hum Reprod*. 2003, 18:384-391.
- Mukaida T, Takahashi K, Goto T, Oka C. Perinatal outcome of vitrified human blastocysts in 7 year experience (2670 attempted cycles). *Hum Reprod*. 2008, 23:48.
- Osada H, Aono F, Kuwayama M, Morita H, Teramoto S, Kato O. Clinical efficiency of vitrification on blastocysts transfer cycles. *Fertil Steril*. 2003, 80:S63-S63.
- Rijinders PM, Jansen CAM. The predictive value of day 3 embryo morphology regarding blastocyst formation, pregnancy and implantation rate after day 5 transfer following in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1998;13:2869-2873.
- Shapiro BS, Richter KS, Harris DC and Daneshmand ST. A comparison of day 5 and day 6 blastocyst transfers. *Fertil Steril*. 2001; 75:1126-1130.
- Son WY, Yoon SH, Yoon HJ *et al.* Pregnancy outcome following transfer of human blastocysts vitrified on electron microscopy grids after induced collapse of the blastocoele. *Hum Reprod*. 2003;18:137-139.
- Stachecki JJ, Garrisi J, Sabino S, Caetano JP, *et al.* A new safe, simple, and successful Vitrification method for bovine and human blastocysts. *Reprod Biomed Online*. 2008;17.
- Stehlik E, Stehlik J, Katayama KP, Kuwayama M, Jambor V, Brohammer K, Kato O. Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts. *Reprod Biomed Online*. 2005;11(1):53-57.
- Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983;305:707-709.
- Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche C, *et al.* Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effect of artificial reduction of the blastocoele cavity before vitrification. *Hum Reprod*. 2002;17:744-751.
- Vatja G. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. *Reprod Biomed Online*. 2006;12(6):779-796.
- Whittingham DG, Leibo SP, Mazur P. Survival of mouse embryos frozen to -196°C and -269°. *Science*. 1972;178:411.
- Wilmot I. The effect of cooling rate, warming rate, cryoprotective agent, and stage of development on survival of mouse embryos during freezing and thawing. *Life Sci*. 1972;11:1071.
- Yeoman RP, Gerami-Naini B, Mitalipov S, Nusser KD, Widmann-Browning A A, Wolf DP. Cryoloop vitrification yields superior survival of rhesus monkey blastocysts. *Hum Reprod*. 2001;16:1965-1969.
- Yokota Y, Sato S, Yokota M, *et al.* Birth of a healthy baby following vitrification of human blastocysts. *Fertil and Steril*. 2001;75:1027-1029.
- Youssry M, Ozmen B, Zohni K, Diedrich K, Al-Hasani S. Current aspects of blastocyst cryopreservation. *Reprod Biomed Online*. 2008; 16:311-320.
- Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril* 1984;42:293-296.

Effects of washed and autoclaved mineral oil overlay used during IVM of bovine oocytes on steroid concentration and preimplantational embryo development.

Vireque AA¹, Watanabe YF², Resende LOT³, Bernuci MP⁴, Martins WP⁵, Ferriani RA⁶

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

^{1,4} PhD, Post-doc of Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo

² PhD, Vitrogen Biotecnologia da Reprodução, Cravinhos - SP, Brazil

³ Masters degree of Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo

^{5,6} MD-PhD, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo

ABSTRACT

Although droplet method has been widely used in IVF laboratories, the toxic contamination produced by deterioration of mineral oil quality and extraction of steroids from the culture medium into the oil overlay has been associated with impaired *in vitro* development and freezability of oocytes and embryos. The use of washed and autoclaved oil with 0.9% saline may provide a useful tool to prevent toxic contaminants in commercial mineral oil, but its effect upon steroids extraction from the culture medium remains to be determined. This study was designed to compare the concentration of steroids in IVM droplets of cumulus-oocyte complexes (COCs) cultured under two types of oil overlay: washed and autoclaved mineral oil (WMO) or mineral oil in its commercial formulation (CMO) and to evaluate its influence on subsequent embryo development. Bovine COCs were cultured at a density of 1/10 μ L in TCM-199 supplemented with estradiol-17 β at 38.5 °C, 5% CO₂ and 100% humidity during 24 h. After fertilization, presumptive zygotes were co-cultured with cumulus cells until 224 h post-insemination (hpi). Media were collected before and after IVM, and stored at -20 °C. E2 and P4 were determined by chemiluminescence and embryo development was evaluated by cleavage, blastocyst and hatching rates at 168-224 hpi. E2 and P4 were dramatically reduced ($P < 0.01$) in both oil overlay. Remaining levels of E2 in IVM microdrops were significantly higher in WMO (313.03 ± 72.6 ng/mL) than CMO (123.5 ± 46.1 ng/mL) showing lower steroid absorption by WMO overlay ($P < 0.01$). P4 secreted by COCs was almost totally absorbed by mineral oil, irrespectively to the oil preparation. There were significantly lower hatching rates in WMO than CMO (71.4 % vs 94.4%, respectively; $p < 0.05$). The use of hydrated mineral oil during IVM influences E2 bioavailability and may be detrimental to *in vitro* embryo development.

Keywords: Reproductive techniques; Steroids; IVM; Mineral oil; preimplantational embryo development

RESUMO

Embora o método de gotas seja amplamente utilizado em fertilização *in vitro*, a contaminação tóxica produzida por

deterioração da qualidade do óleo mineral e extração de esteróides a partir do meio de cultura tem sido associada a insuficiente desenvolvimento *in vitro* e congelabilidade de oócitos e embriões. O uso do óleo lavado e autoclavado com solução salina 0,9% pode ser útil para evitar contaminantes tóxicos em óleo mineral comercial, mas seu efeito sobre a extração dos esteróides do meio de cultura continua indeterminado. Este estudo busca comparar a concentração de esteróides em gotículas de complexos cumulus-oócitos (COCs) em IVM cultivadas em dois tipos de sobreposição de óleo: lavado e autoclavado (WMO) ou óleo mineral em sua formulação comercial (CMO), além de avaliar sua influência sobre o desenvolvimento embrionário subsequente. COCs bovinos foram cultivados a uma densidade de mL 10/01 em TCM-199 suplementado com E2 a 38,5 ° C, 5% de CO2 e umidade de 100% durante 24 h. Após a fecundação, os prováveis zigotos foram co-cultivados com células cumulus até 224 h pós-inseminação (hpi). Meios foram coletados antes e depois IVM, e armazenadas a -20 ° C. E2 e P4 foram determinados por quimiluminescência e desenvolvimento embrionário de blastocisto foi avaliada por clivagem e taxa de eclosão em 168-224 hpi. E2 e P4 estiveram drasticamente reduzidos ($P < 0,01$) em ambas opções. Demais níveis de E2 em microgotas IVM foram significativamente maiores em WMO ($313,03 \pm 72,6$ ng / mL) que no CMO ($123,5 \pm 46,1$ ng / mL), mostrando menor absorção de esteróides na primeira ($P < 0,01$). P4 secretado pelos COCs foi quase totalmente absorvido pelo óleo mineral, independentemente da preparação. Houve taxa de eclosão significativamente menor no WMO (71,4%) vs 94,4%, CMO, $p < 0,05$). O uso de óleo mineral hidratado durante IVM influencia a biodisponibilidade do E2 e pode ser prejudicial para o desenvolvimento do embrião *in vitro*. Palavras chave- Técnicas reprodutivas; esteróides; maturação *in vitro*; óleo mineral; desenvolvimento embrionário pré-implantação.

INTRODUCTION

Culture system is a crucial step of assisted reproductive technologies influencing the potential of oocyte development and embryo implantation, which are detrimental for the success of *in vitro* fertilization (IVF) progra-

ms. Routinely, mammalian cumulus-oocyte complexes and embryos have been culture in microdroplet culture system. This method consists on a small volume of medium (<0.05mL) overlaid with mineral oil, which prevents evaporation of water from the medium and reduces gas and temperature fluctuation in the medium (Miller et al, 1994). Although widely used in IVF laboratories, the long-term culture of oocytes and embryos in small medium droplets have been received many concerns. The toxic contaminants released into the culture media during the deterioration of oil quality by exposure to light and heat, was associated with impaired *in vitro* development and freezability of oocytes and embryos (Erbach et al, 1995, Provo et al, 1998, Van Soom et al, 1994, Otsuki et al, 2007). Furthermore, it is known that exogenous steroids used as supplements or secreted into the culture medium and liposoluble substances in general may diffuse to the mineral oil, altering the hormonal concentrations in the microenvironment for the development of oocytes and embryos (Miller et al, 1987).

The negative effects of the use of mineral oil into the oocyte and embryo culture system may be prevented or minimized by the purification of the commercial mineral oil prior it use, which consists in equilibrate and autoclaving the oil with 0.9% physiological saline (. Borque et al, 1996, Van Soom et al, 2001). Performed in order to hydrate the oil and to transfer possible toxic traces of water-soluble compounds from the oil to the aqueous phase from which the oil is decanted, this procedure may propitiate an alternative tool to avoid further contamination of the culture system by the mineral oil in its commercial formulation.

Since it is recognized that oocytes require a specific steroid environment to achieve full maturation and developmental competence *in vivo* and that the mineral oil extracts exogenous steroids hormones used as supplements or secreted into the culture medium it is reasonable to hypothesize that oocytes and embryos cultured in small medium droplets under mineral oil may have their developmental course compromised by changes in the culture media hormonal concentrations. In fact, the lower progesterone concentration introduced by oil overlay has been suggested to be the determining factor for a delay in the timing of pig oocyte IVM (Shimada et al, 2001).

In this study, we designed a simple and comparative experiment evaluating different IVM procedures that include the use of a hydrated mineral oil overlay or mineral oil in its commercial formulation on steroid hormones concentration in the IVM medium. The preimplantational embryo development of *in vitro* matured oocytes and fertilized embryos was also compared.

METHODS

All chemicals used during the study were from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), unless otherwise stated.

2.1. Collection and *in vitro* maturation of bovine oocytes

Bovine ovaries were collected at a slaughterhouse and transported to the laboratory in 0.9% physiological saline supplemented with 0.05 g/L streptomycin at 35° C. Follicles measuring 3-8 mm in diameter were aspirated with 21 G needles adapted to 20 mL syringes. COCs retrieved

from the follicular aspirate were washed with TALP-HEPES medium (Gordon, 1994) containing NaCl, KCl, NaHCO₃, NaH₂PO₄, Na-lactate, CaCl₂·2H₂O, MgCl₂·6H₂O, HEPES, Pen-Strep, Na-pyruvate, and BSA, pH 7.4, and examined for morphology under a stereomicroscope. Only oocytes with a homogeneous cytoplasm and with more than three layers of granulosa cells were used (degrees I and II). The pool of immature COCs was randomly allocated to one of following culture conditions, according preparation of mineral oil to use in the IVM system: 1) washed and equilibrated mineral oil with 0.9 % physiological saline (WMO) and 2) mineral oil in the commercial formulation (CMO). COCs were cultured in 200 µL microdrops of TCM-199 medium (Invitrogen-Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), supplemented with 10% fetal calf serum (Invitrogen-Gibco BRL) inactivated at 56 °C for 30 minutes, 0.2 mM pyruvate, 10 µg/mL gentamicin, 0.5 µg/mL FSH (Follitropin, Bioniche Animal Health Canada Inc., Belleville, ON, Canada), 5 µg/mL LH (Lutropin V, Bioniche Animal Health) and 1 µg/mL 17β-estradiol on 35 mm Petri dishes covered with 3 mL of M8410 mineral oil at 38.5° C, in atmosphere with 5% CO₂, for a period of 24 h. Each experiment was carried out with five replicates and the COCs were cultured at a density of 1/10 µL culture medium. Since P4 is not commonly added into the bovine oocytes IVM medium, a control medium without an oil overlay for determination of total P4 secreted by COCs after 24 h was established at the same IVM protocol and compare with microdrops culture.

2.2. *In vitro* embryo production

Mature oocytes were inseminated with frozen-thawed, motile sperm separated by swim-up (Parrish et al, 1988) using Sperm TALP HEPES medium (Gordon, 1994) supplemented with 6 mg/mL BSA fraction V. Fertilization was performed in 100 mL drops of Fert TALP medium (Gordon, 1994), supplemented with 20 mg/mL heparin and 6 mg/mL fatty acid-free BSA fraction V under mineral oil. Sperm concentration during fertilization was approximately 10⁶ spermatozoa/mL and the sperm were co-incubated with 20 COCs for 18 h in a humid 5% CO₂ atmosphere at 38.5 °C. After fertilization, oocytes were partially denuded by pipetting in TALP HEPES medium (10) and 20 presumptive zygotes with up to two or three layers of cumulus cells were cultured in 50 mL drops of CR2aa medium (Rosenkrans et al, 1994), supplemented with 10% FCS (Invitrogen Life Technologies) and 1 mg/mL BSA under mineral oil in a humid 5% CO₂ atmosphere at 38.5 °C. The culture medium was replaced by fresh medium every 48 h. Cleavage rate was evaluated 72 h post-insemination (hpi), blastocyst rate was evaluated 168–192 hpi, and hatching rates at 224 hpi. Cleavage and blastocyst rates were calculated on the basis of number of presumptive zygotes, and hatching rates were calculated from the number of presumptive zygotes and total blastocysts.

2.3. Hormone analysis

Progesterone and 17β-estradiol concentrations were determined by chemiluminescence using a commercial kit from Diagnostics Products Corporation (DPC), Immulite System, Los Angeles, CA, USA. Samples were removed from the culture media at time 0 (newly prepared culture

Table 1. Steroid concentrations in culture media before and after 24 h of IVM of bovine oocytes under different mineral oil overlay

		CMO	WMO	p-value
Estradiol (ng/mL)	0h	1142 ± 0.03	1142 ± 0.03	<0.01
	24h	123.5 ± 46	313 ± 72.6	<0.01
Progesterone (ng/mL)	0h	Undetectable	Undetectable	
	24h	0.68 ± 0.54	0.87 ± 0.45	<0.01

Data given as mean ± standard error; a = p-value obtained by one way Kruskal-Wallis test; b = p-value obtained by Mann-Whitney test.

Table 2. Effects of mineral oil overlay on embryo development of oocytes matured *in vitro*

Mineral oil preparation	Total number of zygotes	% Cleavage (n)	% Blastocysts (n)	% Hatching (n)*
		72 hpi	168-192 hpi	
CMO	110	82.2 (74) ^a	40.0 (36) ^a	94.4 (34) / 37.8 (34) ^a
WMO	90	80.9 (89) ^a	31.8 (35) ^a	71.4 (25) / 22.7 (25) ^b

hpi: hours post-insemination. Different superscript letters in the same column indicate a significant difference (chi-square test; *Fisher test, P < 0.05). *Hatching rates: calculated from the number of blastocysts/and presumptive zygotes, respectively.

medium) and after 24 h of IVM and stored in a freezer at -20 °C until hormone assays. The determinations were carried out in duplicate, without extraction and all samples for each steroid were analyzed in a single assay in order to avoid inter-assay variability. The intra-assays coefficients of variation were less than 10%.

2.4. Statistical analysis

The results of steroids are reported as means ± SD. Data were analyzed statistically by ANOVA followed by comparison of the means by the Tukey test. Cleavage and 8–16 cell embryos at 72 hpi, and blastocyst rate were assessed by Chi-square. Hatching rates were evaluated by Fisher's exact test with the level of significance set at p<0.05.

RESULTS

The E2 concentrations in newly prepared culture medium before IVM and in remaining media after 24 h of COC culture are shown in Table 1. Mineral oil in its commercial presentation (CMO) absorbed more E2 than WMO (P<0.01). P4 was not detected in medium at time 0 h. However, P4 secreted by COCs after 24h of culture in a control IVM medium without oil overlay was 22.80 ± 4.26 ng/mL. Regardless of mineral oil preparation, P4 concentrations after IVM were very low, suggesting its almost total migration from the microdrop to the oil (p<0.01; Table 1). There were no differences (p<0.05) in total cleavage and blastocyst rates among WMO and CMO methods (Table 2). However, the hatching rates of *in vitro* fertilized embryos were significantly decreased in WMO (P = 0.03; Table 2).

DISCUSSION

In this study, variations on steroid hormones concentration in bovine oocytes IVM medium was investigated using two different mineral oil overlay into the microdroplet IVM culture system: (a) the conventional mineral oil in its commercial presentation and (b) the hydrated and autoclaved mineral oil. It was also evaluated the preimplantational embryo development success from oocytes matured in both IVM procedures. Irrespectively of oil preparation, E2 concentration in IVM medium was markedly reduced by as much as 70% after 24 h of culture and the P4 secreted by COCs was almost fully practically extracted from culture medium into mineral oil, being

reduced by 95% of its original level (23 ng/mL vs 0.68 and 0.87 ng/mL, in a control oil-free medium and CMO or WMO, respectively). In a previous study, Zheng et al (2003) demonstrated that E2 concentration is reduced by as much as 50% during the first 4 h of culture of primate COCs (Rhesus monkey) in 50 µL microdrops of TCM-199 medium covered with 3.5 ml mineral oil in its commercial formulation, while P4 concentration was reduced by as much as 93% during the first 2 h of IVM. According to Miller and Pursel (1987), radio labeled estradiol, progesterone and androstenedione were reduced by 51, 89 and 77%, respectively, in medium drops under oil after 24 h of incubation.

Comparing hydrated to conventional mineral oil overlay, our study showed that after 24 hours of culture the E2 diffusion was 14% higher in CMO than WMO resulting in a higher E2 concentration in microdrops covered with WMO (313 n/mL vs 123.5 ng/mL, for WMO and CMO respectively), while P4 diffusion was about 2% greater in CMO than in WMO. This differential steroid segregation into the oil overlay type suggests that during IVM period the oocytes might be exposure to different hormonal levels within the different type of oil overlay applied. However, the implications of this observation in the oocyte competence remain to be clarified.

Although, there were no significant differences of IVM oil overlay and steroid hormones concentrations interaction on cleavage and blastocyst rates, decreased hatching rates of blastocysts were obtained from oocytes matured under WMO. These data would suggest a potential dose-effect of E2 on distal endpoints in the oocyte development. Exogenous E2 added to oocyte IVM medium seems to negatively impact oocyte maturation, taking to account that dose used was 1µg/mL and that remaining E2 in WMO was 2.5 fold higher than CMO. A critical analysis of literature data shows that there are no conclusive data about the association between steroid concentration in the IVM medium and its effect on mammalian oocyte nuclear and/or cytoplasmic maturation as well as its subsequent development (Ali e Sirard, 2003; Beker et al, 2002; Lattanzi et al, 2003; Li et al, 2004; Moreira et al, 2002). Shimada et al (2002) reported that high steroid hormones secreted by pig COCs (1.2 ng/mL estradiol, 5.3 ng/mL testosterone and 64.2 ng/mL progesterone) accelerated GVBD and activated p34cdc2 kinase and MAP

kinase in oocytes matured without oil overlay in comparison with those of oocytes cultured under mineral oil and improved rate of early embryonic development to the blastocyst stage after IVF. Steroid hormones such as P4, E2, estradiol, androgens, meiosis activating steroid and other lipid classes such as prostaglandins are secreted by cumulus cells when stimulated with gonadotropins during oocyte IVM (Armstrong et al, 1996; Gurevich et al, 1993) and all them can be absorbed by mineral oil or paraffin oil during the IVM. A recent study in human suggested aberrant DNA methylation at the imprinted *H19* gene in oocytes following in vitro maturation (IVM) (Borghol et al, 2006) and that extraction of E2 from culture medium by mineral oil may also play a role in altered imprinting establishment (Anckaert et al, 2009).

Since the differential hormonal environments in which oocytes mature induce subtle alterations in meiosis kinetics in different mammalian species and appears to affect embryo development, this could have implications for the human ART-clinic, where different ovarian hyperstimulation protocols were shown to significantly influence endocrine parameters in serum and follicular fluid (Smits et al, 2007) and where the upcoming technique of IVM of immature oocytes used mineral oil overlay (Mikkelsen et al, 2000; Segers et al, 2008).

CONCLUSION

In standard IVM microdroplet system, regardless of oil preparation, E2 and P4 concentrations were reduced by as much as 70 to 90% of the original hormonal levels. These results underscore the need to test culture conditions other than employ oil overlay or a two-step IVM method and to determine the exact steroid doses that should be used to induce human oocyte IVM.

¹Corresponding author:

Alessandra A. Vireque
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Avenida dos Bandeirantes, 3900. 14049-900. Ribeirão Preto, SP, Brazil.
Telephone: +55 16 3421 8002; Fax: +55 16 3602 2231
e-mail: alessandra_vireque@yahoo.com.br

References

- Ali A, Sirard MA. Effect of the absence or presence of various protein supplements on further development of bovine oocytes during in vitro maturation. *Biol Reprod* 2002;66:901-905.
- Anckaert E, Adriaenssens T, Romero S, Smits J. Ammonium accumulation and use of mineral oil overlay do not alter imprinting establishment at three key imprinted genes in mouse oocytes grown and matured in a long-term follicle culture. *Biol Reprod* 2009; 81:666-73
- Armstrong DT, Xia P, de Gannes G, Tekpetey FR, Khamsi F. Differential effects of insulin-like growth factor-I and follicle-stimulating hormone on proliferation and differentiation of bovine cumulus cells and granulosa cells. *Biol Reprod* 1996;54:331-8.
- Beker AR, Colenbrander B, Bevers MM. Effect of 17beta-estradiol on the in vitro maturation of bovine oocytes. *Theriogenology* 2002;58:1663-73.
- Borghol N, Lornage J, Blachere T, Sophie GA, Lefevre A. Epigenetic status of the *H19* locus in human oocytes following in vitro maturation. *Genomics* 2006; 87: 417-426.
- Borque C, Pintado B, García P, Sanchez R. Effect of washing oil on in vitro development of mouse embryos. *Theriogenology* 1996;45:206.
- Erbach GT, Bhatnagar P, Baltz JM, Biggers JD. Zinc is a possible toxic contaminant of silicone oil in microdrop cultures of preimplantation mouse embryos. *Hum Reprod* 1995;10:3248-54.

Gordon I. Laboratory production of cattle embryos. London UK: Cambridge University Press, 1994.

Gurevich M, Harel-Markowitz E, Marcus S, Shore LS, Shemesh M. Prostaglandin production by the oocyte cumulus complex around the time of fertilization and the effect of prostaglandin E on the development of the early bovine embryo. *Reprod Fertil Dev* 1993;5:281-3.

Lattanzi ML, Santos CB, Mudry MD, Baranao JL. Exposure of bovine oocytes to the endogenous metabolite 2-methoxyestradiol during in vitro maturation inhibits early embryonic development. *Biol Reprod* 2003;69:1793-800.

Li Q, Niwa K, Hunter MG. Effects of 17beta-estradiol on in vitro maturation of pig oocytes in protein-free medium. *J Reprod Dev* 2004;50:305-13.

Mikkelsen AL, Smith S, Lindenberg S. Possible factors affecting the development of oocytes in in vitro maturation. *Hum Reprod* 2000; 15(5):11-17.

Miller KF, Pursel VG. Absorption of compounds in medium by the oil covering microdrop cultures. *Gamete Res* 1987;17:57-61.

Miller KF, Goldberg JM, Collins RL. Covering embryo cultures with mineral oil alters embryo growth by acting as a sink for na embryotoxic substance. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 1994;11(7):342-345.

Moreira F, Paula-Lopes FF, Hansen PJ, Badinga L, Thatcher WW. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenology* 2002;57:895-907

Parrish JJ, Susko-Parrish J, Winer MA, First NL. Capacitation of bovine sperm by heparin. *Biol Reprod* 1988;38:1171-80.

Provo MB, Herr C. Washed paraffin oil becomes toxic to mouse embryos upon exposure to sunlight. *Theriogenology* 1998;49:214

Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Peroxidation of mineral oil used in droplet culture is detrimental to fertilization and embryo development. *Fertil Steril* 2007;88:741-3.

Rosenkrans Jr CF, First NL. Effect of free amino acids and vitamins on cleavage and developmental rate of bovine zygotes in vitro. *J Anim Sci* 1994;72:434-7.

Segers I, Adriaenssens T, Coucke W, Cortvrindt R, Smits J. Timing of nuclear maturation and postovulatory aging in oocytes of in vitro-grown mouse follicles with or without oil overlay. *Biol Reprod* 2008; 78, 859-868.

Shimada M, Kawano N, Terada T. Delay of nuclear maturation and reduction in developmental competence of pig oocytes after mineral oil overlay of in vitro maturation media. *Reproduction* 2002; 124:557-64.

Smits J, Andersen AN, Devroey P, Arce J-C. Endocrine profile in serum and follicular fluid differs after ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH in IVF patients. *Hum Reprod* 2007; 22:676-687.

Van Soom A, Van Langendonck A, Mahmoudzadeh AR, Deluyker H, Dessy F, Kruif A. Effect of oil quality on in vitro embryonic development in the bovine. *Theriogenology* 1994;41:325.

Van Soom A, Mahmoudzadeh AR, Christophe A, Ysebaert MT, de Kruif A. Silicone oil used in microdrop culture can affect bovine embryonic development and freezability. *Reprod Domest Anim* 2001;36:169-76.

Zheng P, Si W, Bavister BD, Yang J, Ding C, Ji W. 17Beta-estradiol and progesterone improve in-vitro cytoplasmic maturation of oocytes from unstimulated prepubertal and adult rhesus monkeys. *Hum Reprod* 2003;18:2137-44.

ABBREVIATIONS

- ART = Assisted Reproductive Technology
BSA = bovine serum albumin
COCs = cumulus-oocyte complexes
CMO = commercial mineral oil
E2 = estradiol-17β
FCS = fetal calf serum
FSH = follicle stimulation hormone
HPI = hours post-insemination
IVF = *in vitro* fertilization
IVM = *in vitro* maturation
LH = luteinizing hormone
P4 = progesterone
WMO = washed mineral oil

Avaliação dos resultados do “assisted hatching” em ciclos de fertilização *in vitro* em mulheres acima de 35 anos

Outcomes of assisted hatching in women older than 35 years undergoing in vitro fertilization

Ana Márcia de Miranda Cota¹, Alexon Melgaço Racilan², Maria Clara Magalhães dos Santos Amaral¹, Rívia Mara Lamaita¹, Ana Luísa Menezes Silva³, João Pedro Junqueira Caetano¹

Membro do corpo clínico
Residente em Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Mater Dei
Bióloga

*Apresentado como Poster no 10° Congresso Geral da Rede latinoamericana de Rep Assistida

Clínica Pró-Criar / Mater Dei

RESUMO

Objetivo: avaliar o impacto do “assisted hatching” sobre os resultados da fertilização *in vitro* em mulheres acima dos 35 anos.

Métodos: foram avaliados retrospectivamente 232 ciclos de fertilização *in vitro* em pacientes acima dos 35 anos. As pacientes foram divididas em 2 grupos: grupo assisted hatching e grupo controle.

Resultados: A média de idade foi semelhante entre os grupos ($38 \pm 2,12$ para o grupo assisted hatching e $37,86 \pm 2,17$ para o grupo controle, $P=0,58$). Quando comparado com o grupo controle, as pacientes que realizaram o assisted hatching

apresentaram significativamente um menor número de oócitos puncionados e de oócitos maduros, além de uma menor taxa de fertilização (74% x 82%, $P=0,016$) e de congelamento (21% x 36%, $P=0,007$). Além disso, as pacientes do grupo assisted hatching já haviam realizado significativamente mais ciclos de FIV prévios, além de terem utilizado uma maior quantidade de ampolas de gonadotrofinas. No entanto, a taxa de implantação (18% x 20%) e taxa de gravidez (37% x 41%) foram significativamente semelhantes.

Conclusões: as pacientes que realizaram o “assisted hatching” apresentavam características referentes ao ciclo da FIV que indicavam um pior prognóstico para a gravidez, mas mesmo assim obtiveram uma taxa de implantação e de gravidez semelhantes às das pacientes do grupo controle.

Palavras-chave: fertilização *in vitro*, gravidez, eclosão assistida

ABSTRACT

Objective: To assess the impact of assisted hatching on the results of in vitro fertilization in women older than 35 years.

Methods: 232 cycles of in vitro fertilization in patients older than 35 years old were retrospectively evaluated. The patients were divided in 2 groups: assisted hatching group and control group.

Results: The mean age was similar in both groups ($38 \pm 2,12$ and $37,86 \pm 2,17$, assisted hatching group and the control group, respectively, $P = 0,58$). When compared to the control group, the patients who had done assisted hatching showed significantly less oocytes retrieved and metaphase II oocytes, and worse fertilization rate (74% x 82%, $P=0,016$) and embryo freezing rate (19% x

35%, $P = 0,007$). Besides this, the patients treated with assisted hatching had already done significantly more previous IVF cycles, and used more ampoules of gonadotropins. There were no statistical differences in implantation (18% x 20%) and pregnancy rates (37% x 41%) between both groups.

Conclusions: the patients who had the “assisted hatching” showed characteristics relating to the cycle of IVF indicating a worse prognosis for pregnancy, but even so, they obtained an implantation and pregnancy rate similar to the control group patients.

Keyword: assisted hatching, in vitro fertilization, pregnancy

INTRODUÇÃO

O “hatching” ou eclosão do blastocisto é uma etapa importante para que ocorra a implantação embrionária. Falha nesse processo, seja devido à qualidade do próprio blastocisto ou da zona pelúcida, pode ser um dos fatores que diminuem a eficácia da reprodução assistida, explicando a baixa taxa de implantação embrionária nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) (Cohen, 1990). O sucesso das técnicas de reprodução assistida depende da estreita e íntima relação e interação entre o(s) embrião(ões) transferido(s) e o endométrio. Especula-se que a falha de implantação dos embriões deve-se ao fato da incapacidade desses saírem da zona pelúcida (ZP), seja devido a alguma alteração da ZP ou a falha no desenvolvimento embrionário. Portanto, o argumento fisiológico para realizar o “assisted hatching” (AH) é que ele poderia aumentar a comunicação entre o embrião e o endométrio, resultando em melhores taxas de implantação e de gravidez ((Balaban et al., 2002; Feng et al., 2009). Assim, o AH foi desenvolvido em 1990 com a finalidade de realizar

um orifício na ZP artificialmente no intuito de melhorar a taxa de implantação e taxa de gravidez em ciclos de FIV (ASRM, 2008; Cohen et al., 1990).

Existem várias técnicas de se realizar o AH: mecânica, química ou a laser (Selva, 2000). Cada método tem suas vantagens e desvantagens. Um estudo comparando as 3 técnicas demonstrou que o AH químico utilizando solução Tyrode e o AH a laser apresenta melhores taxas de gravidez quando comparado com método mecânico (Feng et al., 2009). Normalmente, o AH é realizado no embrião no estágio de clivagem, geralmente no dia 3 após a fertilização.

O AH não é um procedimento isento de riscos. Pode haver risco de lesão do embrião, além de alguns estudos evidenciarem um aumento na taxa de gemelaridade monozigótica (Schieve et al., 2000; Hershlag, 1999).

Assim, a utilização do AH como técnica universal, isto é, empregada em todos os ciclos de FIV ainda não está estabelecida. Existem várias controvérsias na literatura sobre a utilização do AH: se há melhora nas taxas de gravidez e de nascido vivo e quais as pacientes se beneficiariam com a técnica. Existem situações em que o AH estaria indicado: pacientes de prognóstico ruim, tais como, idade materna avançada, ZP espessa, níveis elevados de FSH basal (>15 mIU/mL) e falhas em ciclos de FIV (Zaninovic, 1998; ASRM, 2008).

Desde que foi descrito, o AH vem sendo utilizado no intuito de melhorar as taxas de gravidez e de nascimentos, mas muitas vezes os resultados são discordantes.

O objetivo desse estudo é avaliar o impacto do AH sobre os resultados da FIV em mulheres acima dos 35 anos.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo onde foram avaliadas pacientes acima dos 35 anos submetidas a ciclos de FIV na Clínica Pró Criar/Mater Dei, no período de janeiro/2009 a maio/2010. O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Mater Dei. Para uma maior homogeneização da amostra as pacientes foram pareadas de acordo com a idade e com o número de embriões transferidos.

Foram incluídas as pacientes que tiveram os embriões transferidos no dia 3 após a punção folicular. Não foram incluídas as pacientes que realizaram a transferência de blastocisto.

As indicações do AH foram: ZP espessa, idade materna avançada (> 38 anos), falhas em ciclos de FIV anterior e FSH > 10UI/mL.

As pacientes foram divididas em 2 grupos: pacientes que realizaram o AH (grupo AH) e pacientes que não realizaram (grupo controle).

Todas as pacientes incluídas no estudo passaram por uma hiperestimulação ovariana controlada através dos protocolos:

- Protocolo longo: as pacientes receberam o agonista do GnRH leuprolida depot (Lectrum® Novartis) na dosagem de 3,75mg, intra-muscular, no meio da fase lútea do ciclo anterior ao da estimulação para que ocorresse o bloqueio hipofisário. Após 14 dias de uso do análogo do GnRH, comprovando-se o bloqueio hipofisário através de ultrassonografia endovaginal, iniciou-se a estimulação ovariana.

- Protocolo antagonista: a estimulação ovariana iniciou no segundo dia do ciclo menstrual. O antagonista do GnRH (Orgalutran® Organon) foi iniciado quando observado pelo menos um folículo com diâmetro maior de 14mm, sendo administrado na dosagem de 0,25mg/dia até o dia da administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG) para desencadear a maturação oocitária.

- Protocolo micro-flare: a estimulação ovariana iniciou no segundo dia do ciclo menstrual, juntamente com microdoses (50mcg) do análogo de GnRH (Lectrum® Novartis), aplicadas a cada 12 horas, via subcutânea, até o dia do hCG.

A hiperestimulação ovariana foi realizada com a administração de gonadotrofina menopáusic humana (hMG) (Merional® Meizler ou Menopur® Ferring), sendo a dose ajustada para cada paciente de acordo com a contagem dos seus folículos antrais. Foram realizadas ultrassonografias endovaginais seriadas para avaliação do recrutamento, desenvolvimento e crescimento folicular, além da avaliação endometrial.

Quando pelo menos 3 folículos com diâmetro ≥ 17 mm foram visualizados ao ultra-som foi administrado hCG (Choriomon® Meizler) na dosagem de 10.000UI, subcutâneo, para desencadear a maturação oocitária. A punção folicular guiada por ultrassonografia endovaginal para coleta dos oócitos foi agendada, então, para 34 a 36 horas após. Cerca de 4 a 6 horas após a punção folicular a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) foi realizada, de acordo com a técnica descrita de Palermo et al. (1992).

O suporte de fase lútea foi iniciado no dia seguinte ao da punção folicular com a utilização de progesterona micronizada (Evocanil® Zodiac) na dosagem de 600mg/dia via vaginal.

A técnica do AH foi realizada em todos os embriões selecionados para transferência no terceiro dia pós-fertilização, 1 a 3 horas antes da transferência embrionária. Para a abertura da zona pelúcida, foi utilizado o ácido Tyrode's (Irvine Scientific). Uma micropipeta *zona drilling* (Cook®) foi preenchida com o ácido, o qual foi expelido gentilmente com objetivo de realizar uma pequena abertura na zona pelúcida. Todo o ácido excedente ao redor de cada embrião foi aspirado rapidamente. Os embriões foram lavados três vezes em meio HTF modificado com Hepes (Irvine Scientific) e recolocados em microgotas de meio de cultura (Global® - LifeGlobal), até o momento da transferência.

Os embriões excedentes permaneciam em cultivo até o 5º ou 6º dia. Os embriões que alcançassem o estágio de blastocisto nessa data eram congelados.

Quatorze dias após a punção folicular foi realizado a dosagem sérica do hCG. Quando positivo, foi agendado um ultra-som em 14 dias para diagnóstico de gravidez clínica e definição do número de sacos gestacionais.

RESULTADOS

Foram avaliados 232 ciclos de FIV. A idade média das pacientes foi de $37,90 \pm 2,16$ anos. O tempo médio de infertilidade foi de $3,89 \pm 2,52$ anos, sendo que em 63,36% (n=147) das pacientes a infertilidade era primária. Dentre as causas da infertilidade: 33,08% foram por fator masculino, 27,19% causa mista, 14,47% fator tubário, 8,77% endometriose, 7,89% infertilidade sem causa aparente e em 6,58% a causa foi ovariana. O protocolo longo foi utilizado em 48% dos ciclos, sendo que 33% das pacientes utilizaram o protocolo micro-flare e 19% o antagonista.

O AH foi realizado em 63 pacientes (27,16%). A idade média foi semelhante entre os grupos ($38 \pm 2,12$ grupo AH e $37,86 \pm 2,17$ grupo controle, $P=0,58$). Quando comparado com o grupo controle, as pacientes que realizaram o AH apesar de apresentarem número de folículos antrais estatisticamente semelhante, obtiveram um número significativamente menor de oócitos puncionados e de oócitos maduros (MII), além de uma menor taxa de fertilização e de congelamento. Além disso, as pacientes do grupo AH já haviam realizado significativamente mais ciclos de FIV prévios, além de terem utilizado uma maior quantidade de hMG na hiperestimulação ovariana. O número médio de embriões transferidos foi semelhante entre os grupos ($2,51 \pm 0,67$ grupo AH x $2,57 \pm 0,63$

grupo controle, $P=0,48$). Entretanto, quando comparado o grupo controle com o grupo AH, a taxa de clivagem, de implantação e de gravidez foram significativamente semelhantes (Tabela 1).

Quando avaliadas apenas as pacientes que realizaram o AH, não houve diferença significativa entre as características das pacientes que engravidaram ou não (Tabela 2). Com relação ao protocolo de estimulação utilizado observa-se uma maior porcentagem de pacientes que utilizaram o protocolo micro-flare no grupo AH quando comparado com o grupo controle, apesar de não haver diferença estatisticamente significativa (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Desde que descrito pela primeira vez em 1990 por Cohen, o AH vem sendo utilizado de uma forma em geral, para casais com idade materna avançada, níveis elevados de FSH, falhas repetidas em ciclos de FIV anteriores ou para oócitos com ZP espessada (Zaninovic, 1998; ASRM, 2008; Cohen et al., 1992).

Baseado nos resultados encontrados no presente estudo percebe-se que o AH foi indicado para pacientes com um pior prognóstico quando comparado com as pacientes que não realizaram o procedimento. Tal fato está de acordo com o recomendado por alguns autores (Martins et al., 2010; ASRM, 2008; Cohen et al., 1992; Zaninovic, 1998). Apesar de apresentarem idade e níveis de FSH semelhantes, as pacientes que realizaram o AH necessitaram de uma maior quantidade de gonadotrofinas para a estimulação ovariana. Além disso, as pacientes do grupo AH já haviam sido submetidas a um maior número de ciclos de FIV, ou seja, no grupo AH havia um maior número de pacientes com falhas anteriores em ciclos de FIV. Quando comparados os resultados oocitários, nota-se uma quantidade significativamente menor de oócitos totais e MII, além de uma menor quantidade de oócitos fertilizados, o que demonstra uma menor resposta ovariana à hiperestimulação e um pior prognóstico para a gravidez para as pacientes que realizaram o AH. Além disso, as pacientes do grupo AH tiveram uma taxa de congelamento embrionário significativamente menor que as pacientes do grupo controle reforçando ainda mais que eram pacientes de prognóstico mais reservado.

Quando avaliado o protocolo de estimulação, percebe-se que 43% das pacientes do grupo AH utilizaram o protocolo micro-flare, contrapondo com apenas 29% do grupo controle, no entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa. No nosso serviço esse tipo de hiperestimulação é reservado para as pacientes com uma menor reserva ovariana.

No entanto, apesar desses resultados demonstrarem que as pacientes que realizaram o AH tinham um prognóstico pior que as pacientes do grupo controle, obteve-se uma taxa de implantação e de gravidez semelhante entre os grupos.

A taxa de implantação foi semelhante entre os grupos (18% x 20%, $P=0,65$), não evidenciando diferença com o AH. Na literatura, alguns autores relatam uma melhora na taxa de implantação quando se realiza o AH. Ma et al., em seu estudo demonstraram uma taxa de implantação significativamente maior nas pacientes que realizaram AH quando comparado com o grupo controle (16% x 8%, $P=0,006$), sendo essa diferença mais pronunciada em mulheres acima dos 35 anos. No entanto, a taxa de gravidez clínica foi semelhante entre os grupos, com leve tendência a um aumento com o AH ($P = 0,07$). Além disso, foi observado um aumento de 6% na taxa de nascido vivo com o AH (24% x 18%), sem alcançar, no entanto uma significância estatística (Ma et al., 2006).

Tabela 1. Comparação entre as características gerais e do ciclo de FIV entre o grupo AH e o grupo controle

	AH (n = 96)	Controle (n = 196)	P-valor
Idade (em anos)	38,00±2,12	37,86±2,17	0,58
Tempo de infertilidade (em anos)	3,82±2,70	3,91±2,47	0,59
FSH em UI/mL	9,23±3,43	8,77±3,31	0,34
Número de ciclos prévios	1,11±1,67	0,40±0,75	< 0,001
Folículos antrais	10,39±4,14	11,29±4,48	0,12
Total de ampolas hMG	48,19±11,41	41,45±10,59	< 0,001
Tempo de estimulação (em dias)	11,10±1,21	10,77±1,37	0,15
Número de folículos	8,22±5,90	8,79±5,64	0,25
Número de oócitos	8,63±6,39	10,35±6,63	0,02
Número de MII	6,60±5,08	7,92±5,14	0,04
Taxa de oócitos maduros	80%	79%	0,60
Número de 2PN	4,92±4,43	6,36±4,35	0,002
Número de embriões transferidos	2,51±0,67	2,57±0,63	0,48
Taxa de fertilização	74%	82%	0,016
Taxa de clivagem	96%	94%	0,09
Porcentagem de bons embriões no dia 3	79%	78%	0,46
Taxa de implantação	18%	20%	0,65
Taxa de gravidez	37%	41%	0,64
Taxa de congelamento	21%	36%	0,03
Taxa de abortamento	18%	18%	0,76
Taxa de gestação múltipla	13%	21%	0,42

Valores expressos em média±DP ou em porcentagem

No presente estudo, a taxa de gravidez clínica foi de 37% para o grupo AH e 41% para grupo controle, não havendo diferença significativa entre eles. Tal achado está de acordo com o encontrado por alguns autores. Recente meta-análise não demonstrou diferença significativa entre taxa de gravidez clínica (44,41% x 41,30% OR 1,12; 95% IC 0,94–1,34, $P=0,19$) e taxa de nascido vivo (36,33% x 34,79%, OR 1,05; 95% IC 0,85–1,30, $P=0,63$) para as pacientes que realizaram o AH (Martins et al., 2010). Um estudo utilizando AH em pacientes com idade inferior a 38 anos, encontrou resultados semelhantes em relação à taxa de gravidez (47% x 50%, $P=0,86$) e taxa de nascido vivo (46% x 45%, $P=1,00$) entre o grupo AH e o grupo controle, ou seja, o AH não melhorou significativamente os resultados de FIV em pacientes jovens (Hagemann et al., 2010). No entanto, em 2009, Das Sangeeta et al. em sua meta-análise envolvendo 28 estudos randomizados com 3646 mulheres demonstrou um aumento significativo nas taxas de gravidez com o AH (OR 1,29, 95% IC 1,12-1,49), sem, no entanto, haver melhora na taxa de nascido vivo (OR 1,13, 95% IC 0,83-1,55) (Das Sangeeta et al., 2009). Resultados semelhantes foram descritos por Edi-Osagie e colaboradores em sua revisão sistemática (OR 1,21 para taxa de nascido vivo, 95% IC 0,82-1,78 e um OR 1,63 para taxa de gravidez, IC 1,27-2,09) (Edi-Osagie et al., 2003).

Com relação à taxa de gestação múltipla, foram encontrados resultados semelhantes entre os grupos, o que é comparável ao demonstrado por alguns estudos. Hagemann e colaboradores encontraram uma maior incidência de gestação múltipla com o AH (33% grupo AH x 18% grupo controle, $P=0,23$), sem no entanto, haver diferença significativa (Hagemann et al., 2010). Já outros auto-

Tabela 2. Comparação entre as características das pacientes que realizaram o assisted hatching que engravidaram versus as pacientes que não engravidaram

	Gravidez	Não gravidez	P – valor
Idade (em anos) (média ± DP)	38 ± 2,09	38 ± 2,16	0,97
Tempo (em anos) (média ± DP)	3,63 ± 2,63	3,93 ± 2,78	0,74
FSH em UI/mL (média ± DP)	8,27 ± 3,09	9,79 ± 3,53	0,14
Número de ciclos prévios (média ± DP)	0,70 ± 1,15	1,35 ± 1,87	0,15
Folículos antrais (média ± DP)	10,73 ± 5,24	10,21 ± 3,43	0,94
Número ampolas hMG (média ± DP)	48,91 ± 10,84	47,78 ± 11,85	0,47
Tempo de estimulação (em dias) (média ± DP)	10,91 ± 1,34	10,67 ± 1,39	0,17
Número de folículos (média ± DP)	7,09 ± 4,50	8,88 ± 6,53	0,29
Número de oócitos (média ± DP)	7,52 ± 4,68	9,28 ± 7,17	0,54
Número de MII (média ± DP)	5,41 ± 2,84	7,25 ± 5,90	0,63
Número de 2PN	5,41 ± 2,84	7,25 ± 5,90	0,85
Taxa de oócitos maduros	81%	79%	0,51
Taxa de fertilização	74%	75%	0,46
Taxa de clivagem	96%	97%	0,42
Porcentagem de bons embriões no dia 3	75%	82%	0,32
Número de embriões transferidos (média ± DP)	2,52 ± 0,59	2,50 ± 0,72	0,87

Tabela 3. Tipo de protocolo de estimulação ovariana

Hatching	Protocolo			χ ²	P-valor
	antagonista	Longo	micro-flare		
Não	36 (21%)	84 (50%)	49 (29%)	4,74	0,09
Sim	8 (13%)	28 (44%)	27 (43%)		

res relatam uma maior incidência de gestação múltipla, principalmente gestação monozigótica com a realização do AH (Schieve et al., 2000).

Por se tratar de um estudo retrospectivo, não podemos estabelecer uma associação de causa-efeito entre o AH e melhora na taxa de implantação e de gravidez. No entanto, podemos concluir que as pacientes que realizaram o AH eram pacientes de pior prognóstico para a gravidez e mesmo assim obtiveram uma taxa de implantação e de gravidez semelhantes às das pacientes do grupo controle.

Endereço para Correspondência:

Rua Alvarenga Peixoto, 1329 Santo Agostinho BH - MG
Tel: (31) 3292 - 5299
e-mail: anamarcia.cota@procriar.com.br

Referências Bibliográficas

Balaban B, Urman B, Alatas C, Mercan R, Mumcu A, Isiklar A. A comparison of four different techniques of assisted hatching. *Hum Reprod.* 2002;17:1239–43.

Cohen J, Alikani M, Trowbridge J et al. Implantation enhancement by selected assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis. *Hum Reprod.* 1992;7:685–69.

Cohen J, Elsner C, Kort H, Malter H, Massey J, Mayer MP, et al. Impairment of the hatching process following in vitro fertilization in the human and improvement of implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Hum Reprod.* 1990;5:7–13.

Das Sangeeta, Blake Debbie, Farquhar Cindy, Seif Mourad MW. Assisted hatching on assisted conception (IVF and ICSI). *Cochrane Database of Systematic Reviews.* In: *The Cochrane*

Library. Issue 4, Art. No. CD001894. DOI: 10.1002/14651858.CD001894.pub4.

Edi-Osagie E, Hooper L, Seif MW. The impact of assisted hatching on live birth rates and outcomes of assisted conception: a systematic review. *Hum Reprod.* 2003;18:1828-1835.

Feng HL, Hershlag A, Scholl GM, Cohen MA. A retrospective study comparing three different assisted hatching techniques. *Fertil Steril.* 2009;91:1323-1325.

Hagemann AR, Lanzendorf SE, Jungheim ES, Chang AS, Ratts VS, Odem RR. A prospective, randomized, double-blinded study of assisted hatching in women younger than 38 years undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2010;93:586-591.

Hershlag A, Paine T, Cooper GW, Scholl GM, Rawlinson K, Kvapil G. Monozygotic twinning associated with mechanical assisted hatching. *Fertil Steril.* 1999;71:144–6.

Ma S, Rowe T, Ho Yuen B. Impact of assisted hatching on the outcome of intracytoplasmic sperm injection: a prospective, randomized clinical trial and pregnancy follow-up. *Fertil Steril.* 2006;85:895-900.

Martins WP, Rocha IA, Nastri CO, Ferriani RA. Assisted hatching em reprodução assistida: uma meta-análise de ensaios clínicos controlados. *Femina.* 2010;38:493-500.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992;340:17–8.

Schieve LA, Meikle SF, Peterson HB, Jeng G, Burnett NM, Wilcox LS. Does assisted hatching pose a risk for monozygotic twinning in pregnancies conceived through in vitro fertilization? *Fertil Steril.* 2000;74:288–94.

Selva J. Assisted hatching. *Hum Reprod.* 2000;15:65-67.

The Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The role of assisted hatching in in vitro fertilization: A review of the literature. A Committee opinion. *Fertil Steril.* 2008;90:S196-S198.

Zaninovic N. Assisted hatching and fragment removal. In: Veck LL, ed. *Human gametes and conceptuses.* Lancaster: Parthenon Pub Group Inc., 1998:86–96.

The prognostic value of the testicular histopathological pattern for sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection outcomes in non-obstructive azoospermic patients

O valor prognóstico do padrão histopatológico testicular na recuperação de espermatozoides e nos resultados da injeção intracitoplasmática de espermatozoides em pacientes com azoospermia não-obstrutiva

Edson Borges Jr.^{a,b}, Daniela Paes de Almeida Braga^{a,b}, Rita de Cássia Savio Figueira^a, Amanda Souza Setti^b, Assumpto Iaconelli Jr.^{a,b}, Fabio Firmbach Pasqualotto^c

^a **Fertility** – Assisted Fertilization Center

Av. Brigadeiro Luis Antônio, 4545 – São Paulo – SP, Brazil.

^b **Sapientiae Institute** – Educational and Research Center in Assisted Reproduction

Rua Vieira Maciel, 62 – São Paulo – SP, Brazil.

^c **Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul**

Rio Grande do Sul, Brazil

RESUMO

Objetivo: Avaliar o valor prognóstico da histologia testicular no sucesso da recuperação de espermatozoides e nos resultados da injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

Métodos: Sessenta casais que se submeteram a aspiração de espermatozoides testiculares (TESA) para ICSI foram divididos em três grupos de acordo com o diagnóstico histopatológico testicular: (i) hipoespermatogênese (HS, N = 24), (ii) parada de maturação (MA, N = 17), e (iii) *Sertoli-cell-only syndrome* (SCOS, N = 19). O sucesso da recuperação de espermatozoides e os resultados de ICSI foram comparados entre os grupos. As relações entre o diagnóstico histológico e (i) o valor FSH sérico e (ii) volume testicular também foram investigadas.

Resultados: A taxa de recuperação de espermatozoides (HS: 91,6%, MA: 35,2% e SCOS: 26,3%, $p < 0,001$) e taxa de fertilização (HS: 69,9%, MA: 49,3%, e SCOS: 43,3%, $p = 0,048$) foram significativamente maiores no grupo HS. A tendência para um maior percentual de alta qualidade embriões foi observado no grupo HS (HS: 55,0%, MA: 31,0% e SCOS: 30,9%, $p = 0,076$). Nenhuma diferença no volume testicular foi observada. No entanto, o valor de FSH foi significativamente maior em pacientes SCOS (HS: $10,2 \pm 5,4$ mIU / mL, MA: $9,9 \pm 6,8$ mIU / mL, e SCOS: $26,1 \pm 15,3$ mIU / mL, $p < 0,01$).

Conclusões: Os achados histológicos presentes em amostras de biópsia testicular de pacientes com azoospermia não-obstrutiva foram capazes de prever o sucesso de recuperação de espermatozoides e os resultados ICSI. Um nível elevado de FSH sérico está significativamente correlacionado com a presença de SCOS em casos de azoospermia.

Palavras-chave: Hipoespermatogênese, parada de maturação, síndrome *Sertoli-cell-only*, azoospermia não-obstrutiva, Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the prognostic value of testicular histology on sperm retrieval success and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes.

Methods: Sixty couples undergoing testicular sperm aspiration (TESA) for ICSI were divided into three groups according to their testicular histopathological diagnosis: (i) Hypospermatogenesis (HS, N=24), (ii) Maturation arrest (MA, N=17), and (iii) Sertoli-cell-only syndrome (SCOS, N=19). Sperm retrieval success and ICSI outcomes were compared. The relationship between histological diagnosis and (i) serum FSH value and (ii) testicular volume was also investigated.

Results: Sperm retrieval rate (HS: 91.6%, MA: 35.2% and SCOS: 26.3%, $p < 0.001$) and fertilization rate (HS: 69.9%, MA: 49.3%, and SCOS: 43.3%, $p = 0.048$) were significantly higher in HS group. A trend towards a higher percentage of high-quality embryos was noted in HS group (HS: 55.0%, MA: 31.0% and SCOS: 30.9%, $p = 0.076$). No differences in testicular volume were observed. Nevertheless, FSH value was significantly higher in SCOS patients (HS: 10.2 ± 5.4 mIU/mL, MA: 9.9 ± 6.8 mIU/mL, and SCOS: 26.1 ± 15.3 mIU/mL, $p < 0.01$).

Conclusions: Histological findings present in testicular biopsy specimens of NOA patients were able to predict sperm retrieval success and ICSI outcomes. An elevated serum FSH level is significantly correlated with SCOS presence in azoospermic patients.

Key words: Hypospermatogenesis, Maturation arrest, Sertoli-cell-only syndrome, non-obstructive azoospermia, Intracytoplasmic Sperm Injection

INTRODUCTION

Azoospermia, the absence of sperm in the ejaculate, is present in about 15% of infertile men and is classified as either obstructive azoospermia (OA), in which patients have normal spermatogenesis, or non-obstructive (NOA), which is characterized by impaired spermatogenesis (Tournaye et al., 1997). Since its introduction in 1992 (Palermo et al., 1992), the Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) has become the treatment of choice for severe male factor infertility and, in addition to ejaculated sperm, testicular and epididymal sperm can all be used for injection, resulting in high fertilization and good pregnancy rates (Pasqualotto et al., 2002).

Testicular sperm extraction (TESE), testicular sperm aspiration (TESA), and epididymal sperm aspiration (PESA) combined with ICSI offers azoospermic patients the possibility of having their own genetic children (Craft and Shrivastav, 1994). In patients with OA, mature sperm cells can be retrieved in most cases, while in NOA patients, sperm is retrieved in approximately 50% of cases (Tournaye *et al.*, 1997).

In fact, some men with NOA have focal areas of spermatogenesis within the testis, despite the fact that the overall spermatogenic function of the testis is severely impaired (Tash and Schlegel, 2001). In these cases, the ability to find sperm in the testis vary according to the histopathological pattern of the testis (De Croo *et al.*, 2000), which has been classified as follows: (i) hypospermatogenesis (HS), (ii) maturation arrest (MA), (iii) Sertoli-cell-only syndrome (SCOS), and (iv) tubular hyalinization (McLachlan *et al.*, 2007).

Even when testicular sperm are found, ICSI outcomes are reportedly affected by the site of sperm origin. It has been observed that ejaculated and epididymal spermatozoa provide better quality embryos than testicular sperm (Rossi-Ferragut *et al.*, 2003). Furthermore, it has been described that testicular sperm injection results in lower fertilization and pregnancy rates compared to epididymal sperm injection (Pasqualotto *et al.*, 2002; Nicopoulos *et al.*, 2004).

Although it has been suggested that the probability of finding viable sperm in the testis depends on the diagnostic of the testicular biopsy (Seo and Ko, 2001; Tsujimura *et al.*, 2002), whether or not the testicular histopathological pattern influences the ICSI outcomes has not been fully elucidated. Therefore, our goal in this study was to evaluate the prognostic significance of testicular histology on sperm retrieval success and ICSI outcomes in NOA patients. In addition, we examined the relationship between the testicular histopathological diagnosis and the serum FSH value and the testicular volume.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

The present study included 60 couples undergoing TESA for ICSI. The patients were divided into following three groups according to the testicular biopsy diagnosis: (i) HS (N=24), (ii) MA (N=17), and (iii) SCOS (N=19). The sperm retrieval success, fertilization rate, percentage of high-quality embryos, implantation rate, and pregnancy rate were compared among the groups. In addition, the relationships between the histopathological diagnosis and (i) the serum FSH value and (ii) the testicular volume were investigated. In all cases testis volume was manually determined by the same operator. Positive sperm retrieval was defined as the presence of spermatozoa in the biopsy specimen. The implantation rate was defined as the total number of gestational sacs divided by the total number of embryos transferred. Clinical pregnancy was defined as the presence of a gestational sac on ultrasound 4 to 6 weeks after embryo transfer. The study was approved by the local institutional review board and written informed consent was obtained from all patients, in which they agreed to share the outcomes of their ICSI cycles for research purposes.

Controlled ovarian stimulation

Controlled ovarian stimulation was achieved by long pituitary down-regulation using a GnRH agonist (Lupron Kit™, Abbott S.A Société Française des Laboratoires, Paris, France) followed by ovarian stimulation with recombinant-FSH (Gonal-F®, Merck-Serono, Geneva, Switzer-

land). The follicular dynamic was followed with ultrasound and when adequate follicular growth and serum estradiol levels were observed, recombinant human chorionic gonadotrophin (rhCG, Ovidrel™, Merck-Serono, Geneva, Switzerland) was administered to trigger the final follicular maturation. Oocytes were collected 34-36 hours after hCG administration using transvaginal ultrasound ovum pick-up.

Preparation of oocytes

After retrieval, oocytes were placed in human tubal cultured medium (HTF, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) supplemented with 10% Human Serum Albumin (HSA, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) covered with mineral oil (Ovoil™, Vitrolife, Kungsbacka, Sweden) and incubated at 37°C in 6% CO₂ for 5 hours. Cumulus cells were removed with 30s exposure to a HEPES-buffered HTF medium (Irvine Scientific, Santa Ana, USA) containing 80IU/mL hyaluronidase (Irvine Scientific, Santa Ana, USA). Coronal cells were then manually removed using a finely drawn glass Pasteur pipette (Humagen Fertility Diagnostics, Charlottesville, Virginia, USA). Denuded oocytes were then assessed for nuclear status. Oocytes that were observed to have released the first polar body were considered mature and used for ICSI.

Sperm samples - Testicular Sperm Aspiration

After administration of cord block anesthesia, TESA was performed by longitudinally inserting a 21-gauge butterfly needle into the superior testicular pole while avoiding the epididymis. Forward and backward movements were made, and the needle direction was slightly changed to sample eight different spots in the testis, thereby increasing the chance of contacting a spermatogenesis focus in a multifocal procedure. In addition, the negative pressure applied during needle aspiration (which was obtained by connecting a 10mL syringe to the end of the butterfly catheter) allowed for the extraction of parts of the seminiferous tubules for use in further dissection to search for germ cells. Morphologically normal and motile sperm were immobilized, aspirated into the microinjection needle and injected into the MII oocytes (Palermo *et al.*, 1992). In all patients, a small piece of testicular tissue was placed in Bouin's solution and sent for pathological evaluation. Histological findings were classified based on the most advanced pattern observed on biopsy specimens, as previously published classifications (McLachlan *et al.*, 2007; Levin, 1979).

Assessment of fertilization, embryo quality, and embryo transfer

Fertilization was assessed 18 hours after ICSI, and normal fertilization was declared when two distinct pronuclei were present. Embryo transfer was performed on the third day of development. One to three embryos from each couple were transferred. Embryo selection for transfer was performed based on embryo morphological parameters. High-quality embryos were defined as those possessing all of the following characteristics: 8 to 10 cells, less than 15% fragmentation, symmetric blastomeres, an absence of multinucleation, colorless cytoplasm with moderate granulation and no inclusions, an absence of perivitelline space granularity, and an absence of zona pellucida dysmorphism.

Statistical analysis

Results were expressed as mean ± standard deviation for numeric variables, while proportions (%) were used for categorical variables. Proportions were compared by the Chi-squared or Fisher exact test, only when expected

Table 1: The general characteristics of included couples and the ICSI cycles, stratified according to the testicular histopathological diagnosis.

VARIABLES	GROUPS			<i>p</i>
	HS	MA	SCOS	
N	24	17	19	
Paternal age	36.0 ± 6.6	37.3 ± 2.9	37.0 ± 2.0	0.809
Maternal age	32.0 ± 4.4	33.3 ± 6.7	34.1 ± 3.5	0.650
Retrieved oocytes	12.2 ± 9.2	13.0 ± 6.6	11.3 ± 5.2	0.186
Transferred embryos	2.1 ± 1.3	1.6 ± 1.0	1.7 ± 1.1	0.540

Values expressed as mean ± standard deviation.

HS – Hypospermatogenesis, MA - Maturation Arrest and SCOS - Sertoli-cell-only syndrome.

frequency was five or less. ANOVA was employed for the analysis of continuous variables, and residual normality was tested for all variables. Transformations were performed whenever necessary. Results were described as untransformed means and standard deviations. Results were considered to be significant at the 5% critical level ($p < 0.05$). Data analysis was carried out using Minitab (version 14) Statistical Software.

RESULTS

Hypospermatogenesis was the most common histopathological diagnosis identified (HS: 40.0%, MA: 28.3% and SCOS: 31.7%). No cases of testicular hyalinization were found. The couples' general characteristics and the ICSI cycle characteristics were equally distributed among the groups (Table 1).

The sperm retrieval rate was significantly higher in the HS group than in the other groups, however it did not differ between the MA and SCOS groups (HS: 91.6%, MA: 35.2% and SCOS: 26.3%, $p < 0.001$). The fertilization rate was also significantly higher when HS was diagnosed as compared to when MA or SCOS was diagnosed (HS: 69.9%, MA: 49.3%, and SCOS: 43.3%, $p = 0.048$). Moreover, a trend toward a higher percentage of high-quality embryos was noted in the HS group as compared to the other groups (HS: 55.0%, MA: 31.0% and SCOS: 30.9%, $p = 0.076$) (Fig.1).

However, the pregnancy (HS: 27.8%, MA: 25.0% and SCOS: 16.7%, $p = 0.854$) and implantation rates (HS: 14.0%, MA: 12.2% and SCOS: 4.2%, $p = 0.684$) did not differ among the three groups (Fig.2).

No differences in the testicular volume (HS: $10.9 \pm 11.1 \text{ cm}^3$, MA: $14.2 \pm 6.0 \text{ cm}^3$, and SCOS: $11.8 \pm 7.9 \text{ cm}^3$, $p = 0.657$) was observed when the three testicular histopathological patterns were compared. However, the FSH value was found to be significantly higher among SCOS patients than among patients with other histopathological diagnoses (HS: $10.2 \pm 5.4 \text{ mIU/mL}$, MA: $9.9 \pm 6.8 \text{ mIU/mL}$, and SCOS: $26.1 \pm 15.3 \text{ mIU/mL}$, $p < 0.01$).

DISCUSSION

The advent of ICSI using testicular spermatozoa has significantly improved the treatment options available to NOA patients. However, failure of surgical sperm aspiration may occur in up to 50% of attempts (Schlegel et al., 1997; Rosenlund et al., 1998), and even when sperm is recovered from the testis, the results of the fertilization, embryo development, and pregnancy may be rather disappointing (Nicopoullos et al., 2004; Rossi-Ferragut et al., 2003; Pasqualotto et al., 2002). The present study examined the influence of the testicular histopathological pattern of NOA patients not only in terms of sperm retrieval

success, but also in terms of fertilization ability and embryo development.

Since endocrine and genetic tests cannot reliably distinguish OA from NOA, it has been reported that the testicular biopsy has diagnostic importance for assisted reproductive technologies for patients with male factor infertility. The prognostic importance of testicular histology in NOA patients, however, remains under debate. While some reports have found an important correlation between the histopathological pattern of the testis and successful sperm isolation (Seo and Ko, 2001; Tsujimura et al., 2002; Silber, 2000), others have concluded that histology is of limited prognostic significance (Schoor et al., 2002).

In our study, a significant correlation was observed between the testicular histology and successful sperm retrieval. Despite testicular histology limitation to reflect the overall testicular biology an accurate assessment is important for planning infertility treatments because the presence of even small areas of complete spermatogenesis makes successful sperm retrieval very likely. Moreover, we noted that the fertilization rate and percentage of high-quality embryos were significantly higher in HS patients than among patients in the other groups and that the outcomes of the SCOS patients were the worst among the three groups.

Spermatogenesis is an elaborate process of cell differentiation. The first step in spermatogenesis is spermatogonial proliferation, which leads to the maintenance of the stem cells that can enter the spermatogenic process resulting in the production of spermatozoa (de Kreter et al., 1998; de Rooij, 2001). Throughout adult life, spermatogonial stem cells furnish cells for maturation in a cyclical pattern, while at the same time renewing them to maintain a constant reservoir to allow continuous production of spermatozoa. The second step in spermatogenesis is the differentiation of spermatogonia to spermatozoa through meiosis and spermiogenesis (Chemes, 2001; Griswold, 1998).

The etiology of HS has not been fully elucidated. The histological findings of the testicular biopsy specimens of patients with HS demonstrate various patterns. It has been suspected that some patients have a decrease in the spermatogonial population, as result of a cell proliferative disorder during the first step of spermatogenesis (Takagi et al., 2001). Our results suggest that finding normal spermatogenic foci in patients with HS is common, and that the fertilization and embryo development ability of the retrieved sperm may be comparable to those retrieved from OA patients.

Sertoli-cell-only syndrome is diagnosed when testicular biopsy reveals that seminiferous tubules are lined only by

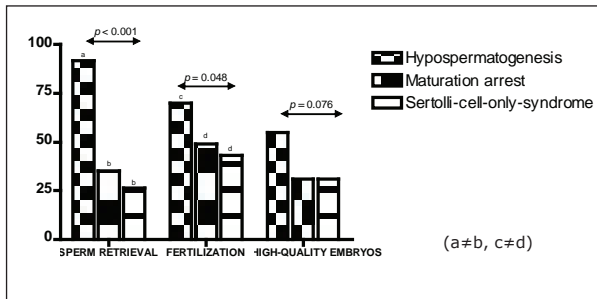


Figure 1: Sperm recuperation rate, fertilization rate and percentage of high quality embryos according to the testicular histology.

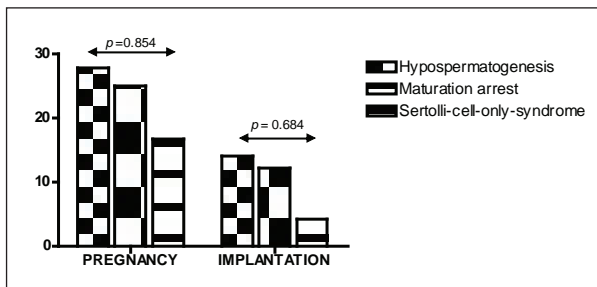


Figure 2: Clinical outcomes according to the testicular histology.

Sertoli cells, with a complete absence of germ cells but with a normal interstitium (Rothman et al., 1982). In this case, sperm retrieval is likely to be successful in about a quarter of patients (Okada et al., 2002; Tsujimura et al., 2002), reflecting focal spermatogenesis that is not apparent on biopsy. Different etiologies of SCOS have been described: idiopathic infertility, Y chromosome microdeletions, previous orchitis, chemo- or radiotherapy, or an embryological failure of germ cell migration to the gonadal ridge (McLachlan et al., 2007). Sertoli cells secrete soluble factors and play important roles in spermatogenesis. Impairment of Sertoli cells is a possible cause of several types of spermatogenic impairment, including SCOS (Fujita et al., 2005). The lower fertilization rate that we observed among SCOS patients prompts us to speculate that although some spermatogenic foci may be identified and that sperm may be retrieved from SCOS patients, the fertilization ability of a single injected sperm may be impaired.

In fact, it is well-recognized that the quality of sperm plays a key role during fertilization (Swann et al., 2006). It has also been shown that pre-implantation embryonic development can be compromised by deficiencies in both the nuclear genome of the sperm or by sperm-derived cytoplasmic factors (Tesarik, 2005). In fact, we observed that when sperm retrieved from testes with different histological patterns are injected into oocytes, embryonic development may also be affected.

The present study also examined the relationship between testicular histopathological pattern and the serum FSH value and testicular volume. It has been well-established that the reproductive hormone profile (especially the serum concentrations of inhibin B and FSH) of adult men reflects the functional state of their seminiferous epithelium in testes (Jensen et al., 1997). In addition, Seo and Ko (2001) sought to investigate the factors that were predictive sperm of recovery in NOA patients and found that spermatozoa recovery had no correlation with serum FSH level. Our data showed that there was a significant increase in the FSH level when SCOS was observed. The correlation between serum FSH levels and SCOS has

been previously demonstrated and it has been suggested that elevated serum FSH levels make testicular biopsies superfluous for diagnostic purposes in these patients (Bergmann et al., 1994).

In conclusion, our data demonstrated that testicular histopathology is able to predict the sperm retrieval rate, fertilization ability, and embryo developmental competence of the injected spermatozoa of NOA patients used in ICSI. Moreover, the serum FSH level is significantly correlated with the presence of SCOS in azoospermic patients.

Correspondence:

Edson Borges, Jr., M.D., Ph.D.
Clinical director
Fertility – Assisted Fertilization Center
Av. Brigadeiro Luis Antônio, 4545. São Paulo, SP - Brazil.
Zip: 01401-002
Fone/fax: 55-11-38859858
e-mail: edson@fertility.com.br

References

- Agarwal A, Said, TM, Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update*. 2003;9: 331-345.
- Bergmann M, Behre, HM, Nieschlag, E, Serum FSH and testicular morphology in male infertility. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;40: 133-136.
- Chemes HE, Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int J Androl*. 2001;24:2-7.
- Craft I, Shrivastav, P, Treatment of male infertility. *Lancet*. 1994;344: 191-192.
- De Croo I, Van der Elst, J, Everaert, K, De Sutter, P, Dhont, M, Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI in cases of obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*. 2000;15: 1383-1388.
- de Kretser DM, Loveland, KL, Meinhardt, A, Simorangkir, D, Wreford, N, Spermatogenesis. *Hum Reprod*. 1998;13 Suppl 1:1-8.
- de Rooij DG, Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells. *Reproduction*. 2001;121: 347-354.
- Fujita K, Tsujimura, A, Takao, T, Miyagawa, Y, Matsumiya, K, Koga, M, Takeyama, M, Fujioka, H, Aozasa, K, Okuyama, A, Expression of inhibin alpha, glial cell line-derived neurotrophic factor and stem cell factor in Sertoli cell-only syndrome: relation to successful sperm retrieval by microdissection testicular sperm extraction. *Hum Reprod*. 2005;20: 2289-2294.
- Griswold MD, The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 1998;9: 411-416.
- Jensen TK, Andersson, AM, Hjollund, NH, Scheike, T, Kolstad, H, Giwercman, A, Henriksen, TB, Ernst, E, Bonde, JP, Olsen, J, McNeilly, A, Groome, NP, Skakkebaek, NE, Inhibin B as a serum marker of spermatogenesis: correlation to differences in sperm concentration and follicle-stimulating hormone levels. A study of 349 Danish men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82: 4059-4063.
- Levin HS, Testicular biopsy in the study of male infertility: its current usefulness, histologic techniques, and prospects for the future. *Hum Pathol*. 1979;10: 569-584.
- McLachlan RI, Rajpert-De Meyts, E, Høeie-Hansen, CE, de Kretser, DM, Skakkebaek, NE, Histological evaluation of the human testis--approaches to optimizing the clinical value of the assessment: mini review. *Hum Reprod*. 2007;22:2-16.
- Nicopoulos JD, Gilling-Smith, C, Almeida, PA, Norman-Taylor, J, Grace, I, Ramsay, JW, Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2004;82: 691-701.
- Okada H, Dobashi, M, Yamazaki, T, Hara, I, Fujisawa, M, Arakawa, S, Kamidono, S, Conventional versus microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia. *J Urol*. 2002;168: 1063-1067.
- Palermo G, Joris, H, Devroey, P, Van Steirteghem, AC, Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340: 17-18.
- Pasqualotto FF, Rossi-Ferragut, LM, Rocha, CC, Iaconelli, A, Jr., Borges, E, Jr., Outcome of in vitro fertilization and intracyto-

- plasmic injection of epididymal and testicular sperm obtained from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia. *J Urol.* 2002;167:1753-1756.
- Rosenlund B, Kvist, U, Ploen, L, Rozell, BL, Sjoblom, P, Hillensjo, T, A comparison between open and percutaneous needle biopsies in men with azoospermia. *Hum Reprod.* 1998;13:1266-1271.
- Rossi-Ferragut LM, Iaconelli, A, Jr., Aoki, T, Rocha, CC, dos Santos, DR, Pasqualotto, FF, Borges, E, Jr., Pronuclear and morphological features as a cumulative score to select embryos in ICSI (intracytoplasmic sperm injection) cycles according to sperm origin. *J Assist Reprod Genet.* 2003;20:1-7.
- Rothman CM, Sims, CA, Stotts, CL, Sertoli cell only syndrome 1982. *Fertil Steril.* 1982;38:388-390.
- Schlegel PN, Palermo, GD, Goldstein, M, Menendez, S, Zaninovic, N, Veeck, LL, Rosenwaks, Z, Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology.* 1997;49:435-440.
- Schoor RA, Elhanbly, S, Niederberger, CS, Ross, LS, The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility. *J Urol.* 2002;167:197-200.
- Seo JT, Ko, WJ, Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients. *Int J Androl.* 2001;24:306-310.
- Silber SJ, Microsurgical TESE and the distribution of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 2000;15:2278-2284.
- Swann K, Saunders, CM, Rogers, NT, Lai, FA, PLCzeta(zeta): a sperm protein that triggers Ca²⁺ oscillations and egg activation in mammals. *Semin Cell Dev Biol.* 2006;17:264-273.
- Takagi S, Itoh, N, Kimura, M, Sasao, T, Tsukamoto, T, Spermatogonial proliferation and apoptosis in hypospermatogenesis associated with nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril.* 2001;76:901-907.
- Tash JA, Schlegel, PN, Histologic effects of testicular sperm extraction on the testicle in men with nonobstructive azoospermia. *Urology.* 2001;57:334-337.
- Tesarik J, Paternal effects on cell division in the human preimplantation embryo. *Reprod Biomed Online.* 2005;10:370-375.
- Tournaye H, Camus, M, Vandervorst, M, Nagy, Z, Joris, H, Van Steirteghem, A, Devroey, P, Surgical sperm retrieval for intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl.* 1997;20 Suppl 3:69-73.
- Tsujimura A, Matsumiya, K, Miyagawa, Y, Tohda, A, Miura, H, Nishimura, K, Koga, M, Takeyama, M, Fujioka, H, Okuyama, A, Conventional multiple or microdissection testicular sperm extraction: a comparative study. *Hum Reprod.* 2002;17:2924-2929.

Adjuvant therapy with GnRH agonists/tamoxifen in breast cancer could be a good council for patients with hormone receptor-positive tumors and wish to preserve fertility

A terapêutica adjuvante com agonista do GnRH/tamoxifeno no câncer de mama pode ser um bom conselho para os pacientes com tumores receptor-hormonal positivos e desejo de preservar a fertilidade

José G Franco Jr^{1,2,3*}, Joao Batista A Oliveira^{1,2,3}, Claudia G Petersen^{1,2,3}, Ana L Mauri^{2,3}, Ricardo LR Baruffi^{2,3}, Mario Cavagna³

¹Center for Human Reproduction Prof. Franco Jr, Ribeirao Preto, Brazil

²Paulista Center for Diagnosis, Research and Training, Ribeirao Preto, Brazil

³Department of Gynecology and Obstetrics, Botucatu Medical School, São Paulo State University - UNESP, Botucatu, Brazil

ABSTRACT

Infertility represents one of the main long-term consequences of combination chemotherapy used for the treatment of breast cancer. Approximately 60%-65% of breast cancers express the nuclear hormone receptor in premenopausal women. Adjuvant endocrine therapy is an integral component of care for patients with hormone receptor-positive (HR+) tumours. The GnRH agonist (GnRHa) alone or in combination with tamoxifen produces results at least similar to those obtained with the different chemotherapy protocols in patients with HR+ tumors with respect to recurrence-free survival and overall survival.

Presentation of the hypothesis: It is time to indicate adjuvant therapy with GnRHa associated with tamoxifen for patients with breast cancer (HR+ tumours) if they want to preserve their reproductive function.

Testing the hypothesis: Assessment of ovarian reserve tests: follicle stimulating hormone (FSH), anti-Mullerian hormone (AMH), inhibin B, antral follicle count (AFC) and ovarian volume 6 months, and 1 year after the end of therapy with GnRHa/tamoxifen. The recurrence-free survival and overall survival should be analysed.

Implications of the hypothesis: The major implication will be to avoid adjuvant chemotherapy for patients with breast cancer (HR+ tumours) that request fertility preservation. It is expected that ovarian function should not be altered in almost all cases.

Key Words: breast cancer, fertility preservation, adjuvant therapy, GnRHa, tamoxifen, chemotherapy, hormone receptor-positive

RESUMO

Infertilidade representa uma das principais consequências a longo prazo de quimioterapia utilizada para o tratamento do câncer de mama. Aproximadamente 60%-65% dos cânceres de mama que surgem antes da menopausa expressam receptor nuclear de hormônio. A terapêutica endócrina adjuvante é um componente integral do cuidado para pacientes com tumores receptor-hormonal positivos (RH +). O agonista de GnRH (GnRHa) isolado ou em associação com tamoxifeno produz resultados pelo menos semelhantes aos obtidos com os diferentes protocolos de

quimioterapia em pacientes com tumores RH + em relação à sobrevida livre de recidiva e sobrevida global.

Apresentação da hipótese: É hora de indicar a terapia adjuvante com GnRHa, associados com tamoxifeno para pacientes com câncer de mama (tumores RH +), se quisermos preservar sua função reprodutiva.

Teste da hipótese: Avaliação de testes de reserva ovariana: hormônio folículo estimulante, hormônio anti-mülleriano, inibina B, contagem de folículos antrais e volume ovariano seis meses e um ano após o término do tratamento com GnRHa / tamoxifeno. A sobrevida livre de recidiva e sobrevida global deve ser analisado.

Implicações da hipótese: A implicação importante será evitar a quimioterapia adjuvante para pacientes com câncer de mama (tumores HR +) que desejam a preservação da fertilidade. Espera-se que a função ovariana não deva estar alterada em quase todos os casos.

Palavras-chave: câncer de mama, a preservação da fertilidade, terapia adjuvante, GnRHa, tamoxifeno, quimioterapia, receptores positivos de hormônio

INTRODUCTION

Preservation of fertility

The increased incidence of breast cancer among young women under 40 years of age and the increasing age of women at the time of the birth of their first child emphasize the importance of providing counseling about fertility-preserving strategies in the management of breast cancer care (Lawrenz et al., 2010). Breast cancer is the most common malignant tumour in women. Women younger than 40 years comprise 25% of all women who are diagnosed with breast carcinoma.

Over half the women reported that the information received in the consultation about infertility was adequately addressed, and as many as 30% reported that the information received in the consultation affected their treatment decisions (Lee et al., 2010). Recent surveys of cancer survivors of childbearing age suggest that approximately one-half of these patients are not exposed to an appropriate discussion of infertility as a potential side effect of cancer treatment, but that a majority of patients have questions regarding delayed childbearing and its long-term effects on quality of life (Lee et al., 2010).

Generally local treatment in the form of surgery and radiation has no effect on the reproductive health of patients with breast cancer. However, the use of chemotherapy in the premenopausal breast cancer population requires attention with regard to the short-term and long-term effects on reproduction, both during and after treatment (Lee et al., 2010).

Infertility represents one of the main long-term consequences of combination chemotherapy used for the treatment of breast cancer. Even patients who do not lose their menses immediately due to chemotherapy may still experience infertility (Poniatowski et al., 2001). The incidence of chemotherapy-related amenorrhoea reportedly was 68% in patients who were treated with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil (CMF)-like regimens, and it was higher for patients who were treated with anthracycline-based regimens (Badawy et al., 2009). The magnitude of the effect varies with the drug class, the total dose administered, and the age and pubertal status of the patient at the time of therapy. The drugs most frequently associated with ovarian failure are divided into three classes: drugs that are definitely associated with gonadal toxicity such as cyclophosphamide, drugs that are unlikely to cause gonadal toxicity such as methotrexate, 5-fluorouracil, and 6-mercaptopurine, and drugs whose gonadal toxicity is unknown such as doxorubicin, bleomycin, vinca alkaloids (vincristine and vinblastin), cisplatin, nitrosoureas, cytosine, and arabinoside. The effects of early menopause may be more important at younger biological ages. Because dividing cells are known to be more sensitive to the cytotoxic effects of alkylating agents than are cells at rest, it has been suggested that inhibition of the pituitary gonadal axis would reduce the rate of oogenesis and thereby render the germinal epithelium less susceptible to the effects of gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRHa), thus possibly inhibiting chemotherapy-induced ovarian follicular depletion. Several possibilities have been suggested to explain the beneficial effect of GnRHa in minimizing chemotherapy-associated gonadotoxicity: 1) The hypogonadotropic milieu decreases the number of primordial follicles entering the differentiation stage, which is more vulnerable to chemotherapy, 2) the hypooestrogenic state decreases ovarian perfusion and delivery of chemotherapy to the ovaries, 3) a direct effect of GnRHa on the ovary occurs independently of the gonadotropin level, 4) GnRHa may up-regulate an intragonadal antiapoptotic molecule such as sphingosine-1-phosphate, and 5) GnRHa may protect ovarian germline stem cells.

Badawy et al (2009) studied eighty patients with unilateral adenocarcinoma of the breast and with no metastasis who had undergone modified radical mastectomy or breast-conserving surgery plus full axillary lymph node dissection. Patients were assigned randomly to receive combined GnRHa and chemotherapy or chemotherapy alone. One woman in each group dropped out. In the experimental group (GnRHa + chemotherapy), 89.6% resumed menses and 69.2% resumed spontaneous ovulation within 3-8 months of treatment termination; only four (11.4%) patients experienced hypergonadotrophic amenorrhoea and ovarian failure after treatment. In contrast, only 13 of the 39 patients (33.3%) in the control group (chemotherapy without a GnRHa) resumed menses and 10 (25.6%) resumed ovulation ($P < 0.01$).

Clowse et al (2009) performed a systematic review and meta-analysis of studies examining whether a GnRHa administered during chemotherapy is protective of ovarian function and fertility. Nine studies included 366 women. Three studies included women with autoimmu-

ne disease receiving cyclophosphamide and six included women with haematologic malignancy receiving combination chemotherapy. A total of 178 women were treated with a GnRHa during chemotherapy and 93% of them maintained ovarian function. Of the 188 women not treated with a GnRHa, 48% maintained ovarian function. The use of a GnRHa during chemotherapy was associated with a 68% increase in the rate of preserved ovarian function compared with women not receiving a GnRHa (RR=1.68, 95% CI 1.34-2.1). Among the GnRHa-treated women, 22% achieved pregnancy following treatment compared with 14% of women who did not receive GnRHa therapy (RR=1.65, CI 1.03-2.6). In conclusion, based on the available studies, GnRHa appear to improve ovarian function and the ability to achieve pregnancy following chemotherapy and, despite prolonged use, clearly have less negative effects on ovarian function.

Ting and Petroff (2010) recently reported that, in addition to a GnRHa, tamoxifen can protect the primordial follicles and ovarian function from cytotoxic agents in rats. However, it is too premature to say that tamoxifen can protect the human ovary from the gonadotoxicity of chemotherapeutic agents.

In 2011, embryo and oocyte cryopreservation are the two fertility options most widely accessible to breast cancer patients. In 2008, the Society for Assisted Reproductive Technology/Centre for Disease Control data indicated that the live birth rates from frozen embryo transfer were 35.5% in women less than 35 years of age, 29.3% in the 35 to 37 age group, 26.1% in the 38 to 40 age group, and 19.5% in the 41 to 42 age group (Assisted Reproductive Technology Success Rates 2008).

According to the American Society for Reproductive Medicine, oocyte cryopreservation remains experimental; however, recent pregnancy rate data after oocyte cryopreservation have approached those obtained with frozen embryo transfer and even fresh transfer (Cobo et al., 2008; Grifo and Noyes, 2010). Pregnancies from cryopreserved oocytes have grown in recent years but embryo cryopreservation should remain the first choice. Cryopreservation of ovarian tissue has been performed for subsequent autotransplantation. There is concern that transplanted ovarian tissue could harbour malignant cells or undergo malignant transformation, although there are investigations that do not show evidence of malignant cells in ovarian tissue from breast cancer patients (Sanchez-Serrano et al., 2009; Rosendahl et al., 2011). Therefore, ovarian tissue cryopreservation remains experimental and investigational.

The objective of the present report is to discuss the possibility of avoiding chemotherapy as adjuvant treatment of cancer of the breast (hormone receptor-positive tumours) in patients who desire to preserve reproductive function.

GnRHa only versus chemotherapy for adjuvant breast cancer therapy

Approximately 60%-65% of breast cancer tumours in premenopausal women are hormone receptor-positive. These patients may be suitable for hormonal treatment. The goal of hormonal therapy is to reduce the availability of oestrogen to the cancer cell.

Four studies were identified that compared a GnRHa versus chemotherapy, including a total of more than 4000 women (IBCSG, 2003; Schmid et al., 2007; Kaufmann et al., 2003; von Minckwitz et al., 2006). All four trials used CMF: three as six cycles each of 28 days (IBCSG, 2003; Schmid et al., 2007; Kaufmann et al., 2003) and one as three cycles (von Minckwitz et al., 2006). Two trials used classical CMF with cyclophosphamide given orally on each

of the first 14 days of the cycle (IBCSG, 2003; Schmid et al., 2007). The ZEBRA trial allowed either classical CMF with oral cyclophosphamide or CMF with intravenous cyclophosphamide (Kaufmann et al., 2003) and the GABG trial used intravenous cyclophosphamide (von Minckwitz et al., 2006). There was also variability in the hormonal therapy used in these three trials. Goserelin (3.6 mg depot every 28 days) was used for two years in IBCSG VIII (IBCSG, 2003) in the absence of chemotherapy or for 18 months after six months of chemotherapy, and was used for two years in the GABG (von Minckwitz et al., 2006) and ZEBRA (Kaufmann et al., 2003) trials. In the TABLE trial (Schmid et al., 2007), the LHRH agonist was leuprorelin acetate (11.5 mg every 3 months) administered for two years.

The largest of these four trials was the ZEBRA trial (1614 patients; lymph node-positive breast cancer), in which three quarters of the women were oestrogen receptor-positive (ER+) (1189 of 1614, 73.7%), 304 (18.8%) were oestrogen receptor negative (ER-), and 121 (7.5%) had unknown ER status (Kaufmann et al., 2003). Overall, with a median follow up of 87 months, patients randomised to goserelin had significantly worse recurrence-free survival (49.8%) than those allocated to chemotherapy (56.2%) (RR 1.22, 95% CI 1.05 to 1.40, $P = 0.007$), and a non-significantly worse overall survival (RR 1.15, 95% CI 0.96 to 1.39, $P=0.14$). However, a highly significant interaction was found between treatment and ER status ($P=0.0016$) for recurrence-free survival. Patients who were ER+ had similar recurrence-free survival and overall survival in both treatment groups (RR for recurrence-free survival for goserelin versus CMF 1.05, 95% CI 0.88 to 1.24, $P=0.60$; RR for overall survival 0.94, 95% CI 0.75 to 1.18, $P=0.62$) with the worse outcome for goserelin-treated patients being due to the effect on ER- patients (RR for recurrence-free survival 1.64, 95% CI 1.13 to 2.39, $P= 0.0009$; RR for overall survival 1.83, 95% CI 1.33 to 2.52, $P= 0.001$) and ER-unknown patients (RR for recurrence-free survival 2.00, 95% CI 1.07 to 3.75, $P = 0.026$; RR for overall survival 1.81, 95% CI 0.81 to 4.05, $P= 0.14$). After six months of treatment in ZEBRA (Kaufmann et al., 2003), amenorrhoea was more common in patients treated with goserelin (95%) than with chemotherapy (59%). However, after three years, 23% of patients who had received goserelin remained amenorrhoeic compared with 77% of patients treated with chemotherapy. The incidence of adverse reactions, including menopausal side effects, hot flushes, vaginal discharge and vaginal soreness, was similar in both groups (goserelin: 42.6%; chemotherapy: 48.0%). These side effects tended to resolve within a year after stopping goserelin but persisted in the chemotherapy group for the 30 months under investigation.

The IBCSG VIII trial randomised 1063 patients (lymph node-negative breast cancer) to CMF alone versus CMF followed by goserelin versus goserelin alone (IBCSG, 2003). A fourth option of no adjuvant therapy was closed two years into the trial, when a total of 205 patients had been randomised to the trial as a whole. Two thirds of the women in the trial were ER+ (720 of 1111, 68%), 315 (30%) were ER-, and 28 (3%) had unknown ER status. Overall, with a median follow up of 84 months, there were no significant differences between treatment groups in disease-free survival or overall survival. However, differences between treatment groups were suggested for subpopulations defined according to ER status. The five-year disease-free survival (all patients) was 79% (95% CI 75% to 84%) for goserelin alone ($n=346$) and 82% (95% CI 78% to 86%) for chemotherapy alone ($n=360$).

In the comparison of goserelin versus chemotherapy, the relative risk for disease-free survival was 1.13 (95% CI 0.83 to 1.53, $P=0.44$). ER+ patients in both the goserelin group ($n = 229$) and the chemotherapy group ($n=247$) had similar disease-free survival (5-year DFS 81%, 95% CI 76% to 87% in both groups; RR 0.97, 95% CI 0.66 to 1.42, $P = 0.86$). In contrast, ER- patients had a shorter but not significant disease-free interval in the goserelin group ($n=6$) (73%, 95% CI 64% to 81%) compared to the chemotherapy group ($n=105$) (84%, 95% CI 77% to 91%) (RR 1.52, 95% CI 0.89 to 2.58, $P = 0.12$). Toxicity of grade 3 or worse was experienced by 4.7% of the patients allocated to goserelin alone (mostly weight gain) and by 18.8% of patients during chemotherapy (mostly leucopenia, neutropenia, and nausea or vomiting). In younger women under the age of ≤ 39 years receiving chemotherapy, amenorrhoea occurred later, being observed in 50% of these patients by the end of six cycles of CMF. On the other hand, 45% of the patients had amenorrhoea 35 months after randomisation. In women who received goserelin after chemotherapy, 90% became amenorrhoeic a few months after starting goserelin, but only 15% had amenorrhoea 35 months after randomization.

Quality of life has been reported in detail for 874 patients in the IBCSG VIII trial (IBCSG, 2003), based on an assessment at 36 months for 746 of these 874 patients (Bernhard et al., 2007). Patients in the goserelin alone group showed a marked improvement or less deterioration in various quality of life indicators during the first six months compared to those receiving chemotherapy. However, there was no significant difference in quality of life at 36 months between the groups allocated to chemotherapy followed by goserelin versus goserelin alone.

The TABLE study (Schmid et al., 2007) recruited 599 premenopausal patients (lymph node-positive/stage II or IIIA) with breast cancer who were not known to be ER-. The inclusion criteria were amended part way through the trial, so that only ER+ patients were randomised. Although 599 patients were recruited, 10 patients were excluded and the remaining 589 patients were assigned to leuprorelin acetate ($n=294$) and chemotherapy with cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil ($n=295$) with a median follow-up of 69 months. No significant differences in recurrence-free survival were found between groups (RR=1.19; 95% CI, 0.94 to 1.51; $P=0.15$). However, exploratory overall survival analysis favored leuprorelin acetate versus chemotherapy (RR=1.50; 95% CI, 1.13 to 1.99; $P=0.005$). The 5-year disease-free survival was 63.9% for women allocated to leuprorelin compared to 63.4% for women allocated to chemotherapy. Over 95% of women in the leuprorelin group became amenorrhoeic during treatment, compared to 62.1% of women treated with chemotherapy. Analysis by age showed that more than 90% of patients younger than 40 years at trial entry had normal menstrual function 1 year after the completion of therapy with the GnRHa. The most common adverse events were low-grade hot flushes, oedema, and fatigue among the leuprorelin patients; and alopecia, nausea and vomiting, and fatigue among the chemotherapy patients. The overall assessment of tolerability by patients was markedly better during the first six months of treatment in the leuprorelin group, but there was no significant difference between groups at two years.

The GABG study recruited 771 node-negative premenopausal patients with hormone receptor-positive breast cancer (von Minckwitz et al., 2006). No significant differences in local recurrence, distant recurrence, event-free survival, or death without recurrence were found between treatments. The 5-year event-free survival was 85.0%

for women allocated to goserelin (n=393) compared to 81.0% for women allocated to chemotherapy (n=378). The estimated hazard ratio or using an intention-to-treat analysis for goserelin versus CMF was 0.81 (95% CI 0.56 to 1.17, P = 0.25).

Most trials used goserelin as the GnRHa (88%) but the use of triptorelin or leuprorelin did not seem to lead to any difference in results (Goel et al., 2009).

GnRHa and tamoxifen versus chemotherapy for adjuvant breast cancer therapy

Three trials compared the effects of a combination of an LHRH agonist and tamoxifen versus chemotherapy (Jakesz et al., 2002; Roche et al., 2006; Boccardo et al., 2000), recruiting a total of 1611 women for this comparison. Two of these trials used CMF in six cycles of 28 days each (Jakesz et al., 2002; Boccardo et al., 2000), and the other used an anthracycline-containing regimen (Roche et al., 2006). The ABCSG 05 (Jakesz et al., 2002) trial used intravenous cyclophosphamide on days 1 and 8, and goserelin (3.6mg depot) every 28 days for three years plus tamoxifen (20 mg daily) for five years. In the FASG 06 trial (Roche et al., 2006), triptorelin (3.75 mg im every month) and tamoxifen (30mg daily) were used for three years. The GROCTA 2 study (Boccardo et al., 2000) administered cyclophosphamide from day 1 to day 14 and 3.6 mg injections of goserelin monthly for 2 years. The largest trial, ABCSG 5, randomised just over 1000 premenopausal women to goserelin (3.6 mg depot every 28 days) for three years combined with tamoxifen (20mg daily) for five years versus CMF every 28 days for six cycles (Jakesz et al., 2002). Most of the women were ER+. After a median follow up of 60 months, patients randomised to goserelin and tamoxifen had significantly better recurrence-free survival (81%) than those allocated to chemotherapy (76%) (P=0.037). There was no statistically significant difference in overall survival between the hormonal therapy group (92%) and the chemotherapy group (90%) (P = 0.195). Hot flushes were the main side effect for patients in the goserelin and tamoxifen group, with 91% of patients experiencing at least one episode. Eventual decline in bone density consequent to the use of GnRH agonists may be prevented with bisphosphonates. Zoledronic acid was employed in breast cancer patients without significant collateral effects (Gnant et al., 2009; Hershman et al 2008). Moreover, bisphosphonates are supposed to have antitumor and antimetastatic properties (Gabriel et al., 2010). The side effects of chemotherapy were typical of CMF: nausea (81%), alopecia (55%), and hot flushes (54%).

An anthracycline-containing regimen, rather than CMF, was used as the chemotherapy in the FASG 06 trial (Roche et al., 2006), in which 333 premenopausal women (one to three positive lymph nodes) with hormone-responsive breast cancer were randomised to triptorelin (3.75 mg im every month) and tamoxifen (30mg daily) for three years versus FEC50 (cyclophosphamide, epirubicin, 5-fluorouracil). After a median follow-up of 83 months, recurrence-free survival was 76% in the hormonal therapy group and 72% in the chemotherapy group. This difference was nonsignificant (P=0.13). There was also no significant difference in overall survival (P= 0.20), which was 91% and 88%, respectively. The GROCTA 2 (Boccardo et al., 2000) analysed 120 patients in the CMF group and 124 in the tamoxifen and goserelin group. At the time of analysis (median follow-up time, 76 months) no difference between groups had emerged with respect to either disease-free or overall survival.

There are fewer severe adverse effects amongst women treated with GnRHa in comparison to chemotherapy. The

GnRHa for which there is most evidence is goserelin, given as a 3.6 mg depot subcutaneously every 28 days for two years (Goel et al., 2009; LHRH-agonists-in-Early-Breast-Cancer-Overview-group 2007).

In conclusion, preservation of fertility in young women ≤ 40 years with endocrine-responsive (hormonal-receptor positive) tumours, especially those at low risk of recurrent disease, may not require chemotherapy provided they receive adequate endocrine therapy. However, its important to reported that for hormone receptor-negative women chemotherapy is likely to lead to a reduction in the risk of recurrence and a delay in death compared to a GnRHa.

Presentation of the hypothesis

It is time to indicate adjuvant therapy with GnRHa associated with tamoxifen for patients with breast cancer (hormone receptor-positive tumors) if they want to preserve their reproductive function.

Testing the hypothesis

1. Assessment of ovarian reserve tests; follicle stimulating hormone (FSH), anti-Mullerian hormone (AMH), inhibin B, antral follicle count (AFC) and ovarian volume 6 months, and 1 year after the end of therapy with GnRHa/tamoxifen therapy.

2. The recurrence-free survival and overall survival should be analysed

Implications of the hypothesis

1. The major implication will be to avoid adjuvant chemotherapy for patients with breast cancer (hormone receptor-positive tumours) that request fertility preservation.

2. It is expected that ovarian function should not be altered in almost all cases.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

All authors through continual scientific consultation have substantially participated and contributed in the conception and elaboration of the presented hypotheses. JGF conceived the basic idea and wrote the manuscript. JBAO, RLRB and MC helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

*Endereço para Correspondência:

José Gonçalves Franco Jr
Av Joao Fiusa 689
Ribeirão Preto – São Paulo – CEP: 14025310
Tel/FAX: 16 3011-1100
e-mail: crh@crh.com.br

References

- Assisted Reproductive Technology Success Rates 2008/ National Summary and Fertility Clinic Reports /Division of Reproductive Health / National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion / Centers for Disease Control and Prevention / <http://www.cdc.gov/ART/ART2008>. 2010.
- Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil Steril* 2009; 91:694-97.
- Bernhard J, Zahrieh D, Castiglione-Gertsch M, Hurny C, Gelber RD, Forbes JF, Murray E, Collins J, Aebi S, Thurlimann B, et al. Adjuvant chemotherapy followed by goserelin compared with either modality alone: the impact on amenorrhea, hot flashes, and quality of life in premenopausal patients--the International Breast Cancer Study Group Trial VIII. *J Clin Oncol* 2007; 25:263-70.
- Boccardo F, Rubagotti A, Amoroso D, Mesiti M, Romeo D, Sismondi P, Giai M, Genta F, Pacini P, Distante V, et al. Cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil versus tamoxifen

- plus ovarian suppression as adjuvant treatment of estrogen receptor-positive pre-/perimenopausal breast cancer patients: results of the Italian Breast Cancer Adjuvant Study Group O2 randomized trial. *J Clin Oncol* 2000; 18:2718-27.
- Clowse ME, Behera MA, Anders CK, Copland S, Coffman CJ, Leppert PC, Bastian LA. Ovarian preservation by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis. *J Womens Health (Larchmt)* 2009; 18:311-19.
- Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008; 89:1657-64.
- Gabriel CA, Domchek SM. Breast cancer in young women. *Breast Cancer Res* 2010; 12:212.
- Goel S, Sharma R, Hamilton A, Beith J. LHRH agonists for adjuvant therapy of early breast cancer in premenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD004562.
- Gnant M, Mlineritsch B, Schippinger W, Luschin-Ebengreuth G, Postlberger S, Menzel C, Jakesz R, Seifert M, Hubalek M, Bjelic-Radisic V, et al. Endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 2009; 360:679-91.
- Grifo JA, Noyes N. Delivery rate using cryopreserved oocytes is comparable to conventional in vitro fertilization using fresh oocytes: potential fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril* 2010; 93:391-96.
- International Breast Cancer Study Group (IBCSG), Castiglione-Gertsch M, O'Neill A, Price KN, Goldhirsch A, Coates AS, Colleoni M, Nasi ML, Bonetti M, Gelber RD: Adjuvant chemotherapy followed by goserelin versus either modality alone for premenopausal lymph node-negative breast cancer: a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1833-46.
- Hershman DL, McMahon DJ, Crew KD, Cremers S, Irani D, Cucchiara G, Brafman L, Shane E. Zoledronic acid prevents bone loss in premenopausal women undergoing adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:4739-45.
- Jakesz R, Hausmaninger H, Kubista E, Gnant M, Menzel C, Bauernhofer T, Seifert M, Haider K, Mlineritsch B, Steindorfer P, et al. Randomized adjuvant trial of tamoxifen and goserelin versus cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil: evidence for the superiority of treatment with endocrine blockade in premenopausal patients with hormone-responsive breast cancer--Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group Trial 5. *J Clin Oncol* 2002; 20:4621-27.
- Kaufmann M, Jonat W, Blamey R, Cuzick J, Namer M, Fogelman I, de Haes JC, Schumacher M, Sauerbrei W. Survival analyses from the ZEBRA study. Goserelin (Zoladex) versus CMF in premenopausal women with node-positive breast cancer. *Eur J Cancer* 2003; 39:1711-17.
- Lawrenz B, Neunhoeffer E, Henes M, Lessmann-Bechle S, Kramer B, Fehm T. Management of fertility preservation in young breast cancer patients in a large breast cancer centre. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 282:547-51.
- Lee MC, Gray J, Han HS, Plosker S. Fertility and reproductive considerations in premenopausal patients with breast cancer. *Cancer Control* 2010; 17:162-72.
- LHRH-agonists-in-Early-Breast-Cancer-Overview-group, Cuzick J, Ambroisine L, Davidson N, Jakesz R, Kaufmann M, Regan M, Sainsbury R. Use of luteinizing hormone-releasing hormone agonists as adjuvant treatment in premenopausal patients with hormone-receptor-positive breast cancer: a meta-analysis of individual patient data from randomised adjuvant trials. *Lancet* 2007; 369:1711-23.
- Poniatowski BC, Grimm P, Cohen G. Chemotherapy-induced menopause: a literature review. *Cancer Invest* 2001; 19:641-48.
- Roche H, Kerbrat P, Bonneterre J, Fargeot P, Fumoleau P, Monnier A, Clavere P, Goudier MJ, Chollet P, Guastalla JP, Serin D. Complete hormonal blockade versus epirubicin-based chemotherapy in premenopausal, one to three node-positive, and hormone-receptor positive, early breast cancer patients: 7-year follow-up results of French Adjuvant Study Group 06 randomised trial. *Ann Oncol* 2006; 17:1221-27.
- Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L, Kristensen SG, Erns E, Rasmussen PE, Anderson M, Schmidt KT, Andersen CY. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation: no evidence of malignant cell contamination in ovarian tissue from patients with breast cancer. *Fertil Steril* 2011 [Epub ahead of print].
- Sanchez-Serrano M, Novella-Maestre E, Rosello-Sastre E, Camarasa N, Teruel J, Pellicer A. Malignant cells are not found in ovarian cortex from breast cancer patients undergoing ovarian cortex cryopreservation. *Hum Reprod* 2009; 24:2238-43.
- Schmid P, Untch M, Koss V, Bondar G, Vassiljev L, Tarutinov V, Lehmann U, Maubach L, Meurer J, Wallwiener D, Possinger K. Leuprorelin acetate every-3-months depot versus cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil as adjuvant treatment in premenopausal patients with node-positive breast cancer: the TABLE study. *J Clin Oncol* 2007; 25:2509-15.
- Ting AY, Petroff BK. Tamoxifen decreases ovarian follicular loss from experimental toxicant DMBA and chemotherapy agents cyclophosphamide and doxorubicin in the rat. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27:591-97.
- von Minckwitz G, Graf E, Geberth M, Eiermann W, Jonat W, Conrad B, Brunnert K, Gerber B, Vescia S, Wollert J, Kaufmann M. CMF versus goserelin as adjuvant therapy for node-negative, hormone-receptor-positive breast cancer in premenopausal patients: a randomised trial (GABG trial IV-A-93). *Eur J Cancer* 2006; 42:1780-88.

Conhecimento atual do Hormônio Anti-Mulleriano (AMH)

Current Knowledge of Anti-Mullerian Hormone (AMH)

Juliano Brum Scheffer¹, Rafaela Friche Brum Scheffer¹, Érika Lima Pimenta¹, Bruno Brum Scheffer¹

¹ Instituto Brasileiro de Reprodução Assistida- IBRRA – Belo Horizonte (MG), Brasil

RESUMO

O hormônio anti-mulleriano atualmente é um excelente marcador da reserva ovariana. Tanto dosagem sanguínea do hormônio e até mesmo a do fluido folicular proporciona ao médico várias vantagens em relação aos outros marcadores como o FSH, inibina B e contagem de folículos antrais. Através desse exame, simples e de baixa complexidade, depara-se com informações valiosas que vão orientar o médico em sua conduta clínica. Apesar dos avanços científicos e resultados já confirmados em vários trabalhos publicados, existem algumas dúvidas sobre este hormônio. Este trabalho de revisão da literatura busca sintetizar e ao mesmo tempo esclarecer informações atuais sobre este hormônio tanto na fisiologia feminina como em algumas patologias por exemplo a endometriose e a síndrome do ovário policístico e nos resultados das técnicas de reprodução assistida. Ao mesmo tempo, esta revisão demonstra a necessidade de novas investigações científicas acerca do hormônio anti-mulleriano.

Palavras-chave: hormônio anti-mulleriano, FSH, endometriose, síndrome do ovário policístico.

ABSTRACT

The anti-Mullerian hormone is currently an excellent ovarian reserve marker. Both blood and follicular fluid dosage provides the physician several advantages over other markers such as FSH, Inhibin B and antral follicles count. Through this examination, simple and low complexity, faced with valuable information that will guide the physician in his clinical management. Despite scientific advances and results have already been confirmed in several published studies, there are some doubts about this hormone. This review paper aims to synthesize and also elucidates current information about this hormone either on female physiology as on some pathologies such as endometriosis and polycystic ovary syndrome, and on the outcome of assisted reproduction techniques. At the same time, this review also shows the need for further scientific research of the Anti-Mullerian hormone.

Key-words: Anti-Mullerian hormone, FSH, Endometriosis, Polycystic Ovary Syndrome .

Papel Fisiológico

O hormônio anti-mulleriano (AMH) é uma glicoproteína dimérica, membro da superfamília dos fatores de crescimento beta que exerce ação nos tecidos de crescimento e diferenciação. O AMH foi originalmente identificado por causa do seu papel fundamental na diferenciação do sexo masculino. Expressada pelas células de Sertoli nos testículos fetal, o AMH induz a regressão dos ductos de Muller. Na ausência de AMH, os ductos de Muller evoluem em útero, tubas e parte superior da vagina. O locus para AMH

está no cromossomo 19p13.3. e o gene do AMH receptor II está localizado no cromossomo 12.

Em mulheres, o AMH é produzido pelas células da granulosa dos folículos pré-antrais e antrais e tem um papel fisiológico no ovário restringindo o crescimento e a diferenciação dos folículos nos estágios iniciais do desenvolvimento. (Genro et al., 2010). Este hormônio é secretado principalmente pelos folículos entre 4 a 6mm e ausente nos folículos atresicos e nas células da teca. Jayaprakashan e colaboradores em 2010 mostrou correlação do AMH com a quantidade de folículos entre 2 a 8mm, não sendo demonstrado entre folículos <2mm ou >8mm.

Algumas teorias sugerem que o AMH é um co-regulador da esteroidogênese na célula da granulosa, relacionado com o nível de estradiol no fluido folicular dos folículos antrais. Em ratos adultos, o FSH e o estradiol exercem um down regulation na expressão do AMH e em in vivo e in vitro, o crescimento dos folículos primordiais em estágios mais avançados ocorreu na ausência do AMH.

AMH é secretado pelo ovário e liberado na corrente sanguínea, por isso que este hormônio é mensurável no sangue. O AMH não é detectado ao nascimento, bem sutil entre 2 e 4 anos de idade e claramente mensurável no adulto jovem. Com o aumento da idade, através da exaustão folicular, o AMH não é detectado na menopausa. O valor sanguíneo do AMH reflete essencialmente o pool folicular (quantidade de gametas femininos). Além disso, vários trabalhos demonstram o seu papel fundamental na reserva ovariana, na resposta às gonadotrofinas, (La Marca et al., 2007), em prever a qualidade e quantidade da resposta ovariana através das técnicas de reprodução assistida (TRA) e a ocorrência da menopausa. Observa-se um declínio não linear do AMH com a idade (Nelson et al., 2011), o mesmo acontecendo com a contagem de folículos antrais (AFC) e a idade. (Wallace & Kelsey, 2010)

Variabilidade intraciclos e interciclos

Um dos vários pontos positivos do AMH frente aos outros marcadores da reserva ovariana é sua pequena variabilidade intraciclo e interciclo. Fanchin e colaboradores em 2005b, demonstrou a alta reprodutibilidade do AMH (ICC, 0.89; 95% confidence interval, 0.83–0.94) entre os ciclos apresentando melhor resultado que os outros marcadores como inibina B (0.76; 0.66–0.86; $p < 0.03$), estradiol (0.22; 0.03–0.41; $p < 0.0001$), FSH (0.55; 0.39–0.71; $p < 0.01$), e AFC (0.73; 0.62–0.84; $p < 0.001$).

Vários trabalhos demonstram nenhuma variação significativa durante o ciclo menstrual (Streuli et al., 2008; Sowers et al., 2010) e outros observam uma variação de +3% a -19% no valor do AMH (Fanchin et al., 2005a; Streuli et al., 2009). Mas mesmo diante dessa variação, todos os autores concordam que o AMH apresenta um

TABELA 1. Correlação entre idade e nível sérico do AMH basal (ng/mL) (Shebl et al., 2011)

Idade	Percentil 5	Percentil 10	Mediana	Percentil 90	Percentil 95	n
<25	0.97 (1.13)	1.78 (1.78)	5.13 (3.59)	13.45 (8.87)	15.63 (10.40)	194 (65)
25	1.56 (0.81)	2.01 (1.56)	5.42 (3.91)	10.64 (7.29)	13.87 (8.20)	83 (33)
26	1.02 (1.00)	2.19 (1.98)	4.91 (4.23)	9.98 (8.53)	11.87 (9.08)	111 (48)
27	1.02 (1.44)	1.59 (1.77)	4.12 (3.33)	9.87 (7.52)	11.71 (8.38)	143 (60)
28	0.99 (1.02)	1.40 (1.34)	4.96 (4.24)	11.39 (9.39)	14.06 (10.73)	120 (58)
29	0.51 (0.51)	1.03 (0.79)	3.87 (3.87)	9.12 (7.97)	11.10 (9.12)	163 (69)
30	0.72 (1.10)	1.16 (1.42)	3.53 (3.51)	8.35 (6.36)	11.02 (6.75)	184 (76)
31	0.60 (0.55)	1.14 (1.15)	3.59 (3.23)	9.14 (6.59)	13.54 (8.68)	187 (73)
32	0.48 (0.81)	0.88 (1.01)	3.44 (3.50)	7.86 (6.03)	10.19 (8.80)	183 (70)
33	0.56 (0.92)	0.80 (1.09)	2.70 (2.80)	7.98 (5.36)	11.94 (7.88)	158 (64)
34	0.42 (0.69)	0.65 (0.92)	2.49 (2.54)	6.57 (6.60)	7.62 (7.00)	164 (64)
35	0.36 (1.14)	0.73 (1.26)	2.58 (3.10)	5.15 (5.99)	6.87 (7.17)	162 (64)
36	0.31 (0.37)	0.50 (0.81)	2.28 (2.62)	5.95 (5.92)	8.62 (9.14)	161 (74)
37	0.09 (0.05)	0.34 (0.31)	1.85 (1.72)	5.33 (4.19)	7.10 (5.50)	153 (70)
38	0.15 (0.47)	0.32 (0.80)	1.66 (2.16)	5.20 (5.90)	6.66 (6.66)	127 (61)
39	0.29 (0.41)	0.45 (0.57)	1.72 (1.74)	4.71 (4.55)	5.61 (5.22)	139 (59)
40	0.09 (0.09)	0.29 (0.39)	1.27 (1.62)	3.73 (5.36)	5.78 (8.83)	94 (36)
41	0.38 (0.43)	0.52 (0.60)	1.26 (1.17)	3.98 (5.38)	5.68 (6.01)	58 (16)
42	0.07 (0.15)	0.17 (0.28)	1.20 (1.26)	3.67 (3.07)	4.31 (3.66)	59 (20)
43	0.00 (0.12)	0.00 (0.25)	0.81 (0.79)	3.03 (1.66)	3.35 (1.94)	31 (8)
>43	0.00 (0.00)	0.00 (0.07)	0.72 (0.88)	2.49 (3.19)	2.87 (3.84)	67 (17)
All	0.30 (0.47)	0.62 (0.81)	2.91 (2.89)	8.30 (6.60)	10.93 (8.25)	2,741 (1105)

Nota: Análise da idade dependente dos níveis séricos de AMH basal é mostrado entre parênteses.

TABELA 2. Comparação das características dos marcadores mais utilizados de reserva ovariana (La Marca et al., 2010)

Características dos melhores marcadores	Idade	AMH	FSH	AFC
Predição de baixa resposta	+	+++	++	+++
Predição de hiper resposta	+	+++	-	++
Baixa variabilidade interciclo	+++	++	-	++
Baixa variabilidade intraciclo	+++	++	-	++
Não dependente do operador	+++	+++	+++	-
Aplicável a todos os pacientes(*)	+++	+++	+	+
Custo baixo	+++	-	-	-

* FSH e quantidade de folículo antral (AFC) não são informativos para pacientes em contracepção hormonal ou em tratamento com agonista de GnRH. Além disso, a quantidade de folículo antral pode ser dificultado em mulheres com cistos ovarianos ou com cirurgia pélvica prévia.

valor significativo na aplicação clínica em avaliar a reserva ovariana. (Rustamov et al., 2010)

Sowers e colaboradores em 2010 observou uma variabilidade significativa entre o 2º e 7º dia em ovários jovens (AMH > 1ng/mL) enquanto que ovários de mulheres com AMH < 1ng/mL não apresentaram esta variação

Além disso o nível de AMH parece não ser alterado diante de algumas condições como a utilização de contraceptivos (Streuli et al., 2008) e gestação.

Kits para dosagem

Dois diferentes kits têm sido utilizado para mensurar o AMH (Immunotech-Beckman Coulter e Diagnostic System Laboratories –DSL). A principal diferença entre eles é o anticorpo ocasionando resultados com valores distintos. Trabalhos mostram que o valor do AMH utilizando o DSL é 4 a 5 x menor que comparado com Coulter (Fréour et al., 2007). Apesar dessa diferença nos kits, a empresa que os produz é uma só, Beckman-Coulter e trabalhos mais recentes demonstram uma correlação alta entre os kits (Streuli et al., 2009) Figura 1. Aparentemente em alguns anos a medida do AMH será através de um sistema automatizado, e será calibrado utilizando o Kit Immunotech-Beckman Kit (La Marca et al., 2010). Outro ponto importante é a unidade do resultado, o qual poderá estar em mcg/l; pmol/l e ng/ml.

Síndrome do Ovário Policístico

Mulheres com síndrome do ovários policísticos (SOP) apresentam uma maior quantidade de folículos antrais que as mulheres sem esta patologia (Pigny et al., 2006). Em exames histológicos, ovários policísticos exibem um número normal de folículos primordiais e o dobro de folículos em desenvolvimento que os ovários sem este

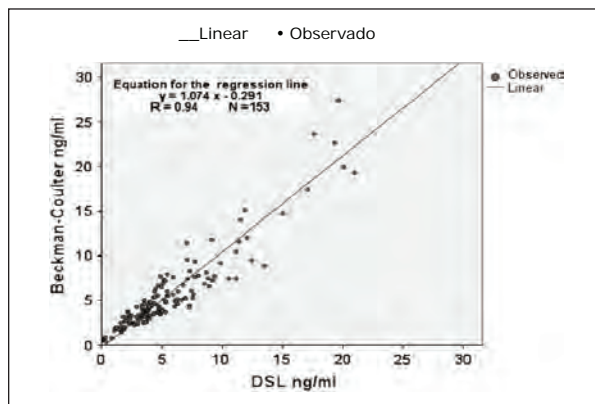


FIGURA 1. Análise de regressão linear dos Kits Beckman Coulter vs. DSL para medição do AMH (Streuli et al., 2009)

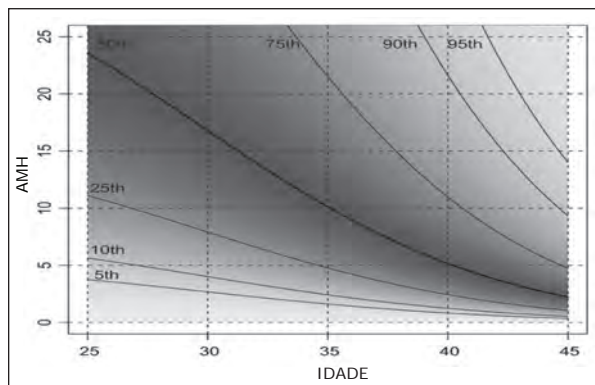


FIGURA 2. Correlação entre AMH e idade para percentil 5, 10, 25, 75, 90 e 95 (Nelson et al., 2011)

acometimento. Isto está de acordo com vários trabalhos que demonstram que o nível circulante de AMH em mulheres com SOP é 2x ou 3x o valor das mulheres saudáveis. (Wachs et al., 2007).

Este valor elevado do AMH pode ser explicado pelo excessivo número de folículos antrais mas também pelo aumento da produção pelas células da granulosa. O nível de AMH é em média 75x maior nas células da granulosa na SOP que comparado com as mulheres sem SOP (Pellatt et al., 2007).

Comparando-se mulheres com SOP e sem SOP, nota-se que o AMH está elevado nas primeiras tanto a nível sérico como no fluido folicular, nos folículos entre 8 a 13mm e nos folículos entre 16 a 23mm. (Desforges-Bullet et al., 2010)

O nível de AMH parece estar relacionado com a severidade da síndrome, sendo mais elevado nas pacientes com resistência a insulina e amenorréia do que nas que tem sensibilidade normal e oligomenorreia.

Paciente com SOP que utilizou contraceptivos orais apresentaram uma redução no volume ovariano sem alterar o valor do AMH. (Streuli et al., 2008)

O AMH nas pacientes com SOP apresenta relação positiva com os resultados das TRA. Um estudo demonstrou que um nível de AMH $\geq 3.01\text{ng/ml}$ foi capaz de prever a taxa de fertilização com uma sensibilidade de 86.4% e especificidade de 75% e AMH $\geq 3.2\text{ng/mL}$ também prediz a taxa de implantação e gravidez clínica com sensibilidade de 72.1% e 72.7% e especificidade 75.6% e 77.3%, respectivamente. (Kaya et al., 2010)

Finalmente, a medida do AMH parece ser um marcador para o diagnóstico de SOP, apresentando uma especificidade de 92% e uma sensibilidade de 67%. (Pigny et al., 2006).

Obesidade, álcool, tabagismo e outros

Em pacientes obesas sem SOP o nível do AMH é menor por razões fisiológicas relacionadas com a própria obesidade, e não necessariamente com a reserva ovariana (Su et al., 2008).

Outros fatores que também podem alterar o AMH são o tabagismo (Fréour et al., 2008), o uso de álcool (Nardo et al., 2009), raça e etnia (Seifer et al., 2009).

Porém são necessárias mais trabalhos para comprovar cientificamente estes achados. (Dafopoulos et al., 2010).

Estimulação Ovariana

O AMH parece declinar gradualmente durante a administração das gonadotrofinas. A redução do AMH durante a estimulação ovariana deve-se ao efeito negativo direto e indireto do FSH na secreção do AMH. Durante a administração do FSH observa-se o aumento do estradiol, o que está relacionado com a queda do AMH. O estradiol exerce um down regulation no AMH e no AMH mRNA no ovário. A correlação positiva entre o nível do AMH e o número de oócitos coletados é demonstrado desde 2002 e comprovado posteriormente com vários outros trabalhos (Nardo et al., 2009).

Outro marcador da reserva ovariana que apresenta correlação positiva com a resposta ovariana as gonadotrofinas é a AFC. Este por sua vez apresenta correlação positiva com o AMH.

Poucos trabalhos comparam o AMH e o AFC em prever a resposta ovariana (Jayaprakasan et al., 2010). Em geral conclui-se que tanto o AFC como AMH apresentam similar acurácia em prever o número de oócitos coletados.

Em relação a baixa resposta, o problema já se inicia na definição de baixa resposta. Os trabalhos não apresentam consenso em sua metodologia, logo a comparação entre eles fica a desejar. Em geral, a baixa resposta acontece entre 2 a 30% e utiliza-se como definição principal

o número de folículos desenvolvidos e o número de folículos coletados.

Vários parâmetros são avaliados para prever esta baixa resposta ou cancelamento do ciclo, como a idade, FSH basal, inibina B, AFC e volume ovariano, testes dinâmicos e AMH.

O AMH apresenta uma sensibilidade variando entre 44-97% e especificidade entre 41-100% em prever a baixa resposta (La Marca et al., 2007). No geral, observa-se que nenhum estudo foi capaz de mostrar sensibilidade e especificidade ótima do AMH para esta predição (La Marca et al., 2010).

A taxa de falso positivo de AMH para prever baixa resposta pode variar entre 10 a 20%. O valor do cut-off para esta função ainda não é consenso na literatura mas geralmente abaixo de 0.5-0.7ng/ml o prognóstico não é favorável. Apesar de não ser uma marcador ótimo para esse fim, o AMH é uma ferramenta a mais em prever quais mulheres apresentam risco de baixa resposta ou cancelamento de ciclo, evitando assim o desgaste financeiro e psicológico do casal.

Em relação ao hiperestímulo ovariano, o AMH é um excelente marcador. A síndrome de hiperestímulo (OHSS) tem vários graus; apresentando-se nas formas leve a moderada entre 15 a 20% e 1 a 3% na severa. Utilizam-se vários parâmetros clínicos e complementares para prever a chance da paciente em apresentar esta síndrome como idade, baixo índice de massa corporal (IMC), sinais de SOP, história prévia de OHSS, estradiol elevado no dia do hCG, e outros.

Vários trabalhos demonstram a associação entre o AMH e a hiper resposta ovariana. (La Marca et al., 2007; Lee et al., 2010; Nardo et al., 2009). Lee e colaboradores em 2008 demonstraram que o ROC do AMH basal foi melhor que a idade e o IMC; e apresentou o mesmo potencial que o AFC e estradiol no dia do hCG em prever a OHSS. O AMH apresenta uma sensibilidade e especificidade de 90.5% e 81.3% em prever a OHSS.

Comparando com FSH (ROC 0.66) e AFC (ROC 0.63), o AMH foi melhor em prever a excessiva resposta ovariana (ROC 0.81). Para baixa resposta o AFC (ROC 0.81) foi similar ao AMH (ROC 0.88) mas melhor que FSH (ROC 0.63) (Nardo et al., 2009). Riggs e colegas em 2011 observou que utilizando um cut-off de 1.5ng/mL, o AMH apresenta uma sensibilidade de 0.86 e especificidade de 0.78 para prever baixa resposta e utilizando cut-off de 3.0ng/ml a sensibilidade é 0.7 e especificidade de 0.71 para prever alta resposta (Riggs et al., 2011)

Em um estudo de Genro e colaboradores em 2010, observou-se que o AMH correlacionou positivamente com o número de folículos antrais precoces ($r=0.59$; $p<0.0001$) e folículos pré-ovulatórios no dia do hCG ($r=0.17$; $p<0.04$). Porém a relação dos folículos antrais precoces que atingiram o estágio pré-ovulatório (maturação folicular) correlacionou negativamente com o AMH ($r=-0.30$; $p<0.001$); o mesmo observado no estudo de Scheffer e colaboradores em 2009. (Scheffer et al., 2009)

Logo a medida do AMH é uma informação útil para direcionar o melhor protocolo de estimulação, diminuindo assim o risco de OHSS

Gravidez e qualidade embrionária

É sabido e bem reconhecido que a gravidez pela TRA está mais relacionada com a qualidade do que com a quantidade dos gametas. Vários trabalhos demonstram a relação positiva do AMH com a qualidade oocitária. (Fanchin et al., 2005 a, b).

Outros trabalhos também observaram uma correlação positiva entre o AMH do fluido folicular e a taxa de gravidez. O nível do AMH no fluido folicular relacionou signi-

ficativamente com a taxa de fertilização dos oócitos. Em geral o nível de AMH dos oócitos que fertilizaram foi 3.42x maior que os que não fertilizaram. (2.40 ± 3.48 ng/mL vs 0.70 ± 1.01 ng/mL, $p=0.045$) (Takahashi et al., 2008). A concentração folicular do AMH correlacionou negativamente com a idade ($p=0.004$), dose de gonadotrofinas ($p=0.001$) e positivamente com folículos ≤ 11 mm no dia do hCG ($p=0.001$) e oócitos coletados ($p=0.04$) (Lee et al., 2008; Lee et al., 2010)

Embora confirmada a relação do AMH no fluido folicular com a qualidade embrionária e gravidez ainda não podemos confirmar esta mesma associação em relação ao AMH sérico (Riggs et al., 2011), devido a resultados contraditórios (Fanchin et al., 2005a,b; Fogle et al., 2010; Singer et al., 2010), necessitando assim uma maior comprovação científica. Gleicher e colaboradores em 2010 observou que AMH ≥ 1.05 ng/ml aumenta a taxa de nascido vivo e Riggs e colaboradores em 2011 demonstrou em doadoras, que o AMH teve correlação significativa com o número de oócitos coletados ($r=0.345$; $p<0.05$) e oócitos em metáfase II ($r=0.239$; $p<0.05$).

No geral, o AMH é uma ferramenta complementar importante para evitar custos, riscos, estresse e desapontamento, orientar prognóstico e tratamento ideal.

Endometriose

A relação da endometriose com AMH ainda não foi totalmente esclarecido e os trabalhos apresentam resultados contraditórios. (Campos et al., 2010). Em maio de 2008, Lemos e colaboradores demonstrou que em pacientes com endometriose mínima e leve, houve uma queda significativa ($p=0.004$) no valor do AMH em comparação com pacientes com obstrução tubária (1.26 ± 0.7 ng/ml x 2.02 ± 0.72 ng/ml). Shebl e colaboradores em 2009 observou que mulheres com endometriose mínima apresentavam nível similares de AMH que as mulheres sem a patologia (3.28 ± 1.93 ng/ml vs. 3.44 ± 2.06 ng/ml; $p=0.61$) porém em relação as pacientes com endometriose severa houve diferença significativa (2.38 ± 1.83 ng/ml vs. 3.58 ± 2.46 ng/ml; $p < 0.0001$). Campos e colegas em 2010 mostrou que a concentração do fluido folicular de pacientes com ou sem endometriose é similar (1.8 ± 0.3 E 1.5 ± 0.1 ng/ml, respectivamente; "mean difference 0.33, 95% CI -0.21 to 0.88).

CONCLUSÃO

O hormônio anti-mülleriano (AMH) apresenta vários pontos positivos para a avaliação qualitativa e principalmente quantitativa dos gametas femininos, sendo então um excelente marcador da reserva ovariana.

A sua estabilidade e consistência entre os ciclos menstruais e no mesmo ciclo menstrual, a ausência de alteração com a utilização de contraceptivos, sua relação direta apesar de inversa com a idade (Figura 2 e Tabela 1) e com a quantidade de folículos antrais proporciona aos especialistas uma alta fidedignidade do AMH frente a quantidade e possivelmente qualidade oocitária.

Além desses benefícios, através do AMH, o especialista terá mais uma ferramenta complementar para orientá-lo e instruí-lo sobre a estimulação ovariana e suas complicações, evitando riscos, frustrações e desgastes psicológicos e financeiros aos casais (Tabela 2).

Apesar das comprovações científicas até o momento, novos trabalhos ainda são necessários para maior esclarecimento, confirmação dos resultados, elucidação dos valores sanguíneos ideais e novas descobertas acerca do tema.

Endereço para Correspondência:

Juliano Brum Scheffer. Rua Desembargador Jorge Fontana

408 / 10 andar. Belvedere. CEP: 30320670. Belo Horizonte/ Minas Gerais. 31 32868171. julianoscheffer@hotmail.com / juliano.scheffer@ibrra.com.br

Referências

Campos CS, Vaamonde D, Andreoli C, Martins AC, Genro VK, Souza CA, Chapon R, Cunha-Filho JS. Follicular-fluid anti-Müllerian hormone concentration is similar in patients with endometriosis compared with non-endometriotic patients. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:470-3.

Dafopoulos A, Dafopoulos K, Georgoulas P, Galazios G, Limberis V, Tsikouras P, Koutlaki N, Maroulis G. Smoking and AMH levels in women with normal reproductive history. *Arch Gynecol Obstet*. 2010;282:215-9.

Desforges-Bullet V, Gallo C, Lefebvre C, Pigny P, Dewailly D, Catteau-Jonard S.

Increased anti-Müllerian hormone and decreased FSH levels in follicular fluid obtained in women with polycystic ovaries at the time of follicle puncture for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010;94:198-204.

Fanchin R, Louafi N, Mendez Lozano DH, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Per-follicle measurements indicate that anti-müllerian hormone secretion is modulated by the extent of follicular development and luteinization and may reflect qualitatively the ovarian follicular status. *Fertil Steril*. 2005a;84:167-73.

Fanchin R, Taieb J, Lozano DH, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum Reprod*. 2005b;20(4):923-7.

Fogle RH, Minkhorst OR, Toner JP, Steiner AZ. Antimüllerian Hormone (AMH) efficiency curves: predicting a threshold for pregnancy in vitro fertilization (IVF) cycles. *Fertil Steril*. 2010;94: S258.

Freour T, Mirallie S, Bach-Ngohou K, Denis M, Barrière P, Masson D. Measurement of serum anti-Müllerian hormone by Beckman Coulter ELISA and DSL ELISA: comparison and relevance in assisted reproduction technology (ART). *Clin Chim Acta*. 2007;375: 162-4.

Freour T, Masson D, Mirallie S, Jean M, Bach K, Dejoie T, Barriere P. Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod Biomed Online*. 2008;16:96-102.

Genro VK, Grynberg M, Scheffer JB, Roux I, Frydman R, Fanchin R. Serum anti-Müllerian hormone levels are negatively related to Follicular Output RaTe (FORT) in normo-cycling women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. 2011;26:671-7.

Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Anti-Müllerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live-birth chances in women with severely diminished ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2010;94:2824-7.

Jayaprakasan K, Deb S, Batcha M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B, Raine-Fenning N. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;94:1775-81.

Kaya C, Pabuccu R, Satioglu H. Serum antimüllerian hormone concentrations on day 3 of the in vitro fertilization stimulation cycle are predictive of the fertilization, implantation, and pregnancy in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. *Fertil Steril*. 2010 Nov;94:2202-7.

La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod*. 2007;22:766-71.

La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update*. 2010;16:113-30.

Lee TH, Liu CH, Huang CC, Wu YL, Shih YT, Ho HN, Yang YS, Lee MS. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod*. 2008;23:160-7.

Lee JR, Kim SH, Kim SM, Jee BC, Ku SY, Suh CS, Choi YM, Kim

- JG, Moon SY. Anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation and optimal timing of measurement for outcome prediction. *Hum Reprod.* 2010;25:2597-604.
- Lemos NA, Arbo E, Scalco R, Weiler E, Rosa V, Cunha-Filho JS. Decreased anti-Müllerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *Fertil Steril.* 2008;89:1064-8.
- Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P, Laing I. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2009;92:1586-93.
- Nelson SM, Messow MC, Wallace AM, Fleming R, McConnachie A. Nomogram for the decline in serum antimüllerian hormone: a population study of 9,601 infertility patients. *Fertil Steril.* 2011;95:736-741.
- Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:240-5.
- Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum Anti-Müllerian Hormone as a Surrogate for Antral Follicle Count for Definition of the Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:941-5.
- Riggs R, Kimble T, Oehninger S, Bocca S, Zhao Y, Leader B, Stadtmauer L. Anti-Müllerian hormone serum levels predict response to controlled ovarian hyperstimulation but not embryo quality or pregnancy outcome in oocyte donation. *Fertil Steril.* 2011;95:410-2.
- Rustamov O, Pemberton PW, Roberts SA, Smith A, Yates AP, Patchava SD, Nardo LG. The reproducibility of serum anti-Müllerian hormone in subfertile women: within and between patient variability. *Fertil Steril.* 2010. [Epub ahead of print]
- Scheffer JB, Lozano DM, Frydman R, Bussab A, Taieb J, Fanchin R. Evidence of follicle responsiveness to FSH by antimüllerian hormone in ovulating women. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009;31:142-7.
- Seifer DB, Golub ET, Lambert-Messerlian G, Benning L, Anastos K, Watts DH, Cohen MH, Karim R, Young MA, Minkoff G, Grebbblatt RM. Variations in serum müllerian inhibiting substance between white, black, and Hispanic women. *Fertil Steril.* 2009;92:1674-8.
- Shebl O, Ebner T, Sommergruber M, Sir A, Tews G. Anti müllerian hormone serum levels in women with endometriosis: a case-control study. *Gynecol Endocrinol.* 2009;25:713-6.
- Shebl O, Ebner T, Sir A, Schreier-Lechner E, Mayer RB, Tews G, Sommergruber M. Age-related distribution of basal serum AMH level in women of reproductive age and presumably healthy cohort. *Fertil Steril.* 2011;95:832-4.
- Singer T, Rauch E, Goldschlag D, Cholst I, Liu HC, Rosenwaks Z. The use of antimüllerian hormone as a predictor for IVF outcome in egg donors. *Fertil Steril.* 2010;94: S42.
- Sowers M, McConnell D, Gast K, Zheng H, Nan B, McCarthy JD, Randolph JF. Anti-Müllerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles. *Fertil Steril.* 2010;94:1482-6.
- Streuli I, Fraisse T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril.* 2008;90:395-400.
- Streuli I, Fraisse T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D. Clinical uses of anti-Müllerian hormone assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril.* 2009;91:226-30.
- Su HI, Sammel MD, Freeman EW, Lin H, DeBlasis T, Gracia CR. Body size affects measures of ovarian reserve in late reproductive age women. *Menopause.* 2008;15:857-61.
- Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-Müllerian hormone substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2008;89:586-91.
- Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-müllerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1871-4.
- Wallace WH, Kelsey TW. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PLoS One.* 2010;5:e8772.

Orais

O1 - Associação de variantes alélicas de HLA-G e múltiplas falhas de implantação embrionária

Nardi, F.S.¹; Slowik, R¹; Wowk, P.F.¹; Michelon, T.²; Neumann, J²; Bicalho, M.G.¹

¹UFPR; ²CIR-Porto Alegre

OBJETIVO: Estudo caso-controle que investiga associação entre alelos HLA-G (éxons 2, 3 e 4) e múltiplas falhas de implantação embrionária (FIE). **MÉTODOS:** Vinte e um casais com pelo menos duas FIE e no mínimo, duas transferências de embriões não criopreservados e 60 casais controle com pelo menos duas gestações à termo, sem complicações. A genotipagem foi realizada através de sequenciamento direto do DNA. Foram analisados os polimorfismos específicos destes éxons, com o intuito de avaliar uma possível associação no estabelecimento de uma gestação viável. Seis casais com falha de implantação, nos quais a mulher foi diagnosticada com endometriose também foram analisados, totalizando vinte e sete casais. Os alelos encontrados nesta população foram analisados individualmente através do Teste Exato de Fischer ou Qui-quadrado corrigido, dependendo do tamanho da população a ser analisada. **RESULTADOS:** Foram encontradas diferenças significativas na distribuição dos alelos de HLA-G entre casais com múltiplas falhas de implantação e casais controle. O alelo G*01:01:03 é mais freqüente nos casais controle (6,72%) se comparado aos casais com falha de implantação (1,19%) ($p=0,0373$), sugerindo um possível fator de proteção para a gestação. O alelo G*01:04:01 se mostrou mais presente nas mulheres dos casais com falha de implantação (16,67%) se comparado às mulheres dos casais controle (9,66%) ($p=0,0413$), sugerindo ser um dos possíveis fatores de risco para a implantação embrionária. Ao incluirmos os seis casais com endometriose na análise, observamos que os alelos G*01:01:06 e G*01:05N estão presentes em 2,77% dos casais com falha de implantação e estão ausentes nos casais controle ($p=0,0298$). O alelo G*01:01:01 se mostrou mais freqüente nas mulheres pertencentes aos casais controle (48,3%) quando comparado com as mulheres pertencentes aos casais com falha de implantação (29,62%) ($p=0,0329$). E confirmamos as diferenças observadas para os alelos G*01:01:03 e G*01:04:01. **CONCLUSÃO:** Estes resultados evidenciam que a implantação embrionária está sob controle genético, além dos diversos outros fatores envolvidos nesta rede imunoreguladora, e corroboram a hipótese de que os produtos de HLA-G exercem papel importante na modulação da resposta imune materno-fetal.

O2 - Relação entre alterações cromossômicas e qualidade morfológica de blastocistos humanos

Cuzzi, J.F.⁵; Serafini, P.²; Motta, E.L.A.³; Alegretti, JR.³; Criscuolo, T.C.⁴; Hassun, P.A.⁵

¹Genesis Genetics Brasil; ²Huntington – Medicina Reprodutiva São Paulo; Universidade de São Paulo – USP – Centro de Reprodução Humana Mario Covas; ³Huntington – Medicina Reprodutiva São Paulo; Hospital Santa Joana

– Centro de Reprodução Humana; Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – Departamento de Ginecologia; ⁴Huntington – Medicina Reprodutiva São Paulo; ⁵GENESIS GENETICS BRASIL

OBJETIVO: Uma etapa crucial no tratamento de fertilização in vitro (FIV) é a seleção do melhor embrião para a transferência uterina. Ainda hoje, a maioria dos métodos de avaliação embrionária baseiam-se em critérios morfológicos, como o número e tamanho das células, multinucleação ou grau de fragmentação. Entretanto, já se sabe que estas características pouco dizem sobre a viabilidade embrionária e sua capacidade de se desenvolver e estabelecer uma gestação saudável. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi correlacionar a morfologia de embriões no estágio de blastocisto com a incidência de alterações cromossômicas detectadas pela técnica de Hibridação Genômica Comparativa (CGH-array). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Um total de 302 blastocistos gerados por 110 casais com idade materna média de 37,8 anos foram biopsiados e analisados pela técnica de CGH-array. Estes embriões foram avaliados e classificados de acordo com os critérios morfológicos propostos por Gardner & Schoolcraft (1999). Desta forma, com base no desenvolvimento embrionário, qualidade da massa celular interna (classes A,B e C) e trofotoderma (classes A,B e C), os blastocistos foram classificados entre os graus de 1 a 6. Como esperado, no momento da biópsia não foram observados embriões graus 5 e 6. **RESULTADOS:** Foram encontradas alterações cromossômicas (aneuploidias) em 52% dos embriões analisados. Observou-se que 55,8% (95 de 172) dos blastocistos graus 3 e 4 eram cromossomicamente normais (euplóides) comparados com 37,7% (49 de 130) dos embriões graus 1 e 2, uma diferença significativa ($p < 0,001$). A qualidade da massa celular interna e do trofotoderma pareceu não ter associação com os diferentes tipos de aneuploidias observadas. As alterações cromossômicas complexas e DNA degradado também foram observados com maior frequência nos embriões graus 1 e 2. **CONCLUSÃO:** Nossos resultados demonstram uma associação entre morfologia e alteração cromossômica em blastocistos, sugerindo um possível efeito da aneuploidia no desenvolvimento embrionário. No entanto, apenas a análise morfológica não é capaz de garantir a transferência de embriões euplóides, reafirmando que o uso da técnica de CGH-array é uma estratégia valiosa na escolha dos embriões com maior viabilidade e capacidade de estabelecer uma gestação saudável.

O3 - Gestação por ICSI após 28 anos de vasectomia

Nogueira, A.C.T.¹; De Souza, L.R.²; Wolff, P.³; Heibel, M.²

¹Clinica Genics-Medicina Reprodutiva e Genômica; ²Clinica Lavitta – Centro de Medicina Reprodutiva e Infertilidade do Amazonas; ³Clinica Genics-Medicina Reprodutiva e Genômica

INTRODUÇÃO: Entre as azoospermias obstrutivas (AO), a vasectomia é a causa mais comum encontrada em casais que irão submeter-se às técnicas de reprodução assistida (TRA). A reversão da vasectomia propicia taxas de patência e gravidez entre 40% a 70%, entretanto, o resultado satisfatório para a técnica de reversão cirúrgica está diretamente ligado ao tempo de obstrução. A introdução da Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI) mudou as perspectivas de reprodução na vida desses pacientes, uma vez que amostras seminais, inde-

pendente da qualidade, podem ser utilizadas com êxito nessa técnica. **DESCRIÇÃO DE CASO:** Paciente com 33 anos de idade, com quadro clínico de miomatose, foi submetida a um ciclo de indução de ovulação utilizando gonadotrofinas e antagonistas do GnRH. Após 36 horas da administração do hCG, foram recuperados 8 oócitos em meiose II. O marido de 54 anos de idade, vasectomizado há 28 anos, foi submetido a uma aspiração percutânea do epidídimo seguido de aspiração percutânea do testículo, com sedação. Foram recuperados poucos espermatozoides móveis, os quais foram selecionados quanto a sua morfologia e posteriormente utilizados na fertilização dos oócitos por meio da técnica de ICSI. Ao final do terceiro dia de desenvolvimento foram selecionados três embriões e transferidos para o útero da paciente. Duas semanas após a transferência, a ultrassonografia transvaginal comprovou a presença de um único saco gestacional e batimento cardíaco fetal normal. A gestação evoluiu normalmente, contudo, na 36ª semana, devido a um quadro de hipertensão gestacional, foi realizado um parto cesariano pré-termo com o nascimento de um prematuro saudável do sexo feminino pesando 2.480g. **COMENTÁRIO:** A recuperação de espermatozoides nas AO é um procedimento simples, uma vez que a produção de espermatozoides está mantida. A aspiração permite a recuperação de espermatozoides do epidídimo e dos testículos sem a necessidade, na maioria das vezes, de uma incisão. A reversão da vasectomia, embora seja um procedimento com maior custo-benefício que as TRA, é indicada nos casos com o intervalo de obstrução inferior a 15 anos e sem fatores de infertilidade feminina envolvidos. Dessa forma, a decisão de reversão da vasectomia, ou captação espermática utilizando métodos de recuperação espermáticas, associados à ICSI, deve ser individualizada e ponderada entre os casais e os profissionais envolvidos.

O4 - Primeira experiência brasileira em seleção embrionária para HLA e doença monogênica.

Andari, V.C.M¹; Melo, A. V¹; Angelozzi de Oliveira, M.¹; Borges Jr, E²; Martinhago, CD¹

¹RDO Diagnósticos Médicos; ²Fertily - Centro de Fertilização Assistida

O PGD (Preimplantation Genetic Diagnosis) surgiu como uma importante alternativa de diagnóstico pré-natal a casais com alto risco de conceber uma criança com alguma desordem genética. Como a mais recente aplicação nessa área, surgiu a proposta de combinar o PGD para doenças monogênicas à análise genética do sistema HLA (Human leukocyte antigen) a fim de selecionar embriões saudáveis para uma doença específica e possíveis doadores (HLA-compatíveis) de medula óssea ou célula-troca a um irmão afetado pela condição. Este estudo apresenta o resultado da primeira experiência brasileira de padronização de PGD para tipagem do perfil HLA associada à seleção de embriões livres de beta-Talassemia, desenvolvida para uma família de pais portadores de traço talassêmico e uma criança afetada pela doença. Foi elaborado um protocolo flexível e indireto de identificação dos haplótipos da região do HLA para todos os membros da família baseado na técnica de multiplex-PCR (polymerase chain reaction) para análise de marcadores polimórficos STR (short tandem repeat) dessa região, otimizado com a amplificação simultânea de marcadores STR da região envolvida na mutação de interesse. Nove marcadores foram incluídos na análise do multiplex-PCR, sete marcadores de um total de 21 analisados foram considerados informativos para

a região do HLA. Além de dois marcadores informativos para a região da beta-globina. Para avaliar a confiabilidade do protocolo precedente ao PGD, 64 linfócitos isolados do pai da família foram testados e revelaram >97% de eficiência na amplificação. O casal foi submetido a um ciclo de estimulação ovariana seguido de ICSI (intracytoplasmic sperm injection), que resultou em 10 embriões. Três afetados pela beta-Talassemia; e cinco com o perfil HLA incompatível ao da criança afetada pela doença, um embrião não portador da mutação e quatro com traço talassêmico (três provenientes da linhagem paterna e um de origem materna). Foram transferidos dois embriões HLA-identico ao da criança afetada, um homocigoto normal e outro heterocigoto (traço talassêmico de origem materna) para a mutação no gene da beta-globina. Uma vez que o procedimento é recente, aguardamos a confirmação de gravidez bioquímica. O maior avanço observado nessa estratégia é a possibilidade de sua aplicação nas mais diversas condições de hemoglobinopatias de ordem monogênica, ampliando o número de famílias que podem recorrer a essa nova opção terapêutica.

O5 - Dismorfismos oocitários influenciam anormalidades cromossômicas em embriões gerados *in vitro*

Setti, A.S.¹; Figueira, R.C.S.²; Braga, D.P.A.F.³; Colturato, S.S.²; Iaconelli Jr., A.³; Borges Jr., E.³

¹Instituto Sapientiae; ²Fertility – Centro de Fertilização Assistida; ³Fertility – Centro de Fertilização Assistida e Instituto Sapientiae

OBJETIVO: Verificar a relação entre os dismorfismos oocitários e as anormalidades cromossômicas em embriões originados *in vitro*. **MÉTODOS:** Um total de 189 ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) associados à técnica de diagnóstico genético pré-implantacional (PGS) para 8 cromossomos (13, 15, 16, 18, 21, 22, X e Y) foram retrospectivamente avaliados. Para minimizar a influência do fator de infertilidade masculina, todos os casos de concentração de espermatozoides menor que 1×10^6 m / ml e motilidade espermática inferior a 20% foram excluídos do estudo. A avaliação de anomalias cromossômicas embrionárias foi realizada com base em oócitos individuais. Na primeira análise, a relação entre os dismorfismos oocitários (aumento da granulação citoplasmática, presença de vacúolos, agregados do retículo endoplasmático liso (REL), corpúsculo polar (CP) aumentado, espaço perivitelino (EP) aumentado e granular) e as aneuploidias embrionárias foi avaliada em 834 oócitos/embriões. A fim de excluir a influência da idade materna sobre as anormalidades cromossômicas embrionárias, uma segunda análise do protocolo acima descrito foi realizada incluindo apenas os embriões de pacientes do sexo feminino até 35 anos (n= 57, 326 oócitos/embriões). A influência dos dismorfismos oocitários nas aneuploidias cromossômicas embrionárias foi avaliada por meio de regressão logística binária e os resultados foram expressos como odds ratio (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC). **RESULTADOS:** O aumento da granulação citoplasmática (OR: 1,68; IC: 1,10-2,56), espaço perivitelino aumentado (OR: 1,52; IC: 1,10-2,11) e espaço perivitelino granular (OR: 1,52; IC: 1,11-2,10) foram determinantes do aumento da probabilidade de aneuploidia embrionária. Considerando apenas pacien-

tes do sexo feminino com idade ≤ 35 anos, o espaço perivitelino aumentado (OR = 2,20; IC: 1,11-4,37) foi determinante do aumento da probabilidade de aneuploidia embrionária. **CONCLUSÕES:** A granulação citoplasmática, espaço perivitelino aumentado e granular estão associados com maior probabilidade de aneuploidia no embrião em desenvolvimento. Considerando apenas as pacientes jovens, a associação entre o espaço perivitelino aumentado e o aumento da probabilidade de aneuploidia embrionária foi observada. A avaliação morfológica oocitária pode prever a qualidade oocitária e embrionária, devendo ser levada em consideração para a seleção embrionária no momento da transferência.

06 - Efeito da metformina sobre a expressão gênica e protéica de receptores de insulina, de IGF-1 e aromatase em células da granulosa *in vitro*

Fuhrmeister¹; Branchini, G.²; Pimentel, Anita³; Kussler, Ana P.⁴; Brum, Ilma²; von Eye Corleta, H.⁵

¹Clinica Gerar; ²UFRGS; ³Clinica Gerar - HMV, UFRGS; ⁴Clinica GERAR - HMV, UFRGS; ⁵Clinica GERAR, UFRGS, HCPA

A metformina é uma droga amplamente utilizada como um agente sensibilizador da ação da insulina no tratamento da Diabetes Mellito tipo II, e, mais recentemente, no tratamento de mulheres com ovários policísticos. O objetivo deste trabalho é avaliar a expressão gênica e protéica de receptores de Insulina, IGF-1 e da enzima aromatase em culturas de células da granulosa (CG) tratadas com metformina (Met) e insulina (I), provenientes de pacientes submetidas a técnicas de Reprodução Assistida. MM: No presente estudo utilizamos células da granulosa (CG) murais luteinizadas coletadas durante os procedimentos de fertilização *in vitro*. As CG murais foram isoladas e mantidas em cultura por 24 horas e divididas nos grupos controle (C) e tratados com (M30) Metformina 30min, Metformina 30min + Insulina(I) 30min (M30+I30) e (M30+I60). Após os tratamentos, foi realizada a extração do RNA total (reagente Trizol), seguida da síntese de cDNA e reações em cadeia da polimerase (PCR) para os genes do IGF-1R, Receptor de Insulina, aromatase e da $\beta 2$ -microglobulina (normalizador). Os produtos da PCR e Western Blot (WB) foram quantificados em gel de agarose. R: As CG tratadas com metformina apresentaram um aumento significativo na expressão de IGF-1R em relação ao grupo controle ($p = 0,010$). Não houve diferença na expressão de IGF-1R quando as células foram tratadas com metformina mais insulina por 30 min ou 60 min. O tratamento com metformina induziu também a expressão gênica do IR ($p = 0,011$). A adição de insulina por 30 min. não modificou a expressão do receptor em relação à metformina aos 60 min. os valores foram semelhantes ao controle. A análise do mRNA da aromatase demonstrou que a adição de insulina por 30 min. nas células tratadas com Met inibe a expressão do gene da aromatase ($p=0,007$). Comparando o mRNA da aromatase entre o grupo controle e o tratado com insulina por 60 min. não houve diferença. A expressão Protéica de IGF-1R foi similar entre todos os grupos estudados. A expressão protéica do receptor de insulina não foi possível ser avaliada por WB. A análise protéica da aromatase também apresentou resultados semelhantes entre os grupos estudados. C: O presente estudo sugere ação da metformina em CG

luteinizadas *in vitro*, entretanto as vias de modulação da metformina sobre os receptores de Insulina, de IGF-1R, e da enzima Aromatase necessitam mais investigação.

07 - Contagem de folículos antrais (CFA) ou idade: o que é determinante para a resposta ovariana e para a gravidez ?

Telles de Souza, I.D.¹; Telles, A.P.P.¹; Abud, P.D.N.¹; Araujo, A.A.S.²; Freitas, D.P.¹; Nascimento, V.C.P.S.¹

¹Fertilidade Medicina Reprodutiva; ²Universidade Federal de Sergipe

OBJETIVO: Determinar se a dose de gonadotrofinas estimada pela idade e ajustada pela contagem de folículos antrais (CFA), antes do estímulo ovariano em ciclos de ICSI, pode ser determinante para a resposta ovariana e para a gravidez. **MÉTODOS:** Estudo coorte retrospectivo, que avaliou 112 paciente de ciclos de ICSI, de outubro de 2009 a março de 2011 (15 ciclos). As pacientes foram divididas de acordo com Idade: grupo 1: < 30 anos, grupo 2: 31-35, grupo 3: 36-39, Grupo 4: >40 anos. Avaliou-se nestes grupos a dose de gonadotrofinas ajustada pela CFA, os dias de estimulação, o número de oócitos M2, taxas de implantação, de gestação e de abortamento. A CFA (3mm -10 mm), foi realizada no 2º ou 3º dia do ciclo, por meio de ultrassonografia transvaginal, pelo mesmo observador. **RESULTADOS:** Pacientes do grupo 1 tem maior quantidade de FA, usam menos gonadotrofinas ($p<0,001$). As do grupo 3 e 4 assemelham-se quanto a: quantidades de FA, doses de gonadotrofinas e oócitos M2 captados, mas a taxa de gravidez é maior no grupo 3 (36% x 23,53%) ($p=0,051$). Houve necessidade de dose maior de gonadotrofinas no grupo 2 para obter mesma quantidade de M2 do grupo 1 ($p<0,001$). A taxa de gravidez foi maior no grupo 2 (59,62%) do que no grupo 1 (44,44%) ($p=0,051$), mas o grupo 1 teve a maior taxa de implantação ($p<0,05$). A taxa de abortamento foi maior no grupo 4 (50%) e menor no grupo 1 (12,5%). Não houve diferença nos dias de estimulação. **CONCLUSÃO:** A dose de gonadotrofinas estimada pela idade e ajustada pela contagem de folículos antrais (CFA) antes do estímulo ovariano em ciclos de ICSI permite maximizar a resposta ovariana. A idade é determinante nas taxas de gravidez e abortamento.

08 - Estudo da toxicidade reprodutiva e potencial mutagênico de um fitoterápico contendo *cinchona calisaya*; *jateorhiza palmata*; *centaurim erythraea*; *baccharis trimera*; *artemisia absinthium*; *matricaria chamomilla* e *cinnamomum cassia*.

Amaral, V.L.L.¹; Cordini, M.²; Frajblat, M.³; Graf, A.C.L.³; Artuso, S.³; Andrade, S.F.³

¹PROCRIAR; UNIVALI; ²CLUIUS; ³UNIVALI

O uso de plantas medicinais é amplamente difundido e a maior parte dos fitoterápicos comercializados é de venda sem prescrição médica. Um dos principais problemas da utilização destes produtos é a crença de que produtos

de origem vegetal são isentos efeitos tóxicos. As gestantes constituem um grupo populacional que culturalmente recorre ao uso de fitoterápicos, por acreditarem que não causam danos ao feto. A formulação fitoterápica (Água Inglesa®), contendo *Cinchona calisaya* (quinina); *Jateorhiza palmata* (calumba); *Centaurium erythraea* (fel-da-terra); *Baccharis trimera* (carqueja); *Artemisia absinthium* (losna); *Matricaria chamomilla* (camomila) e *Cinnamomum cassia* (canela da china), é indicado como tônico e aperiente. Porém, tem sido utilizado empiricamente para tratar infertilidade. Este estudo foi o primeiro a investigar este composto e seus efeitos sobre a reprodução em fêmeas de camundongos. O composto foi administrado diariamente por 42 dias, em três doses diferentes, abrangendo o período pré-acasalamento, acasalamento e período de embriogênese e implantação. Foram avaliados os sinais clínicos de toxicidade, variação na massa corporal e peso do fígado, além das variáveis que indicam toxicidade reprodutiva: cópula, gestação, perdas pré e pós-implantação, índice placentário (peso da placenta/peso do feto), malformações maiores nos conceptos e potencial mutagênico pelo ensaio do micronúcleo em medula de óssea de camundongo. Os resultados, interpretados em conjunto, mostraram que a formulação fitoterápica investigada, não causou toxicidade sistêmica e reprodutiva quando administrado por via oral em dose preconizada para humanos, durante 42 dias em fêmeas de camundongos. Também não houve efeito genotóxico que possa induzir mutações. O grupo que recebeu três vezes a dose preconizada para humanos apresentou um maior ($p=0,001$) índice placentário em relação aos demais grupos, indicando efeito tóxico materno que de forma indireta afetou negativamente o peso dos fetos. A formulação fitoterápica pode ser considerada relativamente inócua, desde que seja administrada na dose indicada.

O9 - Acolhimento a usuários com infertilidade em hospital público de referência no Rio de Janeiro: alternativa de construção de saúde reprodutiva de qualidade

Costa, T.¹; Oliveira, E.A.¹; Mohamed, R.¹; Duarte, M.C.P.M.¹; Silva, W.J.J.¹; Souza, M.C.B.¹

¹UFRJ

INTRODUÇÃO: Ao abordar infertilidade, conflitos, tabus, sentimentos, estereótipos, cobranças se convertem em demandas de tecnologias para os serviços. No Brasil, há poucos serviços públicos gratuitos na área de reprodução. Além disso, é patente o aumento de mulheres com mais de 35 anos desejosas da primeira gravidez, muitas vezes excluídas nos critérios de acesso. A concepção de família e a dificuldade/impossibilidade de acesso à reprodução justificam a necessidade de atendimento interdisciplinar. **OBJETIVO:** Relatar estruturação de grupo interdisciplinar de acolhimento a usuários com infertilidade conjugal em serviço público de referência. **MÉTODOS** Análise das atividades ocorridas desde 2008 e de pilotos de grupos de acolhimento permitiu selecionar dúvidas, questionamentos e anseios dos usuários. Reuniões semanais consolidaram elaboração de material apresentando o serviço e ficha de pré-consulta multidisciplinar. O depoimento/análise dos profissionais subsidiou discussão e consolidação da prática educativa. **RESULTADOS:** A rotina de acolhimento, embasada na pedagogia da problematiza-

ção com escuta sensível, compreende: (1) apresentação do serviço e equipe multiprofissional a grupos (10 a 15 casais), visando discutir expectativas de tratamento; (2) pré-consulta, consolidando o acesso, referência e contra-referência em saúde reprodutiva. Foram selecionados questionamentos dos casais para compor a apresentação, subsidiando discussões e processo de construção compartilhada do conhecimento: sobre o serviço, a tecnologia reprodutiva (distinção entre inseminação artificial e fertilização in vitro), efetividade do tratamento e alternativas de solução. Discussão recorrente compreendeu a impossibilidade de atendimento inteiramente gratuito e a obrigação de procriar, como consolidação da família, corroborando dados do serviço: 54,7% das usuárias (2008 – 2010) com infertilidade primária. **CONCLUSÕES:** Participar de grupo de acolhimento permite que usuários reflitam sobre vivências, angústias e alternativas de solução à infertilidade, como sujeitos ativos do processo. Ampliar o acesso e desmistificar sua viabilidade deve considerar parcela da população que desconhece e sequer busca os serviços e outra que se mantém vinculada a eles, presa pelo desejo/obrigação de gerar filhos. A educação em serviço de saúde consolida processo de construção compartilhada do conhecimento e alfabetismo científico como forma de empoderamento em prol da promoção da saúde reprodutiva. Apoio Pibex-UFRJ.

O10 - Impacto clínico da nova lei brasileira de reprodução assistida: um avanço real na redução de múltiplos?

Schneider, D.T.¹; Esteves, S.C.¹

¹Androfert

OBJETIVO: A nova lei brasileira que foi aprovada em 2011 estipula que não mais do que dois ou três embriões devem ser transferidos ao útero de mulheres abaixo dos 36 anos e entre 36 e 39 anos, respectivamente. Assim, a nova regulamentação proíbe a prática utilizada por muitos serviços de transferir até quatro embriões independente da idade da paciente. O objetivo deste estudo é de analisar o impacto futuro da nova regulamentação nas taxas de bebês nascidos e multiparidade. **MÉTODOS:** Foram incluídos 1468 ciclos de ICSI, divididos em três grupos de acordo com a idade materna: grupo (i) ≤ 35 anos; grupo (ii) 36-39 anos e grupo (iii) ≥ 40 anos. Taxa de bebês nascidos e de gestação múltipla foram comparadas de acordo com o número de embriões transferidos em cada categoria, e de acordo com a presença de fator masculino grave. Regressão logística foi realizada para avaliar o impacto da redução do número de embriões transferidos no número de bebês nascidos e no número de múltiplos. **RESULTADOS:** O limite de embriões transferidos imposto pela nova lei não deve alterar as taxas de bebês nascidos nos grupos (i) (45,7% versus 44,4%) e (ii) (48,7% versus 42,5%). Por outro lado, redução significativa deverá ser observada nas taxas de multiparidade nas mulheres do grupo (i) (21,0% versus 34,1%) devido à dramática redução no percentual de gestações triplas (decréscimo de 9X; $p=0,009$). No grupo (ii) as taxas de gestação múltipla não se alteram (22,0% versus 23,7%). Em casais cujo homem tenha um fator masculino grave, houve redução nas taxas de bebês nascidos (28,0% versus 39,1%) e de gestação múltipla (9,3% versus 23,5%), embora de forma não significativa ($p=0,06$). **CONCLUSÕES:** A nova lei brasileira para reprodução

assistida parece ter um impacto positivo na redução de gestações múltiplas, sem prejudicar as chances de bebês nascidos em mulheres jovens. Em mulheres acima de 36 anos a lei parece não ter nenhum tipo de impacto. Uma tendência negativa nas taxas de bebês nascidos parece ocorrer nos casos de fator masculino grave, devendo ser melhor investigada.

O11 - A idade materna não afeta as taxas de implantação embrionária em embriões euploides: o valor do CGH-array associado a biópsia de blastocisto em ciclos de FIV

Alegretti, J.R.¹; De Paula, T.S.¹; Mattila, M.C.²; Hassun, P.A.³; Serafini, P.¹; Eduardo Motta¹

¹Huntington - Medicina Reprodutiva; ²Hospital e Maternidade Santa Joana; ³Genesis Genetics Brasil

OBJETIVO: Avaliar as taxas de implantação de embriões humanos euploides, transferidos "a fresco", após biópsia em fase de blastocisto, com análise por Hibridação Genômica Comparativa por microarranjos (CGH-array) e determinar sua eficácia em diferentes grupos etários de pacientes submetidos a ciclos de Fertilização In Vitro (FIV). **MÉTODOS:** Entre novembro de 2010 e abril de 2011 foram analisados 101 ciclos de casais submetidos à FIV. Os ciclos foram divididos em: A) idade materna até 37 anos; B) idade materna > 38 anos. Todos os embriões que em cultivo apresentaram número maior de 04 células em dia 3 foram submetidos ao Hatching assistido por sistema de laser e mantidos em cultivo triplo-gás por 48 horas. Aqueles que atingiram o estágio de blastocisto, procedeu-se a biópsia no dia 5 de cultivo, após comprovação de herniação das células trofoblásticas e enviada para análise por CGH-array. Os embriões foram mantidos em cultivo por mais 24 horas, no aguardo do resultado e, os diagnosticados como euploides, foram transferidos ao útero em dia 6. Os testes de Mann Whitney e t de Student foram utilizados quando apropriados. Taxas de gestação, cancelamento e implantação foram analisadas pelo Teste Z para duas proporções. **RESULTADOS:** Observou-se de forma significativa, maior taxa de ovócitos recuperados no grupo A em relação ao B (A = 11,2±5,3; B = 9,2±5,6; p=0,04), em metáfase II (9,6±4,6; 7,5±4,4; p=0,03) e fertilizados (8,0±4,1; 7,5±4,0; p=0,03); assim como de blastocistos formados (3,6±2,1; 2,6±1,7; p=0,009). Além disso, uma menor taxa de embriões aneuploides pela análise do CGH foi verificada no Grupo A em relação ao B (A = 62,8±31%; B = 83,9±27%; p=0,001), acarretando maior taxa de cancelamento dos ciclos (A = 33,33%; B = 58,5%; p=0,009). Contudo, não foram encontradas diferenças no número de embriões transferidos (A = 1,5±0,5; B = 1,4±0,5; p=0,2), implantação (40,4%; 42,8%; p=0,8) e, sobretudo, nas taxas de gestação (A=55,2% e B=50,0%; p=0,7). **CONCLUSÕES:** A análise dos resultados sugere que, independente da idade materna, a presença de embriões euploides ao CGH-array, oferece chances iguais de implantação e gestação, demonstrando que a euploidia de todo o complemento cromossômico é fundamental na gravidez. Já o cultivo até a fase de blastocisto, seleciona um menor número de embriões a serem analisados e posteriormente transferidos. Por fim, a biópsia embrionária em dia 5 e posterior transferência a fresco no dia 6, mostrou ser uma técnica eficaz.

O12 - Análise comparativa entre diferentes sistemas de criopreservação de tecido ovariano de ratas wistar

Oliveira, I.C.L.¹; Montenegro, I.S.¹; Terraciano, P.B.¹; Paz, A.H.¹; Cirne-Lima, E.O.¹; Passos, E.P.¹

¹HCPA

A criopreservação de tecido ovariano é uma técnica promissora para a preservação da fertilidade. O objetivo deste trabalho foi determinar o protocolo mais eficiente de criopreservação de tecido ovariano utilizando o sistema automático de congelamento, para comparar a integridade do tecido ovariano congelado através de duas diferentes curvas de congelamento combinadas com dois diferentes crioprotetores. Utilizamos 20 ratas Wistar que foram submetidas à oofarectomia bilateral. Os ovários foram divididos e congelados em dimetilsulfóxido (DMSO) e etilenoglicol (EG) e foram analisadas duas curvas de congelamento (curva lenta e rápida). As amostras de tecido, após congelamento, foram descongeladas, fixadas e processadas para a coloração com hematoxilina e eosina para a análise da integridade dos oócitos. Foi feita a quantificação dos folículos e análise do dano tecidual. Para a análise folicular foi utilizado o microscópio óptico e realizou-se a classificação dos folículos pré-antrais de acordo com o estágio de desenvolvimento em primordiais e primários. Os resultados foram submetidos à ANOVA e as comparações entre as médias foram feitas pelo teste de Tukey (P<0,05). Nos resultados foi observado que no tecido criopreservado os folículos que persistiram íntegros em cada ovário foram os primordiais em 79% e primários em 29%. Entre as alterações reversíveis identificaram-se vacuolização citoplasmática e contorno irregular. Quanto às alterações irreversíveis foi encontrado picnose. Concluindo, no tecido ovariano criopreservado, foram encontrados apenas folículos primordiais e primários apresentando alterações histológicas reversíveis e irreversíveis. O crioprotetor EG promoveu uma melhor preservação folicular, e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, quando se comparou as duas curvas de congelamento.

O13 - Aspectos nutricionais na infertilidade: um estudo caso-controle

Santos, L.P.¹; Nicoletto, B.B.¹; Becker, G.F.¹; Montenegro, I.S.¹; Passos, E.P.¹; Moulin, C.C.¹

¹UFRGS

OBJETIVO: Caracterizar o perfil nutricional e metabólico de homens com diagnóstico de sub-fertilidade e verificar correlações entre parâmetros nutricionais, hormônios sexuais e SHBG. **MÉTODOS:** Estudo transversal com braço-controle. Foram avaliados 18 homens com diagnóstico de sub-fertilidade (casos) e 9 homens pareados por idade sem causa aparente de infertilidade (grupo controle). Fatores de exclusão: alterações genéticas, distúrbios endócrinos, diabetes melito, câncer, insuficiência hepática ou renal, tabagismo, alcoolismo ou contato com metais pesados ou agrotóxicos. Todos os indivíduos assinaram o TCLE. Parâmetros avaliados: Índice de Massa

Corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), percentual de gordura corporal (%GC), glicose, insulina, perfil lipídico, FSH, LH, estradiol, prolactina, testosterona, SHBG, A1c% e HOMA-IR. **RESULTADOS PRELIMINARES:** O estudo está em fase de coleta de dados, sendo a amostra final prevista de 34 homens em cada grupo. O IMC (kg/m²) médio dos grupos foi de 28,6 (casos) e 27,2 (controles). Não houve diferença nos parâmetros avaliados entre os grupos. Quando analisados todos os indivíduos, os níveis de testosterona se correlacionaram negativamente com IMC ($r=-0,76$; $p<0,001$), %GC ($r=-0,59$; $p=0,001$), CC ($r=-0,59$; $p=0,001$), HOMA ($r=-0,85$; $p<0,001$) e TG ($r=-0,53$; $p=0,005$); e positivamente com HDL ($r=0,54$; $p=0,004$). A concentração de LH apresentou correlação negativa com IMC ($r=-0,44$; $p=0,02$), HOMA ($r=-0,60$; $p=0,001$) e TG ($r=-0,42$; $p=0,03$). Houve correlação negativa também entre os valores de SHBG e IMC ($r=-0,77$; $p<0,001$), %GC ($r=-0,59$; $p=0,001$), CC ($r=-0,57$; $p=0,002$), HOMA ($r=-0,80$; $p<0,001$) e TG ($r=-0,69$; $p<0,001$). **CONCLUSÕES:** Apesar de os dados não apontarem diferença entre os grupos nas variáveis avaliadas, as correlações observadas demonstram que o excesso de adiposidade corporal, em especial a visceral, exerce influência deletéria sobre os parâmetros relacionados à fertilidade.

O14 - Efeito da injúria local ao endométrio prévia a indução da ovulação em técnicas de reprodução assistida: resultados preliminares

Nastri, C.O.¹; Ferriani, R.A.¹; Martins, W.P.¹

¹Departamento de Ginecologia e Obstetria (DGO), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, Brasil

OBJETIVO: Verificar se a injúria endometrial realizada uma vez previamente à indução da ovulação pode melhorar o resultado das técnicas de reprodução assistida em mulheres não selecionadas. **MÉTODOS:** Estudo controlado triplo-cego com alocação aleatória em grupos paralelos na razão de 1:1. Foram convidadas as mulheres submetidas a técnicas de reprodução assistida com transferência de embriões frescos no HC/FMRP-USP. Foram incluídas aquelas que consentiram por escrito e nenhuma mulher foi excluída, para se respeitar o princípio de intenção de tratamento. No grupo da intervenção foi realizada biópsia endometrial com Pipelle de Cornier® entre 7 e 14 dias antes do início da indução da ovulação. No grupo controle foi realizado um procedimento simulado constituído de exame especular e secagem do colo com gaze. Todas as participantes usaram anticoncepcionais orais por pelo menos 21 dias antes do início da indução da ovulação e os protocolos de estimulação ovariana foram semelhantes entre os grupos. Avaliação ultrassonográfica com Doppler tridimensional do endométrio foi realizada no dia da indicação do uso de hCG para indução final da ovulação, com o aparelho Voluson 730 Expert. Para ter um poder de 80% de detectar uma diferença relativa de 50% na taxa de gravidez clínica (de 30% para 45%), com nível de significância de 5% serão necessárias 160 participantes por grupo. Análises de interim foram programadas após a inclusão inicial de 60 mulheres e a cada inclusão de 30 mulheres. **RESULTADOS:** Na análise de interim realizada após a inclusão de 120 mulheres observamos: taxa de gravidez clínica de 46,7%(28/60) vs. 30%(18/60);

RR[IC95%]=1,56[0,97;2,49]; $p=0,09$; injúria endometrial vs. controle respectivamente; taxa de gestação múltipla de 11,7%(7/60) vs. 8,3%(5/60); RR[IC95%]=1,40[0,47;4,17]; $p=0,76$; e taxa de implantação de 30,3%(36/119) vs. 18,7%(23/113) RR[IC95%]=1,49[0,94;2,34]; $p=0,09$. Não observamos diferença significativa na espessura ($10,01\pm 1,53$ vs. $10,09\pm 1,21$; $p=0,77$) ou volume endometrial ($5,98\pm 1,63$ vs. $6,13\pm 1,54$; $p=0,62$); entretanto observamos uma tendência a aumento dos índices Doppler VI ($3,95\pm 2,23$ vs. $3,15\pm 1,87$; $p=0,05$) e VFI ($1,00\pm 0,57$ vs. $0,80\pm 0,45$; $p=0,05$). **CONCLUSÃO:** Os resultados preliminares mostram que injúria endometrial está associada à tendência de melhora dos resultados da reprodução assistida e ao aumento da vascularização endometrial. Em razão de não haver ainda diferença estatística nos resultados, o estudo será continuado.

O15 - Impacto dos hábitos alimentares e sociais masculinos nos resultados dos ciclos de reprodução assistida

Figueira, R.C.S.¹; Braga, D.P.A.F.²; Setti, A.S.³; Halpern, G.¹; Iaconelli Jr., A.²; Borges Jr., E.²

¹Fertility – Centro de Fertilização Assistida; ²Fertility – Centro de Fertilização Assistida e Instituto Sapientiae; ³Instituto Sapientiae

OBJETIVO: Investigar a influência do estilo de vida do parceiro masculino, incluindo hábitos alimentares e sociais, na qualidade do sêmen e no sucesso da injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). **MÉTODOS:** Este estudo observacional incluiu 250 pacientes do sexo masculino que completaram um questionário antes do início do ciclo de ICSI. O questionário continha questões de múltipla escolha sobre a frequência do consumo de alimentos durante o ano anterior. A frequência de consumo de alimentos foi registrada em uma escala de cinco valores, que iam desde a ausência de consumo ao consumo diário. Um questionário diferentes registrou informações sobre a prática de exercício físico, perda de peso, dieta e hábitos, e número de refeições diárias. Modelos de regressão logística foram utilizados para avaliar os efeitos dos hábitos alimentares e sociais sobre os parâmetros seminais, taxas de fertilização, gestação, implantação e aborto foram investigados. Os resultados foram expressos como coeficiente de regressão (RC) ou odds ratio (OR) com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de p . **RESULTADOS:** A concentração espermática foi negativamente influenciada pelo consumo de álcool (RC: -5,0, $p < 0,01$) e positivamente influenciada pelo consumo de cereais (RC: 15,2, $p < 0,01$) e número de refeições diárias (RC: 5,8, $p = 0,046$). A motilidade espermática também foi negativamente influenciada pelo consumo de álcool (RC: -8,5, $p < 0,01$) e tabagismo (RC: -8,0, $p = 0,013$), enquanto foi positivamente influenciada pelo consumo de frutas (RC: 7,4, $p = 0,028$) e cereais (RC: 10,9, $p < 0,01$). O consumo de álcool teve influência negativa sobre a taxa de fertilização (RC: -3,9, $p = 0,007$). O consumo de carne vermelha (RC: -36,2, $p = 0,003$), bem como estar em uma dieta de redução de peso (RC: -18,0, $p = 0,019$) tiveram um impacto negativo sobre a taxa de implantação. Além disso, o consumo de carne vermelha (OR: 0,06, IC: 0,06-0,7, $p = 0,04$) e estar em uma dieta de redução de peso

(OR: 0,21, IC: 0,01-0,19, $p = 0,01$) tiveram um efeito drástico sobre a probabilidade de gestação. **CONCLUSÕES:** A qualidade do sêmen e os resultados de ICSI podem ser influenciados pelos hábitos alimentares e sociais masculinos e, portanto, os casais que procuram tratamentos de reprodução assistida devem ser alertados sobre o efeito do estilo de vida masculino no sucesso do tratamento.

O16 - Infertilidade e configurações emocionais identificadas pelo diagnóstico psicológico

Melamed, R.M.¹; Cortezzi, S.S.²; Setti, A.S.²; Vingris, L.³; Iaconelli Jr., A.⁴; Borges Jr., E.⁴

¹Fertility - Centro de Fertilização Assistida; ²Instituto Sapientiae; ³Fertility – Centro de Fertilização Assistida; ⁴Fertility – Centro de Fertilização Assistida e Instituto Sapientiae

OBJETIVO: O objetivo deste estudo foi investigar a resposta emocional do paciente infértil e possíveis alterações de acordo com a causa da infertilidade, utilizando técnicas projetivas gráficas, entrevistas e inquérito psicológico. **MÉTODOS:** Foram incluídos 62 pacientes com diagnóstico de infertilidade (27 homens e 35 mulheres), atendidos entre julho de 2010 e abril de 2011. O profissional de Psicologia realizou os atendimentos. Foi realizada uma entrevista semi dirigida seguida da realização do desenho da figura humana e posteriormente de uma família. O inquérito psicológico foi conduzido a fim de obter maior possibilidade de compreensão e interpretação do material. **RESULTADOS:** Os padrões de respostas das vivências estigmatizantes do indivíduo infértil são múltiplos. Apesar de cada indivíduo construir sua identidade e apresentá-la aos demais de forma única, há evidências de padrões de respostas que se repetem. Foi observado que 65,7% das mulheres representam a família com 4 elementos (1filho e 1 filha). Possuir um filho de cada gênero vincula-se à idéia de que a cada membro do casal parental seria atribuída a função tangenciada pela formação biopsicossocial da descendência de acordo com o modelo que provém. A expressão gráfica para 51,8% dos homens apresenta apenas 3 elementos, sendo a criança com identificação masculina. Este resultado corrobora a afirmação "o desejo de procriar para o homem está associado à transmissão da filiação". Os participantes com diagnóstico de azoospermia primária, ao desenharem a figura humana, representaram a mesma somente pela gravura da cabeça, negligenciando o corpo. O processo afetivo de denegação do prazer e do desprazer visa protegê-los de uma experiência desagradável. A representação da família, por sua vez, parece restabelecer a capacidade de expressar o corpo que fora suprimido no desenho anterior, como mecanismo de defesa que se dá pela racionalização. **CONCLUSÃO:** A temática da reprodução traz em si imbricados aspectos de diferentes domínios (biológicos, sociais e culturais). A impossibilidade de obtenção de filhos de maneira espontânea gera queda da auto-estima e estigmatização. Foram observadas diferenças nas expressões gráficas de acordo com a causa da infertilidade e na relação de gênero; revelando que este instrumento possibilita a avaliação e fornece elementos para o trabalho terapêutico a ser realizado com pacientes em processo de reprodução humana assistida. **CONTATO:** orgelerner69@hotmail.com

Posterres

P01 - Influência dos fatores masculinos e femininos de infertilidade nas dosagens de progesterona e β - HCG após a utilização de duas formas de progesteronas administradas via vaginal.

Macedo, J.F.¹; Gomes, L.M.O.¹; Ferreira, D.A.F.¹; Melo, K.R.B.¹

¹Clínica Reprofert

OBJETIVOS: Correlacionar a influência do fator de infertilidade feminino, masculino ou ambos (feminino/masculino) com as dosagens de progesterona, β - HCG e taxa de gravidez, nos ciclos de reprodução assistida, após a administração de duas formas de progesterona micronizada em gel e em cápsula, ambas administradas via vaginal na fase lútea. **MÉTODOS:** Analisaram-se retrospectivamente 32 ciclos de tratamento de reprodução assistida. As pacientes possuíam ambos os ovários e foram submetidas a ciclos de FIV e ICSI; a idade média das pacientes tratadas com a cápsula foi de $34,72 \pm 4,34$ e as com o gel foi de $32,62 \pm 3,91$, a média dos embriões foi de $2,61 \pm 0,64$ e $2,47 \pm 0,72$, respectivamente. Os resultados foram avaliados de acordo com as dosagens de β - HCG e progesterona no 12º dia após a transferência embrionária. **RESULTADOS:** Para a dosagem realizada no grupo onde o fator masculino prevalecia, encontramos uma diferença estatística significativa de $P < 0,001$ para as dosagens de progesterona em relação à forma gel e cápsulas, e $P < 0,05$ para a comparação das taxas de gravidez independente da forma de progesterona administrada. Os resultados não foram estatisticamente significantes para o uso dos dois tipos de progesterona e β - HCG na dosagem dos grupos influenciados pelo fator feminino de infertilidade ou ambos (feminino/ masculino). As demais variáveis não foram estatisticamente significantes para o fator masculino, não ocorreram também diferenças para as taxas de gravidez e aborto, para as dosagens de β - HCG e progesterona para os casos influenciados pelos fatores de infertilidade femininos ou ambos (femininos e masculinos). **CONCLUSÃO:** O estudo demonstrou que as taxas de gravidez foram similares no uso de progesterona na forma de gel ou cápsula; porém, quando se comparou as taxas de gravidez independentemente do tipo de progesterona, observamos que é maior nos casos onde o fator de infertilidade é masculino, e também influenciou na dosagem de progesterona. Entretanto, são necessários maiores estudos a respeito da influência da infertilidade masculina com relação à alteração dos níveis de progesterona e gravidez. Os estudos terão continuidade para elevarmos o n amostral e obtermos resultados mais conclusivos.

P02 - Protocolo com uso de clomifeno, gonadotrofinas e antagonista vs. protocolo com uso de agonista e gonadotrofinas para indução da ovulação em reprodução

assistida: metanálise de estudos controlados com alocação aleatória

Martins, W.P.¹; Figueiredo, J.B.P.¹; Vieira, A.D.D.¹; Ferriani, R.A.¹; Nastri, C.O.¹

¹FMRP-USP

OBJETIVO: Comparar os protocolos com clomifeno + gonadotrofinas + antagonista (CGA) com protocolos com uso de agonista + gonadotrofinas (AG) para a indução da ovulação em procedimentos de reprodução assistida. **MÉTODOS:** Foram pesquisados ensaios clínicos controlados com alocação aleatória comparando os protocolos CGA e AG. A busca eletrônica, extração dos dados e avaliação da qualidade metodológica foi realizada por dois autores independentes. A análise foi realizada utilizando Mantel-Haenszel (dados dicotômicos) e variância inversa (dados contínuos); os valores dos intervalos de confiança de 95% são apresentados entre colchetes. Uma diferença relativa de 20% foi considerada como mínima clinicamente relevante. **RESULTADOS:** A busca resultou em 523 artigos, sendo 3 incluídos nesta revisão (total de 522 mulheres avaliadas): 2 estudos incluíram mulheres “sem mau prognóstico” e 1 estudo mulheres com “má resposta prévia”. O uso de gonadotrofinas foi menor no protocolo CGA (-1200,27UI [-1777,72UI; -622,82UI]). Não houve diferença significativa na taxa de nascidos vivos (RR=1,16 [0,83; 1,60]) e gravidez clínica (RR=1,17; [0,90; 1,53]). No subgrupo “mulheres sem mau prognóstico”, não observamos diferença significativa na espessura endometrial (-0,00mm [-0,11mm; 0,11mm]) e no número de dias de estimulação (-0,2dias [-0,59dias; 0,19dias]), porém houve um menor número de oócitos MII (-3,15 [-6,07; -0,22]) e uma tendência de redução de síndrome de hiperestimulação ovariana (RR=0,19 [0,03; 1,11]). Já no subgrupo “má resposta prévia”, houve um aumento na espessura endometrial (0,68mm [0,2mm; 1,07mm]), um aumento no número de oócitos MII (2,11 [0,84; 3,38]) e uma redução no número de dias de estimulação (-0,44dias [-0,76dias; -0,13dias]). **CONCLUSÕES:** O protocolo CGA leva a uma redução na quantidade de gonadotrofinas utilizadas e não piora em 20% ou mais os principais resultados, sendo observada inclusive uma melhora discreta na taxa de nascido vivo (+16%) e gravidez clínica (+17%). Em mulheres sem mau prognóstico, existe uma redução no número de oócitos MII, porém há uma tendência de redução acentuada no risco de síndrome de hiperestimulação ovariana. Em mulheres com má resposta prévia o protocolo CGA está associado a um maior número de oócitos MII, maior espessura endometrial e menor número de dias de indução. O protocolo CGA parece uma alternativa mais barata e provavelmente mais segura para mulheres sem mau prognóstico e mais barata e eficaz para as com má resposta prévia.

P03 - Queda na produção espermática : análise de 23.342 casos durante um período de 20 anos

Nascimento, J.A.A.¹; Fazano, F.A.T.¹; Morais, S.¹; Gabiatti, J.R.E.¹; Bahamondes, L.¹

¹UNICAMP

OBJETIVO: Analisar os parâmetros seminais (motilidade espermática (A+B), vitalidade, volume, concentração espermática) em todos os exames realizados no Labora-

tório de Reprodução Humana (LRH) – CAISM/UNICAMP entre 1989 a 2009. **MÉTODOS:** As médias de cada variável foram avaliadas quanto à modificação em relação aos anos através de regressão linear polinomial utilizando o programa SAS 9.2. Os dados foram extraídos do banco de registros informatizado específico do Laboratório de Reprodução Humana – CAISM/UNICAMP. Foram calculadas as médias anuais de cada variável considerando-se a totalidade dos exames (independente da idade dos pacientes) e estratificadas segundo a categorização das idades dos pacientes por faixas etárias. Assim foram formados quatro grupos distintos sendo: i) < 29 anos; ii) 30 a 39 anos; iii) 40 a 49 anos; iv) > 50 anos. Todos os exames foram analisados pela mesma equipe do laboratório ao longo do tempo e tiveram a mesma padronização de técnicas e análises. **RESULTADOS:** Foram incluídos no estudo 23.342 exames realizados no período de 20 anos. Tanto a motilidade quanto a vitalidade permaneceram constantes ao longo do tempo. O volume do ejaculado apresentou uma leve tendência para redução principalmente nos últimos quatro anos do período e esse declínio foi reforçado principalmente pelo grupo de pacientes com idade < 30 anos e também pelo grupo na faixa etária entre 30 a 39 anos. Os dados mostraram que há uma forte tendência de diminuição na concentração de espermatozoides (tanto na concentração/ml quanto na []/total) e a faixa etária mais afetada corresponde aos homens em idade reprodutiva, ou seja no grupo < 30 anos e no grupo de 30-39 anos. **CONCLUSÕES:** A suspeita mundial de que esteja havendo uma redução na qualidade do sêmen ao longo do tempo foi confirmada no presente trabalho. Esses dados correspondem ao primeiro estudo desta magnitude realizado na América Latina.

P04 - Resposta dos folículos antrais após administração de hormônio folículo-estimulante mensurada através da *follicular output rate* (FORT) não é influenciada pelos frequentes polimorfismos do receptor do hormônio folículo-estimulante

Genro, V.K.¹; Andreoli, C.G.¹; Matte, U.²; Souza, C.A.B.²; Schmitz, C.R.³; Cunha-Filho, J.S.¹

¹UFGRS; ²HCPA; ³UFGRS

OBJETIVO : O objetivo do trabalho é verificar se portadoras de uma mutação comum de único nucleotídeo (single-nucleotide polymorphisms SNPs) do receptor do hormônio folículo-estimulante (FSHR) mostram resposta reduzida dos folículos antrais após administração de FSH, mensurada pela FORT. **MÉTODOS:** Foi realizado um estudo transversal prospectivo em um hospital universitário da França, incluindo 124 pacientes caucasianas candidatas à fertilização in vitro. As variantes FSHR 307Ala e 680Ser foram testadas e divididas em 2 grupos de acordo com a posição 307 (307Thr/Thr, n=32; 307Thr/Ala-Ala/Ala, n=96) e em 2 outros grupos de acordo com a posição 680 (680Asn/Asn, n=49; 680Asn/Ser-Ser/Ser, n=75). Níveis séricos de FSH, estradiol e hormônio anti-Mülleriano (AMH) foram dosados no 3º dia do ciclo. Hiperestimulação ovariana controlada foi completada utilizando doses iniciais semelhantes de FSH. Foram realizadas contagem de folículos antrais de 3-8mm (AFC) e contagem de foli-

culos pré-ovulatórios de 16-22mm (PFC). **RESULTADOS:** A prevalência dos genótipos 307Thr/Ala-Ala/Ala e 680Asn/Ser-Ser/Ser foi 73.3% e 60.4%, respectivamente. Apesar dos níveis de estradiol e AMH não diferirem significativamente entre portadoras do SNPs e controles, os níveis de FSH foram mais altos em 680Asn/Ser-Ser/Ser (6.7 ± 2.0 vs. 5.9 ± 1.8 mIU/mL, $P < 0.05$). Entretanto, FORT permaneceu semelhante em genótipos 307Thr/Ala-Ala/Ala (41.1%; 5.0-91.6%) versus 307Thr/Thr (44.4%; 17.3-83.3 %) e em genótipos 680Asn/Ser-Ser/Ser (40.0%; 5.0-91.6%) versus 680Asn/Asn (42.2%; 8.3-90.0%). **CONCLUSÕES:** A resposta dos folículos antrais ao FSH, mensurada pela FORT, não é influenciada pela presença de SNPs 307Ala e 680Ser do receptor de FSH.

P05 - Utilização de biópsia embrionária associada à CGH-array em ciclos de fertilização *in vitro* de pacientes com sucessivas falhas de implantação

Criscuolo, T.S.¹; Alegretti, J.R.¹; Hassun, P.A.²; Nicolielo, M.¹; Motta, E.L.A.¹; Serafini, P.¹

¹Huntington - Medicina Reprodutiva; ²Genesis Genetics Brasil

OBJETIVO: Avaliar a eficácia do diagnóstico genético pré-implantacional pela técnica de Hibridação Genômica Comparativa por microarranjos (DPI-CGH) em pacientes submetidas a ciclos Fertilização In Vitro (FIV) com histórico de 3 ou mais falhas de implantação. **MÉTODOS:** No período entre novembro de 2010 e abril de 2011 foram analisados retrospectivamente 50 ciclos de FIV com DPI-CGH, que possuíam histórico de 3 ou mais falhas anteriores de implantação. Incluíram-se no estudo, biópsias embrionárias em D3, cujos embriões apresentavam > 6 células, ou embriões submetidos à biópsia em D5 já no estágio de blastocisto. Todas as biópsias foram realizadas com auxílio de sistema de laser e os embriões mantidos em cultivo triplo-gás até o momento da transferência. Estas foram realizadas em dia 5, se biópsia em D3 ou, em dia 6, se a biópsia em D5. A comprovação da gestação deu-se por exame de sangue e ultrassonografia. A análise descritiva dos dados foi realizada pelo programa SAS. **RESULTADOS:** A idade média das pacientes foi de 37 ± 4 anos, apresentando em média $9,15 \pm 5,6$ oócitos recuperados por paciente; sendo $7,68 \pm 5$ em metáfase II e $6,42 \pm 4,3$ de fertilizados. Foram biopsiados 135 embriões, sendo 47 (34,8%) em D3 e 88 (65,2%) em D5 e não foram observadas diferenças estatísticas entre estes grupos quando analisadas as taxas de implantação e gestação, bem como no número de embriões transferidos. O grupo estudado apresentou uma taxa de aneuploidia de 77,14% e uma taxa de cancelamento de ciclo de 54,0%. Foram transferidos em média $1,48 \pm 0,6$ embriões por paciente, independente do dia da transferência. As taxas de gestação e implantação foram de 56,5% e 35,1%, respectivamente. **CONCLUSÕES:** A utilização do DPI-CGH em ciclos de FIV mostrou-se uma ferramenta importante para os casais com histórico prévio de falhas recorrentes. A técnica permitiu avaliar corretamente quais os casais que apresentaram embriões euploides e, portanto, aptos à transferência, com resultados similares a grupos sem este histórico. Vislumbra ainda, para aqueles casais com sucessivas falhas, determinar o possível mecanismo do insucesso e aconselhar a outras condutas terapêuticas.

P06 - Efeitos da vitrificação em uma cubeta metálica sobre a morfologia de ovários murinos

Bos-Mikich, A.¹; Orlandi, A.P.²; Marques, L.³; Rodriguez, J.L.⁴; Oliveira N.P.⁵; Lothammer, N.²

¹UFRGS; ²ICBS, UFRGS; ³Laboratório de Biotécnicas da Reprodução Faculdade de Veterinária da UFRGS; ⁴Laboratório de Biotécnicas da Faculdade de Veterinária da UFRGS; ⁵Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, POA, RS

OBJETIVO: Investigar histologicamente efeitos da vitrificação utilizando um carreador metálico sobre a morfologia dos folículos primários e primordiais e do estroma ovariano. **MATERIAL E MÉTODOS:** Ovários obtidos de camundongas jovens foram encaminhados a um dos 8 grupos experimentais. Gônadas ficaram em meio à temperatura ambiente, a 4°C ou a 37°C e a vitrificação ocorreu imediatamente, 2 hrs ou 4 hrs pós-coleta. A solução de equilíbrio (SE) constou de 7.5% de etilenoglicol (EG), 7.5% de dimetilsulfóxido (DMSO) e a de vitrificação (SV) de 15% EG, 15%DMSO e 0.5% de sacarose, ambas em TCM-199 + 20% soro fetal bovino. Ovários ficaram na SE por 15 min. e desta passaram para SV, de onde foram pinçados para uma cubeta de papel alumínio em < 90 segs. As "cubetas metálicas" foram expostas à superfície do NLIq fechadas e depositadas em crio-tubos submersos no NLIq, para serem armazenadas. O aquecimento dos ovários deu-se à temperatura ambiente seguido de banho-Maria por 10 segs e a remoção do crioprotetor em sacarose 1M e de 0.5M por 2 min. cada, antes da fixação para histologia. **RESULTADOS:** Folículos primordiais e primários apresentaram gradativamente mais alterações morfológicas conforme aumentou o período de permanência pré-vitrificação, em todas as temperaturas. Melhores resultados em termos morfológicos foram observados quando as gônadas ficaram a 4°C anteriormente à vitrificação. O estroma sofreu alterações maiores, quando as gônadas permaneceram à temperatura ambiente por 4hrs, sendo que o dano acentuou-se com o aumento do período pré-vitrificação em todas as temperaturas. **CONCLUSÕES:** Vitrificação em uma cubeta metálica é eficaz para manutenção da viabilidade folicular, especialmente dos folículos primordiais. A criopreservação deve ser realizada o mais rápido possível pós-coleta e os ovários devem ser mantidos a 4°C pré-vitrificação, para minimizar danos a estes folículos e ao estroma circundante.

P07 - Estudo comparativo entre IMC (índice de massa corporal) e número de oócitos recuperados em ciclos de reprodução humana assistida

Lima, A.M.¹; Torquato, S.E.F.¹; Freitas, T.A.¹; Rodrigues, F.E.M.¹; Sá, E.G.¹

¹BIOS - CENTRO DE MEDICINA REPRODUTIVA DO CEARÁ

OBJETIVO: A obesidade é um fenômeno mundial em constante crescimento. Segundo a Organização Mundial de Saúde 1,6 milhões de pessoas estão com sobrepeso. A ovulação é alterada com a obesidade e sabe-se que com o avançar da idade, o aumento das taxas de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) basal e Índice de Massa Corpórea (IMC) alteram negativamente os ciclos

de indução da ovulação desfavorecendo bons resultados em ciclos de Reprodução Assistida. O objetivo deste estudo é comparar o IMC ao número de óocitos recuperados após punção folicular. **METODOLOGIA:** Trata-se de estudo prospectivo comparativo realizado em mulheres atendidas no Centro de Medicina Reprodutiva BIOS de fevereiro a abril de 2010. Caracterizam-se os grupos: G1=22 (IMC =20–25Kg/m²) e G2=18 (IMC>25Kg/m²). O IMC é calculado dividindo o peso (quilos) pela altura (metros) ao quadrado. O bloqueio hipofisário foi agonista e a estimulação ovariana com FSH recombinante. Para avaliação dos dados estatísticos utilizou-se teste t–Student sendo significativo $p<0.05$. **RESULTADOS:** Idade média, FSH basal, valor de FSH no dia 3, dias de estimulação ovariana e unidades de FSH administrados entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa. O IMC médio para G1 foi 22,8 Kg/m² e para G2, 30.1 Kg/m², ($p<0.0001$) (Tabela 1). O número de óocitos recuperados em G1 foi 8.5 + 6.3 e em G2, 5.6 + 4.4, ($p=0.21$), não significantes (Gráfico 1). **CONCLUSÃO:** Embora pacientes com IMC>30Kg/m², apresentem alteração nos níveis de insulina e uma produção excessiva de hormônios masculinos, resultando em uma queda na produção de óocitos, nossos resultados não se mostraram estatisticamente significativos.

P08 - Prevalência de clamídia e infertilidade em pacientes submetidas a procedimento de reprodução assistida no hospital de clínicas de Porto Alegre

Montenegro, I.S.¹; Oliveira, I.C.L.¹; Terraciano, P.B.¹; Paz, A.H.¹; Cirne-Lima, E.O.¹; Passos, E.P.¹

¹HCPA

INTRODUÇÃO: A maior causa de subfertilidade feminina é a patologia tubária ocasionada por doença inflamatória pélvica e a clamídia tem sido implicada como o agente de maior prevalência na doença inflamatória pélvica. A estimativa da Organização Mundial de Saúde é que, anualmente, quase 100 milhões de novos casos ocorram em todo o mundo. Nenhum estudo avaliando a prevalência da infecção por clamídia em mulheres inférteis no nosso meio foi encontrado nas bases de dados. Nesse sentido, o presente trabalho se propõe a definir a prevalência dessa infecção em pacientes submetidas a procedimento de reprodução assistida no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram selecionadas as pacientes que foram submetidas a procedimento de reprodução assistida no ano de 2008 e dados foram coletados através de análise do prontuário eletrônico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Determinou-se a prevalência de clamídia em pacientes submetidas a procedimento de fertilização in-vitro. **RESULTADOS:** A prevalência de infecção por clamídia nas pacientes estudadas foi de 39%. Dentre as pacientes com sorologia positiva, 51% foram diagnosticadas como inférteis devido patologia de origem tubária. No grupo de pacientes que teve diagnóstico de infertilidade por causa tubária, 52% tinham sorologia positiva para clamídia. **Discussão:** Estudos epidemiológicos indicam que clamídia deve ser responsável pela maior parte dos casos de infertilidade de fator tubário, gravidez ectópica e perda gestacional e a Organização Mundial de Saúde estima que 18 – 20% das mulheres inférteis apresentam infecção em atividade por clamídia. Nossos dados corroboram com a suposição da

Organização Mundial de Saúde e os achados destes autores, de que a clamídia está intimamente associada com a infertilidade de causa tubária. Mulheres inférteis devido oclusão tubária podem ficar grávidas com auxílio de fertilização in-vitro. Entretanto essas mulheres apresentam uma menor taxa de sucesso do que mulheres submetidas a este procedimento por outras razões. Também, devido aos altos custos de tratamentos de reprodução assistida e de complicações de doença inflamatória pélvica alguns países já fazem screening para este patógeno. **CONCLUSÃO:** Um screening para a detecção de clamídia deveria ser realizado em toda a população em idade reprodutiva, e poderia ser feito anualmente junto com o exame cito patológico do colo do útero e poderia ajudar na prevenção das seqüelas da infecção de clamídia.

P09 - A importância da biologia molecular na reprodução humana assistida em casais sorodiscordantes

Gaulke, R.¹; Herkenhoff, M.E.²; Amaral, V.L.L.³; Pitlovanciv, A.K.⁴; Remualdo, V.R.⁴;

¹UNIASSELVI / FAMEBLU; ²UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina; ³UNIVALI - Universidade do Vale do Itajaí; ⁴Laboratório Genolab Análises Genéticas;

INTRODUÇÃO: A reprodução humana assistida possibilita a casais sorodiscordantes, em que apenas o homem é infectado pelo vírus HIV, que esta seja realizada de forma segura, sem que ocorra a transmissão do vírus para a mulher e para o feto. O sucesso da terapia antiretroviral e o tratamento das infecções oportunistas vêm aumentando a expectativa e a qualidade de vida dos indivíduos infectados com o HIV. Diversos estudos constataram a presença do HIV no ejaculado de homens infectados, mesmo quando não houve detecção de vírus no plasma destes pacientes. No que se refere à biologia molecular, ela é uma importante ferramenta para diagnosticar a carga viral de HIV no sêmen, possibilitando a realização da reprodução humana assistida com total segurança. **OBJETIVO:** Avaliar a detecção de carga viral de homens infectados com HIV em amostras seminais processadas e plasma, oriundos de clínicas de reprodução assistida dos estados de Santa Catarina e Paraná. **Metodologia:** As amostras seminais deste estudo foram processadas por técnicas específicas realizadas para reprodução humana assistida. Para a avaliação da carga viral em amostras seminais foi utilizado o método real-time PCR com sensibilidade de 50 cópias/mL, e os resultados coletados no banco de dados do laboratório Genolab (Blumenau-SC) no período de Janeiro de 2008 a Janeiro de 2011. **RESULTADOS:** Obtivemos um total de 21 amostras, sendo 42,86% do estado de Santa Catarina e 57,14% do estado do Paraná. Das amostras analisadas 95,24% foram negativas e 4,76% positivas. Das amostras analisadas, 19% foram solicitadas carga viral no plasma e apenas 25% resultou em positivo. **CONCLUSÃO:** Os dados obtidos demonstraram que o processamento seminal foi eficiente, pois pacientes com carga viral no plasma não apresentaram no sêmen. Os dados contribuem para assegurar a eficiência das técnicas de processamento seminal para eliminação do vírus do HIV no sêmen e ressaltar a importância da biologia molecular no diagnóstico confiável. Destaca-se a importância e a parceria da Biologia Molecular na Reprodução Humana Assistida para diagnosticar a presença do vírus no sêmen e a possibilidade da utilização das amostras com total segurança.

P10 - Associação entre níveis basais de testosterona sérica e resposta ovariana em mulheres submetidas à estimulação ovariana com FSH recombinante isolado ou associado ao LH recombinante

Nakano, F.Y.¹; Verza Jr, S.¹; Esteves, S.C.¹

¹Androfert

OBJETIVO: Analisar a resposta à estimulação ovariana com FSH recombinante (FSHr) isolado ou associado ao LH recombinante (LHr), nos ciclos de fertilização in vitro com injeção intracitoplasmática de espermatozóide (FIV-ICSI), em grupo de mulheres com níveis séricos normais e diminuídos de testosterona. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo incluindo 226 mulheres normogonadotrópicas, submetidas à estimulação ovariana para FIV-ICSI, que utilizaram antagonista do GnRH para supressão do pico de LH. As pacientes foram divididas em dois grupos, de acordo com a presença de nível sérico basal de testosterona normal ou diminuído, obtido no 1º. dia da estimulação ovariana. Valores de testosterona <20ng/dL ou ≥20 ng/dL foram considerados diminuídos e normais, respectivamente. Cada grupo foi subdividido de acordo com a gonadotrofina utilizada para estimulação ovariana, ou seja, FSHr isolado ou associado ao LHr. Os grupos analisados eram homogêneos quanto à idade materna e reserva ovariana. **RESULTADOS:** Os níveis de estradiol sérico (3194+2583; 2134+1685; p=0,042) e número de oócitos aspirados (10,6+5,3; 7,2+3,7; p=0,0091) foram superiores no grupo de mulheres jovens (<35 anos) e com testosterona diminuída (<35 anos) que receberam suplementação com LHr em comparação ao grupo sem suplementação. No grupo de mulheres jovens com testosterona normal e sem suplementação de LH houve maior número de oócitos aspirados em relação aquelas com testosterona diminuída, porém esta diferença não foi significativa (15,91+6,6; 11,20+6,34; p=0,28). No grupo das mulheres com mais de 35 anos não houve diferença significativa em relação aos oócitos captados comparando tanto a testosterona basal quanto a suplementação do LH. As taxas de fertilização, clivagem, implantação e nascidos vivos não diferiram entre os grupos analisados. **Conclusões:** A suplementação do LH em ciclos de estimulação ovariana parece beneficiar o subgrupo de mulheres com idade jovens que apresentam níveis de testosterona na fase folicular menores de 20ng/dL. A suplementação exógena de LH pode aumentar a capacidade do ovário de secretar andrógenos em mulheres com reserva ovariana reservada.

P11 - Avaliação seminal avançada: análise da motilidade e progressão dos espermatozóides 24 hs após a capacitação para inseminação intra-uterina

Araujo, L.F.P.¹; Araujo, E.A.¹; Araujo, L.F.P.²; Araujo, L.F.P.²

¹Centro de Reprodução Humana de São José do Rio Preto;

²Centro de Reprodução Humana de São Jose do Rio Preto

OBJETIVO: Avaliar se um teste simples de análise espermática é capaz de servir de sinalizador positivo para o sucesso em inseminação simples. **MÉTODO:** Estudo pros-

pectivo analisando casais que buscam assistência médica para tratamento de infertilidade conjugal e que serão submetidos a inseminação intra-uterina no período de janeiro de 2009 a março de 2011. Foram avaliadas 180 amostras seminais nesse período. Critério de exclusão: fator masculino moderado e grave, fator tubário e peritoneal, endometriose avançada, idade superior a 38 anos. A análise seminal: Critérios da OMS. Cinco microlitros de sêmen era colocado na câmara de Makler e a amostra era avaliada com aumento de 100 vezes. A progressão dos espermatozóides é dada em porcentagem e de acordo com a movimentação: % de grau-0,1,2,3 e 4. Feita a análise pré-preparo a capacitação era realizada com ISOLATE e uma alíquota de 05 micro-litros era retirada para análise final. Do volume total pós preparo retirava-se 20 microlitros para colocar na incubadora por 24 horas para depois avaliar a motilidade. **ANÁLISE ESTATÍSTICA:** Utilizamos o t-Teste pareado e o t-teste não pareado. **RESULTADOS:** Das 180 amostras preparadas para inseminação, 151 cumpriram os critérios do estudo e foram avaliadas. Dessas, 38 geraram gravidez e 113 não. Das 113 amostras seminais sem gravidez a motilidade no dia do preparo e 24 hs mostrou diferença estatística, com p=0.001. As amostras seminais que geraram gestação, a motilidade no dia do preparo e com 24 hs após, também mostrou diferença significativa (p= 0.000001). O mesma diferença estatística foi encontrada quando comparamos o grupo que gerou gravidez versus o grupo que não gerou gestação, 24 hs após incubação a 37% (p=0.00001). **CONCLUSÃO:** A análise seminal da motilidade 24 hs após preparo para inseminação simples é um teste simples de ser realizado e é pode ser um sinalizador de maior ou menor chance de êxito com técnica de baixa complexidade.

P12 - Comparação entre dois protocolos de vitrificação de tecido ovariano humano

Almodin, C.G.¹; Radaelli, M.R.M.¹; Câmara, V.M.¹; Nakamo, R.²; Oliveira, C.M.²; Fujihara, L.S.²; Rulli-Costa³; Silva, B.M.³; Segura, M.E.A.³; Rulli-Costa, R. - Silva, B.M. - Segura, M.E.A.³; Oliveira, C.M. - Fujihara, L.S.²

¹MATERBABY; ²FERTICLIN; ³HOSPITAL ASA SUL DE BRASÍLIA

OBJETIVO: Relatar a análise histológica após descongelamento de tecido ovariano vitrificado de 2 pacientes, submetidas a 2 protocolos de congelamento diferentes, procurando avaliar preservação e viabilidade tecidual. **MATERIAL E MÉTODOS:** Duas pacientes com indicação para tratamento gonadotóxico foram submetidas ooforectomia parcial para criopreservação pela vitrificação. Os ovários de ambas pacientes à vitrificação após serem expostos à solução de equilíbrio e vitrificação. Ambas as pacientes tiveram seu córtex ovariano exposto por 15 minutos à solução de equilíbrio, entretanto, a exposição à solução de vitrificação foi de 5 minutos no caso da paciente 1 e 2 minutos na paciente 2. Outra diferença foi que na paciente 1 os fragmentos foram colocados em cryovials e, então, introduzidos no nitrogênio líquido, e na paciente 2 os fragmentos foram mergulhados diretamente no N2, pois, foram inseridos em agulhas de acupuntura. O processo de degelo foi o mesmo em ambas as pacientes. A análise histológica foi baseada na descrição qualitativa e quantitativa das estruturas teciduais. Classificamos os folículos em três diferentes graus, sendo considerados os folículos G1 e G2 como folículos intactos ou preservados

e o G3 anormal. **RESULTADOS:** Três amostras do tecido ovariano foram analisadas. Na paciente 1 todas as 3 amostras com presença de extensa área necrótica tecidual, folículos caracterizados, porém estavam autolisados. A análise da paciente 2 foram identificados 11 folículos primordiais e 4 folículos primários na amostra 1, sendo que 14 destes eram G1-2 após o degelo e 1 com dano irreversível pelo processo (G3). Na amostra 2 foram identificados 6 folículos primordiais, todos intactos (G1-2). Na amostra 3 foram identificados 8 folículos primordiais, sendo 6 intactos (G1-2) e dois com dano irreversível (G3). Totalizando foram identificados 25 folículos primordiais e 4 folículos primários, com 26 folículos (89,65%) com característica de preservação da estrutura celular após descongelamento. **CONCLUSÃO:** O maior tempo de exposição do tecido ovariano na solução de vitrificação e a falta de contato direto do tecido com o nitrogênio líquido durante o procedimento da paciente 01, levou provavelmente, a maior toxicidade tecidual. A vitrificação de ovário da paciente 2, apresentou melhores resultados de preservação tecidual em relação à paciente 01. Estes resultados também indicam que a vitrificação tem potencial para uso clínico na criopreservação de tecido ovariano humano.

P13 - Efeito da estação do ano nos resultados de ciclos de reprodução humana assistida

Braga, D.P.A.F.¹; Setti, A.S.²; Figueira, R.C.S.³; Ferreira, R.C.³; Iaconelli Jr., A.¹; Borges Jr., E.¹;

¹Fertility – Centro de Fertilização Assistida e Instituto Sapientiae; ²Instituto Sapientiae; ³Fertility – Centro de Fertilização Assistida;

OBJETIVO: O presente estudo avaliou se a estação do ano afeta os resultados dos tratamentos de reprodução assistida em casais submetidos à injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). **MÉTODOS:** Um total de 1932 pacientes submetidas à captação de oócitos para ICSI foram atribuídas a grupos de acordo com a estação do ano em que foi feita a captação oocitária: inverno (n= 435, 22,5%), primavera (n= 444, 23,0%), verão (n= 469, 24,2%) e outono (n= 584 30,3%). Análises de variância foram utilizadas para comparar a percentagem de oócitos recuperados em metafase II (MII) e embriões de boa qualidade, as taxas de fertilização, implantação e gestação entre os grupos. A concentração de estradiol sérico e a concentração de estradiol por número de oócitos MII obtidos foram avaliadas a fim de identificar a eficácia da resposta ovariana. Regressão logística binária foi utilizada para avaliar a influência de cada estação do ano na taxa de fertilização e percentagem de embriões de boa qualidade. Os resultados foram expressos como odds ratio (OR), com intervalos de confiança (IC) de 95% e valores de p. **RESULTADOS:** As taxas de oócitos MII (71.7, 72.4, 73.0 e 74.3%, p= 0.480), embriões de boa qualidade (61.1, 57.2, 61.7 e 58.9%, p= 0.360), implantação (20.6, 20.5, 20.7, 20.3%, p= 0.907) e gestação (31.4, 32.6, 35.5 e 32.4%, p= 0.639) não diferiram entre os grupos inverno, primavera, verão e outono respectivamente. Entretanto, a taxa de fertilização foi significativamente maior durante a primavera do que em qualquer outra estação (inverno: 67.9, primavera: 73.5, verão: 68.7 e outono: 69.0%, p <0,01). Um aumento de uma vez e meia foi observado na taxa de fertilização durante a primavera (OR: 1,45, p <0,01). O estradiol sérico foi igual entre os grupos, no entanto, a concentração de estradiol por número de oócitos MII recuperados foi significativa-

mente maior durante a primavera (inverno: 235.8, primavera: 282.1, verão: 226.1 e outono: 228.7, p= 0,030). **CONCLUSÕES:** Este estudo demonstra uma significativa variabilidade sazonal no resultado da ICSI, onde a fertilização e a eficácia da resposta ao estímulo ovariano são mais altos durante a primavera. A melhora no resultado do tratamento, quando a intensidade de luz começa a aumentar, pode estar associada à maior atividade da melatonina sob o eixo hipotalâmico-hipofisário- gonadal, levando à formação de gametas de melhor qualidade.

P14 - Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e receptores intrafolículos como marcador de qualidade embrionária em ciclos de ICSI

Bonetti, T.C.S.¹; Salomão R.²; Brunialti, M.²; Braga, D.P.A.F.³; Borges Jr., E.⁴; Silva, I.D.C.G.⁵

¹Laboratório de Ginecologia Molecular e Proteômica - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM)); ²Laboratório de Imunologia - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM); ³Fertility - Centro de Fertilização Assistida; ⁴Fertility - Centro de Fertilização Assistida; ⁵Laboratório de Ginecologia Molecular e Proteômica - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM)

OBJETIVOS: O fluido folicular (FF) é o ambiente no qual o desenvolvimento e maturação oocitária acontecem. A foliculogênese é altamente dependente da angiogênese, e o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) é um fator chave neste processo. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis intrafolículos de VEGF e seus receptores presentes no maior folículo da coorte de pacientes submetidas a estimulação ovariana controlada, e correlacioná-los com as características dos embriões correspondentes. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Este estudo incluiu 53 pacientes inférteis sem fator feminino de infertilidade que realizaram ciclos de ICSI com espermatozóide ejaculado. As amostras de FF foram obtidas do maior folículo após estimulação ovariana controlada com FSH-recombinante. As concentrações de VEGF foram avaliadas por citometria de fluxo com micropartículas (FACS Canto, BD Biosciences), e receptores de VEGF (VEGFR1 e VEGFR2) quantificados por ensaio multiplex com micropartículas (Luminex, Millipore). Considerou-se embriões de alta qualidade aqueles com 2-4 células no 2º dia ou mais que 6 células no 3º dia, < 20% de fragmentação, ausência de multinucleação ou blastômeros dominantes. A análise dos dados utilizou regressão logística múltipla ajustada para a idade da pacientes. **RESULTADOS:** Todos os oócitos coletados do maior folículo eram maduros (MII). A taxa de fertilização normal foi 68.6%, e 97.3% dos embriões gerados a partir dos oócitos fertilizados se desenvolveram até o dia da transferência (dias 2 ou 3). A taxa de embriões de alta qualidade por paciente foi 35.9%, e foi inversamente associada ao nível intrafolicular de VEGF. A cada unidade de aumento do VEGF intrafolicular, a chance de ter um embrião de alta qualidade diminuiu em 5% (OR: 0,95; IC 95%: 0,9-1,0; p=0,05). Não houve relação entre a qualidade embrionária e os receptores de VEGF. **CONCLUSÕES:** Observamos uma relação inversa entre os níveis intrafolículos de VEGF e a qualidade dos embriões. Alguns autores sugerem que os níveis de VEGF são marcadores de hipóxia folicular e estão associados a falha de implantação em ciclos de ICSI. Os resultados deste estudo corroboram com estas afirmações; entre-

tanto ainda são necessários estudos complementares para determinar o mecanismo de ação pelo qual o VEGF intrafolicular afeta os oócitos, os processos subsequentes como fertilização e desenvolvimento embrionário e possivelmente os resultados clínicos dos ciclos de ICSI.

P15 - Morfologia oocitária: a influência da idade materna

Cota, A.M.M.¹; Silva, A.L.M.¹; Amaral, M.C.M.S.¹; Marinho, R.M.¹; Caetano, J.P.J.¹

¹CLÍNICA PRÓ CRIAR

OBJETIVO: Avaliar a influência da idade materna sobre a morfologia oocitária. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Estudo retrospectivo onde foram analisados 1748 oócitos obtidos de 194 ciclos de fertilização *in vitro*. As pacientes foram divididas em 3 grupos de acordo com a faixa etária: <35 anos, 35 a 40 anos e >40 anos. As alterações oocitárias foram classificadas em: extracitoplasmáticas (alteração da zona pelúcida, do espaço perivitelino e do corpúsculo polar) e citoplasmáticas (presença de vacúolos, granulações, corpos refringentes e retículo endoplasmático liso). **RESULTADOS:** Foram avaliados 1748 oócitos maduros (MII). Destes, 763 (42,7%) foram considerados totalmente normais e 1021 (57,2%) apresentavam pelo menos uma alteração morfológica. Com relação ao citoplasma, 736 MII (41,3%) apresentavam citoplasma normal, enquanto 1048 MII (58,7%) apresentavam alguma alteração citoplasmática. Já em relação às características extracitoplasmáticas, 1188 MII (66,6%) estavam normais, enquanto 596 MII (33,4%) apresentavam alguma anormalidade. Não foi observada diferença estatisticamente significativa ao correlacionar a frequência das alterações citoplasmáticas com a idade materna (OR: 1,03 95% IC 0,69-1,53, P=0,182). Quando avaliado as alterações extracitoplasmáticas, observou-se que mulheres com mais de 40 anos apresentaram uma chance significativamente maior de apresentar espaço perivitelino com fragmentos quando comparados com mulheres mais jovens (OR: 5,49 95% CI 2,5 -12,04, P<0,001). Além disso, mulheres entre 35 e 40 anos apresentaram um número significativamente menor de oócitos com alterações da zona pelúcida quando comparadas com mulheres mais jovens (menor que 35 anos) e mulheres acima dos 40 anos (OR: 0,70 95% CI 0,52 - 0,94, P=0,05). **CONCLUSÕES:** Na população estudada, a idade materna apresentou influência tanto sobre a morfologia do espaço perivitelino quanto sobre a zona pelúcida.

P16 - Morfologia oocitária: impacto nos resultados da fertilização *in vitro*

Cota, A.M.M.¹; Silva, A.L.M.¹; Amaral, M.C.M.S.¹; Marinho, R.M.¹; Caetano, J.P.J.¹

¹CLÍNICA PRÓ CRIAR

OBJETIVO: Avaliar a influência da morfologia oocitária sobre a taxa de fertilização e evolução dos embriões em ciclos de fertilização *in vitro*. **PACIENTES E MÉTODOS:** Trata-se de estudo retrospectivo em que foram analisados os oócitos de 194 ciclos de FIV no período de setembro/2009 a março/2010. As alterações oocitárias foram classificadas como extracitoplasmáticas (alteração da zona pelúcida, espaço perivitelino e do corpúsculo polar) e citoplasmáticas (presença de granulações, vacúolos,

corpos refringentes, retículo endoplasmático liso). Os oócitos foram submetidos ao ICSI, e posteriormente foram observadas as correlações das alterações morfológicas sobre as taxas de fertilização e a evolução dos embriões. **RESULTADOS:** Foram avaliados 1748 oócitos maduros (MII). Destes, 763 (42,7%) eram totalmente normais e 1021 (57,2%) tinham pelo menos uma alteração morfológica. 309 (17,3%) oócitos MII não fertilizaram, sendo que desses, 61,6% (191) apresentavam pelo menos uma alteração. Em relação à taxa de fertilização, observou-se que um oócito com citoplasma normal apresenta uma chance significativamente maior de fertilização quando comparado com oócitos com alterações morfológicas no citoplasma (OR: 1,48 95% CI 1,15-1,89 P=0,0023). Das alterações citoplasmáticas a presença de granulações é a que apresentou maior impacto na taxa de fertilização (OR: 0,47 95% CI 0,31-0,70 P=0,0003). Já a presença de alterações extracitoplasmáticas não interferiu na taxa de fertilização. Quando se avaliou a evolução dos embriões, percebeu-se que oócitos com citoplasma normal apresentam uma chance significativamente maior de desenvolverem embriões de boa qualidade tanto no dia 2 (OR: 1,55 95% CI 1,26-1,91, P< 0,0001, quanto no dia 3 (OR: 1,37 95% CI 1,12-1,67, P=0,002) e no dia 5 (OR: 1,42 95% CI 1,14-1,78). **CONCLUSÕES:** No presente estudo, as alterações citoplasmáticas, principalmente as granulações tiveram um impacto negativo tanto na taxa de fertilização quanto no desenvolvimento embrionário.

P17 - O intervalo entre a aspiração folicular e a ICSI pode influenciar na fertilização e no desenvolvimento embrionário?

Lima, A.M.¹; Torquato, S.E.F.¹; Sá, E.G.¹; Freitas, T.A.¹; Paiva, M.A.B.¹

¹BIOS - CENTRO DE MEDICINA REPRODUTIVA DO CEARÁ

INTRODUÇÃO: No intervalo entre 18 e 20 horas após a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), é verificada a fertilização. Neste momento, uma avaliação morfológica dos pronúcleos é muito importante, pois suas características devem ser utilizadas como critério de seleção embrionária no momento da transferência. **OBJETIVO:** Este estudo tem o objetivo de relacionar o intervalo de tempo entre a aspiração dos folículos e a ICSI, com a característica dos pronúcleos. **MÉTODO:** Foram analisados 150 casos de ICSI no período de Janeiro a Março de 2011. Os resultados do ICSI foram divididos em dois grupos: Grupo 1, 870 oócitos (128 casos) que foram injetados entre 3 e 6 horas após aspiração folicular. Grupo 2, 101 oócitos (22 casos) que, devido a mudanças na rotina do laboratório, foram injetados com mais de 6 horas após aspiração. A fertilização foi observada 18 a 20 horas após a ICSI, e o aspecto dos zigotos foi avaliado quanto à quantidade, posição e tamanho dos pronúcleos, número, posição e alinhamento dos nucléolos. Zigotos com pelo menos uma dessas alterações foram considerados irregulares. **RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Foi observado um maior número de pronúcleos irregulares quando o intervalo entre aspiração folicular e a ICSI foi superior à 6 horas. A regularidade dos pronúcleos é um ponto muito importante a ser levado em consideração no momento da seleção embrionária, aumentando assim as chances de se obter sucesso no tratamento.

P18 - Os melhores embriões escolhidos no dia 2 são transferidos no dia 3?

Azambuja R.¹; Dorfman L.E.²; Okada L.²; Lazzari V.²; Badalotti M.²; Petracco A.²

¹Fertilitat-Centro de Medicina Reprodutiva; ²FERTILITAT-CENTRO DE MEDICINA REPRODUTIVA

OBJETIVOS: Estudo retrospectivo com o objetivo de observar se os embriões escolhidos como os melhores no dia 2, após a fertilização, são transferidos no dia 3. **MÉTODOS:** Durante o ano de 2010, nas pacientes em que a transferência embrionária seria realizada no dia 3 após a fertilização, foi feito um ranqueamento embrionário (1ª, 2ª e 3ª escolha), no dia 2, de acordo com a morfologia e qualidade. O número máximo de 2 embriões foi transferido por paciente. Os embriões transferidos que não estavam entre as escolhas de 1 a 3, no dia 2, eram classificados como número 0 (zero). Os critérios de seleção para a transferência no dia 3, foram à morfologia e a evolução dos embriões, independente do ranqueamento realizado no dia anterior. Todas as transferências foram realizadas sob controle ultrassonográfico. As taxas de gravidez clínica foram comparadas pela análise do chi-quadrado ($p < 0,05$). **RESULTADOS:** Foram realizadas 60 transferências de 2 embriões. Os embriões selecionados para a transferência foram: 1 e 2 (23 ciclos); 1 e 3 (5 ciclos); 1 e 0 (14 ciclos); 2 e 3 (4 ciclos); 2 e 0 (7 ciclos); 3 e 0 (4 ciclos); 0 e 0 (3 ciclos). Quando transferidos os embriões 1 e 2, a taxa de gestação clínica foi de 47,8% semelhante aos 55,5% obtidos quando foram transferidos embriões das categorias 2,3 ou 0. **CONCLUSÕES:** Estes resultados mostraram que não existe relação na morfologia e qualidade embrionária do embrião no dia 2 com a escolha do melhores embriões e que foram transferidos no dia 3. Não houve melhora na taxa de gravidez clínica quando o melhor embrião no dia 2 foi transferido no dia 3.

P19 - Receptoras de óvulos doados: experiência psicológica

Avelar, C.C.1; Peixoto, A.1; Cota, A.M.M.1; Lamaita, R.M.1; Caetano, J.P.J.1

¹CLÍNICA PRÓ CRIAR

OBJETIVO: Analisar a experiência psicológica das pacientes receptoras de óvulos doados, com relação aos sentimentos: diante do diagnóstico; durante o tratamento; durante a gravidez e o parto; a relação mãe-filho e a avaliação do suporte psicológico oferecido pela clínica. **MÉTODOS E PACIENTES:** Estudo qualitativo, onde foi utilizada uma entrevista individual e semi-estruturada após a realização do tratamento e do nascimento do(s) filho(s), no período de 2008 a 2009. Foram contactadas 35 pacientes que realizaram tratamento de fertilização in vitro (FIV) com óvulos doados no período de 2004 a 2006. Destas, 30 aceitaram participar da pesquisa. Resultado: Sentimentos relatados diante do diagnóstico: a descoberta de que não poderiam utilizar seus próprios óvulos teve impacto intenso em 18 (60%) pacientes, gerando sentimentos de frustração, angústia e medo. Sentimentos relatados com relação ao tratamento: 10 (33,3%) pacientes relataram que o tratamento foi tranquilo; 15 (50%) pacientes fantasiavam muito com rela-

ção à doadora e 5 (16,7%) colocaram que a espera pelo tratamento foi um momento angustiante. Sentimentos relatados durante a gravidez/parto: a sensação de estar grávida foi satisfatória para 21 (70%) entrevistadas e 9 (30%) entrevistadas apresentaram problemas durante a gravidez, relatando depressão e negação. Relação mãe/filho: foram apontadas como tranquilas e gratificantes por 28 (93,3%) das entrevistadas, sendo que 2 (6,7%) pacientes relataram dificuldade na relação. Compartilhar o tratamento: 66,6% dos casais decidiram por não revelar o tipo de tratamento; sendo que 26,7% optaram por compartilhá-lo com um grupo restrito de pessoas e 6,7% não ocultaram. Avaliação do suporte psicológico oferecido pela clínica: foi considerado eficaz por 28 (93,3%) entrevistadas, 2 (6,7%) pacientes trouxeram suas críticas e sugestões com relação ao serviço. Após o tratamento: 21 (70%) pacientes relatam a importância do apoio psicológico no decorrer da gravidez, ressaltando o encontro dos casais grávidos realizado na clínica como gratificante. **CONCLUSÃO:** Apesar da opção terapêutica com óvulos doados ser inesperada e indesejada a ovulação possibilitou a vivência da maternidade. É um tratamento com inúmeras peculiaridades, sendo de extrema importância uma avaliação psicológica prévia ao início do tratamento, para avaliar casais que estão certos da escolha do tratamento e preparados psicologicamente para realizá-lo.

P20 - Sobrevivência de oócitos murinos em temperatura ambiente

Artuso, S.¹; Amaral, V.L.L.²; Frajblat, M.¹

¹UNIVALI; ²PROCRIAR; UNIVALI

O transporte de oócitos em temperatura ambiente facilita seu envio para uso em treinamento e pesquisa. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência de oócitos murinos em meio HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) mantido a temperatura ambiente por 8, 24 e 48 horas. Fêmeas F1 (BALB/c x C57BL/6) foram superovuladas com a administração de eCG (10UI, IP, Novormon®) e após 48 horas receberam hCG (10UI, IP, Vetecor®). Os oócitos foram coletados 15 horas após a injeção de hCG, utilizando meio HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) sendo a remoção das células da granulosa realizada com a utilização de hialuronidase (Lifeglobal®). Os oócitos foram selecionados por sua morfologia, sendo utilizados os que apresentavam zona pelúcida intacta e espaço perivitelinico normal. Oócitos do grupo controle (n=126) foram mantidos em microgotas (20µl) do meio de cultura G-IVFTM PLUS (Vitrolife®), sob óleo mineral e mantidos em incubadora com 5% de CO₂, 37°C e alta umidade. Oócitos do grupo teste (n=133) foram mantidos à temperatura ambiente ($\pm 22^\circ\text{C}$) em 100 µl de HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) e envasados em palhetas de 0,25mL. Na primeira observação com 8 horas, os oócitos do grupo controle apresentaram maior ($p < 0,05$) sobrevivência em relação aos do grupo teste (97,6% e 70,7%, respectivamente). Após 24 horas, os oócitos mantidos na incubadora tiveram uma taxa de sobrevivência maior ($p < 0,05$) que o grupo mantido em temperatura ambiente (61,9% e 45,9%, respectivamente). Porém, em 48 horas não foram mais observadas diferenças ($p > 0,2$) entre os oócitos que permaneceram na incubadora comparados com aqueles que permaneceram na temperatura ambiente (31,7% e 39,8%, respectivamente). Os resultados deste estudo indicam que oócitos

mantidos em temperatura ambiente por até 48 horas apresentam uma taxa de sobrevivência que permite sua utilização principalmente para treinamento.

P21 - ICSI assistido por laser aumenta taxa de fertilização e diminui degeneração oocitária

Schneider, D.T.¹; Verza Jr, S.¹; Esteves, S.C.¹

¹Androfert

OBJETIVO: Micro-abertura na zona pelúcida dos oócitos pode ser realizada com o uso do laser para auxiliar a injeção intracitoplasmática do espermatozóide no citoplasma do óvulo. O objetivo deste estudo foi avaliar se esta técnica pode melhorar os resultados clínicos e laboratoriais da injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI). **MÉTODOS:** 434 ciclos de ICSI, realizados no período de janeiro de 2010 a abril de 2011 foram incluídos no estudo. Os ciclos foram divididos em dois grupos: (1) uso do laser para microinjeção espermática (212 ciclos; 1575 oócitos injetados) e (ii) microinjeção pela técnica convencional (221 ciclos; 1819 oócitos injetados). Dois ou três tiros de laser foram utilizados para perfurar a zona pelúcida do oócito no local onde a agulha de microinjeção seria inserida para a injeção do espermatozóide (laser de diodo infra-vermelho, comprimento de onda: 1,48 µm; tempo de exposição: 8µs). Taxas de fertilização 2PN, degeneração oocitária, qualidade embrionária, gestação clínica e aborto foram comparadas entre os grupos, que foram ainda estratificados de acordo com a presença e o tipo de azoospermia. **RESULTADOS:** Taxas de fertilização 2PN e degeneração embrionária foram diferentes nos grupos 1 (62,5% e 5,7%) e 2 (54,5% e 8,5%; p=0,0001), respectivamente. Regressão logística demonstrou que as chances de um oócito degenerar sem o uso do laser foi 36 vezes maior do que com o uso do laser. De forma geral, não houve diferença nas taxas de gestação e aborto entre os grupos. Entretanto, observou-se uma tendência ao aumento nas taxas de gestação clínica no subgrupo de homens com azoospermia não-obstrutiva (ANO) no grupo 1. **CONCLUSÕES:** O uso do laser para abertura da zona pelúcida visando a microinjeção do espermatozóide no óvulo melhora as taxas de fertilização e diminui as taxas de degeneração oocitária. De forma geral, não há impacto negativo desta técnica no desenvolvimento embrionário e taxas de gestação/abortamento. Homens com ANO podem apresentar melhores resultados reprodutivos.

P22 - Perfil proteômico endometrial e análise do valor preditivo da apolipoproteína-A1 de pacientes que se submeteram a fertilização *in vitro*

Ferreira, F.P.¹; Maia Filho, V.O.A.¹; Magalhães, A.C.M.¹; Rocha, A.M.¹; Serafini, P.C.¹; Motta, E.L.A.¹

¹Huntington Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: Avaliar através da biopsia endometrial realizada no mês anterior à fertilização *in vitro* (FIV), comparar os perfis proteômicos endometriais e da Apolipoproteína A-1, um possível anti-agregante embrionário, por espectrometria de massa e correlacionar as expressões entre as mulheres que engravidaram com as que não engravi-

daram. **MÉTODOS:** Estudo prospectivo e observacional incluindo 35 pacientes. Foi realizada a biópsia endometrial na janela de implantação, ou fase lútea média, do ciclo imediatamente anterior ao do tratamento e as amostras criopreservadas para posterior análise. As amostras foram preparadas para análise de identificação proteica por espectrometria de massas (SELDI-TOF), utilizando chips proteômicos aniônicos Q10 lavados sob condições de máxima estrigência (pH 5,0). Após o resultado do tratamento, as pacientes foram divididas em dois grupos: gravidez positiva e gravidez negativa. A análise estatística dos picos observados foi realizada com base na análise das curvas ROC e estabelecida significância se p<0,05. **RESULTADOS:** Os grupos gravidez positiva e gravidez negativa não apresentaram diferenças significativas com relação à idade das pacientes, dose total de FSH utilizado, número de oócitos obtidos, número de embriões transferidos e qualidade embrionária. Considerando os picos de massas peptídicas, não se identificaram padrões específicos, apenas o valor de 8.400 Da foi o mais observado como preditivo de gestação (p=0,07), com curva ROC de 0,69, porém sem atingir o valor esperado de significância estatística. Já Apolipoproteína A-1 também não demonstrou diferença significativa de expressão entre os grupos estudados. **CONCLUSÕES:** O peptídeo correspondente ao pico de massa molecular de 8.400 Da apresentou uma tendência de ser preditivo de gestação em pacientes que realizaram tratamento de Fertilização *in vitro*, quando analisadas amostras de endométrio biopsiado no mês anterior ao ciclo, por espectrometria de massas SELDI-TOF. A pesquisa para a Apolipoproteína A-1 não mostrou relevância estatística entre os grupos.

P23 - Sentimentos e significados construídos por casais frente ao diagnóstico de infertilidade

Avelar, C.C.¹; Cota, A.M.M.¹; Marinho, R.M.¹; Caetano, JP..J.¹

¹CLÍNICA PRÓ CRIAR

OBJETIVO: Avaliar os sentimentos e significados vivenciados por casais inférteis frente ao diagnóstico de infertilidade e compreender sua implicação na vida pessoal, conjugal e social. **PACIENTES E MÉTODOS:** Neste estudo, qualitativo, utilizou-se como instrumentos a entrevista individual e grupal. Foram avaliados 10 casais inférteis de baixa renda financeira que estavam realizando o seu primeiro tratamento de FIV, dentro de um programa social desenvolvido pelo Centro Pró-Criar de Medicina Reprodutiva em Belo Horizonte/Minas Gerais, no período de junho a julho de 2009. **RESULTADOS:** Dos 10 casais, 5 (50%) tinham como causa de infertilidade fator masculino, 4 (40%) fator feminino e 1 (10%) fator misto. Com relação aos sentimentos dos casais diante da dificuldade de engravidar, 80% das mulheres e somente 30% dos homens relataram angústia e frustração a cada mês, depois de cada tentativa falha. Sete homens relataram tranquilidade durante o 1o ano de tentativa e a certeza de que a gravidez aconteceria espontaneamente, sendo que somente 2 mulheres disseram o mesmo. 30% das mulheres relataram que sofreram mais por serem delas a dificuldade para engravidar. Já para os homens, quando a causa da infertilidade era o fator masculino, a profundidade da crise psicológica foi mais intensa: 60% dos homens falaram do choque frente ao diagnóstico, com sentimentos de frustração, angústia e sensação de baixa de auto-estima. Ao avaliarmos os significados

sociais sobre a infertilidade, encontramos diferenças na forma de compartilhar com familiares e amigos o problema da infertilidade: 6 homens e 4 mulheres falaram que se sentiram estigmatizados socialmente por não terem filhos. Avaliando o significado das implicações na relação conjugal, percebemos comprometimentos na sexualidade de alguns casais: 3 mulheres e 4 homens relataram situações que conduziram à redução da espontaneidade e satisfação e um casal relatou distanciamento na relação. Em contraste, 6 mulheres informaram que esta situação intensificou a relação do casal e 4 homens relataram que não tiveram nenhuma alteração na relação sexual. **CONCLUSÃO:** Este estudo evidenciou diferenças nas reações emocionais entre homens e mulheres frente a um diagnóstico de infertilidade, refletindo na vida pessoal, conjugal e social. A necessidade de serem reconhecidas e entendidas essas diferenças é fundamental, para que um apoio adequado seja oferecido a cada um dos cônjuges.

P24 - Trauma endometrial pelo cateter de transferência melhora as taxas de gestação?

Souza, M.C.B.¹; Antunes, R.A.¹; Mancebo, A.C.A.¹; Areas, P.C.F.¹; Souza, M.M.¹; Henriques, C.A.¹

¹G&O GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA DA BARRA

OBJETIVO: Verificar se a presença de sangue no cateter interfere nas taxas de gestação em ciclos de ICSI **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram avaliados retrospectivamente 219 ciclos de ICSI em pacientes com idade \leq 39 anos entre janeiro de 2009 e abril 2011. As pacientes foram submetidas ao protocolo de estimulação ovariana com antagonistas/agonista do GnRH e FSH recombinante associado ou não ao HMG purificado. Nos ciclos com antagonista de GnRH, este foi iniciado em presença de folículo dominante de 14mm, diariamente até o dia de desencadear a ovulação. A maturação oocitária foi induzida com rhCG em presença de pelo menos 1 folículo \geq 18mm ou 2 folículos \geq 16mm. A captação foi realizada 34 a 36h após a administração do rhCG. Técnicas laboratoriais, culturas embrionárias e protocolos de transferência foram idênticos em ambos os grupos. Os ciclos estudados foram divididos em 2 grupos: Grupo 1 ciclos em que no momento da transferência de embriões observou-se a presença de sangue no cateter utilizado (n=48) e grupo 2: ciclos em que no momento da transferência de embriões não observou-se a presença de sangue no cateter (n=171). Os parâmetros avaliados foram: idade, IMC, doses totais de gonadotrofinas, FSH, LH, e progesterona basais, nº de folículos \geq 18 mm e espessura endometrial no dia do hCG, nº de oócitos em metáfase II aspirados, nº de embriões de boa qualidade (8 células G1/G2) transferidos e taxa de gestação. A análise estatística foi feita através do teste t-Student's considerando-se o nível de significância menor que 5% (p<0,05). **RESULTADOS:** Comparando-se os Grupos 1 e 2, não houve diferença significativa quanto a idade (34,31 \pm 3,82/34,28 \pm 3,12), IMC (24,19 \pm 4,02/23,25 \pm 3,43), total de gonadotrofinas (2304, 64 \pm 654,04/2156,69 \pm 734,06), FSH (6,36 \pm 3,42/5,86 \pm 2,67), LH (4,96 \pm 3,06/5,55 \pm 4,14) e progesterona (576,58 \pm 429,03/559,88 \pm 334,47) basais, nº de folículos \geq 18 mm (2,45 \pm 1,18/2,56 \pm 1,44) e espessura endometrial (10,30 \pm 2,00/10,60 \pm 2,30) no dia hCG, nº de oócitos metáfase II aspirados (4,70 \pm 3,53/4,99 \pm 3,09), embriões de boa quali-

dade transferidos (4,99 \pm 3,09/1,15 \pm 0,86) e taxa de gestação (39,6 % (19/48)/ 40,3% (69/171). **CONCLUSÃO:** Recentes trabalhos indicam que traumas endometriais podem desencadear resposta inflamatória que melhora as taxas de gestação, entretanto, isso não foi observado nos casos de trauma provocado pelo cateter no dia da transferência embrionária.

P25 - Um polimorfismo comum da subunidade β do hormônio luteinizante não está associado à endometriose e infertilidade

Schmitz, C.R.¹; Andreoli, C.G.¹; Genro, V.K.²; Souza, C.A.B.³; Alfonsi, M.²; Cunha-Filho, J.S.²
¹UFRGS; ²UFRGS; ³HCPA

OBJETIVO: Este estudo avaliou se a prevalência do polimorfismo (Trp8Arg and Ile15Thr) da subunidade β do hormônio luteinizante (LH) seria maior em pacientes com endometriose e infertilidade quando comparada com pacientes sadias e férteis. Esse polimorfismo é conhecido como V-LH. **MÉTODOS:** Foi desenhado um estudo transversal prospectivo incluindo 50 pacientes com endometriose e infertilidade (grupo em estudo) e 50 pacientes sadias e férteis (grupo controle). Todas as pacientes foram submetidas a cirurgia laparoscópica, sendo as pacientes em estudo para investigação de infertilidade e as pacientes do grupo controle para realização de ligadura tubária. **RESULTADOS:** Os níveis séricos de FSH e LH foram semelhantes entre os grupos, entretanto os níveis de CA-125 foram mais altos no grupo em estudo. As análises de mutações de nucleotídeos entre os códons 8 e 15 do gene LH β (Trp8Arg and Ile15Thr) foram feitas utilizando PCR. Sete (14%) das pacientes do grupo em estudo e 6 (12%) das pacientes do grupo controle apresentaram o polimorfismo V-LH. Essa diferença não foi estatisticamente significativa, sendo o OR 1.19 (IC 95% 0.31-4.67). **CONCLUSÕES:** Em conclusão, foi demonstrado que o polimorfismo V-LH não foi mais prevalente em pacientes com endometriose e infertilidade. Aparentemente, esse polimorfismo não está associado com a insuficiência lútea desse grupo de pacientes.

P26 - A origem do espermatozóide influencia os índices de embriorredução espontânea?

Michelson, J.¹; Rodrigues, C.D.¹; Okada, L.¹; Azambuja, R.¹; Badalotti, M.¹; Petracco, A.¹

¹Fertilitat

OBJETIVOS: Determinar a frequência de Embriorredução Espontânea (ERE) em gestações múltiplas (GM) usando espermatozoides (SPTZ) do ejaculado (EJ), epidídimo (PESA) e testículo (TESA). **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo de mulheres submetidas a FIV pela técnica de ICSI que resultou em GM, utilizando SPTZ do EJ, PESA e TESA. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste do Qui-quadrado. **RESULTADOS:** Das 353 gestações múltiplas analisadas, 105 (29,7%) resultaram em ERE. A partir de SPTZ do EJ foram geradas 306 GM (86,7%) e, a partir de TESA ou PESA, outras 47 (13,3%). A ERE ocorreu em 93 (30,4%) GM oriundas de SPTZ do EJ e em 12 (25,5%) GM originadas de SPTZ de TESA ou PESA. Na comparação dos resulta-

dos, não houve diferença, estatisticamente significativa, no risco de ERE, independente da origem do espermatozóide. **CONCLUSÕES:** A origem do espermatozóide (EJ, TESA ou PESA) não altera significativamente o risco de ERE nos programas de FIV. Estes achados permitem melhor aconselhamento dos casais quanto ao desfecho das gestações múltiplas e o número de embriões a serem transferidos.

P27 - Associação entre estilo de vida e exposição ambiental de homens de casais inférteis sergipanos e alterações do espermograma, em uma clínica de reprodução de Aracaju

Telles de Souza, I.D.¹; Telles, A.P.P.²; Nascimento, V.C.P.N.¹; Freitas, D.P.¹; Abud, P.D.N.¹; Araujo, A.A.S.³

¹Fertilidade Medicina Reprodutiva; ²Fertilidade Medicina Reprodutiva; ³Universidade Federal de Sergipe

OBJETIVO: Avaliar o impacto do estilo de vida e da exposição ambiental de homens de casais inférteis sergipanos, em uma clínica de reprodução humana de Aracaju, sobre a fertilidade masculina. Os seguintes fatores foram avaliados: consumo de álcool, cigarros, uso de medicamentos, drogas e anabolizantes, prática de exercícios físicos, alimentação, exposição a agrotóxico, pesticida, raio-x, temperaturas elevadas, vestimenta quente ou apertada, DST's, caxumba e padrão alimentar. **MÉTODOS:** Estudo tipo caso controle, por meio da análise de questionário respondido por 263 homens que se submeteram ao espermograma e associação com as seguintes alterações da qualidade seminal: oligospermia severa, astenozoospermia, teratozoospermia e hipospermia. **RESULTADOS:** O estilo de vida e a exposição ambiental não se associaram com oligospermia severa, astenozoospermia, hipospermia e teratozoospermia. **CONCLUSÃO:** Estilo de vida e exposição ambiental não alteram a fertilidade masculina, nesta população.

P28 - Atuação do enfermeiro na prevenção e controle do hiperestimulo ovariano em tratamentos de reprodução assistida

Dias, G.S.¹; Magalhães, A.²; Kimati, C.T.¹; Freitas, F.S.¹; Semaco, E.O.¹; Ricardo, A.T.¹

¹Huntington - Medicina Reprodutiva; ²Hospital e Maternidade Santa Joana

OBJETIVO: O objetivo deste estudo foi descrever a adequada atuação do enfermeiro na prevenção e controle da Síndrome do hiperestimulo ovariano (SHO) em pacientes submetidos a tratamentos de Reprodução Assistida (RA) de baixa e alta complexidade. **MÉTODOS:** Com base na literatura existente, a atuação do enfermeiro foi dividida em duas categorias, preventiva e corretiva para os tratamentos de RA, sejam de baixa (Inseminação Intrauterina) ou alta complexidade (Fertilização In Vitro). **RESULTADOS:** A atuação preventiva deve ser iniciada anteriormente ao estímulo ovariano, através de consulta com o casal, anamnese, exame físico, e após, através de dosagens hormonais e acompanhamento ultrassonográfico. Tais informações irão delinear o planejamento da assistência da equipe de enfer-

magem. Mesmo que a paciente não apresente fatores de risco para o desenvolvimento da SHO, o enfermeiro deve estar atento no controle de crescimento folicular, analisando o número de folículos recrutados e em desenvolvimento, assim como os níveis hormonais. Ainda, cabe ao enfermeiro orientar e supervisionar algumas medidas de prevenção como: controle de peso e medida de circunferência abdominal diariamente, repouso, aumento da ingestão de proteínas, ingestão de bebidas isotônicas, controle da frequência urinária, avaliação de dificuldade respiratória. A ação corretiva é mais freqüente em tratamentos de alta complexidade, devido a presença de maior número de folículos seguido de aspiração ovariana. Assim, as pacientes apresentam ganho de peso, desconforto e distensão abdominal, sintomas gastrointestinais como náuseas e/ou vômitos e/ou diarreia, com possibilidade de síncope e dispnéia. Deste modo, as medidas preventivas devem ser reforçadas. Também deve ser observada a possibilidade de formação de hidrotórax, hidropericárdio e torção ovariana. Tal acompanhamento auxilia a equipe médica na decisão de realizar paracentese corretiva. Geralmente, a SHO é um processo auto limitado nos ciclos em que não houve gestação, ou seja, os sintomas desaparecem após o fluxo menstrual. Nos casos de ocorrência de gestação, o acompanhamento do enfermeiro deve ser mantido até a normalização do quadro. **CONCLUSÕES:** A presente revisão evidencia a importância do enfermeiro inserido na equipe multiprofissional, atuando no diagnóstico precoce, prevenção e controle da síndrome. Ainda, por não dispormos de tratamento eficaz quando estabelecida a SHO, o diagnóstico precoce torna-se fundamental.

P29 - Embriões de clivagem e compactação precoce apresentam potenciais semelhantes e aumentados de implantação e gestação

Bos-Mikich, A.¹; Carvalho, T.J.²; Oliveira, N.P.³; Frantz, G.⁴; Ferreira, M.O.³; Hoher, M.⁵; Frantz, N.⁶

¹Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS; ²Departamento de Genética, UFRGS; ³Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, POA, RS; ⁴Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, POA, RS; ⁵Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, POA, RS; ⁶Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, POA, RS

OBJETIVOS: Embriões humanos são geralmente selecionados para transferência com base em aspectos morfológicos e adequação do desenvolvimento. Aderência celular cedo no dia-3, 66-68hrs pós-inseminação, dita compactação precoce (CP) pode também servir como um marcador da potencialidade de implantação e gestação de um embrião. O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar o potencial de implantação de embriões com divisão precoce, com compactação precoce e daqueles que apresentaram ambos fenômenos juntos para verificar se a potencialidade de implantação e gestação é incrementada, quando os 2 fenômenos ocorrem juntos. **MATERIAIS & MÉTODOS:** Embriões foram classificados como divisão precoce (DP), compactação precoce (CP), divisão e compactação precoces (DCP) ou nenhum dos dois (N). Os embriões foram também classificados conforme critérios morfológicos. Só foram consideradas transferências com um ou dois embriões e delas foram constituídas 7 grupos conforme o (s) tipo (s) de embrião(ões) transferido(s). **RESULTADOS:** Taxas significantes superiores em termos

de gestações e implantações foram observadas dentre as pacientes que recebiam no grupo de transferência um embrião DP ou CP ou DP/CP, em comparação com as pacientes que não tinham estes embriões (gestação $p=0,001$ e implantação $p=0,036$). Além disso, as pacientes que receberam pelo menos um embrião DP/CP apresentaram taxas de gestação superiores às das que receberam apenas embriões N ($p=0,024$). Embriões de DP e CP ou DP/CP apresentaram um escore morfológico significativamente superior àqueles que sem estas características. Se juntarmos embriões DP, CP e DP/CP em um mesmo grupo, eles se correlacionam fortemente com G1 e os N com G4, $p<0,001$. Taxas de gestação variaram entre 50% e 62%, quando havia um embrião DP entre os embriões transferidos. Havendo embriões com ambas características no grupo de transferência, a taxa de gestação ficou entre 25 e 54%.

CONCLUSÕES: Embriões de compactação precoce devem ser preferencialmente selecionados para a transferência no dia-3, especialmente se eles já apresentaram divisão precoce ao estágio de 2 células no dia-2.

P30 - Estudo de avaliação dos efeitos da acupuntura adjuvante a fertilização *in vitro*

Cerqueira, G.¹; Cerqueira, C.²; Cerqueira, M.¹; Ribeiro, K.¹

¹CLINIFERT; ²UFPR

OBJETIVO: Avaliar a eficácia da acupuntura nas taxas de gestação em ciclos de fertilização *in vitro* (FIV), **MÉTODOS:** Realizou-se estudo prospectivo, randomizado e controlado, em uma amostra de 46 pacientes, divididas em grupo de estudo (com uso da acupuntura) e grupo controle (sem uso da acupuntura), como procedimento adjuvante ao tratamento por FIV. Não houve diferença entre os grupos na descrição da amostra, sendo analisados: idade, IMC, duração da infertilidade, tipos de infertilidade. Foi realizado acupuntura 25 minutos antes da TE (transferência embrionária) com aplicação de agulhas de acupuntura nos seguintes pontos: Shenshu (B23); Ming Men (VG4); Pangguangshu (B28); Chengsahan (B57); Sanyinjiao (BP6); Gongsun (BP4); Neiguan (PC6); Zhongji (Ren3); Guanyuan (Ren4); Qihai (Ren6). Realizada nova aplicação de acupuntura 25 minutos após a TE nos seguintes pontos: Zusanli (E36); Sanyinjiao (BP6) bilateral; Xuehai (BP10); Hegu (IG4); Taixi (R3); Guilai (E29); Zigong (Ex-CAI); Qichong (E30); Lieque (P7); Zaohai (R6); Baihui (VG20). O tratamento também incluiu aplicação da acupuntura auricular nos seguintes pontos: Shen Men; Útero; Endócrino; Tálamo; simpático. O material utilizado foi constituído de agulhas de acupuntura de aço inoxidável, esterilizadas e descartáveis. As sessões duravam 30 minutos sendo que as pacientes permaneciam na posição de decúbito dorsal com ambiente apropriado para relaxamento. **RESULTADOS:** As taxas de gestação bioquímica e gestação clínica de 44.0% e 40.0% respectivamente no grupo com acupuntura e de 33.0% e 28.0% respectivamente no grupo sem acupuntura. A comparação entre os dois grupos não evidenciou significância estatística. **CONCLUSÃO:** Apesar de o definitivo papel da acupuntura no tratamento da infertilidade feminina ainda precisar ser estabelecido, seu impacto central no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano e periféricamente no útero e principalmente no endométrio, já são uma realidade. Além de todo efeito na redução da ansiedade e estresse, geralmente presente nestas pacientes. Os resultados obtidos são positivos quanto ao uso da acupuntura, mas são necessários

estudos randomizados e controlados, com amostras maiores, para melhor avaliar a eficácia da acupuntura adjuvante ao tratamento de mulheres por FIV.

P31 - Influência do índice de massa corpórea no laboratório de FIV

Prates, N.L.¹; Gomes, F.C.¹; Fernandes, P.A.L.¹; Nogueira, R.S.P.¹; Auler, J.R.¹

¹Clínica Pró Nascer

INTRODUÇÃO-OBJETIVO: O peso corporal saudável é uma vantagem importante em todos os aspectos da saúde, incluindo a saúde reprodutiva. A obesidade está associada a um maior risco de infertilidade, mas os seus efeitos no tratamento de reprodução assistida são controversos. Este trabalho visa avaliar a influência do índice de massa corpórea (IMC) no número de oócitos coletados, número de oócitos em metafase II, taxa de fertilização, taxa de embriões de boa qualidade e na taxa de gestação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi feito um estudo retrospectivo de 572 ciclos a fresco de fertilização *in vitro*, realizados na Clínica Pró Nascer no período de maio de 2009 a março de 2011, que tiveram o IMC registrado. Os ciclos foram divididos em 3 grupos de IMC: I: $<25 \text{ kg/m}^2$ ($n=330$), II: $25-29,9 \text{ kg/m}^2$ ($n=191$), e III: $> 30 \text{ kg/m}^2$ ($n=51$). A análise estatística foi composta pelos seguintes métodos: ANOVA one way, teste de comparações múltiplas de Tukey, análise de covariância (ANCOVA) e teste de Cochran-Mantel-Haenszel. Foi considerado estatisticamente significativo $P<0.05$. **RESULTADOS:** O grupo III apresentou idade média $(36,2 \pm 4,3 \text{ anos})$ significativamente maior que o grupo I $(34,4 \pm 4,8 \text{ anos})$ ($p = 0,016$). Não existe diferença significativa na idade média entre o grupo II $(35,3 \pm 5,4 \text{ anos})$ e os demais grupos. Visando controlar a influência da idade nos grupos estudados foi aplicada a ANCOVA nas variáveis numéricas. Observou-se que não existe diferença significativa entre os grupos em relação ao número de oócitos coletados (I: 6,1; II: 6,0; III: 4,8), número de oócitos em metafase II (I: 4,9; II: 4,7; III: 3,8), taxa de fertilização (I: 79,1; II: 78,9; III: 80,1), taxa de embriões de boa qualidade (I: 67,3; II: 73,4; III: 70,5) e taxa de gestação (I: 42,2%; II: 36,4%; III: 26,7%). Apesar de não ser estatisticamente significante, houve uma tendência do grupo III (IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$) apresentar menor número de oócitos coletados ($p=0.093$) e menor taxa de gestação ($p=0.10$) em relação aos outros grupos. **CONCLUSÃO:** Não há um consenso na literatura em relação aos parâmetros que são influenciados pela obesidade na fertilização *in vitro*. No nosso estudo não foi observada diferença estatística significante em relação aos parâmetros analisados. Pôde-se observar apenas uma tendência de diminuição do número de oócitos coletados e da taxa de gestação em pacientes com IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$.

P32 - Prevalência de *chlamydia tracomathis* em pacientes dos Estados de Santa Catarina e São Paulo, obtidas em um laboratório de análises genéticas de Blumenau (SC)

Gaulke, R.¹; Herkenhoff, M.E.²; Amaral, V.L.L.³; Pitlovanciv, A.K.⁴; Remualdo, V.R.⁴

¹UNIASSELVI / FAMEBLU; ²UDESC - Universidade do

Estado de Santa Catarina; ³UNIVALI - Universidade do Vale do Itajaí; ⁴Laboratório Genolab Análises Genéticas

INTRODUÇÃO: Nenhuma outra DST tem mostrado frequência tão elevada quanto a infecção por *Chlamydia trachomatis*. É freqüente a detecção de mulheres portadoras de danos tubários, por vezes irreversíveis causados por este agente, determinado infertilidade permanente. Observa-se que as intervenções cirúrgicas, como as salpingoplastias e salpingólises, não tem demonstrado sucesso em reparar os danos tubáricos causados pela doença inflamatória pélvica (DIPA), mostrando-se como método mais eficiente a reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo este mais sensível do que a cultura para a identificação de *Chlamydia trachomatis* principalmente no caso de uretrite em ambos os sexos e também de cervicite clamidiana nas mulheres. A PCR promove a detecção de sequências específicas de nucleotídeos para a *Chlamydia trachomatis*. **OBJETIVO:** Analisar a prevalência de infecções causadas pela *Chlamydia trachomatis* identificando quais locais e métodos de coleta obtiveram melhores resultados. **MÉTODOS:** Utilizou-se para o presente trabalho, amostras enviadas pelos laboratórios conveniados ao Genolab, pertencentes aos estados de São Paulo e de Santa Catarina. Foram consultados os resultados dos laudos de exames para a *Chlamydia trachomatis*, oriundos do banco de dados do Genolab no ano de 2010. Para a obtenção e o isolamento do DNA utilizou-se a técnica de fenol-clorofórmio, e para a amplificação do material genético a técnica de PCR. **RESULTADOS:** Amostras de 540 indivíduos, sendo 42% positivos. Na população feminina a amostra que obteve o maior número de positivos foi o raspado endocervical com 82,2%. Na população masculina o amostra biológica que obteve o maior número de pacientes positivos foi à urina com 84%, no entanto, entre os pacientes com uma amostra obtida da uretra o percentual de positivos foi maior do que entre os pacientes com amostra biológica de urina, que foi de 65% e de 38% respectivamente. **CONCLUSÃO:** As amostras biológicas provenientes do raspado endocervical apresentaram uma detecção mais eficiente da *Chlamydia trachomatis* na população feminina em comparação com a urina, o swab endocervical, o raspado vaginal, o swab vaginal e a coleta de secreção. Na população masculina, a urina se mostrou o material biológico mais coletado para a detecção do agente, no entanto, a amostra coletada na uretra se mostrou mais eficiente.

P33 - Programa de transferência de embriões congelados no IVI Salvador: dados de 2010

Borges, M. S.¹; Coelho, G. M.¹

¹Instituto Valenciano de Infertilidade - IVI Salvador

A criopreservação é uma prática necessária nos laboratórios de fertilização in vitro, sendo utilizada tanto como método para armazenar os embriões excedentes, como na prevenção contra a Síndrome de Hiperestimulação Ovariana, ajudando também nas estratégias terapêuticas nos casos de alteração da receptividade endometrial ou para preservar a fertilidade de determinadas pacientes. A qualidade de um centro de reprodução assistida está diretamente ligada ao êxito do seu programa de criopreservação que permitirá melhorar a efetividade dos tratamentos ao aumentar a taxa acumulada de gestação. O objetivo deste trabalho é mostrar os resultados do

programa de desvitrificação e a transferência desses embriões no IVI Salvador, durante o período de julho/2010, mês correspondente a abertura do centro, até dezembro/ 2010. Este estudo reporta todas as transferências de embriões congelados (TECs) realizadas no referido centro durante o ano de 2010. Um total de 14 pacientes, com embriões de dias 2 a 6 de desenvolvimento embrionário, que não obtiveram sucesso na primeira transferência regressaram ao centro para a realização de uma TEC. As pacientes submetidas às TEC apresentaram idade média de 37,5 anos e problemas variados de infertilidade. Previamente as TECs, as pacientes foram submetidas a preparação endometrial utilizando valerianato de estradiol e progesterona micronizada via vaginal com a finalidade de manter o endométrio correspondente ao dia do embrião a ser transferido. Os embriões foram desvitrificados pelo método desenvolvido por Kuwayama, e mantidos na incubadora em placa de cultivo no mínimo duas horas antecedendo a realização da transferência, período necessário para avaliar ocorrência de lise celular. Todas as transferências foram realizadas com o auxílio do cateter Wallace. No nosso programa logramos a taxa de 100% de sobrevivência dos embriões não havendo, dessa maneira, a necessidade de cancelamento de nenhuma transferência, sendo registrada uma taxa de gestação de 58,33% dessas pacientes. A eficiência da técnica de vitrificação/desvitrificação nos permitiu reduzir a 0% o número de cancelamento das TECs e aumentar as taxas de sucesso nas pacientes que buscaram uma segunda oportunidade de gestação sem necessidade de repetição do ciclo.

P34 - Saúde reprodutiva masculina e ambiente: história de vida, exposição ocupacional e/ou ambiental e parâmetros seminais

Silva, W.J.J.¹; Costa, T.¹; Moura, S.L.¹; Souza, M.C.B.¹

¹UFRJ

OBJETIVOS: O estudo objetiva averiguar exposição ocupacional e/ou ambiental em 102 homens, parceiros de casal infértil, em atendimento em serviço público de referência no Rio de Janeiro e, especificamente, relação drogadicção e alterações no espermograma. **MÉTODOS:** Estudo descritivo, longitudinal visa estabelecer o perfil masculino (história de vida e exposição a fatores de risco à saúde reprodutiva), por meio da análise de questionário orientado; analisar duas amostras de sêmen por espermograma (OMS, 2010), cruzando resultados com drogadicção ilícita. Dados integram bancos de dados informatizados. **RESULTADOS:** Perfil dos homens: 85,61% têm idades entre 21 e 40 anos; 62,8% com renda mensal familiar até R\$ 1500,00 e 34,3% até R\$3500,00; 41,2% têm Ensino Fundamental e 43,2% Médio; 9,82% iniciaram o Superior. A exposição inclui: 14,3% a cloro, 33,3% produtos de limpeza, 23,8% produtos químicos, óleos e solventes, 9,5% tinta. História reprodutiva: 20% de alterações na forma/ motilidade e 14% na concentração espermática, 12% varicocele, 18% doenças sexualmente transmissíveis. Quanto à adicção: 49% álcool, 13,7% tabaco; 21,5% drogas ilícitas (22 homens): 31,8% por maconha, 40,9% cocaína, 13,6% maconha e cocaína, 4,5% maconha e crack e 9% não referiram as drogas. Destes 22, 11 têm alterações no espermograma: no volume (4,5%), na concentração total (31,8%), motilidade (18,2%), morfologia (18,4%) e vitalidade (13,6%). Não foi encontrada correlação estatisticamente significativa

entre a adição e as alterações no espermograma dos 22 usuários nem dos 11 com alterações no espermograma (c2 com $p > 0,05$). Nestes, alterações na motilidade (45,5%), concentração (72,7%), volume e morfologia (9,1%). Ao considerar os parâmetros da OMS de 1999 na análise dos espermogramas dos adictos, o grupo foi acrescido de mais 2 (18%). **CONCLUSÕES:** Os dados indicam a necessidade de ampliação da amostra, na pesquisa de correlação estatisticamente significativa. Entretanto, mesmo na pequena amostra, concentração e motilidade sofreram alterações mais expressivas. Quanto à análise seminal dos 102 homens, destacam-se diferenças: 5 ocorrências de alterações quanto à morfologia (OMS 2010) contra 23 (padrão 1999); 23 casos com alterações na motilidade A+B contra 39 (padrão 1999). Assim, ao adotar os novos parâmetros podem ser desconsideradas alterações relevantes para o estudo da saúde reprodutiva masculina. Estudo desenvolvido com Bolsa Pibic/ UFRJ.

P35 - Taxa cumulativa de gravidez em primeiro ciclo de tratamento de FIV: estudo comparativo agonista x antagonista

Rodrigues, R.J.M.¹; Gonçalves, S.P.¹; Crepaldi, A.C.F.¹; Gomes, M.¹; Monteleone, P.A.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana Monteleone

OBJETIVO: Comparar taxa cumulativa de gravidez (transferência a fresco + descongelado), em primeiro ciclo de tratamento de fertilização in vitro, em pacientes com bloqueio hipofisário com agonista versus antagonista do GnRH. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo de primeiro ciclo de tratamento de fertilização in vitro em casais com idade da mulher inferior a 38 anos, de Fevereiro de 2004 a Abril de 2011. Foram excluídos ciclos de tratamento com ovulação. Os grupos foram separados conforme protocolo de bloqueio hipofisário, sendo Grupo A – Antagonista (n=397) e Grupo B – Agonista (n=197). Foram avaliadas e comparadas as taxas de gravidez clínica em transferência de embrião fresco e transferência de embrião descongelado, bem como a taxa cumulativa de gravidez nos dois grupos. A análise estatística foi realizada com teste exato de Fisher. **RESULTADOS:** As taxas de gravidez clínica dos grupos A e B, quando comparados em relação à transferência de embrião fresco (39,49% X 44,24%, $p=0,3086$) transferência de embrião descongelado (31,62% X 32,65%, $p=1,0000$) e taxa cumulativa de gravidez (42,26% X 45,18%, $p=0,5356$). **CONCLUSÕES:** Não houve diferença estatisticamente significativa nas taxas de gravidez clínica entre os grupos A e B, quando comparados em relação à transferência de embrião fresco, transferência de embrião descongelado e taxa cumulativa de gravidez.

P36 - Alterações endometriais à histeroscopia diagnóstica em pacientes com falha de implantação e resultados de gestação após antibioticoterapia

Francisco L.S.¹; Tomioka R.B.²; Mizumoto J.K.²; Bonetti T.C.S.³; Carvalho F.M.⁴; Ueno J.⁵

¹GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva; ²GERA -

Instituto de Medicina Reprodutiva / Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina (FMUSP) Divisão de Clínica Ginecológica; ³GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva / Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) Departamento de Ginecologia; ⁴Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina (FMUSP) Departamento de Patologia; ⁵GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva / Hospital Sirio Libanes – Setor de Histeroscopia

OBJETIVO: O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de alterações endometriais avaliadas por histeroscopia diagnóstica e biópsia, assim como os resultados dos ciclos de ICSI em pacientes apresentando ou não falha de implantação. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Este estudo avaliou 211 pacientes submetidas a investigação de infertilidade no período de 2009 a 2010. Todas as pacientes realizaram histeroscopia diagnóstica ambulatorial e biópsia de endométrio. Cento e cinco (105) pacientes receberam antibioticoterapia profilática com vibramicina e realizaram ciclos de ICSI posteriormente. O protocolo de estimulação ovariana incluiu bloqueio hipofisário com agonista ou antagonista do GnRH, FSH recombinante (Gonal-F, Serono) para estimulação ovariana, e hCG recombinante (Ovidrel, Serono) para maturação folicular. Os resultados dos ciclos de ICSI foram avaliados de acordo com os seguintes grupos de estudo: 36 pacientes que estavam realizando o primeiro ciclo de ICSI (CONTROLE), 18 pacientes com falha de implantação (FALHA-IMPLANTAÇÃO) definida como pelo menos três ciclos de ICSI anteriores sem sucesso, e 51 pacientes que haviam realizado um ou dois ciclos de ICSI ou ciclos de baixa complexidade anteriores, sem sucesso (INTERMEDIÁRIO). **RESULTADOS:** A idade das pacientes foi semelhante entre os grupos (CONTROLE: 34.8 ± 4.6 ; FALHA-IMPLANTAÇÃO: 36.5 ± 5.7 ; INTERMEDIÁRIO: 36.4 ± 4.7 ; $p=0.280$). A prevalência de alterações endometriais diagnosticadas na histeroscopia foi maior no grupo FALHA-IMPLANTAÇÃO (66.7%) comparado ao grupo CONTROLE (27.3%; $p=0.006$) e INTERMEDIÁRIO (37.0%; $p=0.032$). Entretanto a frequência de alterações observadas nas avaliações anatomopatológicas não diferiu entre os grupos ($p=0.592$). Entre as pacientes que realizaram ciclos de ICSI, a média de ciclos por paciente foi 1.5 ± 0.5 , e a taxa de gestação em andamento acumulada foi 30.6% no grupo CONTROLE, 29.4% para FALHA-IMPLANTAÇÃO, e 42.9% no grupo INTERMEDIÁRIO ($p=0.411$). **CONCLUSÕES:** O grupo de pacientes com falha de implantação apresentaram maior prevalência de alterações endometriais observadas à histeroscopia. Por outro lado, as taxas de gestação em andamento acumulada foram semelhantes entre os grupos após antibioticoterapia. Estes achados sugerem que a associação da histeroscopia diagnóstica com biópsia, associada à antibioticoterapia é favorável em paciente com falha de implantação.

P37 - Apoptose e expressão de proteína BCL-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de endometriose

Paula, L.B.¹; Braga, N.P.¹; Mendonça, M.¹; Moro, L.¹; Geber, S.¹

¹UFMG

OBJETIVO: No presente estudo foram avaliadas a apoptose e a expressão do oncogene Bcl-2 nos implantes de endométrio ectópico de pacientes portadoras de

endometriose e no endométrio eutópico de pacientes não portadoras dessa doença. **PACIENTES E MÉTODOS:** No período de março de 2007 e janeiro de 2008, foram selecionadas 16 pacientes para inclusão no estudo as quais foram divididas em dois grupos: (a) grupo a – constando de 8 com endometriose pélvica (b) grupo b controle - 8 pacientes sem endometriose. A coleta do material para análise foi feita durante cirurgias realizadas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Fragmentos de útero eutópico e de implantes ectópicos foram fixados em formol tamponado a 10% e processados para inclusão em parafina. Cortes de 4µm foram corados em Hematoxilina-eosina e submetidos à morfometria para cálculo do índice apoptótico. Alguns fragmentos foram submetidos à reação de TUNEL para a marcação “in situ” da apoptose e à imunistoquímica para avaliar a expressão da proteína Bcl-2. **RESULTADOS:** Observou-se que o índice apoptótico foi significativamente menor no endométrio ectópico das pacientes com endometriose, quando comparado ao endométrio tópico das mulheres sadias independente da fase do ciclo menstrual. A expressão de bcl-2 foi maior no endométrio ectópico das pacientes com endometriose. **CONCLUSÃO:** Os presentes resultados sugerem que os implantes ectópicos apresentam deficiência do processo de morte celular via apoptose. Conseqüentemente, essas células apresentam maior sobrevivência e mais chance de colonizar e se desenvolver em sítios ectópicos. Esse fator parece ser fundamental na patologia da endometriose.

P38 - Chance de gravidez e concentração plasmática de estradiol na fase lútea média e correlação com microconcentrações de gonadotrofina corionica

Florencio, R.S.¹; Oliveira, V.A.¹; Santos, F.C.¹; Castro, C.L.A.¹

¹HUMANA medicina reprodutiva

OBJETIVO: Avaliar a chance de gravidez em 3 faixas de concentração de estradiol (E2) na fase lútea média (D+7-8 pós inseminação artificial) e correlacionar com microconcentrações de gonadotrofina corionica (hCG) no D+7-8. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo de 108 ciclos de inseminações artificiais com esquema sequencial, sem bloqueio hipofisário, com idade igual ou inferior a 40 anos, determinando o percentual de gravidez em 3 faixas de concentração de E2: A-<100 pg/ml, B-100-500 pg/ml, C->500 pg/ml, no D+7-8. Também avaliamos as microconcentrações de gonadotrofina corionica neste dia e calculamos a média de hCG em grávidas e não grávidas e a percentagem de hCG >2 mui/ml em grávidas (G) e não grávidas (NG). Os testes utilizados foram teste T, Qui Quadrado e Exato de Fisher, significância de <5%. **RESULTADOS:** O número de pacientes nos grupos A, B, C foram respectivamente 15, 46, 47 e o percentual de grávidas foram 13,33%, 15,21%, 40,42, p=0,03. A média de hCG em NG foi 1,31 versus 6,05 no grupo G, p=0,03. O percentual de hCG >2 mui/ml foi 21,51% (NG) e 58,61% (G), p=0,0004 **CONCLUSÕES:** A chance de gravidez foi maior no grupo C, nas pacientes com hCG >2 mui/ml e a média de hCG foi maior no grupo G, mostrando correlação positiva entre E2 e microconcentrações de hCG.

P39 - Criopreservação de espermatozoides com ou sem o plasma seminal

Cardoso, E.A.¹; Amaral, V.L.L.²; Pincinin, G.D.³; Mietz, M.N.³; Frajblat, M.³

¹PROCRIAR; ²PROCRIAR; UNIVALI; ³UNIVALI

O objetivo deste estudo foi analisar a eficiência da criopreservação de espermatozoides sem o plasma seminal comparado ao processo de criopreservação convencional, com o plasma seminal. Amostras (n=14) do ejaculado de diferentes doadores foram avaliadas, e separadas em dois grupos: criopreservado com plasma seminal e criopreservado sem o plasma seminal. No grupo sem plasma seminal, as amostras foram processadas pelo método de sperm wash, na proporção 1:1 com HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) e centrifugadas por 8 minutos, o pellet foi ressuspendido em 0,5 mL do mesmo meio e diluído na proporção de 1:1 com (Yolk Buffer Freezing Medium - Irvine Scientific®). No grupo com plasma seminal, as amostras foram diluídas na proporção 1:1 também com o mesmo crioprotetor. Todas as amostras foram envasadas em palhetas de 0,25 mL permanecendo 30 minutos a 4°C, logo a seguir, 10 minutos no vapor de nitrogênio líquido (NL2) e imediatamente imersas e armazenadas a -196°C. Para a avaliação pós-criopreservação, as palhetas foram retiradas do NL2 e mantidas a temperatura ambiente (±22°C) por 20 min. As amostras foram homogeneizadas em HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) e centrifugadas por 8 minutos. O pellet foi ressuspendido em 0,5 mL e os parâmetros motilidade progressiva e vitalidade foram avaliadas, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010). A motilidade progressiva das amostras pré-criopreservação foi de 73,0 ± 5,9%. Não houve diferença (p=0,33) na motilidade progressiva pós-criopreservação quando este foi realizado com ou sem plasma seminal (41,8 ± 6,8 e 39,0 ± 6,0%, respectivamente). Da mesma forma não houve diferença (p < 0,7) na vitalidade (50,4 ± 4,4 e 51,3 ± 4,18%) para o grupo com e sem plasma, respectivamente. A queda na motilidade progressiva pós-criopreservação foi de 21% nas amostras com plasma e 24,1% nas amostras sem plasma. A eficiência da técnica de criopreservação foi de 66% nas amostras com plasma e 61,9% nas amostras sem o plasma. Estes resultados sugerem que a presença ou ausência do plasma seminal não interferem nos resultados da criopreservação de espermatozoides.

P40 - Injúria endometrial em mulheres submetidas a procedimentos de reprodução assistida: metanálise de ensaios clínicos com alocação aleatória

Nastri, C.O.¹; Ferriani, R.A.¹; Martins, W.P.¹

¹Departamento de Ginecologia e Obstetrícia (DGO), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, Brasil

OBJETIVO: Verificar se a lesão endometrial prévia ao procedimento de reprodução assistida interfere com os seus resultados. **MÉTODOS:** Foram pesquisados

ensaios clínicos controlados com alocação aleatória que incluíram mulheres submetidas a qualquer técnica de reprodução assistida nos quais alguma forma de injúria endometrial intencional tenha sido realizada previamente (até seis meses antes) ao procedimento. A busca foi realizada usando PubMed, OvidSP e Clinical Trials.gov. A extração dos dados e avaliação da qualidade metodológica foram realizadas por dois autores independentes. A metanálise foi feita utilizando o modelo de efeitos aleatórios de Mantel-Haenszel. A mínima diferença clinicamente significativa foi considerada como uma diferença relativa de 20% nas taxas estudadas. **RESULTADOS:** A busca resultou em 2047 trabalhos, sendo 4 incluídos: 2 trabalhos publicados e 2 estudos em andamento; totalizando 413 mulheres. Três dos estudos incluíram apenas mulheres com falhas prévias de implantação, enquanto 1 trabalho em andamento incluiu mulheres não selecionadas. Os resultados são apresentados em razão de risco (RR) e intervalo de confiança de 95%. Notou-se um aumento significativo na taxa de nascidos vivos RR=1,94[1,18;3,21]; de gravidez clínica RR=1,83[1,37;2,44]; e de implantação RR=1,71[1,20;2,45] por mulher incluída. Não houve diferença significativa nas taxas de gravidez múltipla RR=1,44[0,57;3,64] ou de aborto por mulher RR=2,60[0,53;12,79] por mulher incluída, porém o valor RR observado foi > 1. Como o número de gestações clínicas também foi mais alto neste grupo, novos RR foram calculados por "gravidez clínica" e observamos valores mais baixos no grupo injúria endometrial tanto para gravidez múltipla RR=0,82[0,36;1,89] quanto para aborto RR=0,67[0,16;2,76]. Não houve heterogeneidade entre os estudos para nenhuma variável ($I^2=0\%$ em todas as análises). **CONCLUSÕES:** A injúria endometrial realizada previamente a ciclos de reprodução assistida praticamente dobrou a taxa de nascidos vivos, de gravidez clínica e de implantação sem alterar significativamente as taxas de gravidez múltipla e de aborto. No entanto, essas conclusões ficam limitadas às mulheres com falhas prévias, faltando ainda maior número de casos avaliando o efeito da injúria endometrial em mulheres não selecionadas ou outras condições, como embriões criopreservados, inseminação intra-uterina ou indução da ovulação e coito natural.

P41 - O que fazer com os embriões criopreservados em dia 3: transferência imediata ou cultivo até blastocisto?

Bonavita, M.B.¹; Barros, B.C.²; Negrão, P.M.²; Tanada, M.¹; Motta, E.L.A.²; Serafini, P.²

¹Hospital e Maternidade Santa Joana; ²Huntington - Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: O presente estudo comparou as taxas de gestação de embriões excedentes criopreservados em dia 3 (D3) em programa de FIV, pela técnica da vitrificação, entre transferência imediata após aquecimento ou cultivo estendido até o estágio de blastocisto (D5). **MÉTODOS:** Entre janeiro de 2010 e abril de 2011, ciclos de transferência de embriões vitrificados em D3, com no mínimo 06 células e menos de 20% de fragmentação, foram avaliados em 02 grupos: vitrificados no D3, aquecidos e transferidos no mesmo dia (V3T3); ou vitrificados em D3, aquecidos e mantidos em cultivo estendido até o estágio de blastocisto com posterior transferência ao útero (V3T5). Para o cultivo estendido, utilizou-se siste-

ma triplo gás (90%N₂/5%O₂/5%CO₂). Independente do grupo, todos os embriões foram submetidos a Hatching Assistido (HA) por sistema de laser. O teste Z foi utilizado para a comparação entre os grupos. Utilizou-se a regressão logística binária para o cálculo das chances de gestação em cada grupo. A análise variância foi utilizada para a avaliação do efeito dos grupos sobre o número de embriões transferidos e as taxas de implantação. Correção de Bonferroni foi utilizada para a comparação múltipla, sendo a significância considerado com $p<0,05$. **RESULTADOS:** Foram avaliados de forma retrospectiva 324 ciclos, sendo 261 em V3T3 (80%) e 63 ciclos em V3T5 (20%). Observou-se maior número embriões transferidos no grupo V3T3 quando comparado ao V3T5 ($2,8\pm 0,9$ vs $2,4\pm 0,8$ respectivamente; $p<0,0001$). As taxas de implantação e gestação foram maiores para o grupo V3T5 (21,3% e 50,8%), quando comparado ao V3T3 (10,9% e 30,3%; $p=0,0007$ e $0,0021$, respectivamente). Nas pacientes em que o embrião era mantido em cultivo estendido até o estágio de blastocisto (V3T5), a chance de gestação foi 2,5 vezes maior que o transferido logo após o aquecimento (V3T3; odds ratio=2,5; 95%CI=1,4-4,4; $p=0,001$). Não houve casos de cancelamento de transferência após o aquecimento embrionário em ambos os grupos. **CONCLUSÃO:** Os resultados encontrados sugerem que os embriões excedentes criopreservados pela técnica de vitrificação em D3, devem ser aquecidos e mantidos em cultivo estendido até o estágio de blastocisto, pois aumentam as taxas de gestação e minimizam a gravidez múltipla, proporcionando ao casal uma expectativa mais realista em ciclos de embriões criopreservados.

P42 - PGD em paciente com translocação recíproca balanceada: relato de caso

Dorfman, L.E.¹; Sanseverino, M.A.¹; Okada, L.¹; Azambuja, R.¹; Badalotti, M.¹; Petracco, A.¹

¹FERTILITAT- CENTRO DE MEDICINA REPRODUTIVA

INTRODUÇÃO: As translocações recíprocas são as alterações estruturais cromossômicas humanas mais comuns. Portadores deste tipo de translocação têm alto risco de gerar embriões cromossomicamente anormais devido à desbalanços cromossômicos gerados durante a meiose, ocasionando assim, abortos recorrentes e nascimento de crianças afetadas. **DESCRIÇÃO DO CASO:** Casal não consanguíneo busca tratamento em clínica de Reprodução Assistida com indicação de Fertilização in vitro (FIV) com diagnóstico genético pré-implantacional (PGD). Paciente de 30 anos, portadora de cariótipo com translocação balanceada, envolvendo os cromossomos 15 e 16, com histórico de duas gestações prévias, as quais resultaram em dois abortos. Esposo com cariótipo e parâmetros seminais normais. A paciente possui uma irmã com trissomia parcial do cromossomo 15, com atraso no desenvolvimento, na linguagem e escoliose severa. Foram realizados dois ciclos de FIV com PGD, nos quais biopsiaram-se nove embriões em cada ciclo. A biópsia foi realizada no terceiro dia após a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI), retirou-se de 1 a 2 blastômeros de cada embrião. Os blastômeros foram fixados em lâminas e enviados para análise genética. Além dos cromossomos envolvidos na translocação, foram analisados por hibridização fluorescente in situ (FISH) os cromossomos 13, 18, 21, X e Y. Na primeira tentativa apenas um dos embriões não possuía a translocação, este porém, apresentou trissomia para o cromos-

somo 18; na segunda tentativa, novamente um embrião sem a translocação e com trissomia para o cromossomo 13. Não houve transferência em nenhum dos ciclos. **COMENTÁRIOS:** A segregação cromossômica neste caso, não ocorreu conforme o esperado, no qual cerca de 33% dos embriões biopsiados deveriam ser normais ou balanceados. Em ambos os ciclos apenas 11% dos embriões não eram afetados para a translocação. Acredita-se que mulheres portadoras de translocações envolvendo cromossomos acrocêntricos possuem uma maior tendência a um tipo de segregação mais rara, a qual gerará gametas afetados. Além das alterações ocasionadas pela translocação, podem ser encontradas monossomias e trissomias em qualquer outro cromossomo. É importante deixar claro ao casal, logo no início do tratamento, quais são as reais chances de obter embriões normais. Neste tipo de alteração talvez seja mais indicado uma análise de hibridização genômica comparativa (CGH), que avalia todos os cromossomos.

P43 - Resultados após vitrificação de oócitos excedentes de um programa de fertilização *in vitro*, em pacientes com menos de 40 anos

Fujihara, L.S.¹; Maruyama, L.K.²; Marcondes, C.³; Ceschin, A.P.⁴; Almodin, C.G.⁵; Nakano, R.E.¹

¹Ferticlín - Clínica de Fertilidade Humana; ²Ferticlín; ³Núcleo Santista de Reprodução Humana, Santos – SP; ⁴Felicitá - Centro Médico da Mulher, Curitiba –PR; ⁵Materbaby – Maringá - PR

OBJETIVO: O propósito deste trabalho é analisar os resultados obtidos de todas as pacientes com menos de 40 anos, que fizeram a fertilização *in vitro* e que optaram pela vitrificação dos oócitos excedentes. **MÉTODOS:** O presente estudo seguiu um protocolo multicêntrico, com dados coletados em apenas um dos centros integrados, onde foi realizado um estudo retrospectivo de fevereiro de 2007 a Maio de 2011, em pacientes submetidas aos tratamentos de fertilização assistida. Nesta análise, avaliamos a taxa de sobrevivência, fertilização, qualidade embrionária e gestação de 83 pacientes, com idade média de 33,6 anos, que tiveram todos os seus oócitos excedentes vitrificados e aquecidos através da técnica Vitri-Íngá. Todas as pacientes com menos de 40 anos que tiveram mais de 8 oócitos em metáfase II, vitrificaram os oócitos. Não foram inclusos pacientes que vitrificaram oócitos e pré-embriões e pacientes com 40 anos ou mais. A vitrificação foi realizada após cultivo oocitário de 2 a 3 horas pós aspiração folicular. Após aquecimento, todos os oócitos que mantiveram sua estrutura íntegra após duas horas de cultivo, em incubadora a 5% CO₂ e 37 °C, foram injetados. A avaliação da fertilização foi realizada entre 16 a 18 horas após a ICSI e a qualidade embrionária avaliada entre 48 e/ou 72 horas. **RESULTADOS:** Um total de 329 oócitos foram aquecidos, média de 3,9 oócitos por paciente e 276 (83,8%) sobreviveram após a vitrificação. A ICSI foi realizada em todos os oócitos recuperados, e 225 fertilizaram (81,5%). Foram transferidos 211 pré-embriões (2,5 por paciente), onde 143 eram de grau I e II (67,8%) e 68 de grau III e IV (32,2%). A taxa de gravidez total foi de 33,7% (28 gestações), com 20 bebês nascidos e 4 gestações em andamento. **CONCLUSÃO:** Os resultados obtidos são similares aos da literatura, quando comparadas as taxas de sobrevivência, fertilização, qualidade embrionária e gestação após o aquecimento.

P44 - Achados histopatológicos em biopsias endometriais de pacientes inférteis candidatas a fertilização *in vitro*

Ueno J.¹; Schor E.²; Bonetti T.C.S.³; Tomioka, R.B.⁴; Mizumoto J.K.⁴; Carvalho F.M.⁵

¹GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva / Hospital Sirio Libanes - Setor de Histeroscopia; ²GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva / Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) departamento de Ginecologia; ³GERA - Instituto de Medicina Reprodutiva / Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) Departamento de Ginecologia; ⁴GERA – Instituto de Medicina Reprodutiva / Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina (FMUSP) Divisão de Clínica Ginecológica; ⁵Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina (FMUSP) Departamento de Patologia

OBJETIVO: O sucesso da implantação após a transferência de embriões de alta qualidade em ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) depende, dentre outros fatores, das condições do endométrio. A biopsia endometrial é um procedimento minimamente invasivo e de baixo custo que permite o diagnóstico de diversas alterações benignas, cuja correção poderia melhorar as taxas de gestação. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de alterações histopatológicas endometriais de pacientes inférteis e avaliar a correção das possíveis alterações após tratamento. **MÉTODOS:** Este estudo incluiu 269 biopsias endometriais de 211 pacientes. As biopsias foram realizadas entre 2009 e 2010 após histeroscopia diagnóstica e avaliadas pelo mesmo patologista. O critério para diagnóstico de endometrite foi a presença de plasmócitos estromais ou outras células inflamatórias em número significativo, associada a alterações epiteliais ou de vasos. Pólipos foram definidos como a presença de pelo menos duas de três destas alterações: vasos com paredes espessadas, estroma fibroso e glândulas irregulares. Pacientes apresentando endometrite receberam antibioticoterapia com vibramicina, e 21 pacientes realizaram uma ou mais biopsias pós-tratamento para verificar a remissão do processo inflamatório. **RESULTADOS:** As pacientes tinham 36,0±4,8 anos de idade e 33,2% haviam realizado pelo menos um ciclo de FIV anterior. As análises das primeiras biopsias das pacientes revelaram que 59,6% apresentavam alguma alteração histológica benigna: pólipos (23,2%), endometrite (14,1%), endometrite e pólipos associados (7,1%), anormalidades vasculares (7,6%), infiltrado inflamatório (5,6%) e outros (2,0%). As 41 pacientes que apresentaram endometrite receberam antibioticoterapia com vibramicina e entre estas, 21 realizaram uma segunda biopsia. Houve remissão do processo inflamatório em 72,4% das pacientes que realizaram a 2ª biopsia após tratamento. **CONCLUSÕES:** Observamos uma alta prevalência de alterações endometriais benignas nas pacientes inférteis. Por outro lado a antibioticoterapia foi efetiva em tratar as alterações inflamatórias na maioria das pacientes. Estes achados demonstram que a biopsia endometrial pode ser indicada na investigação de pacientes inférteis, e que a antibioticoterapia pode ser utilizada para correção de alterações inflamatórias benignas que possivelmente podem ser causa de falha de implantação.

P45 - Comparação entre as taxas de gravidez com embriões transferidos no 3º ou no 5º dia

Pozzer, M.A.¹; Peruzzato, F.S.¹; Sartori, N.C.²; Correa, C.M.¹; Link, C.A.¹

¹CENTRO DE FERTILIDADE E REPRODUÇÃO ASSISTIDA PROGEST; ²CENTRO DE FERTILIDADE E REPRODUÇÃO ASSISTIDA PROGEST

OBJETIVOS: O presente trabalho tem por objetivo analisar e comparar as taxas de gravidez de ciclos de ICSI após transferência de embriões no quinto dia com transferência de embriões no terceiro dia. **MÉTODOS:** Participaram do estudo 70 mulheres submetidas a ciclos de ICSI de janeiro a maio de 2011. Estas pacientes foram divididas em dois grupos, ou seja, aquelas que transferiram embriões no terceiro dia (n=31), 6-8 células, e aquelas que transferiram no quinto dia, blastocisto (n=39). Foi considerada gravidez quando um ou mais sacos gestacionais foram identificados. Gravidez bioquímica foi considerada resultado negativo. As taxas de gravidez foram comparadas pelo teste exato de Fisher, considerando um $p < 0,05$ como significativo, utilizando-se o programa WinPepi 11.10. **RESULTADOS:** A média de idade entre os dois grupos foi semelhante, e as taxas de fecundação e clivagem não foram significativamente diferentes em ambos os grupos, o que permitiu a comparação entre eles. Das 31 pacientes que transferiram embriões no estágio de 6-8 células, 11 pacientes ficaram grávidas, o que corresponde a uma taxa de 35%. No grupo que transferiu em estágio de blastocisto, 19 das 39 pacientes tiveram resultado positivo para gravidez, indicando uma taxa de 49%. Apesar de maior, a taxa de gravidez no grupo que transferiu em estágio de blastocisto não foi estatisticamente significativa em relação à taxa do grupo que transferiu embriões de 3º dia, com $p = 0.334$. **CONCLUSÕES:** Muito se tem discutido a respeito do melhor dia para a transferência de embriões ao final de ciclos de ICSI. Há trabalhos que defendem o prolongamento do cultivo destes embriões in vitro como uma maneira de selecionar aqueles com maior potencial genético para que se implantem e cresçam, além de aumentar a concentração de fatores de crescimento no meio que iriam atuar de forma tanto autócrina como parácrina no desenvolvimento embrionário e na sua implantação. Além disso, embriões em estágio de blastocisto apresentam-se em maior sincronia com a fisiologia do endométrio, o que aumentaria, talvez, as chances de implantação.

P46 - Extração de espermatozoides testiculares por biópsia única convencional versus microcirúrgica em azoospermia não obstrutiva: estudo prospectivo controlado

Verza Jr, S.¹; Schneider, D.T.¹; Esteves, S.C.¹; ¹ANDROFERT;

OBJETIVO: Estudo prospectivo controlado que comparou as taxas de sucesso de recuperação de espermatozoides usando a extração de espermatozoide testicular por microcirurgia (micro-TESE) e a extração convencional de espermatozoides do testículo (TESE) em homens com azoospermia não obstrutiva (ANO). **MÉTODOS:** Sessenta homens com ANO foram incluídos

neste estudo e cada paciente serviu como seu próprio controle. Para TESE convencional, dois grandes fragmentos de parênquima testicular (6x6x6 mm) foram obtidos aleatoriamente. Um fragmento foi enviado para exame histopatológico e classificados de acordo com o padrão histológico predominante ("Sertoli cell only" [SCO], parada de maturação [PM] e hipoespermatogênese [HIPO]), enquanto o outro fragmento foi enviado para o laboratório de embriologia (LE) para dissecação e avaliação quanto a presença de espermatozoides. Na seqüência, microdissecação testicular foi realizada conforme descrito por Schlegel (1998), com pequenas modificações e os túbulos seminíferos obtidos enviados para o LE para a pesquisa de espermatozoides. Taxas de recuperação de espermatozoides (TRE) geral e estratificada por categoria histológica foram comparadas entre os grupos TESE convencional e micro-TESE. **RESULTADOS:** De forma geral, TRE foram significativamente maiores utilizando micro-TESE (27/60, 45%) em comparação à TESE (15/60, 25%, $p = 0,02$). Presença de espermatozoides na TESE sempre estava associada à presença de espermatozoides na micro-TESE. As TRE de acordo com a histologia testicular foram de 92,9% (13/14), 63,6% (11/07) e 20,0% (7 / 35) nos subgrupos de HIPO, PM e SCO, respectivamente. Foi observado também que as TRE na micro-TESE em comparação à TESE foram significativamente superiores em todas as categorias de histologia testicular: HIPO (92,9% micro-TESE; 64,3% TESE), PM (63,6% micro-TESE; 9,1% TESE) e SCO (20% micro -TESE; 5,7% TESE); ($p < 0,01$). **CONCLUSÕES:** Micro-TESE mostrou-se um método mais eficaz para recuperar espermatozoides de homens com ANO do que a TESE convencional com biópsia única. As TRE em ANO, seja por micro-TESE ou TESE, estão correlacionadas com os resultados da histologia testicular, porém, independentemente da histologia predominante, as TRE na micro-TESE foram superiores às da TESE.

P47 - Perfil seminal após 11 anos de congelamento em nitrogênio líquido

Taitson, P.F.¹; Ribeiro, A.S.¹; Paz, D.S.¹; Jacome D.C.¹; Oliveira, E.N.G.¹; Mourthe Filho, A.¹

¹PUC Minas

OBJETIVOS: Identificar a viabilidade de sêmen congelado após dez anos de criopreservação, através da técnica de nitrogênio líquido. Enumerar as limitações da criopreservação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Paciente com idade de 25 anos procurou serviço de reprodução humana em 1990 desejando congelar sêmen. Tal motivo se define pelo diagnóstico de seminoma testicular bilateral em estágio inicial. O mesmo seria orquiectomizado bilateralmente. Para congelamento utilizou-se o meio TYB da Irvine Cientific® misturado vol:vol com o sêmen disponibilizado. À fresco observou-se concentração espermática/mL (2.106), motilidade predominante (D), atividade (42%), morfologia oval de 4%. Após dez anos com o sêmen congelado, o paciente retornou ao serviço, alegando ser um bom momento para se tentar uma gravidez. **RESULTADOS:** Após 11 anos, fração do material foi descongelado a temperatura ambiente, observando-se 1.106 de espermatozoides, atividade de 18% e 2% de morfologia oval. **CONCLUSÕES:** O congelamento seminal através da técnica de nitrogênio líquido por mais de uma década, quando o sêmen é processado adequadamente, mostra viabilidade para paciente que apresentaram quadros graves de comprometimento da fertilidade.

P48 - Resposta a estimulação ovariana controlada em pacientes de diferentes faixas etárias

Lucca, J.A.¹; Rosa, V.B.¹; Peixoto, A.P.¹; Schuffner, A.¹

¹Conceber Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: Apresentar um estudo epidemiológico relacionando a dose hormonal utilizada com o número de oócitos aspirados, em pacientes de três faixas etárias. **MÉTODO:** Foi realizado um estudo retrospectivo com 70 casais que se submeteram a ciclos de FIV na Clínica Conceber, no primeiro quadrimestre de 2011. Ciclos com ovulação, oócitos e embriões criopreservados não foram relacionados nesse estudo. As pacientes foram divididas nos seguintes grupos: até 34 anos; de 35 a 39 anos; 40 anos ou mais. Foram avaliadas as doses hormonais utilizadas (U.I.) e o número de oócitos aspirados. A análise estatística foi feita por Kruskal-Wallis, seguida pelo teste de Dunn's. **RESULTADOS:** Dose hormonal (média ± EPM): ≤ 34 anos 1.669 ± 91,4; de 35 a 39 anos 2.179,6 ± 129,2; ≥ 40 anos 2.030,4 ± 179,5. A análise estatística apontou diferença significativa entre os grupos "≤ 34 anos" e "de 35 a 39 anos" (p<0,01). Número de oócitos aspirados (média ± EPM): ≤ 34 anos 8,9 ± 1,3; de 35 a 39 anos 6,6 ± 0,9; ≥ 40 anos 4,3 ± 0,9. Houve diferença significativa entre os grupos "≤ 34 anos" e "≥ 40 anos" (p<0,05). **DISCUSSÃO:** A dose hormonal utilizada no grupo "de 35 a 39 anos" foi significativamente maior que a utilizada no grupo "≤ 34 anos" uma vez que a resposta ovariana tende a cair com o aumento da idade da paciente. Contudo após os 39 anos atingimos um platô, onde esta correlação deixa de ser verdadeira, ou seja, o aumento da dose hormonal administrada não resultará em melhor crescimento folicular. Por esta razão podemos notar que a dose média empregada nas pacientes com mais de 40 anos foi ligeiramente menor que nas pacientes entre 35 e 39 anos (2.030,4 U.I. vs 2.179,6 U.I.). Ao avaliarmos o número de oócitos obtidos em cada faixa etária podemos confirmar esta afirmação, pois não houve diferença significativa entre os grupos "de 35 a 39 anos" e "≥ 40 anos". Entretanto estes grupos obtiveram significativamente menos oócitos que o grupo "≤ 34 anos". Com isto então, concluímos ser desnecessário aumentarmos a dose de gonadotrofina no grupo "≥ 40 anos", minimizando assim custos do tratamento, bem como efeitos indesejados destes medicamentos.

P49 - Resultados em ciclos para transferência de embriões a fresco versus criopreservados ao segundo ou ao terceiro dia de cultivo

Carvalho B.R.¹; Cabral I.O.¹; Ribeiro L.M.¹; Braun L.R.¹; Silva A.A.¹; Nakagava H.M.¹

¹GENESIS - Centro de Assistência em Reprodução Humana, Brasília, Distrito Federal

OBJETIVOS: Comparar resultados em ciclos para transferência de embriões obtidos por fertilização in vitro (FIV) com ou sem injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) transferidos no segundo (D2) ou terceiro dia (D3) de evolução, a fresco ou após criopreservação. **METODOLOGIA:** Analisaram-se retrospectivamente os ciclos para transferência de embriões próprios obtidos por

FIV/ICSI em laboratório ISO 5, realizados no GENESIS - Centro de Assistência em Reprodução Humana, entre janeiro de 2008 e dezembro de 2010. Como critério de inclusão, tanto criopreservação quanto a transferência deveriam ter ocorrido em D2 ou D3, totalizando 436 ciclos. Alocaram-se ciclos com embriões criopreservados e transferidos em D2 ou D3 (n=42) no grupo CRIO, e ciclos para transferência de embriões a fresco em D2 ou D3 (n=394) no grupo FRESH, em pacientes com 35,02 ± 6,58 e 35,54 ± 4,7 anos, respectivamente (p=0,5681, teste de Mann-Whitney). Avaliaram-se as taxas de gravidez, implantação e abortamento, e o percentual de ciclos com ao menos um nascido vivo para ambos os grupos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste exato de Fisher, considerando-se estatisticamente significativo p < 0,05. **RESULTADOS:** Não houve diferenças significativas entre as taxas de gravidez (CRIO=35,71 vs FRESH=44,67; p=0,3268), de implantação (CRIO=16,13 vs FRESH=23,49; p=0,1194) e de abortamento (perdas gestacionais completas/testes gestacionais positivos) (CRIO=46,67 vs FRESH=31,79; p=0,2604). Para avaliação dos ciclos com ao menos um nascido vivo, foram excluídos 11 ciclos, cujas gestações encontravam-se em andamento; novamente, não houve diferenças significativas entre os grupos estudados (CRIO=16,67 vs FRESH=28,16). **CONCLUSÕES:** Embora as taxas de gravidez, implantação e abortamento, e o percentual de ciclos com ao menos um nascido vivo sejam maiores em ciclos com transferência de embriões a fresco em D2 ou D3, não se demonstraram nesta amostra diferenças significativas quando se comparam a ciclos com embriões criopreservados e transferidos em estadio similar de evolução.

P50 - Supressão pituitária com agonista de gnRH em dias alternados: custos, eficácia e conforto reunidos?

Maldonado, L.G.¹; Setti, A.S.²; Braga, D.P.A.F.³; Azevedo, M.C.¹; Iaconelli Jr., A.³; Borges Jr., E.³

¹Fertility - Centro de Fertilização Assistida; ²Instituto Sapientiae; ³Fertility - Centro de Fertilização Assistida e Instituto Sapientiae

OBJETIVO: O objetivo deste estudo foi comparar os resultados de ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) em que a supressão pituitária foi obtida através do agonista de GnRH curto em dias alternados com os resultados de ciclos bloqueados através de protocolo com antagonista de GnRH diário. **MÉTODOS:** Este estudo prospectivo randomizado incluiu 65 casais submetidos a ciclos de ICSI no período de Julho de 2009 a Outubro de 2010. Os critérios de inclusão foram: idade feminina ≤ 35 ano, índice de massa corporal ≤ 30 kg / m²; FSH basal <10 mUI / mL; ciclos eumenorréicos e ausência de endometriose estágio III / IV. As pacientes foram aleatoriamente alocadas para receber um dos dois protocolos de bloqueio hipofisário: agonista de GnRH curto (triptorelina) em dias alternados (grupo GnRHag, n= 33) ou antagonista diário (acetato de cetorelix, grupo GnRHant, n= 32). Os resultados laboratoriais e clínicos foram comparados entre os grupos. As variáveis categóricas foram analisadas através da realização de qui-quadrado ou teste de Fisher. Os testes t-Student ou Mann-Whitney foram utilizados para as variáveis numéricas e os resultados foram expressos como média ± DP. Valores de p < 0,05 foram considerados significativos. **RESULTADOS:** Não houve diferenças significativas entre os grupos GnRHag e GnRHant quanto à idade

materna ($30,3 \pm 2,7$ vs $29,8 \pm 3,2$; $p = 0,4372$), dose total de FSH administrada ($1316IU \pm 229,7$ vs $1440 \pm 316,0$; $p = 0,0940$), número de folículos ($21,4 \pm 15,8$ vs $19,2 \pm 10,9$; $p = 0,5205$), taxa de fertilização ($82,6$ vs $72,6\%$; $p = 0,1197$), taxa de implantação ($26,4$ vs $24,2\%$; $p = 0,8512$), taxa de gestação ($44,8$ vs $42,4\%$; $p = 0,8490$) e taxa de abortamento ($23,1$ vs $14,3\%$; $p = 0,6483$). O número de oócitos recuperados foi significativamente maior no grupo GnRHag ($74,5$ vs $66,2\%$; $p = 0,0478$). O custo total da supressão foi significativamente menor no grupo GnRHag em comparação com GnRHant ($R\$ 200,6 \pm 22,4$ vs $R\$ 970,4 \pm 164,2$; $p < 0,0001$). **CONCLUSÕES:** O tratamento com agonista de GnRH em dias alternados mostrou-se tão eficaz quanto ao com antagonista de GnRH, resultando em taxas de implantação e gestação semelhantes. Ademais, o tratamento com agonista de GnRH é significativamente menos custoso do que o tratamento antagonista. O tratamento com agonista de GnRH em dias alternados permite que os custos, a eficácia e o conforto caminhem juntos.

P51 - Uso de metformina isolada ou combinada com citrato de clomifeno em mulheres com síndrome dos ovários policísticos: revisão sistemática

Moresco, T.C.¹; Andreoli, C.G.¹; Genro, V.K.¹; Souza, C.A.B.²; Schmitz, C.R.¹; Cunha-Filho, J.S.³

¹UFRGS; ²HCPA; ³UFRGS

OBJETIVO: Os distúrbios ovulatórios são responsáveis por 15% dos casos de infertilidade feminina, sendo a Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) a principal causa de anovulação. O citrato de clomifeno é considerado o agente farmacológico de escolha para o tratamento de mulheres com infertilidade e SOP. Recentemente, a metformina isolada ou combinada com citrato de clomifeno tem sido utilizada nestas pacientes. Entretanto, não existem evidências suficientes para recomendar o uso de metformina no tratamento inicial de mulheres inférteis com SOP. O objetivo desse trabalho é definir o tratamento de primeira linha para infertilidade em mulheres com SOP baseado nas melhores evidências científicas. **MÉTODOS:** Revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados (ECRs) e duplo-cegos disponíveis na literatura. Após avaliação de 170 artigos, apenas 3 ECRs de qualidade (cegamento, randomização e gestação como desfecho principal) foram incluídos na análise. Dois tipos de intervenções foram estudadas: metformina isolada vs. citrato de clomifeno isolado ou metformina isolada vs. metformina associada ao citrato de clomifeno. Como desfecho primário foi considerado taxas de gestação. Para a análise estatística, foi utilizado o software Review Manager 5.1 e realizado teste de heterogeneidade, sendo considerado significativo $P < 5\%$. **RESULTADOS:** O uso de citrato de clomifeno isolado aumentou em 57% as taxas de gestação em relação à metformina isolada (OR = 0,43; IC 95% 0,27 – 0,69). Não houve diferença significativa nas taxas de gestação quando a metformina foi associada ao citrato de clomifeno (OR = 1,13; IC 95% 0,83 – 1,53). **CONCLUSÕES:** A terapia com metformina isolada ou combinada não mostrou superioridade ao citrato de clomifeno. De acordo com os resultados do estudo e com os dados disponíveis na literatura até o momento, o emprego da monoterapia com metformina ou a adição desta droga ao tratamento com citrato de clomifeno não deve ser recomendado em mulheres com SOP que desejam engravidar.

P52 - Efeito do tempo de exposição ao corante azul cresil brilhante sobre a maturação nuclear *in vitro* de oócitos de *rattus norvegicus*

Alcoba, D.D.¹; Braga B.L.R.¹; Sandi-Monroy, N.L.S.¹; Lopes R.F.F.²; Oliveira A.T.D.¹;

¹Laboratório de Biologia Celular – DCBS/UFCSPA;

²Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada - DCM-ICBS/UFRGS

OBJETIVO: Avaliar a taxa retomada de meiose e de maturação nuclear de oócitos de *Rattus norvegicus* destinados à maturação *in vitro* (MIV) selecionados através da coloração com Azul Cresil Brilhante (BCB) após exposição por 30, 60 ou 90 minutos ao BCB ($26\mu\text{M}$). **MÉTODOS:** Ovários de 32 ratas sexualmente maduras no diestro foram removidos e os complexos cumulus-oócito (CCO) foram recuperados através da escarificação da córtex ovariana (total de 424 oócitos). Os CCOs foram divididos em quatro grupos, de acordo com o tempo de exposição ao BCB: controle (sem exposição), BCB30min, BCB60min e BCB90min. Após o tempo de exposição ao corante, os CCOs foram classificados em positivos (corados) ou negativos (incolores) e, então, transferidos para o meio de cultivo. Vinte e quatro horas após a MIV, foram avaliadas as taxas de retomada de meiose e de maturação nuclear através da coloração com Hoechst. Foram avaliados os valores dos testes diagnósticos (sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia) para cada protocolo utilizado. Para comparar os resultados obtidos foi utilizado o teste qui-quadrado, complementado pela análise dos resíduos ajustados ($p \leq 0,05$). **RESULTADO:** As taxas de retomada de meiose foram de 77,77% no grupo controle; 57,58% no grupo BCB(+)₃₀; 37,93% no grupo BCB(-)₃₀; 57,37% no grupo BCB(+)₆₀; 7,32% no grupo BCB(-)₆₀; 41,77% no grupo BCB(+)₉₀; e 18,96% no grupo BCB(-)₉₀. Ao avaliar a maturação nuclear os valores encontrados foram de 33,66% no grupo controle; 24,24% no grupo BCB(+)₃₀; 13,79% no grupo BCB(-)₃₀; 22,95% no grupo BCB(+)₆₀; 0,0% no grupo BCB(-)₆₀; 27,84% no grupo BCB(+)₉₀; e 6,89% no grupo BCB(-)₉₀. Os resultados mais satisfatórios dos testes diagnósticos foram encontrados no grupo exposto por 60 minutos ao corante. **CONCLUSÃO:** A seleção dos gametas quando expostos por 60 minutos ao BCB foi a mais adequada, pois as taxas de retomada de meiose no grupo BCB(+) foram as mais próximas ao grupo controle e superiores estatisticamente ao grupo BCB(-). Adicionalmente, os CCOs expostos por 60 minutos apresentaram melhores resultados na avaliação dos testes diagnósticos. No entanto, observamos que a taxa de MIV não foi estatisticamente diferente entre os gametas classificados como positivos e o grupo controle.

P53 - Existe correlação entre parâmetros seminais e índice de fragmentação do dna espermático?

Lima, A.M.¹; Torquato Filho, S.E.¹; S.A., E.G.¹; Freitas, T.A.¹; Paiva, M.A.B.¹

¹BIOS - CENTRO DE MEDICINA REPRODUTIVA DO CEARÁ

OBJETIVO: A fragmentação de DNA espermático pode ocorrer durante o empacotamento da cromatina na espermatogênese, por apoptose antes da ejaculação ou stress oxidativo após a ejaculação e exposição a fatores ambien-

tais. Dados clínicos mostram que homens inférteis apresentam maior dano ao DNA do que homens férteis, assim nosso estudo correlaciona a taxa de fragmentação de DNA com parâmetros seminais. **MÉTODO:** Foram avaliadas retrospectivamente 38 amostras seminais no Centro de Medicina Reprodutiva BIOS, entre janeiro e abril de 2010. Para avaliação do DNA espermático utilizamos a técnica de Dispersão da Cromatina Espermática (SCD). As lâminas resultantes da técnica foram observadas em microscópio óptico comum, onde foram contadas 200 células espermáticas e as que apresentavam fita de DNA íntegra, mostravam halo médio ou grande, consideradas normais e com DNA fragmentado, halo periférico pequeno ou ausente. Considerou-se grupo 1, espermatozoides com DNA fragmentado entre 0-29% e grupo 2, amostras com >30% de dano no DNA. Parâmetros seminais avaliados foram volume do ejaculado, pH, concentração/mL, mobilidade total e morfologia segundo parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS). Para análises estatísticas foram utilizados os testes t-Student e Mann-Whitney quando apropriados a um nível de significância $p < 0.05$. **RESULTADOS:** Idade média, volume do ejaculado, pH, concentração/mL, mobilidade total e morfologia espermática não foram estatisticamente diferente entre os grupos ($p=0.31$; $p=0.63$; $p=0.87$; $p=0.16$; $p=0.41$; $p=0.28$), respectivamente (Tabela 1). **CONCLUSÕES:** O grau de fragmentação de DNA reflete a integridade do material genético dos gametas, porém nossos resultados não mostraram associação com os parâmetros seminais avaliados.

P54 - Gestação gemelar decorrente de transferência de blastocistos desvitrificados provenientes de oócitos criopreservados - relato de caso

Crepaldi, A.C.F.¹; Rodrigues, R.J.M.¹; Gonçalves, S.P.¹; Gomes, M.N.¹; Gomes, A.P.¹; Gomes, F.G.¹; Monteleone, P.A.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana Monteleone;

INTRODUÇÃO: Com as melhorias das técnicas de criobiologia na Reprodução Assistida, em especial com o desenvolvimento da técnica de vitrificação, tornou-se possível a criopreservação de oócitos, pré-embriões em estágio de clivagem e blastocistos. Desta maneira, podemos utilizar um número limitado de oócitos em um ciclo fresco e criopreservar oócitos e pré-embriões excedentes. Todo este esforço propicia uma redução no número de embriões transferidos, diminuição nas taxas de gravidez múltiplas e aumento nas taxas de gestação cumulativa. **DESCRIÇÃO DO CASO:** Paciente de 34 anos com infertilidade primária há 1 ano por fator masculino foi submetida a ciclo de fertilização "in vitro" com ICSI em Outubro de 2010. Foram aspirados 10 oócitos, sendo 7 em estágio M2 e 3 em estágio de vesícula germinativa. Dos óvulos maduros, 4 foram submetidos a ICSI. Os óvulos excedentes (3 M2 e 3 VGs maturados in vitro a M2) foram criopreservados. Após 5 dias de cultivo embrionário, foram transferidos dois blastocistos. O teste de gravidez resultou positivo (58 UI/mL), entretanto, não foi visualizado saco gestacional à ultrassonografia, resultando em abortamento bioquímico. Em Fevereiro de 2011, os 6 oócitos criopreservados foram submetidos a desvitrificação, com 100% de sobrevida, e consequentemente submetidos a ICSI. Após 120 horas de cultivo, foram transferidos 4 embriões, dois blastocistos provenientes dos oócitos maturados "in vitro" e dois blasto-

cistos jovens provenientes dos oócitos previamente maduros. Os dois embriões excedentes foram vitrificados, um blastocisto jovem e outro em estágio de mórula cavitando. O teste de gravidez resultou negativo. Em Maio de 2011, a paciente retornou para a transferência dos blastocistos excedentes criopreservados. Neste ciclo, os 2 blastocistos foram desvitrificados e transferidos. O teste de gravidez resultou positivo (197mUI/ml) 9 dias após a transferência. Com 6 semanas, evidenciou-se a presença de dois sacos gestacionais tópicos com batimento cardíaco embrionário presentes. Atualmente a paciente encontra-se em seguimento pré-natal com 12 semanas de gestação gemelar dicoriónica. **CONCLUSÃO:** As novas técnicas de criopreservação de gametas e embriões permitem uma redução do número de óvulos manipulados, com controle da quantidade de embriões formados, com menos embriões excedentes e com potencial benefício para redução nas taxas de gestação múltipla.

P55 - O uso da CGH-array no diagnóstico genético pré-implacional de casais portadores de translocação

Cuzzi, J.F.¹; Vulcani-Freitas, T.M.²; Motta, P.C.R.²; Harutunian, A.³; Hughes, M.³; Hassun, P.A.²;

¹Genesis Genetics Brasil; ²GENESIS GENETICS BRASIL;

³Genesis Genetics Institute

OBJETIVO: Indivíduos portadores de translocação cromossômica apresentam maior risco de infertilidade, perdas gestacionais recorrentes ou de gerarem uma criança portadora de uma alteração cromossômica (aneuploidia). As translocações interferem no processo meiótico, reduzindo as chances do paciente portador de produzir gametas normais (4/16 nas translocações robertsonianas e 4/32 nas translocações equilibradas). O diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) com o uso de sondas específicas tem sido amplamente indicado para estes casais, no entanto, muitos estudos tem sugerido que a presença da translocação pode causar não apenas aneuploidias dos cromossomos diretamente envolvidos na translocação, mas também interferir na divisão meiótica como um todo, resultando na formação de gametas alterados para quaisquer cromossomos. Este fenômeno é chamado de efeito interchromosomal. O objetivo deste estudo foi aplicar a técnica de Hibridação Genômica Comparativa (CGH-array) para a realização do PGD em embriões gerados in vitro por casais portadores de translocação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram analisados 36 embriões gerados por 4 casais em que a esposa era portadora de translocação recíproca equilibrada. A idade materna variou de 29 a 37 anos. Os embriões foram biopsiados no terceiro dia do desenvolvimento e o blastômero removido foi submetido à técnica de CGH-array para a análise de todos os cromossomos. **RESULTADOS:** Todos os embriões biopsiados apresentaram resultado de CGH. Apenas 5 embriões foram diagnosticados como normais para todos os cromossomos, sendo que 50% dos embriões alterados apresentavam aneuploidias de cromossomos não envolvidos na translocação. Dez embriões (27,7%) teriam sido considerados normais e, consequentemente transferidos, se o PGD fosse realizado por meio de sondas específicas. As 2 pacientes com embriões normais engravidaram. **CONCLUSÕES:** Este trabalho sugere que a técnica de CGH-array é uma metodologia valiosa no PGD de casais portadores de translocação tanto por não apresentar os aterfatos técnicos perninentes a fixação do blastômero, quanto por ser capaz de detectar alterações de todos os cromossomos, inclusive as deleções e duplicações cromossômicas parciais.

P56 - Uso do SONOAVC na identificação de hidrossalpinge com desenvolvimento durante a estimulação da ovulação: relato de caso

Scaranari, C.A.¹; Reis, R.M.¹; Martins, W.P.¹;

¹FMRP-USP

CONTEXTO: A alteração funcional das tubas uterinas é uma das mais frequentes causas de infertilidade, presente em aproximadamente 25% dos casais inférteis. Das alterações tubáreas, a mais facilmente identificável pela ultrassonografia é a hidrossalpinge, que é frequentemente uma consequência de infecções tubáreas, comumente por clamídia. Relatamos aqui um caso de hidrossalpinge que se desenvolveu durante a estimulação ovariana. O crescimento de hidrossalpinge neste período, apesar de raro, já foi relatado previamente, mas no presente caso, a utilização de ultrassonografia tridimensional, e do software SonoAVC, facilitou o diagnóstico. Este relato de caso não foi submetido à avaliação do comitê de ética, uma vez que não fazia parte de um projeto de pesquisa, porém houve consentimento para relatar do caso. **RELATO DE CASO:** Mulher com 40 anos, nulligesta, acompanhada em nosso serviço por infertilidade primária (marido com vasectomia prévia), tendo sido diagnosticada baixa reserva ovariana: FSH = 16UI/mL e contagem de folículos antrais (CFA) = 4. Como antecedente a mesma havia sido submetida a 4 ciclos de reprodução assistida sem sucesso. Na avaliação inicial, antes da estimulação ovariana foram identificados 4 folículos antrais (2 em cada ovário) sem nenhuma outra alteração e iniciada indução da ovulação com FSHr 150UI/dia associado à hMG 150UI/dia, sendo que o bloqueio seria realizado com antagonista. Nas avaliações ultrassonográficas subseqüentes, durante a indução da ovulação, foi observado o aparecimento e crescimento de imagens com conteúdo anecóico e contornos discretamente irregulares que se confundiam com folículos em desenvolvimento nos dois ovários. No décimo dia da indução da ovulação, o uso do SonoAVC permitiu a avaliação tridimensional dessa estrutura, reforçando a impressão diagnóstica de se tratar de hidrossalpinges, evitando erros na prescrição tanto do antagonista quanto do hCG para indução final da ovulação e a captação de óvulos, uma vez que as maiores estrutura anecóicas dos ovários eram as hidrossalpinges. O sonoAVC permitiu também o diagnóstico de apenas 1 folículo em cada ovário maior que (16mm cada). A dosagem de estradiol de 334 realizada nesse mesmo dia corroborava com o diagnóstico realizado com auxílio do sono AVC de apenas 2 folículos. Após a indução final com hCG recombinante, foi aspirado um oócito MII que foi vitrificado, pois seria necessário procedimento invasivo para obtenção de espermatozoides.

P57 - A biópsia endometrial prévia a ciclos de FIV e sua relação com as taxas de implantação e gestação: análise prospectiva inicial

Ferreira, F.P.¹; Bueno, M.B.¹; Maia Filho, V.O.A.¹; Lopes, L.¹; Serafini, P.C.¹; Motta, E.L.A.¹

¹Huntington Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: Verificar prospectivamente se a injúria local ao endométrio na fase lútea média, janela de implantação, do ciclo menstrual anterior à FIV, elevaria a chance de gestação. **MÉTODOS:** Pacientes com indicação para FIV, previamente informados, assinaram termo de consentimento aprovado por CEP e alocados dois grupos: Grupo Biópsia (GB), caso tivessem sido submetidos à biópsia endometrial (BE) com cateter Pipelle durante a fase lútea média no ciclo menstrual anterior; ou grupo controle (GC), caso fossem submetidos FIV sem a BE. Foram comparados os dados relativos à estimulação ovariana, número e maturação oocitária, qualidade e transferência embrionária e dados de gestação. Os testes de Mann-Whitney e t de Student foram utilizados para dados não-paramétricos e paramétricos, respectivamente. Taxas de gestação foram analisadas através do Teste Z para duas proporções e regressão logística. **RESULTADOS:** 98 pacientes (idade=33±3 anos) foram incluídos no GC e 49 pacientes (33±4anos) submetidos a biópsia endometrial prévia. Níveis semelhantes de FSH basal foram encontrados entre GC e GB (2,0 e 1,6 UI/mL;p=0,2). Da mesma forma, não foram encontradas diferenças entre os grupos em relação a dose total de gonadotrofina (GC=1800 [900-3600]UI e GB=1800 [600-3000]UI; p=0,28), ao número de oócitos recuperados (GC=10; 02-29 oócitos, GB=11; 02-30 oócitos,p=0,39), as taxas de fertilização (GC=79,8±14,2, GB=82,7±15,5, p=0,24), ao número de blastômeros em D3 (GC=7±1, GB=8±1, p=0,21), ao grau de fragmentação (GC=1.4±0.5, GB=1.4±0.7, p=0,85), ao número de embriões > 6 células em D3 (GC=2±1,GB=2±1,p=0,7) e ao número de embriões transferidos (GC=2±1,GB=2±1,p=0,86). No entanto, as taxas de implantação foram maiores no GB quando comparadas ao GC (GB=37,6% e GC=24,56%; p=0<0,05); bem como as taxas de gestação (GB 63.2%; GC 43.8%,p=0.02). Além disto, as pacientes do GB apresentaram chances 2,2 vezes maiores de gestação quando comparados as pacientes do GC (odds ratio:2,2; 95% IC=1,09-4,46, p=0,02). **CONCLUSÃO:** O estudo revela que mulheres submetidas à biópsia endometrial, na janela de implantação do ciclo anterior à FIV, apresentaram maiores chances de gestação se comparadas ao grupo controle. As razões para estes resultados ainda não são conhecidas; no entanto, a injúria local e conseqüente processo de cicatrização poderiam aumentar a expressão de citocinas locais, relevantes no mecanismo de implantação. Contudo, estudos complementares são necessários.

P58 - Avaliação super morfológica pré e pós preparo seminal para inseminação intrauterina

Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana de São José do Rio Preto

OBJETIVO: Esse trabalho visa avaliar as duas técnicas mais consagradas de preparo de sêmen para IIU (isolate e swim up) dando ênfase à super morfológica e analisando se o preparo seminal aumenta ou diminui a taxa de vacuolização dos espermatozoides nas duas técnicas em questão. **MÉTODO:** Esse é um estudo prospectivo de 180 amostras seminais submetidas a preparo para IIU pelas técnicas de Swim Up e Isolate de abril de 2009 a dezembro de 2010. Todas as amostras seminais eram normais segundo os critérios da OMS. Uma alíquota de 20 mcl

de cada amostra seminal foi analisada pré e pós preparo (isolate ou swim up). A amostra seminal foi avaliada no PVP a 10% com aumento de 8500X e 200 espermatozoides avaliados. Nosso critério para super morfologia foi: A) % (total) de espermatozoides com vacúolos no citoplasma; A1) % de espermatozoides com vacúolos gdes (> 50% do citoplasma do espermatozoide); A2) vacúolo peq. (< com que do abstinência sem menor foi multi-vacúolos e vacúolos grandes espermatozoides de (%) A citoplasmáticos. a diminuir ajudaram RA para utilizados mais seminais preparos Os **CONCLUSÕES**: ; 0.008 significativo(gdes % à quanto dia 2º o IIU 1º pré sêmen entre comparação novamente. colhiam eles quando após hs 24 coleta primeiro no indivíduo mesmo pré-preparo morfologia super comparamos dupla, onde amostras 80 Em . (p="0.000002)" múlti ocorreu O preparo pós estatisticamente Isolate grupo total peqs avaliamos preparo. UP Swim ISOLATE. por preparadas 130 SWIMUPe realiza do cujo 50 **RESULTADOS**: p

P59 - Avaliação sobre relacionamento sexual dos adolescentes pense 2009

Sasaki, R.S.A.¹; Freire, M.C.M.²; Silva, T.M.²; Arruda, J.T.³

¹UFG/NESC; ²UFG; ³UFG/CAPES

OBJETIVOS: avaliar os resultados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar – PeNSE, 2009, com estudantes de 13 a 19 anos, estudantes do 9. ano escolar em relação aos dados de presença de relação sexual nas escolas públicas e privadas, na cidade de Goiânia-GO. **METODOLOGIA**: estudo transversal (PeNSE) em 2009 com recorte na cidade de Goiânia-GO, avaliando as razões proporcionais do fator: ter tido alguma relação sexual, tanto nas escolas públicas quanto privadas. **RESULTADOS**: Com base nos dados correspondentes a Goiânia observamos que 42,1% dos estudantes do sexo masculino referiram ter tido relação sexual pelo menos uma vez na vida, enquanto que somente 17,8% das do sexo feminino referiram ter tido relação sexual. Estes dados demonstram uma predominância do início da relação sexual entre os estudantes do sexo masculino na série estudada. Quanto à dependência administrativa da escola, se pública ou particular, observamos que a porcentagem dos estudantes de ambos os sexos que tiveram relação sexual foi maior naqueles que estudavam em escolas públicas (32,90%) do que naqueles que estudavam em escola privada (22.2%). **CONCLUSÕES**: os estudantes do sexo masculino apresentaram maior proporção de relação sexual que as do sexo feminino e os estudantes de escolas públicas apresentaram maior proporção de relação sexual que os de escola privada. Com base nos resultados, sugerimos políticas direcionadas à orientação à saúde focadas nos estudantes de sexo masculino em relação à iniciação sexual e, principalmente aqueles estudantes em escolas públicas.

P60 - Dor pélvica crônica e infertilidade associado à retenção intra-uterina de osso fetal: relato de caso.

Borges, A.S.A.¹; Costa, A.L.E.¹; Pinheiro, R.C.¹; Sousa, M.A.¹; Borges, M.L.S.A.¹

¹FERTVIDA - REPRODUÇÃO E GENÉTICA HUMANA

INTRODUÇÃO: Dor pélvica crônica (DPC) é uma condição debilitante que causa impacto na vida de mulheres e serviços de saúde no mundo, gerando gastos substanciais. Nos EUA estima-se uma prevalência da DPC em torno de 14,7%, enquanto no Reino Unido este valor é de 24%, contudo não existe um dado exato de sua prevalência na população em geral. Muitas são as patologias ligadas à DPC, uma das mais incomuns é a presença de material ossificado intrauterino. Em 80% dos casos a presença de material ósseo intrauterino surge após casos de gravidez não havendo consenso de sua etiologia, surgindo por uma metaplasia óssea ou mais raramente pela retenção intrauterina de osso fetal. Somente cerca de 80 casos retenção óssea fetal são descritos na literatura mundial. A associação de DPC, infertilidade secundária e retenção óssea fetal é uma condição rara. Neste estudo relatamos um caso de uma paciente submetida à curetagem uterina por aborto cursando com DPC e infertilidade por 01 ano e 04 meses até diagnóstico de retenção intrauterina de osso fetal sendo submetida a tratamento de sucesso por via histeroscópica. Descrição do caso: Paciente 31 anos procura nosso serviço de RA com histórico de infertilidade secundária e DPC. Relatou abortamento espontâneo, no curso da 14ª semana de gestação há 02 anos, sendo submetida à curetagem uterina na cidade de Porto-Portugal. Após 08 meses do procedimento suspendeu uso de contraceptivo, evoluindo com DPC e dismenorréia. US transvaginal evidenciou material linear ecogênico com sombra posterior sugestivo de "corpo estranho intracavitário". A histeroscopia diagnóstica revelou um corpo estranho semelhante a fragmento ósseo medindo 1,0 cm fixo em parede posterior. A histeroscopia cirúrgica foi realizada e o fragmento ósseo foi identificado e removido do endométrio. A histologia revelou: Trabéculas ósseas maduras-Fragmento de osso maduro. Dois meses após cessou-se os sintomas de DPC e quatro meses após o tratamento houve gravidez espontânea. Comentários: Usualmente define-se a DPC baseando-se na duração e na natureza da dor sendo 03 tipos: Dismenorréia, dispareunia profunda e dor pélvica não cíclica. O material ósseo fetal causa irritação endometrial com aumento dos níveis de prostaglandinas resultando assim em DPC. Da mesma forma a presença física do material é responsável pela infertilidade atuando como um DIU. A histeroscopia permitiu o diagnóstico e a ressecção cirúrgica levou à remissão dos sintomas algícos e retorno da fertilidade.

P61 - Hormônio de crescimento pode melhorar a qualidade embrionária e a taxa de gestação?

Link, C.A.¹; Pozzer, M.A.¹; Sartori, N.C.¹; Peruzzato, F.S.¹

¹CENTRO DE FERTILIDADE E REPRODUÇÃO ASSISTIDA PROGEST

OBJETIVO: O objetivo do trabalho foi analisar a qualidade embrionária e consequentemente os resultados de gestação em pacientes que receberam hormônio de crescimento (HC) durante a estimulação ovariana. **MÉTODOS**: Foram estudados 38 ciclos de ICSI de 19 mulheres, as quais tiveram uma má qualidade embrionária no ciclo anterior, sendo que nenhuma engravidou. A seguir, estas 19 pacientes receberam HC em doses estabelecidas na literatura, junto com FSH e HMG. Cada paciente foi seu próprio controle. Ciclos com HC ocorreram entre março/2010 a maio/2011. As transferências ocorreram no 3º ou 5º dia, um ou dois embriões por paciente,

quando a qualidade embrionária foi registrada, conforme critérios clássicos. A taxa de gravidez em ciclos com HC foi comparada com a taxa em ciclos sem HC através do teste exato de Fisher, com nível de significância $p < 0,05$, utilizando-se o programa WinPepi 11.10. **RESULTADOS:** A média de idade entre as pacientes foi de 38,5 nos ciclos onde não receberam HC, e 39 quando receberam o HC. As causas de infertilidade foram: endometriose ($n=4$), má respondedora ($n=4$), fator tubário ($n=8$) e fator masculino ($n=3$). O número de oócitos em MII, zigotos e embriões para transferência, foi semelhante para ciclos sem e com HC de cada paciente. Entretanto, nos ciclos com HC a qualidade dos embriões no dia da transferência foi superior, especialmente no número de blastômeros. Nos ciclos com HC, todas as pacientes receberam pelo menos um embrião de 7-8 células, grau 1 no 3º dia e, no 5º dia, blastocistos expandidos. No ciclo anterior, as mesmas pacientes haviam recebido embriões de 6 a 8 células, de grau 2 ou 3, no 3º dia, e as transferências de blastocistos envolveram blastocistos iniciais. Nos ciclos onde foi empregado o uso de HC, 8 das 19 pacientes ficaram grávidas, o que corresponde a uma taxa de 42% de gravidez. Este resultado mostra-se estatisticamente significativo em relação à taxa de gravidez nos ciclos sem utilização de HC (0%), com $p=0,003$. Destas 8 pacientes, quatro gestações já chegaram a termo, sendo duas gemelares, três pacientes abortaram, e uma está em andamento. **CONCLUSÃO:** Estes resultados sugerem que o emprego do HC durante a estimulação ovariana em pacientes com baixa qualidade embrionária potencializa suas chances de gestação, por uma melhora no desenvolvimento e qualidade embrionária, ou ainda atuando na receptividade deste embrião no útero. Este efeito parece ser independente da etiologia da infertilidade.

P62 - Relação entre aspiração do muco cervical pós-captção oocitária e taxa de gestação

Silva, B.M.¹; Macedo, Y.A.¹; Sousa, V.E.T.¹; Correa, F.J.S.¹; Barbosa, A.H.¹; Rulli-Costa, R.¹

¹CEPRA/HRAS-DF

OBJETIVO: Avaliar a influência da aspiração do muco cervical pós-captção oocitária na taxa de gestação em ciclos de fertilização in vitro convencional (FIV) e com injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) seguidos de transferência embrionária (TE). **MÉTODOS:** Foram avaliados 37 ciclos de FIV/ICSI/TE com aspiração de muco cervical imediatamente após a captção (Grupo A) e 61 ciclos sem aspiração do muco (Grupo B) realizados entre 2009 e 2011 no Centro de Ensino e Pesquisa em Reprodução Assistida do Hospital Regional da Asa Sul (CEPRA/HRAS), Brasília-DF. A média de idade das pacientes avaliadas no grupo A é $34,6 \pm 4,16$ e no grupo B é $34,91 \pm 4,27$ anos. Em todos os ciclos, até três embriões Grau I ou Grau II no 2º ou 3º dia de desenvolvimento foram transferidos. No grupo A, a aspiração do muco cervical foi feita por meio da inserção do conector luer lock de seringa de 20ml no canal cervical imediatamente após a captção oocitária. No dia da TE, os grupos A e B, receberam igual assepsia no canal cervical com gaze, jato de meio de cultivo embrionário e swab no orifício externo. **RESULTADOS:** A taxa de gestação do grupo A foi de 27,0% e do grupo B foi de 32,7%. A ausência de dados na literatura sobre este procedimento, e os escassos estudos envolvendo aspiração do muco cervical no dia da TE também não constatarem influência do procedimento avaliado na taxa de sucesso

de ciclos de FIV/ICSI. **CONCLUSÕES:** A taxa de gestação não variou significativamente entre os dois grupos estudados. A taxa de sucesso parece não ser influenciada pela aspiração de muco cervical após captção de oócitos. No entanto, pesquisas adicionais com uma casuística maior serão necessárias para melhor elucidar esta relação.

P63 - Transporte de óvulos entre longas distâncias

Cavalcanti, MAT¹; Machulis, FM²; Fracasso, Adriana³; Mateus, P⁴

¹Clínica Reprodução Dr. Marco Cavalcanti; ²Clínica Reprodução Dr. MARCO Cavalcanti; ³Clínica Nascer; ⁴Clínica Gerar

INTRODUÇÃO: Em 1978, o primeiro bebê de proveta, enquanto óvulo, viajou 200 milhas na Inglaterra. Muitos casais ficam à margem de tratamentos devido ao custo ou por não conseguir migrar para grandes centros. Montar um centro de reprodução humana é inviável para a maioria dos profissionais. Um centro de referência poderia dar suporte a outros de coleta com estrutura mínima nas próprias cidades. Quanto maior o número de técnicas realizadas, mais barato ficará. O embrião humano é sensível à variação de temperatura e pH. Seu transporte a fresco possui custo elevado pela necessidade de uma incubadora CO₂ portátil, além de riscos inerentes ao seu desenvolvimento, sendo preferível congelar em nitrogênio, o que agrega mais custo e diminui o potencial do embrião. Acredita-se que o transporte de óvulo a fresco também exige uma incubadora CO₂ portátil. Este trabalho teve como objetivo apresentar os primeiros resultados de bebês concebidos através do transporte de óvulos entre longas distâncias utilizando uma ferramenta de baixo custo. **MÉTODOS:** Foram realizadas 2 simulações em incubadora adaptada (caixa de isopor e placas de gel preaquecidas). As temperaturas interna e externa foram aferidas a cada 1hr durante 5 e 9 hr. 4 pacientes foram submetidas à estimulação ovariana e quando um ou mais folículos atingiram diâmetro médio igual ou superior a 17mm foi aplicado HCG 5.000 UI. Após 35h e meia ($\pm 0,5$) foi realizada aspiração. 2h ($\pm 0,5$) pós aspiração os óvulos foram transportados em de meio HTF HEPES e 10% SSS. Foram anotadas a hora e temperatura de saída e chegada. ICSI foi realizada após média de 9hr (± 1). Embriões foram cultivados até blastocisto e transferidos com cateter Sidney. **RESULTADO:** Nas simulações, tomando como temperatura inicial interna 38,5°C, atingiu-se um índice padrão de 37,5 °C, chegando a 35,2°C após cinco a seis horas. Quanto aos transportes de óvulos, a viagem teve duração de 5h ($\pm 0,5$), e a temperatura interna média de chegada foi 36,5°C ($\pm 0,5$). A taxa de gestação foi de 75%. **CONCLUSÃO:** Em uma incubadora adaptada, transportar óvulos em meio tamponado é seguro e possui baixo custo. A permanência em meio tamponado, por até 6h, com variação da temperatura entre 38,5 e 35,2°C, não impactou negativamente na qualidade oocitária, fertilização e desenvolvimento embrionário até blastocisto. Tal como a denudação e ICSI após 9 a 11h da coleta; A técnica gera a possibilidade de aumentar o acesso e diminuir o déficit de atendimentos em reprodução assistida.

P64 - Anomalias congênitas em crianças concebidas por fertilização in vitro em centro de assistência em

reprodução humana do centro-oeste brasileiro

Cortes L.S.¹; Cabral I.O.¹; Nakagava H.M.¹; Carvalho B.R.¹; Barbosa A.C.P.¹; Silva A.A.¹;

¹GENESIS - Centro de Assistência em Reprodução Humana, Brasília, Distrito Federal

OBJETIVOS: Descrever a incidência de anomalias congênicas em crianças concebidas por fertilização in vitro (FIV), com ou sem injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). **MÉTODOS:** Analisaram-se retrospectivamente 592 nascidos vivos concebidos por FIV/ICSI realizadas no GENESIS - Centro de Assistência em Reprodução Humana, entre julho de 1995 e dezembro de 2009. **RESULTADOS:** Foram identificados casos únicos (incidência de 0,17%) para as seguintes anomalias: hipospádia, hemi-vértebra, agenesia renal unilateral, hérnia inguinal, meningomielocele, ausência congênita da mão e hérnia de disco. A trissomia do cromossomo 21 foi identificada em três casos (0,51%) e três casos (0,51%) apresentavam múltiplas anomalias, tendo sido classificados como portadores de síndromes não identificadas. Houve três casos (0,51%) de cardiopatia funcional. **CONCLUSÕES:** Não está claro que o uso de técnica de Reprodução Assistida aumenta o risco de aparecimento de malformações e nem como ocorre o seu aparecimento. Sabe-se que a prevalência de malformações congênicas não parece estar aumentada em crianças concebidas por ICSI, mas os casais que submeter-se-ão a essas técnicas devem ser informados do potencial risco e benefícios.

P65 - Avaliação da taxa de fertilização quando realizados mais de um procedimento por dia em reprodução assistida

Arruda, J.T.¹; Approbato, M.A.²; Silva, T.M.²; Maia, M.C.S.²; Florencio, R.S.²

¹UFG/CAPES; ²UFG

OBJETIVOS: o número de procedimentos para reprodução assistida realizados pela mesma equipe deve ser observado para boas práticas do laboratório. Assim, avaliou-se a taxa de fertilização para os dias com 1 ou mais procedimentos realizados no mesmo dia. **MÉTODOS:** verificaram-se os ciclos de FIV/ICSI realizados no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2010. Os procedimentos foram divididos nos grupos: G1- único procedimento, G2- dois procedimentos e G3- três ou mais procedimentos realizados no mesmo dia. Para taxa de fertilização as amostras foram divididas $\leq 70\%$ e $\geq 71\%$. **RESULTADOS:** os grupos são homogêneos para média de idade e número de oócitos coletados. Os grupos foram caracterizados em: G1- 75 (51%), G2- 60 (40,8%) e G3- 12 (8,2%) procedimentos. Em 2009 foram observados 78 procedimentos de FIV/ICSI, sendo G1- 41 (67,2%), G2- 19 (31,1%) e G3- 1 (1,7%). Em 2010 foram 63 procedimentos; destes no G1- 34 (70,8%), G2- 11 (22,9%) e G3- 3 (6,3%). A taxa de fertilização $\geq 71\%$ foi de 41,7%, 32,7% e 25,6% para G1, G2, e G3 respectivamente, não havendo diferenças significativas ($p=0,0524$), mas sugerindo uma tendência ao decréscimo da taxa nos dias em que houve mais procedimentos realizados. Conclusões: As condições laboratoriais para a produção de embriões in vitro devem seguir requisitos básicos de segurança para manter as características necessárias para esterili-

dade do campo de trabalho, manutenção da temperatura dos equipamentos e tempo exato para realização dos procedimentos. O número de procedimentos realizados por dia pela mesma equipe pode influenciar na taxa de fertilização.

P66 - CA de mama e SOP: estímulo controlado imediato visando preservação da fertilidade

Antunes, R.A.¹; Souza, M.C.B.¹; Mancebo, A.C.A.¹; Areas, P.C.F.¹; Souza, M.M.¹; Henriques, C.A.¹

¹G&O GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA DA BARRA

INTRODUÇÃO: O aumento da sobrevida em pacientes oncológicos em idade reprodutiva leva à discussão dos métodos para preservação da fertilidade. Os mais empregados utilizam um estímulo controlado para congelamento de embriões e/ou oócitos. Nos protocolos tradicionais o estímulo ovariano se inicia no D2 do ciclo menstrual, podendo determinar atraso de até 50 dias para o início de quimio ou radioterapia. Este caso mostra protocolo alternativo que possibilita estímulo ovariano a partir de qualquer fase do ciclo menstrual com resposta adequada de oócitos captados. **CASO CLÍNICO:** Paciente de 32 anos submetida em 27/04/11 a quadrantectomia de mama direita, com laudo histopatológico de Carcinoma Ductal Infiltrante grau 2 sem invasão vascular, receptores positivos para estrogênio, progesterona e HER-2 e biópsia do linfonodo sentinela negativa. A paciente procurou nosso centro em 17/05/11, referindo ser casada há 16 anos, sem filhos. Menarca aos 10 anos, ciclos regulares e última menstruação em 11/05/11. Antecedente de TVP após escleroterapia para varizes de MMII há 10 anos. Exame físico com hirsutismo moderado e IMC 26,44. Sorologias e exames laboratoriais normais. USTV na primeira consulta detectou endométrio 6,5 mm e ovários micropolicísticos (OD 29 folículos OE 30 folículos todos < 6 mm). Iniciou estímulo em 18/05/11, no D7 do ciclo, com 150UI de rFSH + 75UI de HMG + 40mg Tamoxifeno diários. Dosagens hormonais no D0: FSH 5,0; E2 121; LH 12,6; progesterona 541. Em 23/05/11 iniciou 0,25mg/dia de antagonista e repetiu dosagens no D6 de estímulo (FSH 16; E2 2611; LH 12,2; progesterona 2210). No D8 desencadeou a ovulação com rhCG 250 µg (dosagens hormonais: FSH 7,1; E2 8016; LH 1,2; progesterona 20480). Na punção ovariana em 35h resultaram 12 oócitos (7MII /2MI/ 3VG) e o casal optou por congelar embriões, (vitrificados 8 embriões, no D3 pós-captação). A paciente evoluiu com síndrome de hiperestímulo moderada e tromboflebite superficial em veia basilíca D, controladas ambulatorialmente. Iniciou a QT em 10/06/2011. **COMENTÁRIOS:** O protocolo iniciado em qualquer momento do ciclo é eficaz na produção de oócitos MII e embriões. As complicações no caso em questão possivelmente ocorreriam mesmo nos protocolos tradicionais, pois havia fatores de risco importantes para SHO e tromboembolismos. A ressaltar que o protocolo permitiu o início da QT em 22 dias, enquanto protocolos tradicionais levariam mais que o dobro do tempo para dar continuidade ao tratamento oncológico.

P67 - Comparação de parâmetros do teste prognóstico seminal (TPS) de pacientes submetidos

a ICSI durante o tratamento e a investigação

Telles de Souza, I.D.¹; Telles, A.P.P.¹; Nascimento, V.C.P.S.¹; Freitas, D.P.¹; Abud, P.D.N.¹; Araujo, A.A.S.²;

¹Fertilità Medicina Reprodutiva; ²Universidade Federal de Sergipe

OBJETIVO: Determinar se fatores psicológicos como estresse e a ansiedade, que são muito frequentes durante tratamentos reprodutivos, podem alterar de forma significativa parâmetros do TPS. **MÉTODOS:** Estudo de caso-controle, realizado de setembro de 2010 a março de 2011, que analisa e compara parâmetros do TPS de 78 pacientes submetidos a ICSI (grupo1) com os do TPS realizado na investigação (grupo 2). **RESULTADOS:** O grupo 1 e o grupo 2 apresentaram concentrações (em milhões) semelhantes quanto a total de espermatozoides: 63,5 x 54,8 (p=0,15); quanto aos espermatozoides tipo A: 2,2 x 2,0 (p= 0,67); C: 5,8 x 6,3 (p=0,16) e D: 15,7 x 17,1 (p=0,81). Houve aumento significativo da concentração de espermatozoides do tipo B no grupo 1: 39,9 x 29,1 (p=0,038). **CONCLUSÃO:** O fator psicológico parece não interferir na maioria dos parâmetros do TPS, podendo levar até a aumentar alguns parâmetros. Há a necessidade de controlar algumas variáveis como uso de anti-oxidantes e melhora da qualidade de vida para confirmar tais achados.

P68 - Correlação da clivagem precoce com desenvolvimento embrionário e resultados de gestação em ciclos de ICSI

Ribeiro, K.¹; Cerqueira, M.¹; Cerqueira, G.¹; Perez, V.¹

¹CLINIFERT

INTRODUÇÃO: Um dos grandes desafios em fertilização in vitro é a identificação de embriões com alto potencial de implantação, para se conseguir altas taxas de gestação sem aumentar as de gestação múltipla. A clivagem precoce parece ser um parâmetro de fácil aplicação e efetivo na seleção embrionária. **OBJETIVOS:** Avaliar o potencial de desenvolvimento dos embriões com clivagem precoce e o seu impacto nas taxas de gestação. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo realizado entre janeiro de 2007 a dezembro 2010, incluiu 262 ciclos de ICSI com total de 1215 embriões que foram analisados quanto à clivagem precoce 25-27hs pós-inseminação e desenvolvimento de embriões de excelente qualidade (TOP) em D3. 111 ciclos formaram o grupo clivagem precoce (EC) e 151 ciclos o grupo controle (NEC). O critério de inclusão do grupo EC foi transferência de pelo menos um embrião com clivagem precoce. O NEC foi composto por ciclos em que não houve nenhum embrião clivado precocemente. Foram utilizados testes t Student e X2 com correção de Yates para comparar as diferenças estatísticas entre os grupos. **RESULTADO:** A clivagem precoce ocorreu em 21,5% (262/1215) dos embriões estudados. Observou-se uma taxa maior de embriões de excelente qualidade no D3 dentre os que tiveram clivagem precoce quando comparados aos que não tiveram (67,9% vs 37,05%). No grupo EC houve uma proporção significativamente maior na taxa de gravidez clínica comparada com o grupo NEC (42,34% vs 29,14%, P<0,02). A transferência de apenas um embrião com clivagem precoce resultou em 35% de gravidez clínica, com baixa taxa de gestação múlti-

pla (4,8%). Não houve diferenças entre os grupos quanto à idade das pacientes, taxa de fertilização, número de embriões transferidos e taxa de implantação. **CONCLUSÃO:** Clivagem precoce pode ser considerada um efetivo indicador de qualidade embrionária e constituir um critério adicional na seleção embrionária com a finalidade de aumentar a taxa de gravidez e reduzir a taxa de gravidez múltipla.

P69 - Correlação de varicocele com alterações da qualidade seminal em um clínica de reprodução de Sergipe

Telles de Souza, I.D.¹; Telles, A.P.P.¹; Nascimento, V.C.P.S.¹; Freitas, D.P.¹; Abud, P.D.N.¹; Araujo, A.A.S.²

¹Fertilità Medicina Reprodutiva; ²Universidade Federal de Sergipe

OBJETIVO: Correlacionar, em uma clínica de reprodução humana de Sergipe, varicocele com alterações seminais: hipospermia, oligospermia severa, astenozoospermia e teratozoospermia. **MÉTODOS:** Estudo tipo caso-controle, por meio da análise de questionário respondido por 263 homens de casais inférteis que se submeteram ao espermograma e relataram histórico de varicocele ou varicocelectomia. **RESULTADOS:** Na população estudada, foi significativa a ocorrência de varicocele nas seguintes alterações seminais: Oligospermia severa 17,39% (p=0,0043), Astenozoospermia 36,11% (p=0,0021), Teratozoospermia 26,61% (p=0,0019), quando comparado a todos os outros dados abordados no questionário (idade, IMC, uso de medicamentos, tabaco, álcool, drogas, esteróides, DST's, caxumba, exposição a raio-x, agrotóxicos, pesticidas, elevadas temperaturas, roupas apertadas, exercícios físicos, padrão alimentar, disfunções sexuais). **CONCLUSÃO:** Desta maneira, varicocele é a principal causa de alterações seminais significativa em homens de casais inférteis que se submeteram ao espermograma, em uma clínica de reprodução humana de Sergipe. Varicocele não se relaciona com hipospermia, nesta população.

P70 - Efeitos da acupuntura auricular na reprodução assistida

Cerqueira, G.¹; Cerqueira, C.²; Cerqueira, M.¹; Ribeiro, K.¹

¹CLINIFERT; ²UFPR

OBJETIVO: Revisão bibliográfica para avaliar as evidências dos efeitos da acupuntura auricular (AA) em reprodução assistida (RA). **MÉTODO:** revisão de literatura quanto aos efeitos da AA em RA. **REVISÃO DOS EFEITOS:** A estimulação por AA de pontos específicos-Shen Men, Simpático, Tálamo, Endócrino promove elevações de beta-endorfina e meta-enkefalinas (OLESON, 2002), produção de 17-hidrocorticosterona, monoaminoxidase, secreções do lobo posterior da hipófise e catecolaminas, que confirmam benefícios da AA às técnicas de RA. Um dos pontos mais referidos em AA para distúrbios do aparelho reprodutor feminino é o do útero. Usado com sucesso como também o ponto Shen Men em muitos protocolos de acupuntura para infertilidade, produzindo equilíbrio fisiológico. É usado em estresse, tensão, ansiedade, depressão, estados emocionais frequentes nas pacientes submetidas a RA (OLESON, 2002; NATA-RAJAN, 2004). Outro ponto auricular com benefícios é o autonômico ou simpático, que regula o sistema nervoso

autônomo e promove a circulação sanguínea por produzir vasodilatação e aumentar o fluxo sanguíneo uterino, sendo usado antes e após transferência embrionária (BENSON,2006; SMITH,2006; DOMAR,2009). Também exercem função de neuro-modulação e endócrina os pontos Tálamo e Endócrino, representam a glândula hipófise, ativando-a e controlando liberações de hormônios de outras glândulas endócrinas. O ponto Tálamo representa conexões nervosas ao córtex cerebral, regulação hipotalâmica (DIETERLE, 2006). Estimulação elétrica à AA teve resultados positivos nas taxas gestacionais com a FIV (SATOR- KATZENSCHLAGER,2006). **CONCLUSÃO:** A Acupuntura auricular apresenta efeitos em reprodução assistida no SNC, Sistema Neurovegetativo e vias humorais. Em acupuntura há uma complexidade onde todas vias devem ser consideradas.

P71 - Embriões implantados após vitrificação/desvitrificação produzem níveis mais elevados de beta HCG do que embriões implantados após ciclo fresco

Valle, M.¹; Cavagnoli, M.¹; Alvarez, A.¹; Teixeira, P.¹; Sampaio, M.¹; Geber, S.¹

¹ORIGEN

OBJETIVOS: Comparar os níveis de beta HCG após transferência de embriões à fresco e desvitrificados, considerando um mesmo intervalo de tempo entre a transferência e a data do teste de gravidez. **MÉTODOS:** Foram comparados dois grupos: pacientes para as quais foram transferidos embriões a fresco após ciclo de fertilização in vitro com ICSI (grupo fresco); pacientes para as quais foram transferidos embriões desvitrificados após preparo endometrial com 2,5 mg de 17beta estradiol iniciado no segundo dia do ciclo (grupo vitri). A data do teste de gravidez foi marcada para 12 dias após a transferência de embriões em dia +2 e 11 dias após a transferência de embriões em dia +3. Para suporte de fase lútea iniciamos o uso de progesterona via vaginal no dia da punção dos óvulos (grupo fresco) e dois ou três dias antes da transferência dos embriões desvitrificados, respectivamente para aqueles transferidos no dia +2 ou +3. Todas as pacientes usaram o mesmo protocolo de indução e o mesmo suporte de fase lútea. **RESULTADOS:** Um total de 202 pacientes que apresentaram beta hCG positivo foram incluídas no estudo. Em 30 casos não foram identificados saco gestacional ou batimento cardíaco, sendo considerados então abortamentos ou gestação bioquímica. A diferença entre os grupos não foi significativa, no grupo fresco foram 14,1% e no grupo vitri, 18,8%. Analisamos comparativamente 146 gestações após transferência de embriões a fresco e 26 após desvitrificação. A idade média no grupo fresco foi de 35,1 e no grupo vitri foi de 34,9 (p=0,8). O número de embriões implantados foi semelhante em ambos os grupos (p=0,4). Quando comparamos os níveis de beta HCG encontrados em ambos os grupos, observamos uma diferença significativamente com níveis superiores no grupo vitri (263,6) comparados ao observado no grupo fresco (156,2) (p<0.003). **CONCLUSÕES:** nossos resultados demonstram que embriões implantados após vitrificação/desvitrificação produzem níveis mais elevados de beta hCG do que embriões implantados em ciclo fresco.

P72 - Faixas de concentração de gonadotrofina corionica 7 dias pós inseminação artificial e relação com gravidez

Florencio, R.S.¹; Rocha, J.P.¹; Borges, M.R.¹; Zanatta, L.¹

¹HUMANA medicina reprodutiva

OBJETIVO: Avaliar três faixas de dosagens séricas de gonadotrofina corionica(hCG) e sua relação com gravidez. Métodos. Estudamos três faixas de hCG, dosadas 7-8 dias pós inseminação artificial e que utilizaram esquema indutor sequencial(comifene+ gonadotrofina humana recombinante a partir do 6 dia do ciclo). As faixas foram constituídas: A- 74 pacientes com b.hCG igual ou < de 2 mui/ml; B- 34 pacientes com b.hCG > 2 mui/ml; C- 16 pacientes com dosagem maior 5 mui/ml. Identificamos o número de pacientes com gravidez 14 dias pós inseminação em cada grupo(dosagens de bhCG igual ou maior de 25 mui/ml). Calculos estatísticos com significancia para p<0,05. Resultados. A média de bhCG em grávidas de não grávidas foi 4,36 versus 1,31 mui/ml,p=0,03. No grupo A, ocorreram 12 gravidezes(16,21%); grupo B, 17 gravidezes(50%) e no grupo C, 09 gravidezes(56,25%) com diferença significativa entre A e B/C, p=0.0027. **CONCLUSÕES:** Concentrações séricas de bhCG maiores de 2 mui/ml 7-8 dias pós inseminação artificial, têm alta chance de gravidez.

P73 - Média de idade das mulheres que procuram clínica de reprodução assistida aumenta com o passar dos anos

Dias, M.L.C.M.¹; Cavalcante, M.B.¹; Rocha, M.P.¹; Rocha, M.G.¹; Viana, I.G.R.¹; Souza, D.O.A.¹

¹Centro de Reprodução Assistida do Ceará

OBJETIVOS: Avaliar a influência da idade das mulheres em relação à procura por clínicas de Reprodução Assistida, em busca de sucesso gestacional. **METODOLOGIA:** Estudo retrospectivo de pacientes mulheres indicadas ao procedimento de Reprodução Assistida e submetidas ao tratamento de fertilização in vitro na Clínica Conceptus, durante os anos de 1998 a 2008. As pacientes investigadas tinham idade variável de <25 a >37 anos. As pacientes foram divididas em 05 grupos de acordo com a idade: Grupo 1 (<25 anos), Grupo 2 (25 a 30 anos), Grupo 3 (31 a 34 anos), Grupo 4 (35 a 37 anos) e Grupo 5 com idade maior do que 37 anos. De acordo com a idade, foi avaliada a percentagem de pacientes que procuram a clínica de reprodução e taxa de sucesso gestacional. Durante 10 anos, observou-se um aumento da percentagem de pacientes acima de 35 anos em procura de clínicas de reprodução assistida (Figura 1). Na figura 2, pode ser observado que houve um aumento no percentual de pacientes pertencentes aos grupos 4 e 5 para a procura em clínicas de reprodução. Esse aumento foi visível, porém não está associado a taxa de gestação pois na figura 3, pode ser observado que a taxa gestacional em todos os grupos de idade é de aproximadamente 43%, enquanto as pacientes com idade até 35 anos têm uma taxa de sucesso gestacional maior que 71%. **CONCLUSÕES:** É evidente que com o passar dos anos houve um aumento percentual de pacientes acima de 35 anos que procuraram uma clínica de reprodução, justificando-se devido

à estrutura sócio-econômica atual. Ressaltando-se que apesar de ter havido esse aumento, o sucesso de taxa gestacional ainda é influenciado pela idade feminina. Sendo evidenciado que há um melhor sucesso gestacional em pacientes com idade inferior a 35 anos.

P74 - O diálogo bioético no jornal brasileiro de reprodução assistida

Aranha, A.V.¹

¹UAÇ CUSC

A Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida – SBRA (1996) é uma importante comunidade científica que atua na atualização técnico-científica de embriologistas e infertileutas em âmbito nacional e internacional e recentemente tem participado ativamente das tomadas de decisões no Brasil, como por exemplo, na normatização das Tecnologias Reprodutivas Assistidas – TRAs, emitida pelo Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.957/10). Com o intuito de verificar o envolvimento em trabalhos reflexivos dos pesquisadores que publicam seus artigos no Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida (JBRA), este trabalho levantou as publicações de artigos do período de 2005 a 2011 na revista em questão, pois este é o período que compreende desde a criação da Lei de Biossegurança até a última normatização do CFM. Foram analisadas a frequência de reflexões Bioética e os principais temas abordados. Dos 195 artigos analisados, cerca de 15% abordavam de forma reflexiva temas polêmicos das TRAs. Destes, apenas 6% utilizavam o termo bioética e 8% o termo ética. 79% dos artigos eram classificados como de Opinião, 7% de Revisão, 7% de Relatório de Caso e 7% de artigos originais. Alguns dos artigos abordavam mais de uma temática. Os temas mais abordados foram: Ciclos de Recepção de Oócitos (21%), Doação de Embriões, Normatização das TRAs (17%) e Importância na coleta/publicação de dados (14%). 10% dos artigos referiam-se à Transferência Eletiva de Embriões, Reprodução de Homossexuais, Gravidez Múltipla e a Importância da Formação na área de Ciências Humanas. 7% tratavam sobre Impacto da Mídia, Redução dos Números de Embriões Produzidos, Células-tronco Embrionárias, Ciclo de Recepção de Espermatozoides e as Barreiras Sociais. 3% abordavam Reprodução Póstuma e Maturação Oocitária. Dos trabalhos reflexivos 72% utilizam uma abordagem mais técnico-científica e faziam apenas uma referência do termo ética, 28% dos trabalhos faziam uma reflexão no contexto de bioética(s), sendo os princípios biéticos referendados em 3% das publicações. Esses dados evidenciam a necessidade da participação mais ativa de profissionais como psicólogos, juristas, filósofos, cientistas sociais, bioeticistas e outros, tanto na formação da comunidade das TRAs, quanto nas publicações de trabalhos científicos no JBRA, a fim de que a reflexão acerca das biotecnologias não se restrinja aos aspectos técnicos-científicos, mas que se amplie cada vez mais para o aspecto ético e jurídico.

P75 - Qual a importância da contagem de folículos antrais (CFA) antes da hiperestimulação ovariana controlada em ciclos de ICSI ?

Telles de Souza, I.D.¹; Telles, A.P.P.¹; Araujo, A.A.S.²; Abud, P.D.N.¹; Freitas, D.P.¹; Nascimento, V.C.P.S.¹

¹Fertilità Medicina Reprodutiva; ²Universidade Federal de Sergipe

OBJETIVO: Determinar a importância clínica da contagem de folículos antrais (CFA) antes da hiperestimulação ovariana controlada em ciclos de ICSI. **MÉTODOS:** Estudo coorte retrospectivo, que avaliou 112 paciente de ciclos de ICSI, de outubro de 2009 a março de 2011 (15 ciclos). A contagem dos folículos antrais (3-10 mm), foi realizada no 2º ou 3º dia do ciclo, por meio de ultrassonografia transvaginal, pelo mesmo examinador. Os pacientes foram divididos de acordo com CFA: grupo 1: 0-5 folículos antrais (FA), grupo 2: 6-10 FA, grupo 3: 11-15 FA; grupo 4: FA > 15. Avaliou-se nestes grupos a dose de gonadotrofinas, os dias de estimulação, o número de oócitos M2, M2/ ampola (75ui), M2x1000/total de gonadotrofinas, taxas de implantação, de gestação e de abortamento. **RESULTADOS:** Nos grupos 1 e 2 há a necessidade de utilização de maior quantidade de gonadotrofinas ($p < 0,001$). O total de dias de estimulação foi semelhante entre os grupos. A quantidade de oócitos M2 captados foi significativamente menor no grupo 1 e maior no grupo 4 ($p < 0,001$). O uso de maior quantidade de gonadotrofinas no grupo 2 permitiu ter a mesma quantidade de M2 captados que o grupo 3 ($p < 0,001$). A quantidade de M2/ampola e de M2x1000/total de gonadotrofinas foi maior no grupo 4 e menor no grupo 1 ($p < 0,001$). Não houve diferença entre as taxas de implantação e abortamento. A taxa de gestação foi maior no grupo 4 (61,36%), semelhante nos grupos 2 e 3 (44,83% x 43,48%) e menor no grupo 1 (25%) ($p=0,101$). **CONCLUSÃO:** A CFA antes da hiperestimulação permite adequar a dose de gonadotrofinas e otimizar a resposta ovariana, principalmente em mulheres com mais de 5 FA. A CFA não é determinante do resultado reprodutivo.

P76 - Bloqueio hipofisário para más-responderas: agonista ou antagonista do GnRH?

Rodrigues, R.J.M.¹; Gonçalves, S.P.¹; Gomes, M.¹; Crepaldi, A.C.F.¹; Gomes, F.G.¹; Monteleone, P.A.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana Monteleone

OBJETIVO: Diversos protocolos de estimulação ovariana têm sido propostos para se otimizar a resposta em pacientes más-responderas, visando menor taxa de cancelamento de ciclo e consequente aumento nas taxas de gravidez. O bloqueio hipofisário, etapa fundamental no processo de indução da ovulação, para exercer efeito direto no sucesso do tratamento. **METODOLOGIA:** Estudo retrospectivo, comparativo de ciclos de tratamento de fertilização in vitro em pacientes más-responderas. Foram definidas como más-responderas aquelas pacientes com história de cancelamento de ciclo de fertilização in vitro prévio por baixa resposta, ou que produziram menos de 4 folículos em ciclo anterior mesmo com adequada estimulação ovariana, ou que apresentavam sinais clínicos, laboratoriais e/ou ultrassonográficos de diminuição de reserva ovariana. Essas pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo A (n=54), submetidas a protocolo longo com agonista do GnRH e Grupo B (n=77), submetidas a bloqueio hipofisário com antagonista do GnRH. Foram excluídos os casos de ovodação. As análises estatísticas foram realizadas com teste "t" e teste de Fisher. **RESULTADOS:** As médias de idade nos Grupos A e B foram, respectivamente, 39,06 e 39,10 anos ($p=0,9502$). No Grupo A, dos 54 ciclos iniciados, 28 culminaram com transferência embrionária (51,85%) enquanto no Grupo B, 47 de 77 ciclos tiveram transferência de embrião (38,96%)

$p=0,1028$. A média de óvulos aspirados foi de 2,17 Grupo A e 1,92 Grupo B ($p=0,4455$). A média de embriões transferidos foi de 1,79 Grupo A e 1,73 Grupo B ($p=0,7736$). Respectivamente, os Grupos A e B apresentaram taxa de gestação clínica de 21,43% e 21,28% ($p=0,2281$); taxa de gestação evolutiva de 17,86% e 10,64% ($p=0,1818$) e taxa de abortamento de 28,57% e 57,14% ($p=0,1787$), não demonstrando diferença estatisticamente significativa.

CONCLUSÕES: Assim, apesar de protocolos com antagonista do GnRH demonstrarem uma tendência menor ao cancelamento de ciclo em pacientes más respondedoras, não houve diferença estatisticamente significativa nas taxas de gravidez entre os dois grupos estudados. A escolha do tipo de bloqueio hipofisário deve ser individualizada para cada caso podendo, assim, beneficiar isoladamente cada casal.

P77 - Congelamento eletivo de embriões em SHO: medida preventiva de impacto

Rodrigues, R.J.M.¹; Gonçalves, S.P.¹; Crepaldi, A.C.F.¹; Gomes, M.¹; Gomes, F.G.¹; Monteleone, P.A.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana Monteleone

OBJETIVO: Diversas medidas preventivas têm sido adotadas para a prevenção da síndrome da hiperestimulação ovariana, considerada a principal e potencialmente mais grave complicação do tratamento de FIV. Entretanto, a medida preventiva de maior impacto em relação a SHO tardia é o congelamento eletivo dos embriões que pode acarretar prejuízo direto nas taxas de gravidez.

METODOLOGIA: Estudo retrospectivo de ciclos de tratamento de fertilização *in vitro* em pacientes com risco de síndrome de hiperestimulação ovariana, submetidas a congelamento eletivo de embriões, de 2005 a 2011. O risco de desenvolvimento da SHO foi definido em pacientes até 38 anos de idade, com mais de 15 óvulos aspirados e sinais clínicos e/ou ultrassonográficos de SHO precoce após a captação folicular.

RESULTADOS: Num total de 56 ciclos, a média de idade foi de 31,62 anos (DP=4,32), a média de óvulos aspirados foi de 27,14 e a dose média de gonadotrofina utilizada foi de 1620 U. Foram realizadas 74 transferências de embriões (56 em primeiro ciclo de descongelamento e 18 em segundo ciclo de descongelamento). A média de embriões transferidos foi de 1,90 por transferência. Foram obtidas 27 gestações clínicas das 74 transferências realizadas, sendo 20 do primeiro ciclo de descongelamento (taxa de 35,71%) e 7 do segundo ciclo (taxa de 38,88%), com taxa de gestação clínica por ciclo iniciado de 48,21%. A taxa de gestação ongoing por ciclo iniciado foi de 37,50%, correspondente a 17 gestações no primeiro ciclo de descongelamento (30,36%) e 4 no segundo (22,22%). **CONCLUSÕES:** Assim, o congelamento eletivo de embriões em SHO atua na prevenção da sua forma tardia, mantendo-se excelentes taxas de gravidez no descongelamento embrionário.

P78 - Transferência eletiva de um embrião, 3 anos de experiência

Monteleone, P.A.A.¹; Gonçalves, S.P.¹; Mirissola, R.J.¹; Crepaldi, A.F.¹; Gomes, A.P.¹; Gomes, M.N.¹

¹Centro de Reprodução Humana Monteleone

INTRODUÇÃO: Desde a década de 70, as taxas de gestações gemelares têm aumentado, por causa dos tratamentos de reprodução assistida. A gemelaridade associa-se a maior incidência de complicações neonatais a longo prazo, tais como sequelas neurológicas. A transferência seletiva de um embrião é uma opção visando à diminuição das taxas de gestação múltipla. Apresentamos um protocolo de transferência de eletiva de 1 embrião no primeiro ciclo de tratamento em mulheres de até 38 anos, comparando-se com a transferência eletiva de dois embriões. **MÉTODO:** estimulação ovariana controlada e bloqueio hipofisário com agonista ou antagonista do GnRH. Transferência seletiva de 1 embrião (grupo 1): 66 pacientes de até 38 anos, em primeiro ciclo de FIV, com pelo menos 3 embriões viáveis formados. Transferência de 2 embriões (grupo 2): mesmas características, mas não concordância do casal com a transferência de um embrião. **RESULTADOS:** Grupo 1 e 2, respectivamente: gestação: 28,13% e 48,17%; abortamento: 16,67% e 14,56%; implantação: 30,14% e 26,47%; gemelaridade (grupo 2): 29,63%; gravidez cumulativa (englobando ciclos de descongelamento embrionário): 42,27% e 56,12. **DISCUSSÃO:** Sabe-se que não é possível estimar com exatidão as chances de implantação embrionária com base apenas nas características morfológicas dos embriões. Em primeiros ciclos de FIV, a subestimativa do potencial de implantação tem resultado em excessiva porcentagem de gestações múltiplas. Em geral, a análise dos resultados de tratamento não considera as taxas cumulativas de sucesso. O avanço das técnicas de criopresevação de embriões facultou-nos a reduzir o número de embriões por transferência sem alterar as taxas cumulativas de nascidos vivos, que devem sempre ser usadas como indicadores de sucesso dos tratamentos de reprodução assistida. Aceitação do casal a necessidade e o benefício de se transferir um menor número de embriões pode não ser tarefa fácil. Alguns podem ter dificuldade em olhar não para as taxas de gestação, mas as taxas cumulativas de nascidos vivos como uma forma de medir o sucesso do tratamento.

P79 - Agonista x antagonista na fertilização *in vitro*: há diferença na resposta ovariana de pacientes com endometriose?

Evangelista, A.¹; Erthal, M.C.¹; Gallo, P.¹; Cardoso, M.C.¹; Sartorio, C.A.¹; Aguiar, A.P.S.¹

¹Vida Centro de Fertilidade

OBJETIVO: Avaliar o efeito de diferentes tipos de bloqueio hipofisário em ciclos de fertilização *in vitro* na resposta ovariana de pacientes com endometriose. **MÉTODOS:** Análise retrospectiva dos ciclos de FIV/ICSI, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2010, de todas as pacientes com diagnóstico de endometriose pélvica. Sessenta e cinco pacientes foram divididas em 3 grupos, de acordo com o tipo de bloqueio utilizado: Grupo I - Leuprolida, Grupo II - Gosserelina e Grupo III - Ganirelix. A avaliação da reserva ovariana foi feita através da dosagem de FSH basal e contagem de folículos antrais. Os protocolos de estimulação ovariana foram individualizados, utilizando-se FSH (hormônio foliculo-estimulante) recombinante associado ao LH (hormônio luteinizante) recombinante, hMG (menotropina) ou hCG (gonadotrofina coriônica humana). Para análise estatística, utilizou-se ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis,

com o auxílio do programa R (Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). Valor de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. **RESULTADOS:** A média de idade das pacientes do Grupo I foi de $34,7 \pm 2,7$ anos, do grupo II de $33,0 \pm 3,88$ anos e no grupo III de $36,2 \pm 3,7$, havendo diferença significativa entre os grupos II e III ($p=0,01$). Não houve diferença significativa entre as variáveis paridade e tentativas anteriores de FIV. A dosagem de FSH basal foi de 5,9, 4,5 e 9,0, respectivamente, nos grupos I, II e III, havendo diferença significativa entre os grupos II e III ($p=0,01$). A contagem de folículos antrais foi, em média, de 8,9, 9,1 e 8,8, nos grupos I, II e III, respectivamente ($p=0,93$). Não houve diferença significativa entre o número de dias de estímulo ovariano e total de folículos produzidos. Foram captados, em média, 10,7, 10,9 e 8,31 oócitos, nos grupos I, II e III, respectivamente ($p=0,31$). Não houve diferença significativa entre as variáveis taxas de fertilização e número de embriões transferidos. A taxa de gravidez foi de 29%, 33% e 38%, nos grupos I, II e III, respectivamente, não havendo diferença estatística entre eles ($p=0,78$). **CONCLUSÕES:** Não houve diferenças na resposta ovariana ao estímulo controlado e na taxa de gravidez em ciclos de FIV/ICSI utilizando-se análogos de GnRH agonistas ou antagonistas. De acordo com os resultados deste estudo, não foi possível definir o melhor tipo de bloqueio hipofisário a ser utilizado em pacientes com endometriose.

P80 - Comparação entre as taxas de gravidez obtidas após uso de diferentes protocolos de preparo endometrial para transferência de embriões desvitrificados

Valle, M.¹; Cavagnoli, M.²; Vitorino, R.²; Bettiol, A.²; Sampaio, M.²; Geber, S.²

¹ORIGEN - Centro de Medicina Reprodutiva; ²ORIGEN

OBJETIVOS: Comparar as taxas de gravidez clínica com diferentes protocolos de preparo endometrial para transferência de embriões desvitrificados. **MÉTODOS:** Foram analisados 333 ciclos de tratamento com transferências de embriões vitrificados/desvitrificados pela mesma técnica, utilizando três protocolos para preparo endometrial: uso de 17beta estradiol 2,5 mg a partir do segundo dia do ciclo menstrual (Grupo 1), ciclos naturais (grupo 2) e uso de GnRH seguido de valerato de estradiol (grupo 3). **RESULTADOS:** No grupo 1 ($n=135$) a idade média das pacientes foi 32,8 anos (26-43 anos), no grupo 2 ($n=149$) foi 33,9 anos (21-44 anos) e no grupo 3 ($n=49$) foi 33,4 anos (24-45 anos). A diferença entre os grupos não foi significativa. Com relação ao número de embriões transferidos, o primeiro grupo teve um número significativamente menor ($p=0,002$), sendo transferidos 2,73 embriões no grupo 1, 3,18 no grupo 2 e 3,21 no grupo 3. Quando comparamos o tempo de preparo endometrial também não observamos diferença entre os grupos sendo necessários 13,72 dias para o grupo 1, 13,81 dias para o grupo 2 e 12,84 dias para o grupo 3. Em todos eles o endométrio alcançou a medida considerada mínima (8mm). Quando comparamos a taxa de gravidez clínica, observamos que no grupo 1 foi 37% (50/135), no grupo 2 foi 41,6% (62/149) e no grupo 3 foi 44,8% (22/49). Observamos uma menor taxa de gravidez no grupo 1, entretanto a diferença não se mostrou significativa quando comparada ao grupo 2 ($p=0,43$) ou ao grupo 3 ($p=0,33$). Quando comparamos

os grupos 2 e 3 a diferença também não foi significativa ($p=0,68$). **CONCLUSÕES:** Nosso estudo demonstrou que quando utilizamos diferentes métodos para preparo endometrial em pacientes que serão submetidas a transferência de embriões desvitrificados não observamos diferenças significativas nas taxas de gravidez clínica. Como o preparo endometrial feito com ciclo natural é mais simples e fácil para a paciente, sugerimos que seja utilizado como primeira escolha para mulheres com ciclos ovulatórios. As demais alternativas podem ser consideradas em casos de mulheres com ciclos anovulatórios.

P81 - É possível recongelar as amostras seminais?

Artuso, S.¹; Kormann, J.¹; Amaral, V.L.L.²; Frajblat, M.¹

¹UNIVALI; ²PROCRIAR; UNIVALI

Na reprodução humana assistida, a criopreservação de espermatozoides é uma técnica amplamente utilizada. O excedente não utilizado das amostras descongeladas é descartado. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de um segundo congelamento, para um possível reaproveitamento destas amostras. Ejaculados de diferentes doadores ($n=6$) previamente avaliados foram criopreservados na proporção 1:1 com o meio comercial (Yolk Buffer Freezing Medium - Irvine Scientific®). As amostras foram envasadas em palhetas de 0,5ml e permaneceram 30 minutos a 4°C, 10 minutos no vapor de nitrogênio e imediatamente imersas em nitrogênio líquido (NL2). Para o descongelamento, as palhetas foram retiradas do NL2 e mantidas a 37°C por 20 min. As amostras foram homogeneizadas em HTF-Modificado (Irvine®) suplementado com 10% de SSS (Irvine®) e centrifugadas por 6 minutos. O pellet foi ressuspensionado em 0,5 mL de HTF-Modificado (Irvine®). A seguir, os parâmetros motilidade progressiva e vitalidade foram avaliados, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010). Novamente as amostras foram criopreservadas, aquecidas e avaliadas com a mesma metodologia. A motilidade das amostras seminais pré-congelamento foi de $57,3 \pm 2,4\%$. Após o primeiro congelamento esta motilidade passou para $41,8 \pm 5,0\%$. A motilidade após o segundo congelamento ficou em $18,5 \pm 4,2\%$. A vitalidade pré-congelamento foi de $79,7 \pm 4,3\%$. Foi observada uma queda na vitalidade após o primeiro e segundo congelamento ($54,7 \pm 4,6\%$ e $38,0 \pm 3,5\%$, respectivamente). O resultado deste estudo sugere que o sêmen humano pode ser recuperado após um segundo congelamento com condições de ser utilizado na prática de reprodução assistida.

P82 - Inserção da psicologia nas clínicas de reprodução assistida: um suporte aos casais que correm contra o tempo

Travain, A.S.A.¹; Tardin, R.M.M.¹; Lucca, J.A.¹; Schuffner, A.¹

¹Conceber - Medicina Reprodutiva

Após 3 anos do início da Clínica Conceber, surgiu a necessidade de complementar ao trabalho médico um olhar diferenciado para as intensas questões emocionais trazidas. Pensou-se na criação de um "Serviço de Psicologia", cujo principal objetivo seria de acolher os

casais no todo do seu sofrimento, ou seja, podendo atender as demandas físicas e psíquicas que envolvem este trabalho, permitindo uma condição mais favorável para que eles passassem pelo tratamento. Acostumados a conviverem com a solidão e com o estigma social, esta população vive seu sofrimento de forma reservada. Lutar contra a infertilidade desperta muitos sentimentos, que se intensificam ainda mais com o passar do tempo, quando a espera torna-se um obstáculo cada vez maior. Por serem pessoas em busca exclusivamente de um tratamento médico, com enfoque dirigido para o corpo, as demais questões são evitadas a princípio. Deparamo-nos então com uma população de difícil acesso, onde muitas vezes a dor narcísica do não conseguir gerar imobiliza a todos a sua volta e cria resistências. A partir deste quadro pensamos e elaborando estratégias de trabalho, respeitando o íntimo de cada um, mas não deixando de apresentar a psicologia como mais um recurso para enfrentar este momento. A experiência favoreceu o enriquecimento de algumas idéias e possibilidades de atuação. Inicialmente foram utilizados questionários e um ciclo de palestras, com temas específicos, relacionados à infertilidade. Também se criou um trabalho multidisciplinar com toda a equipe, para trocas, reflexão, assim como a elaboração de textos referentes a questões amplas do ser humano, que são enviados quinzenalmente, com o intuito de "tocar" as pacientes, criando uma abertura para se aproximar de algumas questões, como: culpa, ressentimentos, fantasias do não poder engravidar, sentimentos que envolvem a infertilidade, isolamento social, entre outros. O trabalho mais próximo tem ocorrido através de um contato chamado "entrevistas com um psicólogo". Através de uma entrevista semi-dirigida propomos um aproximar e acolher o casal, e estar disponível para atender suas questões. Se há motivação para a continuidade deste trabalho, damos início a psicoterapia. Este é um trabalho que é construído dia a dia, enriquecido pela troca de médicos e psicólogos e pela experiência e reflexão constante, do que é possível e de qual a melhor forma de ajudarmos estes casais.

P83 - Transferência de embriões ao segundo versus ao terceiro dia de cultivo, em ciclos de fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoides

Carvalho B.R.¹; Cabral I.O.¹; Gomes Sobrinho D.B.¹; Silva A.A.¹; Barbosa A.C.P.¹; Nakagava H.M.¹

¹GENESIS - CENTRO DE ASSISTÊNCIA EM REPRODUÇÃO HUMANA

OBJETIVOS: Investigar a existência de diferenças entre as taxas de gravidez e implantação embrionária em ciclos de fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) com transferência de embriões ao segundo (D2) e ao terceiro dia (D3) de cultivo. **MÉTODOS:** Analisaram-se retrospectivamente todos os ciclos finalizados de ICSI realizados no Centro de Assistência em Reprodução Humana GENESIS, entre janeiro de 2006 e dezembro de 2010. Foram incluídos no estudo ciclos realizados: em mulheres com até 38 anos de idade; com protocolo longo de estimulação (agonista do GnRH); com espermatozoides do parceiro, obtidos de ejaculado e não criopreservados; com ao menos um embrião grau

I/II em dois ou três embriões transferidos, em D2 ou D3; os ciclos subseqüentes de uma mesma paciente e aqueles em que houve biópsia embrionária ou assisted hatching foram excluídos. A casuística foi de 194 ciclos, sendo 83 com transferência em D2 e 98 com transferência em D3. Variáveis não paramétricas foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney e as qualitativas, pelo teste exato de Fisher; $p < 0,05$ foi considerado significativo. **RESULTADOS:** Não houve diferenças significativas entre as idades das pacientes nos grupos (D2 = $33,02 \pm 3,57$ vs D3 = $33,73 \pm 2,82$; $p > 0,05$), ou entre as taxas de gravidez (D2 = 60,2% vs D3 = 50,45%; $p > 0,05$). A taxa de implantação foi significativamente superior quando a transferência embrionária foi realizada precocemente (D2 = 34,54% vs D3 = 24,71%; $p = 0,0281$). **CONCLUSÕES:** Em mulheres com até 38 anos de idade, submetidas a protocolo longo com agonista do GnRH para ICSI com espermatozoides do parceiro, a transferência de dois ou três embriões não parece interferir sobre os resultados. Embora a escolha de D2 ou D3 para transferência não pareça interferir sobre a taxa de gravidez, o procedimento em D2 resultou em taxas significativamente superiores de implantação embrionária no grupo estudado.

P84 - A relevância do banco de sêmen para a oncologia

Taitson, P.F.¹; Rocha, D.F.²; Lima, E.C.S.¹; Pereira, E.F.¹; Teodoro, G.M.D.¹; Nazaré, M.N.¹

¹PUC Minas; ²PUC Minas

OBJETIVOS: Investigar, em periódicos de oncologia, contidos no guideline da American Society of Oncology, se há a preocupação em preservar a fertilidade através dos bancos de sêmen quando se constata manifestação ocorrência de neoplasia em homens com idade reprodutiva. Assim, busca-se observar a existência de preocupação em informar aos indivíduos a necessidade da criopreservação antes do tratamento. **MATERIAL E MÉTODOS:** Serão abordados os dez periódicos de maior impacto na área de oncologia contidos no guideline da American Society of Oncology e postados nas bases de dados do MEDLINE nos anos de 2005 a 2011. Deverão ser consideradas as seguintes palavras-chaves: preservation of sêmen, neoplasia and sperm banking, sperm banking and cancer. Estudos analisando o valor do congelamento seminal pré tratamento de câncer serão considerados. Os estudos que preencherem o critério predeterminado, serão submetidos a uma meta-análise utilizando o Software RevMan 5. **RESULTADOS:** Em 17,% (CI: 0,17 - 0,83) dos artigos encontrados observou-se a existência de preocupação em informar aos indivíduos com câncer a necessidade da criopreservação antes do tratamento. Tal tratamento se define por práticas de quimioterapia, radioterapia e/ou cirurgias pélvicas. **CONCLUSÕES:** Sabedores da relevância em se congelar o sêmen antes de tratamento oncológico, nota-se uma maior necessidade de preocupar e informar aos indivíduos com câncer a necessidade da criopreservação antes do tratamento. Tal preocupação já se reverte, em alguns casos, em ações civis por parte de pacientes que tiveram a sua fertilidade comprometida de maneira significativa.

P85 - Avaliação dos resultados obtidos com a criopreservação embrionária através da técnica de vitrificação. Análise do índice de sobrevivência dos blastômeros e gravidez

Cornel, C.A.¹; Mansur, A.L.²; Munoz, P.³; Cequinel, M.G.³

¹Embryo Centro de Rep. Hum.: UFPR; ²Embryo Centro de Rep. Hum.; ³Embryo Centro de Rep. Hum.

A evolução das técnicas laboratoriais e conhecimento da fisiologia ovariana proporcionaram um aumento nos índices de implantação embrionária e gravidez evolutiva nos procedimentos de reprodução assistida. Como consequência, um número maior de embriões viáveis necessitam ser preservados. Dentre os procedimentos de criopreservação, a vitrificação tem se mostrado como de mais baixo custo e resultados satisfatórios.

OBJETIVO: Este trabalho procurou avaliar os índices de sobrevivência dos blastômeros após o processo de reaquecimento embrionário e os índices de gravidez obtidos através da técnica de vitrificação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Dentre os ciclos de ICSI realizados no Embryo Centro de Reprodução Assistida, no período entre novembro de 2009 e abril de 2011, em 65 ciclos obteve-se embriões excedentes viáveis, que foram criopreservados através da técnica de vitrificação. A indução da ovulação foi realizada com protocolo longo com análogo do GnRH/gonadotrofinas em 35 ciclos (53,8%) e curto com antagonista do GnRH/gonadotrofinas em 30 ciclos (46,2%). A preparação endometrial para a transferência dos embriões descongelados foi realizada com a administração de estradiol (Estrofem 2mg) e progesterona (Utrogestan 200 mg). Para bloqueio da ovulação espontânea, quando necessário, foi utilizado o análogo do GnRH ou antagonista do GnRH. Utilizou-se os meios Vitricification Solution (Irvine®) e Thawing Solution (Irvine®) para vitrificação/desvitrificação. A transferência embrionária foi realizada utilizando-se o cateter Syney (Cook®). **RESULTADOS:** 33 pacientes (idade média = 32 anos) foram preparadas para a transferência de embriões descongelados. 43 ciclos de descongelamento foram realizados e 38 transferências foram realizadas (88%). 125 embriões foram descongelados e 104 embriões foram transferidos (taxa de sobrevivência de 83,2%). Obteve-se 11 gestações evolutivas (28,9%) sendo 4 gemelar (40%). A taxa de implantação foi de 13,4 % para as gestações evolutivas. **CONCLUSÃO:** A vitrificação demonstrou ser um técnica eficaz com altos índices de recuperação embrionária e gravidez, quando embriões de boa qualidade são criopreservados. Devido ao baixo custo e o satisfatório índice de recuperação embrionária e gestação, consideramos ser esta uma das técnicas mais adequadas para a criopreservação embrionária nos laboratórios de RA em ciclos de FIV/ICSI.

P86 - correlação entre número de oócitos coletados e taxas de fertilização em ciclos de FIV e ICSI

Silva, T.M.¹; Approbato, M.S.¹; Arruda, J.T.²; Maia, M.C.S.¹; Approbato, F.C.¹

¹UFG; ²UFG/CAPEs

OBJETIVO: Observar durante o período de 2008 a 2010, num total de 197 ciclos de FIV e ICSI realizados, as taxas de fertilização obtidas segundo faixa etária das pacientes e o número de oócitos que foram coletados.

MÉTODOS: Dividimos as pacientes incluídas no estudo em dois grupos, de acordo com a faixa etária: ≤ 35 anos e ≥ 36 anos. Através do BioStat 5.0 avaliamos se havia associação estatística entre as taxas de fertilização obtidas nesses grupos. Para comparar o número de oócitos coletados com as taxas de fertilização obtidas, dividimos também essas pacientes em dois grupos: ≤ 6 e ≥ 7 oócitos captados.

RESULTADOS: Verificamos que 120 pacientes (60,9%) pertenciam ao grupo de menor faixa etária e 77 (39,1%) apresentavam idade ≥ 36 anos. Aplicamos o qui-quadrado e verificamos que no intervalo de tempo estudado não havia diferença estatisticamente significante ($p = 0,3810$). O mesmo teste foi aplicado para avaliar se houve diferença estatística nas taxas de fertilização desses dois grupos. Observamos que em 2008 e 2009 não foi significativa ($p = 0,7844$ e $p = 0,1115$; respectivamente). Porém, em 2010 o resultado foi significativo tanto para o qui-quadrado ($p = 0,0352$) quanto para o teste Exato de Fisher ($p = 0,0244$).

Quanto ao número de oócitos captados, observamos que houve associação estatística com as taxas de fertilização no ano de 2008 ($p = 0,0212$). Entretanto, o mesmo não ocorreu nos anos de 2009 ($p = 0,0922$) e 2010 ($p = 0,02892$). **CONCLUSÕES:** Não houve diferença estatística entre a quantidade de pacientes que pertenciam aos grupos de menor e maior faixa etária no estudo. Na literatura há inúmeros relatos de decréscimo na fertilidade das mulheres a partir dos 35 anos de idade, o que foi observado nesse estudo no ano de 2010. Corroborando também com dados da literatura, pacientes mais jovens obtiveram maiores taxas de fertilização. Quase não há publicações comparando a quantidade de oócitos captados e as taxas de fertilização obtidas. Nesse trabalho verificamos que em 2008, pacientes com maior número de oócitos captados tiveram maiores taxas de fertilização. Porém, em 2009 e 2010 ocorreu o contrário.

P87 - Desenvolvimento embrionário normal e formação de blastocisto em embrião livre de zona pelúcida

Lucca Neto, J.A.¹; Rosa, V.B.¹; Peixoto, A.P.B.M.L.¹; Schuffner, A.¹

¹Conceber Medicina Reprodutiva

INTRODUÇÃO: A zona pelúcida (ZP) é uma estrutura importante do oócito, responsável por evitar a poliespermia, estabelecer um limite físico aos blastômeros e aumentar aderência entre estes. Em ciclos de reprodução assistida algumas vezes são encontrados embriões com ausência da ZP ou por se perderem durante a manipulação ou por algum motivo se rompem durante o desenvolvimento e apresentam desenvolvimento anormal.

DESCRIÇÃO DO CASO: A paciente com 35 anos e o esposo com 41 anos procuraram a Clínica Conceber relatando dificuldade para estabelecer gravidez. Foi diagnosticado fator feminino de infertilidade e o casal foi submetido a um ciclo de FIV. Após a estimulação ovariana foram coletados 5 oócitos, que após denudados apresentavam estágio de maturação metáfase 2 (MII). Os 5 oócitos foram submetidos a um procedimento de ICSI. No momento em que os oócitos foram transferidos da placa de ICSI para a placa de cultivo houve o rompimento da ZP. Na avaliação em D+1 constatou-se que 4/5 oócitos apresentavam 2PN, incluindo

do oócito desprovido ZP. O embrião em questão apresentou desenvolvimento semelhante aos demais; 4 células em D+2, 9 células em D+3, mórula em D+4 e blastocisto em D+5. Após avaliação dos embriões para Transferência de Embrião (TE), este não foi escolhido devido as condições excelentes dos demais embriões que também se encontravam em estágio de blastocisto expandido. Logo após o procedimento procedemos com a vitrificação dos embriões excedentes. A paciente apresentou β hCG positivo e encontra-se com gestação de 5 semanas em andamento, apresentando 2 sacos gestacionais, até o momento.

COMENTÁRIOS: A ZP possui uma série de funções que possibilitam a fertilização normal de oócitos em ciclos naturais. Em embriões cultivados in vitro sua principal função é proporcionar uma barreira física aos blastômeros durante sua clivagem e aumentar a área de contato entre os blastômeros para a compactação. O relato acima mostra que é possível cultivar embriões com ausência de ZP desde o início de seu desenvolvimento sem comprometer as clivagens, compactação e cavitação. Considerando que foi utilizada técnica padronizada em todos os oócitos, desde a captação oocitária até a ICSI, concluímos que o rompimento se deu pela característica do oócito. É notória a fragilidade de embriões cultivados na ausência da ZP, assim recomenda-se que o cuidado durante a sua manipulação e transferência deva ser ainda maior, visando a integridade embrionária.

P88 - Diagnóstico genético pré-implantacional em ciclos de FIV com idade materna avançada: eficiência das técnicas de CGH-array e *fish* para embriões clivados

Tanada, M¹; Negrão, PM²; Alegretti, JR²; Cuzzi, J³; Motta, ELA²; Serafini, P²

¹Hospital e Maternidade Santa Joana; ²Huntington - Medicina Reprodutiva; ³Genesis Genetics Brasil

OBJETIVO: Avaliar retrospectivamente os resultados de gestação e implantação de pacientes com idade materna superior a 37 anos e submetidos a ciclos de Fertilização In Vitro (FIV) com Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (DPI) em dia 3 que utilizaram técnicas de Hibridação In Situ por Fluorescência (DPI-FISH) ou Hibridação Genômica Comparativa por microarranjos (DPI-CGH). **MÉTODOS:** Foram incluídos nesta análise observacional retrospectiva, pacientes submetidas a DPI-FISH entre outubro de 2009 e outubro de 2010 e, pacientes submetidas a DPI-CGH entre outubro de 2010 e maio de 2011. Na análise de DPI-FISH, foram avaliados 9 cromossomos (13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y). Foram considerados embriões aptos a biópsia todos os embriões que apresentaram > 6 células em dia 3. Apenas os embriões que obedeceram aos critérios de normalidade foram transferidos. O teste Z foi utilizado. Significância foi considerada com $p < 0,05$. **RESULTADOS:** Foram analisados um total de 121 ciclos de DPI, sendo 85 ciclos de DPI-FISH e 36 ciclos de DPI-CGH. De um total de 550 embriões avaliados, 438 embriões foram avaliados pela técnica de FISH e 112 pela técnica de CGH. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas taxas de cancelamento de ciclos e normalidade embrionária após a avaliação por ambas as técnicas. Contudo, foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos DPI-FISH e DPI-CGH nas taxas de gestação (34,2% e 73,3%, respectivamente) e implantação (22,5% e 61,5%, respectivamente). **CONCLUSÃO:** Os resultados

obtidos neste estudo indicam que a utilização do DPI-CGH foi significativamente mais eficiente que a técnica de DPI-FISH nas taxas de gestação e implantação em mulheres com idade superior a 37 anos, evidenciando que a presença de embriões euplóides é fator determinante para o aumento do índice de sucesso. Assim, o estudo sugere que tecnologia de CGH deve sempre ser escolhida como melhor opção de análise embrionária para o grupo estudado

P89 - Indicador da viabilidade de fertilização em casais onde o homem é sorodiscordante

Taitson, P.F.¹; Valentim, A.M.¹; Costa, E.G.¹; Ferreira, I.P.F.¹; Ribeiro, J.C.¹; Marques, L.K.R.¹

¹PUC Minas

OBJETIVO: Avaliar a segurança do método de lavagem espermática para casais soro discordante onde o homem é o portador do vírus do HIV. **MÉTODOS:** Para a revisão de literatura foram utilizados bancos de dados MEDLINE com as seguintes palavras-chaves: AIDS and human reproduction, HIV and human reproduction. Os 21 artigos que foram selecionados seguiam os critérios de inclusão como a avaliação do método de lavagem espermática em casais soro discordantes cujo homem é o portador da síndrome do HIV e a limitação temporal do período de seleção de publicação de 2005 a 2011. Uma meta-análise destes estudos foi realizada. **RESULTADOS:** Nesse contexto, ocorreu uma diferença significativa quanto a confiabilidade e a não confiabilidade do uso da técnica de lavagem espermática no sêmen onde o homem é o infectado pelo vírus do HIV. gerar um filho não infectado (CI: 0,87 - 0,13). **CONCLUSÃO:** Ainda que o número de estudos incluídos seja pequeno e suas características sejam variáveis os resultados obtidos a partir da meta-análise proposta justificam a indicação clínica da técnica de lavagem espermática como uma etapa, mas não a única na seleção de espermatozoides para ICSI em casais onde o homem é soro discordante.

P90 - Perfil das pacientes em busca de tratamentos para infertilidade em Curitiba – PR

Lucca Neto, J.A.¹; Rosa, V.B.¹; Peixoto, A.P.B.M.L.¹; Schuffner, A.¹;

¹Conceber Medicina Reprodutiva;

OBJETIVO: Apresentar um estudo epidemiológico apontando as principais características dos casais que buscaram o serviço de reprodução assistida no primeiro quadrimestre de 2011. **MÉTODO:** Foi realizado estudo retrospectivo com 81 casais que se submeteram a ciclos de FIV na Clínica Conceber, no primeiro quadrimestre de 2011. Foram avaliadas as seguintes características: faixa etária; tipo de procedimento; causa de infertilidade; protocolos de estimulação utilizados. **RESULTADOS:** Faixa etária: ≤ 34 anos 35,8%; 35 a 39 anos 37,0%; ≥ 40 anos 27,2%; 7 receptoras de oócitos com idade média de 41 anos. Tipo de ciclo: fresco 93,8%, embrião criopreservado 2,5%, oócito criopreservado 3,7%, sendo 7,4% ciclos com doação de oócitos Causa de Infertilidade: causas múltiplas 15,5%, sem causa aparente 10,3%, só feminino 37,9%, só masculino 24,1%, só tubário 12,1%. Protocolo utilizado: agonista do GnRH (AG) 13,2%, sendo AG+rFSH 4,4%, AG+HMG 5,9%, AG+HMG+rFSH 2,9%; antagonista do

GnRH (ANTA) 85,3%, sendo ANTA+rFSH 36,8%, ANTA+HMG 33,8%, ANTA+HMG+rFSH 14,7%; NATURAL 1,5%. A idade média dos protocolos com AG e ANTA foi respectivamente: 32,4±1,2 e 35,9±0,65 anos. A idade média das pacientes que utilizaram protocolo com antagonista foi estatisticamente maior que as que utilizaram agonista ($p=0,02$). **DISCUSSÃO:** A maior parte de nossas pacientes tinha entre 35-39 anos (41,1%). Salientamos que apenas 2,7% dos ciclos realizados foram de embriões criopreservados, possivelmente isto ocorre pois a maioria de nossos embriões é criopreservado em estágio de blastocisto. Como causa de infertilidade, o fator "só feminino" foi o mais comum (37,9%) e o "sem causa aparente", o menos prevalente (10,3%). Neste período, 85,3% dos ciclos foram realizados utilizando o protocolo com antagonista do GnRH. Em 1,5% dos casos foi realizado com ciclo natural, optado em pacientes com baixa resposta ovariana em ciclo prévio de estimulação.

P91 - Sucesso no tratamento de infertilidade devido ejaculação retrógrada através da reprodução assistida: relato de caso

Ribeiro, K.¹; Cerqueira, M.¹; Cerqueira, G.¹; Perez, V.¹; Novotny, C.¹

¹CLINIFERT

INTRODUÇÃO: Embora seja uma causa relativamente rara de infertilidade, a ejaculação retrógrada é a causa mais comum de disfunção ejaculatória. É uma condição em que o líquido seminal flui total ou parcialmente de modo retrógrado para a bexiga no momento do orgasmo, em vez de ser impelido para uretra. Representa 0,3-2% dos casos de infertilidade masculina. **DESCRIÇÃO:** Casal com infertilidade primária de 4 anos. Marido, 51 anos, submetido a Ressecção Transuretral de Próstata há 2 anos devido Hiperplasia Benigna de Próstata evoluiu com ejaculação retrógrada total. Função erétil e sensação de orgasmo preservada. Ultrassom de Bolsa Escrotal e exames hormonais normais. Esposa, 37 anos, apresentava propedéutica feminina normal. Exame prévio de urina pós-ejaculatória mostrou boa recuperação de espermatozoides com morfologia alterada. Considerando-se a idade do casal, tempo de infertilidade e resultado do exame optou-se por ICSI. O paciente foi instruído a ingerir bicarbonato de sódio 1g/dia por 3 dias consecutivos antes do procedimento e no dia da coleta de óvulos, procedeu-se a coleta de urina pós-ejaculação. As amostras de urina foram divididas em alíquotas de 15ml e centrifugadas por 10 min. a 1600rpm em temperatura ambiente. Realizou-se sperm-wash dos pellets, resuspensão em 1ml de HTFMod. com 10% de HSA e incubação a 37°C por 1 hora. Apesar do pH final de 7,0, a amostra de sêmen obtida apresentou boa concentração (22.000.000/ml) e motilidade intermediária A(0%), B(21%), C(14%) e D (65%). Foi utilizado protocolo longo com GnRHa e estimulação ovariana com FSHr e hCGr quando 1 ou mais folículos atingiram 18mm de diâmetro médio. A aspiração folicular foi feita 36hs após, obtendo-se 13 óocitos, dos quais 9 fertilizaram. Dois embriões blastocistos foram transferidos no dia 5 e 2 blastocistos foram criopreservados. Suporte da fase lútea foi feito com progesterona micronizada. No 14º dia pós-transferência foi confirmado B-hCG positivo e no 30º dia constatada a presença de 2 sacos gestacionais com batimentos cardíacos. **CONSIDERAÇÕES:** A infertilidade masculina devido ejaculação retrógrada pode ser tratada com sucesso através de fertilização in vitro e ICSI, principalmente em casais de idade avançada. Método simples e não

invasivo de alcalinização da urina permite adequada recuperação do sêmen para tratamento de reprodução assistida.

P92 - Tratamento de fertilização in vitro: perspectiva de gênero nos sentimentos vivenciados por casais inférteis

Avelar, C.C.¹; Cota, A.M.M.¹; Marinho, R.M.¹; Caetano, J.P.C.¹

¹CLÍNICA PRÓ CRIAR

OBJETIVO: Avaliar e compreender os significados construídos por casais inférteis frente a um tratamento de fertilização in vitro (FIV), e comparar as diferenças e semelhanças de gênero destes significados. **PACIENTES E MÉTODOS:** Pesquisa qualitativa, dentro da abordagem da Psicologia Social, onde foram utilizados como instrumentos a entrevista individual e grupal. Participaram da pesquisa 10 casais inférteis de baixa renda financeira que estavam realizando o seu primeiro tratamento de FIV, dentro de um programa social desenvolvido pelo Centro Pró-Criar em Belo Horizonte/Minas Gerais, no período de junho a julho de 2009. **RESULTADOS:** Verificou-se neste estudo que o estado emocional do marido e da esposa oscilou consideravelmente no decorrer do tratamento, porém de forma distinta. No início do tratamento, a superestimação das chances de êxito foi sintoma por excelência, observado no relato de 90% dos casais. Com relação às demandas técnicas do tratamento, 90% das mulheres relataram ansiedade e estresse, sendo que 60% dos homens relataram os mesmos sentimentos. No período da punção folicular, a ansiedade e tensão relacionada às demandas foram relatadas por 9 mulheres (medo da punção, hospitalização e anestesia). 50% dos homens disseram que ocultaram seus sentimentos de ansiedade e preocupação com o objetivo de apoiar as esposas. Na coleta do sêmen, 50% dos homens ficaram preocupados com receio de não ser suficiente para prosseguimento do tratamento. Já na transferência embrionária, os 10 casais relataram felicidade com o procedimento técnico final; porém 6 casais vivenciaram angústia de não terem tido embriões congelados. Durante a espera pelo resultado, 90% das mulheres apresentaram ansiedade e expectativa, sendo que 60% dos homens tiveram as mesmas sensações. Quatro homens e uma mulher relataram que tinham ciência de que o resultado independia deles. **CONCLUSÃO:** Observou-se que os casais apresentam sentimentos distintos durante a FIV, evidenciando no relato da mulheres sentimentos mais intensos de ansiedade e estresse do que nos homens. Este fato deve ser entendido e reconhecido para que se ofereça um apoio adequado e individualizado a cada um dos cônjuges.

P93 - DES efeitos ainda vistos hoje 40 anos após sua proibição - relato de 3 casos

Santos, M.J.B.¹; Souza, M.C.B.¹

¹UFRJ

INTRODUÇÃO: A exposição intra-útero ao dietilestilbestrol (DES), tem impacto negativo sobre a prole das pacientes submetidas a este tratamento, incluindo infertilidade, prenhez ectópica, abortamento espontâneo,

parto prematuro e câncer. Estea efeitos desapareceram?

OBJETIVO: demonstrar que ainda hoje temos pacientes com os efeitos da exposição intra-uterina ao DES, com diferentes quadros patológicos. As ultimas filhas de pacientes expostas ao DES durante a sua vida intra-uterina tem hoje de 30 a 40 anos. Devemos estar preparados para o seu aconselhamento.

MATERIAL E MÉTODO: descrevemos 3 casos clínicos: no primeiro a paciente, de 33anos, com infertilidade primária e na HSG observou-se o útero T-shaped, segmento inferior longo e cavidade hipoplásica. No segundo, paciente de 24 anos com quadro de NIC II + SIL de Alto grau em colpocitologia de rotina e cirurgia de alta frequência (CAF) com laudo histopatológico de adenocarcinoma de endocervice com limite superior comprometido. Cone clássico posterior permitiu margens livres. E o terceiro caso corresponde a paciente de 32 anos com atraso menstrual e diagnóstico de prenhez ectópica. Avaliação posterior mostrou "útero em estrela" e áreas brancas na cúpula vaginal.

DISCUSSÃO: A paciente 1 refere que a mãe usou medicação importada na gravidez, para ajudar a "segurar o bebe". Na evolução acompanhamos uma perda espontânea de 10 semanas e tem uma gestação em curso, cerclada, no 3º trimestre. Nos casos como o 2, anormalidades envolvendo a função e estrutura das tubas após a exposição ao DES durante a gestação estão documentadas por De Cherney et al, 1981. A laparoscopia observa mudança na anatomia tubária com ausencia de ou minimo tecido fimbrial, Além dos casos de câncer, hoje também há registros de irregularidade menstrual (Titus et al., 2006) e câncer de ovário, (Billat et al.,2003) em netas DES-ex, aumento de hipospádia em netos DES-ex, Brouwers et al.,2006), modificações através das gerações são consistentes com mudanças previamente registradas em ratos expostos ao DES (Newbold, 2000,1998). Isto sugere que a exposição materna a uma substância DES- like pode afetar a saúde de outras gerações. **CONCLUSÃO:** A atenção clínica deve estar voltada para estes efeitos que caracterizam uma disrupção endócrina, Embora não se entenda completamente o mecanismo envolvido na transmissão de uma geração para outra, provavelmente envolve mudanças persistentes, epigenéticas.

P94 - Prevalencia das causas de infertilidade em um laboratório de reprodução humana do serviço público

Arruda, J.T.¹; Approbato, M.S.²; Silva, T.M.²; Maia, M.C.S.²; Florencio, R.S.²

¹UFG/CAPES; ²UFG

OBJETIVOS: avaliar a frequência das causas de infertilidade de pacientes que procuram o serviço do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. **MÉTODOS:** foram analisados os prontuários dos pacientes que utilizaram o serviço entre os anos de 2008 a 2010. As indicações para reprodução assistida foram: fator masculino (exame seminal alterado ou outras causas), fatores femininos: ovulatório, tubário, imunológico, uterino e outras causas. Utilizou-se o pacote BioEstat 5.0 para realizar a análise estatística com nível de significância de $p=0,05$. **RESULTADOS:** foram analisados 547 prontuários e a prevalência das causas foram: imunológicas 1,1% (5); fatores uterinos 9,8% (54); ovulatórios 14% (77); tubários 22,3% (122); masculinos 25,2% (138) e outras causas 27,6% (151). Houve diferença significativa entre os anos de 2008/2009 ($p=0,0137$) e entre 2009/2010 ($p=0,0480$) em relação ao número de casos

com fator masculino para infertilidade. Quanto aos fatores femininos o mais frequente foi o tubário ($p=0,0109$). O fator ovulatório mostrou diferença significativa entre os anos de 2008/2010 ($p=0,0050$) e entre 2009/2010 ($p=0,0480$) em relação ao número de casos. O fator uterino foi o terceiro mais frequente ($p=0,0389$), e outras causas foi a mais frequente para infertilidade com diferença significativa entre os anos de 2008/2010 ($p=0,0090$) e entre 2009/2010 ($p=0,0111$) em relação ao número de casos. **CONCLUSÕES:** as preocupações sobre a interferência de fatores ambientais sobre a fertilidade humana têm aumentado, tais como drogas (lícitas e ilícitas), medicamentos, infecções, além de poluição e estresse. A alta prevalência dos fatores masculinos sugere que a produção seminal esta sendo afetada por fatores externos, como descrito na literatura. Quanto aos fatores femininos, a prevalência elevada de fatores tubários esta relacionada à grande procura por reanastomose tubária ou por infecções por Chlamydia trachomatis. Ao fator ovulatório observa-se pacientes com anovulação. Aos fatores uterinos esta a endometriose e aos poucos casos encontrados com fator imunológico, observou-se como causa adenoma hipofisário ou artrite reumatóide. A infertilidade causa impacto negativo na vida conjugal e social do casal, os quais procuram tratamento especializado para infertilidade tardiamente, devido a fatores culturais ou financeiros. Portanto, há necessidade de oferta de diagnóstico e tratamento da infertilidade na rede pública de saúde.

P95 - Protocolo com baixa dose de FSH para estimulação da ovulação em mulheres acima de 35 anos de idade

Arruda, J.T.¹; Approbato, M.S.²; Silva, T.M.²; Maia, M.C.S.²; Florencio, R.S.²

¹UFG/CAPES; ²UFG

OBJETIVOS: Pacientes acima de 35 anos apresentam baixa reserva ovariana, necessitando de doses elevadas de FSH-recombinante (FSH-r) em ciclos de FIV/ICSI com taxas de sucesso reduzidas. Estudos mostram que doses menores de FSH-r podem selecionar oócitos com melhor potencial de desenvolvimento e proporcionam maiores chances de implantação e menor dano ao endométrio. Este estudo avalia a eficácia da estimulação da ovulação controlada (EOC) seguindo um protocolo com baixa dose de FSH-r em pacientes ≥ 35 anos. **METODOLOGIA:** Foram incluídos 143 ciclos de FIV/ICSI em pacientes de 35 a 46 anos de idades entre os anos de 2008 a 2010. A EOC foi conduzida segundo padrões da rotina utilizando agonista ou antagonista do GnRH para bloqueio hipofisário, FSH-r para estimulação ovariana e hCG-recombinante para induzir a maturação folicular final. Dois grupos de estudo foram estabelecidos de acordo com a dose total de FSH-r administrada: G1- baixa-dose com 61 pacientes que receberam no máximo 1600UI (1233UI; $\pm 8,5$); G2- dose-convencional com 82 pacientes que receberam acima de 1600UI (2185UI; $\pm 12,9$). **RESULTADOS:** a média de idade para o G1 foi de 38,8 anos ($\pm 3,2$) e para o G2 foi de 37,9 anos ($\pm 2,2$). O número de oócitos coletados foi de 2,4 ($\pm 2,6$) vs 3,2 (2,8) respectivamente, ($p=0,518$). Em relação ao número de oócitos fertilizados por ano, houve diferença significativa apenas entre os anos de 2008 e 2009 ($p<0,01$), o que não foi observado quando comparado os outros anos ($p=0,272$). **CONCLUSÕES:** Além da redução dos custos, o protocolo com baixa-dose de FSH-r apresentou-se eficaz em pacientes acima de 35 anos. Não houve diferenças nos resultados clínicos comparado a

pacientes que receberam protocolo com dose convencional de FSH-r. Estes resultados sugerem que o protocolo com baixa-dose de FSH-r é capaz de selecionar oócitos de qualidade, diminuindo os efeitos prejudiciais das altas doses e diminuindo os custos do tratamento.

P96 - Qual a melhor conduta para ciclos de ovulação: transferências em dia 3 ou dia 5?

Barros, B.C.¹; Miranda, R.¹; Rossi, A.L.S.¹; Alegretti, J.R.¹; Nichi, M.¹; Motta, E.L.A.¹

¹Huntington - Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência nas taxas de gestação de embriões transferidos em estágio de clivagem (terceiro dia de vida extracorpórea, [D3]) com os que evoluíram ao estágio de blastocisto em dia 5 (D5) que resultaram de óvulos provenientes de tratamentos de ovulação. **MÉTODOS:** No período entre agosto de 2010 e abril de 2011 foram avaliados retrospectivamente 65 ciclos de ovulação. As pacientes foram divididas em dois grupos de acordo com dia da transferência embrionária (TE): dia 3 (TED3) e dia 5 (TED5). Foram incluídos no estudo pacientes que apresentaram pelo menos 3 embriões de boa qualidade morfológica (BQM) em D3 (6 a 10 células com até 10% de fragmentação celular). O teste Z foi utilizado para a comparação de taxas entre os grupos. Os testes de t de Student's e Mann Whitney foram utilizados para variáveis contínuas paramétricas e não paramétricas respectivamente. Significância foi considerada com $p < 0,05$. **RESULTADOS:** Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os grupos TED3 e TED5 quando considerado fatores como idade materna das receptoras (41 ± 5 e 43 ± 6 anos, respectivamente), número de ovócitos recebidos ($9,8 \pm 4$ e $11,7 \pm 4$, respectivamente), número de ovócitos maduros ($9,6 \pm 3,3$ e $11,1 \pm 3,4$ respectivamente) e número de embriões fertilizados ($8,1 \pm 3,0$ e $9,3 \pm 3,6$ embriões, respectivamente). Também não foi observada diferença significativa entre os grupos TED3 e TED5 na taxa de fertilização (83,9% e 84,7%, respectivamente; $p = 0,8$) e taxa de embriões de BQM formados em D3 (64,5% e 68,1%, respectivamente; $p = 0,4$). Foi observada diferença estatística em relação ao número de embriões transferidos entre os grupos TED3 e TED5 ($2,8 \pm 0,5$ e $2,3 \pm 0,6$ respectivamente). Também verificou-se diferença entre TED3 em comparação ao TED5 nas taxas de gestação (70% e 92%, respectivamente; $p = 0,01$) e implantação (38,3% e 56,9%, respectivamente, $p = 0,01$). **CONCLUSÃO:** Os resultados do estudo mostram maiores taxas de gestação e implantação em embriões transferidos em estágio de blastocisto em relação aos transferidos em estágio de clivagem para ciclos de ovulação. Salienta-se que o número de embriões transferidos no D5 foi menor daqueles do D3. Deste modo, as TE em estágio de blastocisto devem ser indicadas por oferecer melhores resultados de gestação e implantação com um menor número de embriões transferidos, conseqüentemente, diminuindo a incidência de gestações múltiplas.

P97 - Assisted hatching laser x taxas de gravidez. Um estudo retrospectivo

Franco, G.R.¹; Franco, A.C.C.²

¹Embryolife Instituto de Medicina reprodutiva; ²Embryolife

Instituto de Medicina Reprodutiva

OBJETIVO: Com a finalidade de melhorar as taxas de implantação e gravidez nos procedimentos de fertilização in vitro (FIV) em nosso serviço, a técnica Assisted Hatching Laser (AHL) foi empregada precedendo a transferência embrionária. O presente estudo, visa relatar dados sobre os nossos resultados, correlacionando-os com informes retrospectivos de outros centros, em casos que apresentavam indicações ao método. **MÉTODOS:** Os critérios de indicação dos pacientes à técnica AHL foram: (I) Idade Reprodutiva Avançada (≥ 37 anos); (II) Zona Pelúcida (ZP) espessa em relação ao tamanho total do embrião; (III) Transferência de embriões criopreservados; (IV) Falência Ovariana Precoce (FOP); (V) Falhas consecutivas de ciclos de FIV. O adelgaçamento da ZP foi realizado em $\frac{1}{4}$ da sua extensão. **RESULTADOS:** Foi observada taxa de gravidez de 35,2%, nos casos os quais o AHL foi aplicado, obedecendo as indicações do método. **CONCLUSÃO:** Aspectos éticos e técnicos precisam ser avaliados e discutidos antes da utilização rotineira do AHL na prática laboratorial. Qualquer procedimento de FIV que se comprove eficaz, deve ser empregado dentro das suas devidas indicações. A AHL oferece muitas vantagens sobre outros métodos convencionais (mecânico ou químico), numa situação clínica onde a ZP precisa ser aberta. Os resultados do presente estudo vem corroborar com trabalhos científicos anteriores, demonstrando que a técnica contribui para sucessos em FIV. Além deste dado, e concordando com o protocolo da nossa clínica, pesquisas científicas afirmam que o presente artifício realizado em embriões humanos com 48 horas a partir do dia 0, aumentam significativamente as taxas de implantação e gravidez.

P98 - Seis anos de experiência em diagnóstico genético pré-implantacional para doenças monogênicas conduzido por um laboratório de referência no Brasil

Martinhago, C.D.¹; Andari, V.C.M.¹; Angelozzi, M.¹; Melo, A.V.¹; Fariello, R.M.¹; Oliveira, R.M.¹

¹RDO Diagnósticos Médicos

O diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) representa uma opção aos casais que possuem doenças genéticas hereditárias específicas a fim de se evitar a transferência de embriões afetados para o útero. A biópsia embrionária é realizada através de uma abertura na zona pelúcida do embrião e, dependendo do método utilizado, o material celular pode ser proveniente do corpúsculo polar, de blastômeros ou de células do trofoblasto. Diferentes ferramentas moleculares são aplicadas para a detecção de anomalias cromossômicas e gênicas. Nosso centro oferece PGD desde 2005 para doenças monogênicas. Portanto, temos como objetivo detalhar nossa experiência clínica e laboratorial, destacando os problemas encontrados e os resultados obtidos. Para o diagnóstico de doenças monogênicas, o DNA da célula biopsiada é amplificado pela reação da cadeia da polimerase (PCR) e testado para determinar se o embrião é afetado por determinada doença. A PCR é uma técnica eficiente de detecção específica de alelos mutados em embriões humanos. No entanto, observamos que existem possibilidades de erro de diagnóstico por contaminação exógena de DNA e principalmente por falha na amplificação de um dos alelos, conhecida como allele drop-out. Esse erro ocorre pela amplificação ineficiente de um dos alelos de indivíduos heterozigotos, gerando a falsa impressão de homozigose. Realizamos o PGD para dezesseis

sete doenças: Anemia Falciforme, X-frágil, Fibrose Cística, CDG 1H, Marfan, SCA2, SCA3, Beta-talassemia, Doença de Huntington, Adrenoleucodistrofia-X, Hemofilia tipo A, Surdez genética congênita, Hiperplasia congênita adrenal, Epidermólise bolhosa simples, FOXP3, HLA e SMA1. No Brasil, os grandes centros de reprodução humana assistida possuem tecnologia de ponta para a realização dos procedimentos de FIV. Inicialmente a realização do PGD agregava um valor muito alto às técnicas de reprodução assistida, porém, atualmente o procedimento está mais acessível e fornece uma chance real para casais afetados de gerarem filhos saudáveis para as doenças testadas.

P99 - Concentração plasmática de estradiol na fase lútea média, como avaliador de chance de gravidez, em ciclos de inseminação artificial

Florenco, R.S.¹; Castro, E.C.¹; Finoti, M.F.¹; Rocha Camarço, M.N.C.¹

¹Humana medicina reprodutiva

OBJETIVO: Determinar as concentração média de estradiol(E2) em grávidas(G) e não grávidas(NG) na fase lútea média (+7-8 pós inseminação) e chance de gravidez com concentrações baixas de estradiol. **MÉTODOS:** Estudamos retrospectivamente 108 ciclos de inseminações artificiais, nos quais avaliamos as concentrações de E2 em G e NG, além da idade média, média de folículos bons no dia do hCG e percentagem de gravidez em pacientes com E2<100 pg/ml, nos grupos. Cálculos estatísticos com diferença significativa para p<0,05. **RESULTADOS:** Do total estudado, 79 ciclos de NG e 29 de G. No grupo NG, a idade média, o número de folículos bons no dia do hCG, a média de E2, e a percentagem de E2<100 pg/ml foram respectivamente, 33,76; 2,67; 470,44; 16,45% versus 31,96; 3,42; 827,29; 3,44% no grupo G e respectivos p=0,1612; 0,0102; 0,00053; 0,0108. **CONCLUSÕES:** O grupo G não foi diferente de NG, apenas na idade média e diferente na média de folículos bons, média de E2 e percentagem de pacientes com concentração de E2<100 pg/ml.

P100 - Estudo comparativo entre a FIV convencional e o dispositivo intra-vaginal INVO: impacto psicológico.

Vieira, Gabriella¹; Carvalho, Rosa¹; Colucci Coelho, Francisco¹

¹Centro de Infertilidade e Medicina Fetal NF

OBJETIVO: Avaliar o nível de stress nas pacientes submetidas ao tratamento de reprodução assistida, comparando as que utilizaram a técnica de fertilização in vitro (FIV) convencional com o dispositivo INVO, permitindo uma reflexão sobre o impacto psicológico. **MÉTODOS:** Foram estudadas 40 mulheres submetidas a FIV no Serviço de Reprodução Humana do Hospital Escola Álvaro Alvim-Centro de Infertilidade e Medicina Fetal do Norte Fluminense, entre janeiro a abril de 2011, que consentiram na participação. Divididas em dois grupos: Grupo 1(G1) com 20 submetidas a FIV convencional e o Grupo 2(G2) com 20 submetidas a FIV com o dispo-

sitivo INVO. A todas foi aplicado individualmente o ISSL -Inventário de Sintomas de Stress de LIPP- verificando a possibilidade de stress, Sem-stress e as fases: Alerta, Resistência Quase-Exaustão e Exaustão. **RESULTADOS:** A idade variaram entre 29 a 43 anos(média=36). No G1 45% não apresentaram Stress (Sem-Stress n=9), 10% na fase alerta F1 (n=2), 20% fase Resistência F2 (n=4), 25% Fase Exaustão F3 (n=3). No G2 60% não apresentaram stress (n=12), 15% fase alerta F1 (n=3), 20% fase resistência(n=4), 5% fase exaustão(n=1). Observa-se que o stress está presente nas pacientes, porém comparando as técnicas, compreende-se que uma quantidade significativa (60%) que utilizaram o INVO não apresentaram stress neste estudo, e, das que apresentaram stress, 15% estavam na fase alerta (considerada a fase positiva do stress). No G2 10% estiveram na fase alerta e não houve diferença significativa quanto à fase de resistência. Não houve nenhum caso de quase-exaustão. Na fase de exaustão (que é considerada a mais negativa e patológica) o G2 obteve 25% e o G1 apenas 5%. **CONCLUSÃO:** O stress é uma reação não específica do organismo diante de uma situação interpretada como ameaçadora. O estudo mostrou que apesar do stress estar presente nas pacientes que vivenciam tratamento de infertilidade, pode-se sugerir que o dispositivo INVO, enquanto estressor, comparado a FIV obteve melhores resultados no sentido de não desencadear stress, e com relação às fases das pacientes que apresentaram stress o método FIV convencional obteve maiores resultados no stress negativo, que em excesso é prejudicial e esgota a capacidade de adaptação. Além de revelar a importância da psicologia na abordagem relacionada ao stress das pacientes em tratamento de infertilidade, mostrou que as pacientes que utilizaram o dispositivo INVO apresentaram melhor adaptação e adesão ao tratamento proposto.

P101 - Obesidade como uma possível causa na infertilidade masculina

Mazetto, R.¹; Silveira, CF¹

¹Instituto Sapientiae

OBJETIVO: Relacionar obesidade com infertilidade masculina quanto aos efeitos nos hormônios sexuais e parâmetros seminais. **MÉTODOS:** Revisão bibliográfica (2000-2010). **RESULTADOS:** Em 31 artigos analisados, encontrou-se: 17 estudos que relacionaram IMC com os hormônios sexuais: Testosterona: 16 trabalhos-15 apresentaram relação negativa entre IMC x hormônio; 1 apresentou relação positiva. Sex hormone-binding globulin (SHBG): 9 estudos - todos mostraram relação negativa do hormônio e IMC. LH: 6 artigos-2 tiveram relação negativa com o IMC; 1 relação positiva; 2 não apresentaram resultados significativos; 1 o nível do hormônio estava inalterado. FSH: 4 trabalhos-2 se relacionaram negativamente ao IMC; 2 não obtiveram resultados significativos. Inibina B: 6 estudos - todos observaram a diminuição dos níveis do hormônio quando o IMC era elevado. Estradiol: 9 estudos - 6 mostraram uma relação positiva entre o estradiol e IMC; 3 não apresentaram resultados significativos. Leptina: 2 artigos-ambos mostraram que o aumento do IMC pode estar relacionado com o aumento dos níveis de leptina. 14 estudos que analisaram parâmetros seminais em relação ao IMC: Volume seminal: 6 estudos-1 apresentou associação negativa com IMC; 5 não apresentaram relação significativa. Concentração espermática/ml: 11 trabalhos-7 mostraram

que a elevação do IMC está relacionada com a diminuição da concentração; 4 não apresentaram resultados significativos. Concentração Total: 9 trabalhos-5 relacionaram o parâmetro negativamente com o IMC; 4 não apresentaram resultados significativos. Motilidade: 10 artigos-4 mostraram uma relação negativa com o IMC; 6 estudos não apresentaram resultados significativos. Morfologia espermática: 7 estudos - 2 mostraram que a elevação do IMC leva a uma diminuição dos espermatozoides de morfologia normal; 5 estudos não apresentaram resultado significativo. Fragmentação de DNA: 3 trabalhos-2 mostraram uma relação positiva com o IMC; 1 não mostrou resultado significativo.

CONCLUSÃO: A revisão encontrou forte evidência de uma relação negativa entre IMC e testosterona, inibina B e SHBG, além de alguns parâmetros seminais como concentração espermática/ml e total e fragmentação do DNA. A maioria dos trabalhos relacionou obesidade e doenças ligadas ao excesso de peso com a melhora na fertilidade masculina após a perda de peso, apresentando resultados promissores no restabelecimento da fertilidade e normalização nos níveis hormonais e parâmetros seminais.

P102 - Prevalência de alterações no exame seminal de pacientes submetidos à FIV/ICSI em um laboratório de reprodução assistida

Silva, T.M.¹; Approbato, M.S.¹; Maia, M.C.S.¹; Arruda, J.T.²; Approbato, F.C.¹

¹UFG; ²UFG/CAPEs

OBJETIVO: Avaliar os resultados de exame seminal de pacientes submetidos a procedimentos de alta complexidade em reprodução assistida e verificar qual alteração teve maior prevalência. **MÉTODOS:** 248 swim-up de pacientes submetidos à FIV ou ICSI, nos anos de 2007 a 2010 foram avaliados segundo os critérios da OMS (1999): oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia e azoospermia. **RESULTADOS:** Em 2007 realizamos 65 ciclos de FIV/ICSI. 37 homens (56,9%) apresentavam alterações na análise seminal. 3(4,6%) oligozoospermicos, 2(3,1%) astenozoospermicos, 11(17%) teratozoospermicos. Não houve casos de azoospermia. Dois tipos de alterações: oligoastenozoospermia 1 caso(1,5%), oligoteratozoospermia 7 casos(10,8%), astenoteratozoospermia 1 um caso(1,5%). Em 2008 totalizamos 73 ciclos. 46 indivíduos (63%) tinham alterações. Oligozoospermia 3 casos(4,1%), astenozoospermia 1 caso(1,4%), teratozoospermia 15 casos(20,5%) e azoospermia 2 casos(2,7%). Oligoastenozoospermia 4 casos(5,5%), oligoteratozoospermia 6 casos(8,2%) e astenoteratozoospermia 5 casos(6,8%). 10 pacientes(13,7%) com as três alterações. Em 2009, 58 casais foram submetidos à FIV/ICSI, 37 homens (63,8%) apresentaram alterações. Oligozoospermia 5 casos(8,6%), astenozoospermia 1(1,7%), teratozoospermia 14(24,3%) e azoospermia 4 casos(6,9%). Duas alterações: oligoastenozoospermia 1 caso(1,7%), oligoteratozoospermia 2 casos(3,4%), astenoteratozoospermia 2 casos(3,4%). 8 pacientes(13,8%) apresentavam três alterações. Em 2010, entre 52 ciclos realizados, 27 homens (52%) tinham alteração, sendo 3(5,8%) com oligozoospermia, 1(2,0%) astenozoospermia, 6(11,5%) teratozoospermia e 3(5,8%) azoospermicos. 5(9,7%) com oligoteratozoospermia e 6(11,5%) com astenoteratozoospermia. Não houve casos de oligoastenozoospermia e 3 casos(5,6%) com três alterações. **CONCLUSÕES:** Causas mais freqüentes de subfertilidade

masculina são: varicocele, obstruções, criptorquidia, infecções, gonadotoxinas, disfunção ejaculatória, falência testicular, causas genéticas e fatores ambientais como o fumo e álcool. Verificamos que entre os casais submetidos a ciclos de FIV/ICSI há altas taxas de exame do sêmen alterado no dia do procedimento. A menor taxa encontrada foi de 52%, em 2010 e a maior de 63,8% em 2009. A principal anormalidade verificada no período estudado foi na morfologia dos espermatozoides (teratozoospermia) que tem sido correlacionada clinicamente com varicocele e tabagismo.

P103 - Punção percutânea transabdominal guiada por ultrassom para aspiração de ovócitos em paciente com síndrome de rokitanski em um programa de FIV com cessão temporária de útero

Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.²; Araujo, E.A.¹; Araujo, E.A.¹

¹Centro de Reprodução Humana de São José do Rio Preto;

²Centro de Reprodução Humana de São José do Rio Preto

RELATO DO CASO: Paciente com 28 anos, casada, com diagnóstico de SMRKH. O ultrassom (US) evidenciou a presença dos dois ovários, útero rudimentar. Os ovários não eram visíveis por via vaginal, mas facilmente visualizados por via abdominal, próximos à parede abdominal. A paciente apresentava exame físico normal mas só o terço inferior da vagina. Dosagens hormonais todas normais (FSH, LH, estradiol, TSH, PRL). Cariótipo: 46XX.A receptora tinha 33 anos, era irmã da paciente em questão e tinha 01 filho. As dosagens hormonais eram normais. O ultrassom mostrou útero e anexos normais. Realizamos dosagens de progesterona (P4) e estradiol (E2) semanais e com a queda dos dois iniciamos o anticoncepcional (AO) contínuo. A receptora (irmã) também foi colocada no AO. Acetato de leuprolide foi iniciado 10 dias antes de parar o AO. A receptora ao menstruar iniciou no dia 2 do ciclo estradiol 2mg de 8 /8 hs até o primeiro US no 8º dia, mantendo essa dose até a transferência de embriões. A paciente com SMRKH ao parar o AO iniciou 300 UI de Gonal F por 3 dias, 225 UI no 4º dia e 150 UI no 5º, 6º e 7º dias de estimulação. US no 8º dia: receptora: US endovaginal: endométrio de 9 mm, padrão trilaminar (TL). A irmã apresentava 08 folículos dominantes de 12 a 16 mm em (OD) e 04 folículos dominantes variando de 12 a 15 mm em (OE) ao US abdominal. Seguimos com Gonal F, 150 UI/dia e US em ambas. No 12º dia os folículos da doadora atingiram 18 a 20 mm de diâmetro e o endométrio da irmã: 12 mm (TL). HCG, 10 000 UI (IM) foi administrado à paciente no mesmo dia e a aspiração folicular realizada 36 hs após, guiada por ultrassom ABDOMINAL e a irmã começou a progesterona natural, 1000 mg/d e manteve o estradiol na mesma dose. Seis ovócitos maduros (MII) foram identificados. A fertilização produziu 04 embriões que foram transferidos para a irmã (receptora). O Beta HCG 14 dias após: 450.0 mUI. Ultrassom 14 dias após o teste: gestação gemelar. Parto cesáreo com 33 semanas: duas meninas com 1720 g e 42 cm e 1840 g e 44 cm, saudáveis! **DISCUSSÃO:** A utilização da via vaginal para coleta dos ovócitos é prática comum mesmo em mulheres com a síndrome SMRKH e o acesso laparoscópico é utilizado quando da impossibilidade do acesso vaginal, porém esse é mais agressivo e de maior custo para a paciente. Esse caso demonstra a possibilidade de se utilizar a punção percutânea transabdominal guiada por ultrassom como mais uma forma de coleta de ovócitos em casos selecionados de SMRKH.

MARCH**2011 Annual Meeting on Women's Cancer**

Sponsor: Society of Gynecologic Oncologists
Dates: March 6-9, 2011
Location: Hilton Orlando Bonnet Creek & Waldorf
 Astoria, Orlando, FL, USA
For More Information: <http://www.sgo.org>

2011 CREOG and APGO Annual Meeting

Dates: March 9-12, 2011
Location: JW Marriott San Antonio Hill Country,
 San Antonio, TX, USA
For More Information: <http://www.apgo.org>

SGI 2011 Annual Meeting

Sponsor: Society for Gynecologic Investigation
Dates: March 16-19, 2011
Location: Fontainebleau Hotel,
 Miami Beach, FL, USA
For More Information: <http://www.sgionline.org>

26th Annual Congress of the European Association of Urology (EAU)

Dates: March 18-22, 2011
Location: Vienna, AUSTRIA
For More Information: <http://www.eauvienna2011.org>

2nd International Congress of the Society of Cross-Border Reproductive Care

Dates: March 24-27, 2011
Location: Florence, ITALY
For More Information: <http://www.icgrt.com>

36th Annual Meeting of the Society for Sex Therapy and Research

Dates: March 31-April 3, 2011
Location: Four Seasons Resort,
 Palm Beach, FL, USA
For More Information: <http://www.sstarnet.org>

APRIL**ASA 36th Annual Meeting**

Sponsor: American Society of Andrology
Dates: April 2-5, 2011
Location: Hyatt Regency Montreal, Montreal,
 CANADA
For More Information: <http://www.andrology.society.com>

AACE 20th Annual Meeting and Clinical Congress

Sponsor: American Association of Clinical Endocrinologists
Dates: April 13-17, 2011
Location: Manchester Grand Hyatt and San Diego
 Convention Center, San Diego, CA, USA
For More Information: www.aace.com

2011 PCRS

Sponsor: Pacific Coast Reproductive Society
Dates: April 13-17, 2011
Location: Rancho Las Palmas,
 Rancho Mirage, CA, USA
For More Information: <http://www.pcrsonline.org>

2011 NEFS Annual Meeting

Sponsor: New England Fertility Society
Dates: April 29-30, 2011
Location: Water's Edge, Westbrook, CT, USA
For More Information: <http://www.nefs.org>

2011 ACOG Annual Clinical Meeting

Dates: April 30 - May 4, 2011
Location: Washington, DC, USA
For More Information: <http://www.acog.org/>

MAY**2011 Frontiers in Reproduction (FIR)**

Dates: May 1 - June 11, 2011
Location: Marine Biological Laboratory, Woods Hole,
 MA, USA
Application Deadline: January 18, 2011
For More Information: <http://fir.mbl.edu>

10º. Congresso Geral da REDLARA

Data: 19-22 de maio, 2011
Localização: Rio de Janeiro, Brasil
Informações: <http://www.redlara.com/congresso-rio/programa.asp>

**JUNE****2011 OSSD Fifth Annual Meeting**

Description: Organization for the Study of Sex Differences
Dates: June 2-4, 2011
Place: Oklahoma City, OK, USA
For More Information: <http://www.ossdweb.org>

13th World Congress on Menopause

Sponsor: International Menopause Society
Dates: June 8-11, 2011
Location: Rome, ITALY
For More Information: <http://www.imsociety.org>

ISSCR 9th Annual Meeting

Sponsor: International Society for Stem Cell Research
Dates: June 15-18, 2011
Location: Metro Toronto Convention Centre,
 Toronto, Ontario, CANADA
For More Information: <http://www.isscr.org>

2011 AMA Annual Assembly Meeting

Dates: June 18-22, 2011
Location: Chicago, IL, USA
For More Information: <http://www.ama-assn.org>

JULY**ESHRE 2011**

Description: 27th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology
Dates: July 3-6, 2011
Location: Stockholm, SWEDEN
For More Information: <http://www.eshre.eu>

AUGUST**XV CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

Data: 24 a 27 de agosto, 2011
Local: Costão do Santinho - Florianópolis/SC.
Informações: www.sbra.com.br

SEPTEMBER**6th Congress of the Asia Pacific Society for the Study of Aging Male (APSSAM)**

Dates: September 1-4, 2011
Location: Busan, KOREA
For More Information: <http://www.aspsam2011.org>

2011 World Endometriosis Congress

Dates: September 4-11, 2011

Location: Montpellier, FRANCE

For More Information: <http://www.wce2011.com>

**11th Congress of the Latin American Society
for Sexual Medicine (SLAMS)**

Dates: September 8-11, 2011

Location: Buenos Aires, ARGENTINA

For More Information: <http://www.slams2011.org>

OCTOBER

ASRM 2011

Description: 67th Annual Meeting of the ASRM

Dates: October 15-19, 2011

Place: Orange County Convention Center, Orlando,
Florida, USA

For More Information: view the ASRM Annual
Meeting page

NOVEMBER

XXXIII Congresso Brasileiro de Urologia

Dias 22/11 a 26/11/2011

Florianópolis – SC

<http://www.sbu2011.com.br/>

14th World Congress on Human Reproduction

Dates: November 30-December 3, 2011

Location: Melbourne, AUSTRALIA

For More Information: <http://www.humanreproduction2011.com>



CONGRESSO BRASILEIRO DE
XV REPRODUÇÃO
ASSISTIDA

24 A 27 DE AGOSTO DE 2011 - COSTÃO DO SANTINHO - FLORIANÓPOLIS/SC



24 a 27

Agosto 2011

WWW.REPRODUCAOASSISTIDA2011.COM.BR



Costão do Santinho

Florianópolis/SC



MOTIVOS DE SOBRA PARA VOCÊ PARTICIPAR.

PROMOÇÃO

APOIO

AGÊNCIA OFICIAL DE TURISMO

INSCRIÇÕES E INFORMAÇÕES

SBR
SOCIIDADE BRASILEIRA DE
REPRODUÇÃO ASSISTIDA


FLORIANÓPOLIS e REGIÃO
Convention & Visitors Bureau

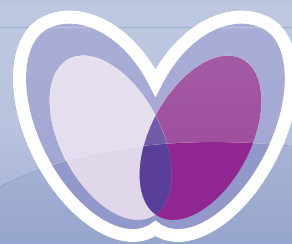

ACORIANA

Praxis
FEIRAS E CONGRESSOS

48 3028.5154 - www.praxis.srv.br

NOVIDADE!

Seu novo ambiente de Atualização,
Consulta e Debate Científico



Portal da
Fertilidade



- Artigos Científicos
- Artigos Comentados
- Aulas livres
- Casos Clínicos
- Entrevistas
- Eventos

Elaborados por renomados especialistas
em Reprodução Assistida.

Um portal interativo onde você pode emitir sua opinião,
enviar materiais científicos e debater com os colegas.

Apoio



Participe!

www.portaldafertilidade.com.br

 **FALE FERRING**
0800 772 4656

Laboratórios Ferring - Brasil

Pça. São Marcos, 624 - 1º andar - 05455-050
São Paulo - Brasil - PABX - 55 11 3024.7500
70.060.021 - F/003/Dez/10

