

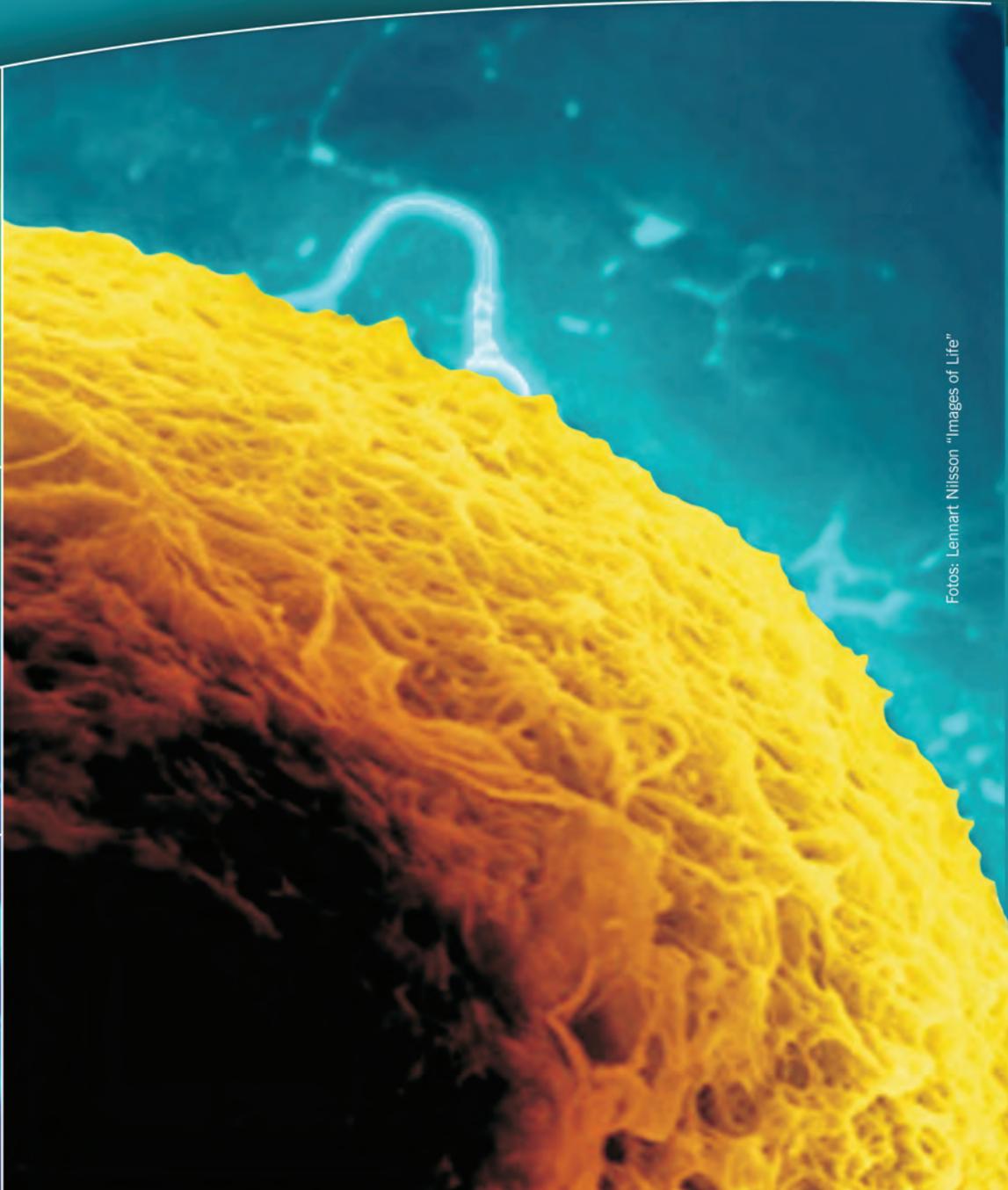
Volume 15  
Number 6  
Nov-Dec 2011  
ISSN 1517-5693

# 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*

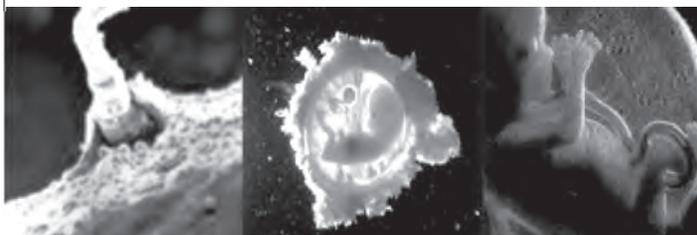
**Merck Serono**

SAC Merck Serono: 0800.113320

Anúncio veiculado em Maio de 2011.

Merck Serono é uma divisão da Merck.

**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 | nº6 | Nov-Dec / 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](mailto: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](mailto:alamtec@br.inter.net)  
[www.alamtec.com.br](http://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 (OHSH 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 (Pró-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)

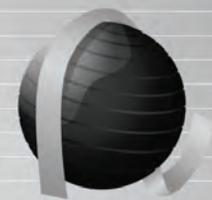
Sergio Reis Soares (IVI Lisboa Portugal)

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



Há 25 Anos dedicando-se a publicações de excelência.

Rua das Roseiras, 464 - CEP 03144-090  
 São Paulo-SP - Tel/Fax: (11) 2341-8045  
 E-mail: [alamtec@br.inter.net](mailto:alamtec@br.inter.net)  
 Web: [www.alamtec.com.br](http://www.alamtec.com.br)



**ALAMTEC**  
 Ciência Médica Editorial

**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: jornalsbra@cmb.com.br

**Diretoria da REDLARA - 2011-2014****DIRETORA EXECUTIVA**

Maria do Carmo Borges de Souza

Brasil

E-mail: direjecutiva@redlara.com

mariadocarmo@cmb.com.br

**VICE DIRETOR EXECUTIVO**

Roberto Coco

Argentina

E-mail: robertococo@fecunditas.com.ar

**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](http://www.sbra.com.br)) e da Rede Latino-americana de Reprodução Assistida ([www.redlara.com](http://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](http://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 Ensaio Clínico validados pelos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors (por exemplo, [www.actr.org.au](http://www.actr.org.au), [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), [www.ISRCTN.org](http://www.ISRCTN.org), [www.umin.ac.jp/ctr/index/htm](http://www.umin.ac.jp/ctr/index/htm) e [www.trialregister.nl](http://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 compostos de 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).

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](mailto: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](http://www.sbra.com.br)) and the Latin America Network of Assisted Reproduction ([www.redlara.com](http://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](http://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](http://www.actr.org.au), [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), [www.ISRCTN.org](http://www.ISRCTN.org), [www.umin.ac.jp/ctr/index/htm](http://www.umin.ac.jp/ctr/index/htm) and [www.trialregister.nl](http://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](mailto: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](http://www.sbra.com.br)) y de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida ([www.redlara.com](http://www.redlara.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](http://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](http://www.actr.org.au), [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), [www.ISRCTN.org](http://www.ISRCTN.org), [www.umin.ac.jp/ctr/index/htm](http://www.umin.ac.jp/ctr/index/htm) y [www.trialregister.nl](http://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 secciones 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 tecleados 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 rodapié 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 ([Jornalsbra@cmb.com.br](mailto:Jornalsbra@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

<b>Medicina basada en evidencias en América Latina y el JBRA</b> Efraín Pérez Peña	14
---	----

## Artigo Original

<b>Addition of ascorbic acid to cryopreservation medium reduces oxidative damages in semen of infertile men</b> Marcia E. Garceza, Cátia dos Santos Branco, Luana V. Laraa, Patrícia D. S. Spada, Fabio F. Pasqualotto and Mirian Salvador	15
<b>As novas famílias, medicina e religião</b> Maria Andréa Loyola	17
<b>The effects of general anaesthesia with sevoflurane on intracytoplasmic sperm injection outcomes</b> Amanda Souza Setti, Ricardo Vieira Carlos, Daniela Paes Almeida Ferreira Braga, DVM, Rita Cássia Savio Figueira, Assumpto Iaconelli Jr., M.D., Edson Borges Jr.	20
<b>Impacto atual do periódico <i>JBRA Assisted Reproduction</i> e indicadores futuros. Situação Brasil e avanço para a América Latina.</b> Larisse Caldas de Melo Mendes, Maria do Carmo Borges de Souza, Paulo Franco Taitson	24

## Artigo de Opinião

<b>Qualidade da redação científica no JBRA Assisted Reproduction</b> Bruno Ramalho de Carvalho	28
---	----

## Artigo de Revisão

<b><i>Chlamydia trachomatis</i>: consequências na saúde reprodutiva da mulher</b> Mônica Canêdo Silva Maia, Mário Silva Approbato, Rodopiano de Souza Florêncio, Tatiana Moreira da Silva, Fabiana Carmo Approbato	30
<b>Maturação Oocitária <i>In vitro</i>: A experiência francesa na preservação da fertilidade feminina de pacientes com câncer</b> Ana Karina Bartmann e Michael Grynberg	36
<b>Eventos</b>	41

# Medicina basada en evidencias en América Latina y el JBRA

## Evidence based Medicine in Latin America and the JBRA

La difusión de conocimientos sobre Medicina Basada en Evidencias (MBE) es un objetivo fundamental de la REDLARA para promover entre los veinte países que integran Latinoamérica la realización de investigación científica y la publicación de ella tanto en su revista oficial JBRA como en otras de reconocido prestigio. El Registro de la REDLARA, modelo a seguir a nivel mundial, muestra el gran avance en este campo en nuestra región, prueba de ello es el tercer lugar obtenido por Brasil entre los países que más trabajos libres enviaron a la ASRM en su reunión de Octubre en Orlando. Desafortunadamente esto no se refleja adecuadamente en publicaciones posteriores.

Según Zeghers-Hochschild la dificultad para realizar investigaciones y publicar en nuestra región tiene varias causas entre las que destacan el insuficiente apoyo económico a la investigación, inexperiencia para realizarla y publicarla, las barreras de lenguaje, que solo un 10% de los centros son universitarios, y restricciones legales y religiosas. La investigación requiere que al atender pacientes identifiquemos lo que no sabemos, recabar y evaluar la información disponible según su nivel de evidencia, realizar preguntas verificables científicamente, elaborar hipótesis, determinar qué tipo de población se incluirá en el estudio y cuál será el grupo control, precisar el tamaño de la muestra para obtener conclusiones válidas, definir el tipo de estudio más apropiado y como se planea realizarlo. Determinar cómo se recolectarán los datos y clasificarán las variables y qué pruebas estadísticas se utilizarán para interpretar los resultados. Prestar atención a aspectos metodológicos sin descuidar la integridad y objetividad.

Como en reproducción asistida para demostrar una diferencia de 5 % en tasas de embarazo se requieren 1450 pacientes, una de las formas de obtener muestras de un tamaño que permita obtener conclusiones significativas es la realización de estudios multicéntricos internacionales, promovidos actualmente por la REDLARA.

The propagation of knowledge on Evidence Based Medicine (EMB) is one of the top priorities of Red LARA to promote among its 20 countries scientific research and publications in its journal JBRA and others of recognized prestige. The Red LARA Register shows a great advance on this field in our region, proof of this is the 3<sup>rd</sup> place of Brazil among the countries that sent more free communications to the meeting of ASRM at Orlando in October. Unfortunately few of these papers get published later.

According to Zeghers-Hochschild the causes of insufficient research and publications in our region are multiple and the most common are the lack of economical founding, inexperience in research and publishing, language barriers, less of 10% of the centers are university based, as well as legal and religious restrictions. Good research needs to identify what we do not know in patient care, to ask questions that can be verified by science, to elaborate hypothesis, to determine what type of population will be included in the study and who will be the control group, to establish the sample size needed to enable valid conclusions, to define the most appropriate type of study and how to realize it, including: data recollection, classification of variables and statistic tests to interpret the results. Attention not only to methodological issues but also to honesty and objectivity.

In assisted reproduction to demonstrate a difference of 5% in pregnancy rates, 1450 patents are needed. One of the methods to get larger sample size is with multicentric international trials, promoted today by Red LARA.

### **Efraín Pérez Peña.**

Instituto Vida. Guadalajara México

### **Referencias:**

-Zeghers-Hochschild F. Barriers to conducting clinical research in reproductive medicine: Latin America. *Fertil Steril* 2011;96: 802-4

-Pérez Peña E. Medicina basada en evidencias en reproducción. En Pérez Peña E. Atención Integral de la Infertilidad. Endocrinología, cirugía y Reproducción asistida. 3ª Edición. Ed. Médica Panamericana. 2011; 40: 613-26

# Addition of ascorbic acid to cryopreservation medium reduces oxidative damages in semen of infertile men

Marcia E. Garcez<sup>1</sup>, Cátia dos Santos Branco<sup>1</sup>, Luana V. Lara<sup>1</sup>, Patricia D. S. Spada<sup>2</sup>, Fabio F. Pasqualotto<sup>1</sup> and Mirian Salvador<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil

<sup>2</sup> Faculdade da Serra Gaúcha, Caxias do Sul, RS, Brazil.

\*corresponding author

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar os potenciais efeitos benéficos da adição do ácido ascórbico ao meio de criopreservação de sêmen de homens férteis e inférteis. O sêmen de 20 pacientes inférteis e 10 indivíduos férteis (grupo controle) foi criopreservado com e sem ácido ascórbico 10 mM. A adição de ácido ascórbico ao meio de criopreservação foi capaz de reduzir os danos oxidativos a lipídios, induzidos pelo processo de congelamento, além de aumentar a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase em homens inférteis. Por outro lado, este antioxidante não foi capaz de evitar a perda de motilidade observada nos espermatozoides pós-descongelamento de homens inférteis e férteis.

**Palavras-Chave:** ácido ascórbico, criopreservação, sêmen, danos oxidativos.

## ABSTRACT

The aim of this study was to analyze potential beneficial effects of adding ascorbic acid to cryopreservation media of semen of infertile men. Semen from 20 infertile and 10 fertile (control group) men was cryopreserved with and without 10 mM ascorbic acid. Addition of ascorbic acid to the cryopreservation media was able to reduce the lipid oxidative damage induced by the cryopreservation process and increase the antioxidant enzyme superoxide dismutase activity in infertile men. However, this antioxidant was not able to avoid the loss of motility observed in post-thaw spermatozoa of both infertile and fertile men.

**Keywords:** ascorbic acid; cryopreservation; semen; oxidative damages.

## INTRODUCTION

Although the cryopreservation of human semen is an important technique routinely employed in the clinical management of male infertility (Medeiros *et al.*, 2002), an excessive generation of reactive oxygen species (ROS) has been reported in cryopreservation procedures, which causes a dramatic reduction in sperm quality (Aitken & Baker, 2006).

Ascorbic acid (AA) is the main antioxidant in seminal plasma of fertile men, contributing up to 65% of its total chain-breaking antioxidant capacity (Agarwal, 2004). It has already been shown that, in fertile men, AA can significantly reduce ROS levels (Li *et al.*, 2010) and DNA damages in post-thaw human spermatozoa (Li *et al.*, 2007; Branco *et al.*, 2010). However, infertile men presents a significant decrease in AA levels in seminal plasma (Patel *et al.*, 2009), which could be a risk factor for idiopathic male infertility (Colagar & Marzony, 2009).

Besides, human spermatozoa are rich in polyunsaturated fatty acids, which are very susceptible to ROS attack (Murawski *et al.*, 2007). Therefore, the aim of the present study was to evaluate lipid oxidative levels and the main antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) activities, as well as the seminal standard markers in infertile men after the cryopreservation process using ascorbic acid as antioxidant.

The study was conducted with 20 infertile men (30.25 ± 0.37 years), who were diagnosed with infertility after at least two successive semen analyses fulfilled according to the World Health Organization's infertility criteria (WHO, 1999). The control group consisted of 10 healthy sperm donors (35.00 ± 0.70 years) with proven fertility (initiated a successful pregnancy). The women of both groups were required to be between the ages of 20 and 40 years. Individuals with azoospermia, leukocytospermia or under antioxidant supplementation were excluded. The protocol study was approved by the Ethics Committee of the University of Caxias do Sul, and all subjects provided their informed consent to participate in the study. Semen samples were collected as defined by WHO standards (1999). The samples were placed in CO<sub>2</sub> incubation at 37°C for 30 min, so that seminal liquefaction could be performed. Semen parameters (concentration, motility and morphology) were evaluated according to World Health Organization standards (WHO, 1999). Lipid damages in sperm were assessed by thiobarbituric acid reactive species (TBARS), according to Wang *et al.* (1997). Results were expressed as nM malondialdehyde/10<sup>8</sup> sperm/hour. Activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) was determined in seminal plasma. SOD was done according to Bannister & Calabrese (1987). The result was expressed as USOD/g of protein. One SOD unit was defined as the amount of enzyme that inhibited the rate of adrenochrome formation by 50% per gram of protein. Catalase assay was carried out according to Aebi (1984). The result was expressed as UCAT/mg of protein. One unit of CAT decomposed one μmol of hydrogen peroxide/mg of protein/minute at pH 7.4. Total protein levels were evaluated using the Total Proteins kit from Labtest® (Protein Kit, Labtest Diagnostica S.A., Brazil).

After evaluating the seminal and oxidative stress parameters in fresh semen, the remaining volume of each sample was separated into two aliquots: without ascorbic acid and with 10.0 mM of ascorbic acid (Sigma-Aldrich Corp., St Louis, MO, USA) and incubated for one hour at 37°C. The semen was then diluted with a cryopro-

**Table 1.** Oxidative stress markers (mean  $\pm$ SD) in samples of infertile (n=20) and fertile men (n=10) treated with ascorbic acid (10.0 mM) or not.

Groups	TBARS (nM MDA/10 <sup>8</sup> /h sperm)		SOD (USod/g protein)		CAT (UCat/mg protein)	
	Infertile	Fertile	Infertile	Fertile	Infertile	Fertile
Pre-freeze without ascorbic acid	4.08 $\pm$ 0.05 <sup>a*</sup>	2.56 $\pm$ 0.05 <sup>a#</sup>	8.10 $\pm$ 0.14 <sup>a*</sup>	11.86 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	1.47 $\pm$ 0.07 <sup>a*</sup>	4.78 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
Post-thaw without ascorbic acid	7.96 $\pm$ 0.05 <sup>b*</sup>	4.94 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	3.17 $\pm$ 0.07 <sup>b*</sup>	10.06 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	3.41 $\pm$ 0.07 <sup>b*</sup>	49.63 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>
Post-thaw with ascorbic acid 10.0 mM	5.92 $\pm$ 0.05 <sup>c*</sup>	4.64 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	6.52 $\pm$ 0.10 <sup>c*</sup>	9.23 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	4.50 $\pm$ 0.15 <sup>b*</sup>	47.00 $\pm$ 1.42 <sup>b</sup>

MDA= malondialdehyde. #Values followed by different letters differ significantly, according to Wilcoxon test ( $p < 0.05$ ) for each group. \*Values statistically different from the fertile group, according to Mann-Whitney U test ( $p < 0.05$ ).

tective agent (Test-Yolk buffer, Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) in a proportion of 1:1. The cooling rate process was done as described by Garcez *et al.* (2010). The post-thaw analysis was conducted after 72 hours. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 14.0 for Windows<sup>®</sup> software.

The cryopreservation process did not induce any change in post-thaw sperm concentration or morphology, but a significant decrease in sperm motility was observed, both in infertile (44%) and fertile men (45%), as already reported (Branco *et al.*, 2010; Garcez *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010). Increased TBARS levels were observed in the post-thaw semen in both infertile and fertile men. Superoxide dismutase activity significantly decreased with the cryopreservation process, however only in infertile men. Catalase activity was increased in both infertile (around 2.3 times) and fertile (around 10 times) men (Table 1).

This work shows, for the first time, that the addition of AA to the cryopreservation media was able to reduce lipid oxidative damages and increase SOD activity in infertile men (Table 1). Fluidity and integrity of the spermatozoa membranes is necessary to the fusion events associated with fertilization (Jones *et al.*, 1979). On the other hand, AA was not able to avoid the loss of motility induced by cryopreservation process, both in infertile and fertile men. Similar results were already reported, but just for fertile men (Askari *et al.*, 1994; Li *et al.*, 2010). Although a study with a larger number of samples is needed, the present work showed that ascorbic acid might be used to minimize lipid oxidative damages induced by the cryopreservation procedure in infertile men and could help to design effective cryopreservation strategies in male infertility. It is important to mention that AA is not useful in the preparation of sperm samples where motility is essential. However, this antioxidant can be considered in human cryopreservation procedures such as intracytoplasmic sperm injection, as it does not need motile sperm for achieving a pregnancy.

#### ACKNOWLEDGMENTS

Central Outpatient Clinic at University of Caxias do Sul, CNPq, CAPES and FAPERGS.

#### Endereço para Correspondência:

Instituto de Biotecnologia/ Universidade de Caxias do Sul  
Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130- 95070-560 Caxias do Sul, RS, Brazil  
Tel: (+55) 54 218 2105 FAX: (+55) 54 218 2664  
e-mail: msalvado@ucs.br

#### REFERENCES

- Aebi H. Catalase *in vitro*. Meth Enzymol. 1984; 105: 121-6.
- Agarwal A. Role of antioxidants in treatment of male infertility. Reprod Biomed Online. 2004; 8: 616-27.
- Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. Mol Cell Endocrinol. 2006; 250: 66-9.
- Askari HA, Check JH, Peymer N, Bollendorf A. Effect of natural antioxidants tocopherol and ascorbic acids in maintenance of sperm activity during freeze-thaw process. Arch Androl. 1994; 33: 11-5.
- Bannister JV, Calabrese L. Assays for sod. Meth Biochem Anal. 1987; 32: 279-312.
- Branco CS, Garcez ME, Pasqualotto FF, Erdtman B, Salvador M. Resveratrol and ascorbic acid prevent DNA damage induced by cryopreservation in human semen. Cryobiology. 2010; 60: 235-7.
- Colagar AH, Marzony ET. Ascorbic acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. J Clin Biochem Nutr. 2009; 45: 144-9.
- Garcez ME, Branco CS, Lara LV, Pasqualotto FF, Salvador M. Effects of resveratrol supplementation on cryopreservation medium of human semen. Fertil Steril. 2010; 94: 2118-21.
- Jones R, Mann T, Sherins RJ. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa: spermicidal effects of fatty acid peroxides and protective action of seminal plasma. Fertil Steril. 1979; 31: 531-7.
- Li ZL, Lin QL, Liu RJ, Xie WY, Xiao WF. Reducing oxidative DNA damage by adding antioxidants in human semen samples undergoing cryopreservation procedure. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2007; 87: 3174-7.
- Li Z, Lin Q, Liu R, Xiao W, Liu W. Protective effects of ascorbate and catalase on human sperm spermatozoa during cryopreservation. J Androl. 2010; 31: 437-44.
- Medeiros CM, Forell F, Oliveira AT, Rodrigues JL. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? Theriogenol. 2002; 57: 327-344.
- Murawski M, Saczko J, Marcinkowska A, Chwiłkowska A, Gryboś M, Banaś T. Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men. Folia Histochem Cytobiol. 2007; 45: 123-6.
- Patel S, Panda S, Nanda R, Mangaraj M, Mohapatra PC. Influence of oxidants and anti-oxidants on semen parameters in infertile males. J Indian Med Assoc. 2009; 107: 78-82.
- Wang AW, Zhang H, Ikemoto I, Anderson DJ, Loughlin KR. Reactive oxygen species generation by seminal cells during cryopreservation. Urology. 1997; 49: 921-5.
- World Health Organization (WHO). 1999. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge, Cambridge University Press.

# As novas famílias, medicina e religião

## New families, medicine and religion

Maria Andréa Loyola

Socióloga e Antropóloga, Professora Emérita da Universidade do Estado do Rio de Janeiro[RJ]- Brasil

\* Tema apresentado no 10º Congresso da rede Latinoamericana de Reprodução Assistida, no Curso sobre Interfaces ético-jurídicas.

### RESUMO

Falar sobre novas famílias significa admitir que existem, ou que existiram velhas famílias; famílias que precederam e são diferentes das atuais. E em todas elas e independentemente de seu formato, a família sempre desempenhou o mesmo papel, o de assegurar a reprodução da espécie, tanto biológica quanto social; ou seja, garantindo a existência de filhos, o lugar que eles ocupam na sociedade, a posição social da família e, preferencialmente, sua ascensão. Por esta razão a família é considerada o coração, a base, o cerne da sociedade.

**Material e método-** Análise da formação familiar no Brasil, passando pelo desenvolvimento do capitalismo e pelo avanço da urbanização. Famílias e reprodução social no Brasil contemporâneo. Família, filhos, medicina e religião.

**Resultados e Discussão:** É a presença de filhos que permite e legitima os diferentes tipos de família que caracterizam nossa modernidade. O casamento é entendido como uma etapa preliminar da geração e socialização de filhos, só possível, para elas, através da heterossexualidade ou da adoção. As religiões se dedicaram tão fortemente ao longo de sua existência, a produzirem mitos e crenças em defesa da heterossexualidade que historicamente garantiu a formação da família e sua reprodução biológica e social, que se torna difícil para elas aceitarem situações que põem em xeque a veracidade dessas crenças, e por extensão, segundo muitos, sua própria existência.

Distante deste conflito, a medicina pode posicionar-se de acordo com as crenças mais ou menos influenciadas pelas religiões de seus agentes, em última instância sempre dispostos a ajudarem a realizar o desejo de filhos de seus pacientes.

**Palavras-chave:** Famílias, novas famílias, medicina, religião.

### ABSTRACT

Talking about new families is to admit that there are, or that there were old families, families that preceded and are different from today. And in all of them and regardless of its format, the family has always played the same role, to ensure the reproduction of the species, both biological and social, that is, ensuring the existence of children, the place they occupy in society, the position social and family, preferably his ascension. For this reason the family is considered the heart, the base, the core of society.

**Material and methods-** analysis of family formation in Brazil, through the development of capitalism and the advance of urbanization. Families and social reproduction in contemporary Brazil. Family, children, medicine and religion. Results and Discussion: It is the presence of children that enables and legitimizes the different types of families that

characterize our modernity. Marriage is understood as a preliminary stage of generation and socialization of children, only possible for them through adoption or heterosexuality. Religions have dedicated themselves so strongly throughout its existence, to produce myths and beliefs in defense of heterosexuality that has historically guaranteed family formation and their biological and social reproduction. So it becomes difficult for them to accept situations that call into question the veracity of beliefs, and by extension, according to many, their very existence. Away from this conflict, Medicine can be positioned according to the beliefs more or less influenced by the religions of its agents, ultimately always willing to help carry out the desire of patients to have children.

**Key words:** Families, new families, medicine, religion.

Falar sobre novas famílias significa, desde logo, admitir que existem, ou que existiram velhas famílias; famílias que precederam e são diferentes das famílias atuais.

De fato, se considerarmos historicamente todas as sociedades humanas, vamos encontrar diferentes modelos de família e, em contraste com o nosso tipo de sociedade, principalmente nas ditas sociedades primitivas. Entretanto, em todas elas e independentemente de seu formato, a família sempre desempenhou o mesmo papel, ou seja, o de assegurar a reprodução da espécie, tanto biológica quanto social; ou seja, garantindo a existência de filhos, o lugar que eles ocupam na sociedade, a posição social da família e, preferencialmente, sua ascensão. Por esta razão a família é considerada o coração, a base, o cerne da sociedade. Sem o casamento ou algum tipo de organização familiar a reprodução humana seria impossível em sociedades como a humana, na qual a sexualidade dos indivíduos é polimorfa (isto é não é previamente dirigida para um único objeto sexual); onde o período fértil da mulher, além de curto, não é externamente assinalado como nos animais; e onde o cuidado com a prole exige tempo, uma organização social complexa e uma extensa rede de normas culturais. (Loyola,1998).

Em todas as sociedades humanas conhecidas, essas normas que garantem o casamento heterossexual o desejo de se reproduzir e a socialização dos filhos. São em grande parte reforçadas pelos sistemas de crenças mágicos e pelas religiões. Mais recentemente, desde que a ciência suplantou-as na explicação dos fenômenos físicos e sociais, a medicina passou a dividir com as religiões ou, o mais comumente, sobrepô-las na imposição de normas que contribuem para direcionar o comportamento dos indivíduos das sociedades modernas e contemporâneas. (Foucault e Correa) Em muitas situações (principalmente nas que dizem respeito à vida

e a morte, ai incluindo a reprodução humana) a noção de "saúde" substituiu o a de "pecado" no controle de comportamentos socialmente indesejáveis.

### As famílias no Brasil

No Brasil, se excluirmos os diferentes grupos indígenas que ainda têm suas culturas minimamente preservadas, o modelo de família mais antigo é o da família patrimonial, geralmente extensa, ligado, aqui e em quase todo o resto do mundo, às sociedades rurais, notadamente às grandes propriedades, como as descritas por Gilberto Freyre em *Casa Grande & Senzala*. A família patriarcal, segundo o próprio nome indica, se baseia na autoridade do pai, em uma prole extensa e no predomínio do primogênito; no <casamento arranjado> ou seja estabelecido através do sistema de alianças (entre famílias) e em laços matrimoniais indissolúveis (a não ser em certas circunstâncias); na submissão legal e real da mulher ao homem e em uma estrita divisão sexual do trabalho, pela qual à mulher compete o domínio privado - as tarefas domésticas e o cuidado com os filhos; cabendo ao homem o domínio público - o trato com o dinheiro e o provimento das necessidades da família. Do ponto de vista econômico tem-se como estratégia assegurar a integralidade da terra, manter e ampliar o patrimônio fundiário através da aliança e garantir sua transmissão preferencialmente ao primogênito de modo a impedir seu desmembramento.

Com o desenvolvimento do capitalismo e o avanço da urbanização, outro tipo de família começa a desenvolver-se ainda durante o século XVIII, para vir a tornar-se dominante, a partir do século XIX, nas cidades, e principalmente nas grandes metrópoles. Trata-se da nossa conhecida família conjugal, formada por marido, mulher e filhos em número mais reduzido, constituída com base na escolha individual e no amor romântico, na igualdade jurídica e social entre os sexos em uma divisão sexual do trabalho mais flexível (que se realizam, ambas, mais teoricamente do que praticamente), na transmissão individual do patrimônio através da herança e na possibilidade de dissolução dos laços matrimoniais através do divórcio.

Esses dois modelos de família - patrimonial e conjugal - se distinguem melhor apenas como "tipos ideais". Na realidade, nem sempre elas se diferenciam com nitidez. Além de serem mais frequentes nas áreas rurais e urbanas, respectivamente, esses modelos de família variam também por classe social. As famílias extensas, por exemplo, podendo significar, nas classes baixas, falta de moradia e, nas classes altas, um maior controle sobre o patrimônio familiar.

### Famílias e reprodução social no Brasil contemporâneo

Muitas transformações foram necessárias para tornar possível o aparecimento da família conjugal. Entre as mais importantes, assinalamos: a liberação da força de trabalho pelo mercado e a incorporação da mulher ao sistema produtivo, desmanchando os laços comunitários, introduzindo um modelo individualizante e abalando os alicerces da complementaridade entre os sexos e da divisão sexual do trabalho que restringe a mulher à esfera doméstica. Do ponto de vista tecnológico, poderíamos acrescentar ainda a verdadeira revolução representada pela pílula anticoncepcional e, mais recentemente, pela inseminação artificial e pela reprodução *in vitro*, permitindo desvincular não somente a sexualidade (enquanto domínio do prazer) da reprodução, mas também, o próprio sexo desse processo.

Uma das transformações mais importantes na constituição das famílias conjugais das sociedades contemporâ-

neas é o peso crescente do capital escolar, relativamente ao capital econômico, o que tornou possível o casamento amoroso baseado na escolha individual, sem pôr em risco as funções desempenhadas pelo sistema de alianças para a reprodução social. Ao contrário do capital econômico, o capital cultural é incorporado no indivíduo e torna-se invisível. Assim, uma mulher e um homem podem unir-se se ou casar-se de acordo com seus "sentimentos ou desejos individuais" sem por em risco a ordem social. Sem que eles o saibam, sua estima recíproca está fundada sobre valores culturais próximos. Não há, pois, nenhuma necessidade de arranjos exteriores como no caso do casamento na família patriarcal; o sentimento de ambos é suficiente para garantir o equilíbrio entre capital masculino e capital feminino. Ou seja, a lógica amorosa não contradiz a lógica social; ao contrário, a reforça (Bourdieu, 1974)

Com variações históricas, assistimos a passagem de um sistema de reprodução «tradicional», baseado na família e no casamento, para um sistema «individualista» baseado na gestão estatística das populações e na filiação, no qual as relações entre os indivíduos são fixadas juridicamente, ou seja, são relações de direito. É a vontade individual, expressa, em termos do direito, no «consentimento mútuo», que institui, modernamente, tanto a família como o casamento e o divórcio.

O reconhecimento da desagregação do casamento tradicional, representado jurídica e demograficamente pelo crescimento do número de divórcios, de uniões consensuais, de filhos nascidos fora do casamento e de famílias monoparentais, que configura uma verdadeira «crise da família», acontece no Brasil mais tardiamente do que em outros países católicos. É principalmente a partir da Constituição de 1988 que o direito de família contido no Código Civil de 1916, que confere legitimidade à família e aos filhos apenas a partir do casamento, é de fato alterado. Atualmente são reconhecidas como entidades familiares tanto o casamento civil como a união estável (entre um homem e uma mulher) e a família monoparental, formada por qualquer um dos pais e seus descendentes. Foram abolidas tanto a hierarquia entre cônjuges e entre filhos, quanto a hierarquia entre essas três entidades familiares. (Barbosa, 2005)

### Mudanças na família e filiação

A passagem do sistema patriarcal para o conjugal trouxe mudanças também no que concerne à filiação. No sistema tradicional, a única maneira de criar laços de filiação fora do casamento era o reconhecimento voluntário de uma criança. No Código Civil brasileiro de 1916, era principalmente a vontade do pai biologicamente presumido, e não apenas a fecundação, que criava os laços de parentesco. Esta dupla lógica da aparência e da vontade então vigente, começa a alterar-se em meados do século XX, para dar lugar, na expressão da jurista francesa Marcela Yacub à "ordem procriativa" fundada na biologia, que conhecemos atualmente (Yacub, 2004). No caso da filiação, o que vai prevalecer é a "verdade" da fecundação, ou, dito de outra forma, o significado primeiro do termo pai fará alusão ao genitor, isto é, àquele que biologicamente tornou possível o nascimento da criança. (Barbosa, 2005)

De fato, a dissolução do casamento tradicional não alterou o desejo de reprodução ou de ter filhos (ainda que em número limitado), nem o de realização pessoal pela maternidade/paternidade. Ao contrário, são reforçadas as visões naturalizadas daqueles papéis e de todas as etapas biológicas do processo reprodutivo -- a gravidez, o parto, o aleitamento e a idéia da criança como um

prolongamento do corpo dos pais --, assim como aquela da transmissão do patrimônio sociocultural pelo sangue. (Correa e Loyola, 1999) O direito de procriar pelas vias naturais é considerado tão fundamental quanto o direito à vida e tem como base mais geral o «princípio da dignidade da pessoa humana».

Entretanto, vários estudos vêm mostrando que, na prática, esses «direitos reprodutivos» constituem uma mera ficção (Ventura, 2005 e Diniz, 2005). E ainda mais, se considerarmos que a liberdade procriativa não significa a liberdade de transmitir a vida por qualquer meio, nem por qualquer tipo de indivíduo, mas somente por indivíduos que têm corpos e encontros sexuais fecundos; ou que através da reprodução assistida podem simular este encontro. Diferentemente do caso da adoção, por exemplo, em que o juridicamente chamado "melhor interesse da criança", é longamente examinado por uma comissão de especialistas que decide concedê-la ou não ao indivíduo ou ao casal demandante; esse interesse jamais é colocado quando a fecundação se opera pelas vias sexuais. Presume-se, neste caso, que a competência parental (para "criar" e educar a criança) decorre da própria fecundação, ou seja, que se trata, com perdão do trocadilho, de uma competência nata, e não social, para o exercício da maternidade/paternidade (Iacub, 2004).

### Família, filhos, medicina e religião

A relação da família com a produção de filhos é tão forte que, como constatamos em uma pesquisa sobre a RA (Correa e Loyola, 1999) a rigor, somente os casais com filhos podem ser considerados como uma família. Os casais heterossexuais sem filhos formam um casal e os homossexuais, no máximo um par; dificilmente uma família.

É a presença de filhos que permite e legitima os diferentes tipos de família que caracterizam nossa modernidade. Além da família conjugal e da família monoparental, já citadas, são também comuns as ditas famílias múltiplas, quando homens e mulheres se separam e casando-se novamente com outros cônjuges, passam a conviver, ainda que morando em casas separadas, com seus próprios filhos e com os filhos dos novos cônjuges. O crescimento destas famílias tende a acompanhar o crescimento do número de divórcios. As famílias monoparentais também podem resultar, de separações e divórcios, quando não há recasamento, e de "produções independentes" quando a decisão de ter filhos ocorre fora do casamento; mais comumente essas famílias resultam da ausência de um dos cônjuges (geralmente o homem), por mobilidade geográfica ou simplesmente por abandono. Esta modalidade de família, como vimos, já reconhecida pelo direito civil brasileiro, vem crescendo sistematicamente no país, notadamente nas camadas economicamente e socialmente menos favorecidas. Segundo os resultados do último censo (2010), elas já representam 30% das famílias brasileiras.

No ano passado (1010), uma Resolução (Resolução 1957/2010) do Conselho Federal de Medicina passou a permitir o acesso as técnicas de RA, antes restritas à "toda mulher capaz" à "todas as pessoas capazes" o que abre espaço para o acesso de homossexuais a essas técnicas. Essa resolução e principalmente o recentíssimo reconhecimento da união civil entre homossexuais pelo Supremo Tribunal Federal nos permitiria incluir entre as novas famílias, as famílias homoafetivas ou formada por homossexuais que em realidade já são relativamente numerosas. Entretanto a concepção de família baseada na existência de filhos biologicamente gerados, tal

como tradicionalmente concebida pela norma religiosa, dificulta o reconhecimento social deste tipo de família. Para as religiões o reconhecimento de famílias homossexuais é muito mais complexo e difícil. Tanto assim que se algumas religiões podem aceitar, com fortes ressalvas e apenas parcialmente a união civil de homossexuais, entendida como o reconhecimento de direitos sociais e materiais (direito de herança, participação em planos de saúde e previdenciários), com exceção de alguns poucos representantes da igreja Católica, da Umbanda e do Candomblé, a posição da grande maioria dos agentes religiosos, notadamente os evangélicos, ao menos até esta data, ainda é radicalmente contrária ao casamento homoafetivo.

Isto porque, como procurei mostrar, o casamento é entendido como uma etapa preliminar da geração e socialização de filhos, o que só é possível, para elas, através da heterossexualidade ou da adoção. As religiões se dedicaram tão fortemente ao longo de sua existência, a produzirem mitos e crenças em defesa da heterossexualidade que historicamente garantiu a formação da família e sua reprodução biológica e social, que se torna difícil para elas aceitarem situações que põem em xeque a veracidade dessas crenças, e por extensão, segundo muitos, sua própria existência.

Distante deste conflito, a medicina pode posicionar-se de acordo com as crenças mais ou menos influenciadas pelas religiões de seus agentes, em última instância sempre dispostos a ajudarem a realizar o desejo de filhos de seus pacientes. Em nenhuma circunstância as novas famílias e o modelo de reprodução que as sustentam põem em risco o tratamento biológico e ou tecnológico das infertilidades. Ao contrário os favorece.

**Correspondência:** andrea.loyola@terra.com.br

### REFERÊNCIAS

- Borrillo D, e Fassin E. Au-dela du Pacs L'expertise familiale à l'épreuve de l'homosexualité, Paris : PUF 2001.
- Barboza HH. A família na perspectiva do vigente Direito Civil. In:Loyola, MA, Bioética, reprodução e gênero na sociedade contemporânea, Rio de Janeiro/Brasília, ABEP, Letras Livres, 2005
- Corrêa MV, Loyola MA. Novas tecnologias reprodutivas, novas estratégias de reprodução ? Physis Revista de Saúde Coletiva.1999 ;9 : 209-34.
- Loyola MA. Novas tecnologias reprodutivas. Limites da biologia ou biologia sem limites? Rio de Janeiro, EDUERJ, 2001.
- Diniz D. Aborto e inviabilidade fetal: o debate brasileiro. In: Loyola MA ed, Bioética, reprodução e gênero na sociedade contemporânea, Rio de Janeiro/Brasília, ABEP, Letras Livres, 2005.
- Foucault M. Historia da sexualidade I, a vontade de saber. Rio de Janeiro, Graal, 1993
- Iacub M.. L'empire du ventre Paris : Fayard, 2004.
- Loyola MA. Sexualidade e Medicina: A Revolução no Século XX. Cadernos de Saúde Pública. 2003; 19 (4) 875-899.
- Loyola MA. Sexualidade e Reprodução. Physis Revista de Saúde Coletiva.1998; 2 : 93-105.
- Loyola MA. Médicos e Curandeiros Conflito Social e Saúde São Paulo: Difel 1984
- Loyola MA. Sexo e Sexualidade na Antropologia. In:Loyola MA ed. A sexualidade nas Ciências Humanas A Rio de Janeiro: EDUERJ 1998.
- Roussel L.La famille incertaine, Paris, Odile Jacob, 1989.
- Ventura M. Direitos reprodutivos? De que direitos estamos falando? In:Loyola MA. Bioética, reprodução e gênero na sociedade contemporânea, Rio de Janeiro/Brasília, ABEP, Letras Livres, 2005.

# The effects of general anaesthesia with sevoflurane on intracytoplasmic sperm injection outcomes

Os efeitos da anestesia geral com sevoflurano nos resultados da injeção intracitoplasmática de espermatozóides.

Amanda Souza Setti, B.Sc.<sup>1\*</sup>, Ricardo Vieira Carlos, M.D.<sup>2\*</sup>, Daniela Paes Almeida Ferreira Braga, DVM, M.Sc.<sup>3</sup>, Rita Cássia Savio Figueira, M.Sc.<sup>3</sup>, Assumpto Iaconelli Jr., M.D.<sup>1,3</sup>, Edson Borges Jr., M.D., Ph.D.<sup>1,3</sup>

## DEPARTMENT AFFILIATIONS

<sup>1</sup> Sapientiae Institute – Educational and Research Center in Assisted Reproduction

<sup>2</sup> University of São Paulo Faculty of Medicine Clinics Hospital (HCFMUSP) – Children's Institute (ICr)

<sup>3</sup>Fertility – Assisted Fertilization Center

## RESUMO

**Objetivo:** investigar os potenciais efeitos adversos da anestesia geral, utilizada para recuperação oocitária, nos resultados da injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI). **Material e métodos:** Um total de 444 ciclos de ICSI, em que uma combinação de fentanil, propofol e sevoflurano foi utilizada para anestesia geral durante a aspiração folicular, foram avaliados. Modelos de regressão foram utilizados para avaliar a influência do período médio de anestesia por foliculo aspirado ( $\Delta T$ ) nos resultados da ICSI. Os ciclos foram divididos em grupos de acordo com o  $\Delta T$ , e os resultados da ICSI foram comparados entre os grupos. **Resultados:** análise de regressão demonstrou uma correlação negativa entre o  $\Delta T$  e a taxa de embriões de boa qualidade (Slope: -5,015, R<sup>2</sup>: 4,4%,  $p < 0,001$ ). O  $\Delta T$  foi determinante para a diminuição da probabilidade de gravidez (OR: 0,77, IC: 0,64-0,93,  $p = 0,005$ ) e transferência de embriões (OR 0,17, IC: 0,06-0,48,  $p = 0,001$ ). Quando os ciclos foram divididos de acordo com o  $\Delta T$ , diferenças significativas nas taxas de embriões de boa qualidade (55,6% e 44,2%,  $p = 0,001$ ) e de gestação (58,2% vs 41,8%,  $p = 0,045$ ) foram observadas para valores de  $\Delta T \leq 2$  e  $> 2$  min, respectivamente. **Conclusão:** nosso estudo sugere que a anestesia geral influencia negativamente o desenvolvimento do embrião e as taxas de gestação e de cancelamento de ciclo.

**Palavras-chave:** ICSI; recuperação oocitária; anestesia.

## ABSTRACT

**Objective:** to investigate the potential adverse effects of general anaesthesia, used for oocyte retrieval, in intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes. **Material and methods:** A total of 444 ICSI cycles in which a combination of fentanyl, propofol and sevoflurane was used for general anaesthesia during follicle aspiration were evaluated. Regression models were carried out to assess the influence of the mean period of anaesthesia per aspirated follicle ( $\Delta T$ ) on ICSI outcomes. In a further analysis, the cycles were split into groups according to the  $\Delta T$ , and ICSI outcomes were compared between the groups. **Results:** regression analysis demonstrated a negative correlation between  $\Delta T$  and the percentage of high-quality embryos (Slope: -5.015, R<sup>2</sup>: 4.4%,  $p < 0.001$ ). The  $\Delta T$  was determinant to the decreased likelihood of pregnancy (OR: 0.77, CI: 0.64–0.93;  $p = 0.005$ ) and embryo transfer (OR 0.17, CI: 0.06–0.48,  $p = 0.001$ ). When the cycles were split according to  $\Delta T$ , significant differences in the high-quality embryos rate (55.6% and 44.2%,  $p = 0.001$ ) and

the pregnancy rate (58.2% vs. 41.8%,  $p = 0.045$ ) were observed for values of  $\Delta T \leq 2$  and  $> 2$  min, respectively.

**Conclusion:** Our study suggests that the general anaesthesia negatively influences embryo development, pregnancy rate and cycle cancellation rate.

**Keywords:** ICSI; oocyte retrieval; anaesthesia.

## INTRODUCTION

Since 1978, when the first successful in vitro fertilization (IVF) occurred (Stephens and Edwards, 1978), there has been a constant increase in the use of IVF in couples with untreatable infertility. The IVF treatment requires the harvesting of oocytes from the patients' ovaries. Initially, oocyte retrieval was performed by laparoscopy; through refinements in ultrasound technologies, however, oocyte retrieval has progressed from laparoscopic to transvaginal aspiration.

Transvaginal follicular aspiration is generally performed with the administration of anaesthesia, such as conscious sedation, neuraxial anaesthesia, general anaesthesia, injection of local anesthetic agents, or any combination of the above (Vlahos et al., 2009). The optimal choice for assisted reproductive technology ART anaesthesia is controversial; in part because of the unclear impact anaesthesia may have on IVF outcomes.

Any anesthetic technique may potentially interfere with certain aspects of human oocyte fertilization or embryo implantation (Van de Velde et al., 2005). Because the majority of anesthetic agents have been detected in follicular fluid within minutes of their administration (Imoedemhe et al., 1992; Soussis et al., 1995; Wikland et al., 1990), an increased awareness of the potential adverse effects of different types of anaesthesia on the quality of the oocytes, which may eventually interfere with embryo development and pregnancy success, has developed. Different anesthetic doses, combinations, and exposure durations may potentially affect IVF results. Indeed, the duration of exposure to anesthetic agents appears to play an important role, as observed by Boyers et al. (Boyers et al., 1987), who compared the first and last oocytes collected by laparoscopy under general anaesthesia and reported that the last oocyte uniformly had lower fertilization rates.

General anaesthesia, which is defined as a depressed level of consciousness, can be accomplished by inhalational agents (Vlahos et al., 2009), which represent basic drugs used in modern balanced anaesthesia (Torri). Halogenated compounds are inhalational agents, which

have been hypothesized to increase cytoplasmic cleavage alterations (Tsen, 2007) and mitotic abnormalities (Kusyk and Hsu, 1976), and to reduce reproductive success in clinical practice (Wilhelm et al., 2002). Sevoflurane is an ether inhalation general anesthetic agent (Patel and Goa, 1996) that provides rapid anesthetic induction and emergence from anaesthesia, compared to other inhalational anesthetic agents (Kanazawa et al., 1999).

Several studies have evaluated the effects of general anaesthesia on IVF outcome (Christiaens et al., 1999; Critchlow et al., 1991; Fishel et al., 1987; Hammadeh et al., 1999; Wilhelm et al., 2002). However, the effects of general anaesthesia with sevoflurane on IVF outcomes have never been investigated. The purpose of this study was to investigate the potential adverse effects of general anaesthesia with sevoflurane used for oocyte retrieval, in intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome.

## MATERIAL AND METHODS

### *Experimental design*

Using our center's computerized database, we retrospectively identified 444 women who, from July 2009 to March 2010, underwent ultrasound-guided follicular aspiration, under general anaesthesia through halogenated agents, for an ICSI cycle.

In order to avoid bias, the following ICSI cycles were excluded from the study: (i) cycles in which six or less oocytes were retrieved, because, generally, the duration of ovarian puncture increases in the presence of fewer follicles; (ii) cycles performed in women over 35 years of age, because these patients present diminished ovarian response to gonadotrophins; (iii) cycles combined with preimplantational genetic diagnosis (PGD), and (iv) cycles which used non-ejaculated sperm.

Written informed consent, in which the patients agreed to share the outcomes of their cycles for research purposes, was obtained. The study was approved by the local Institutional Review Board.

### *Controlled ovarian stimulation*

Controlled ovarian stimulation was achieved by long pituitary down regulation using a gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH agonist, Lupron Kit™, Abbott S.A. Société Française des Laboratoires, Paris, France). This was followed by ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) (Gonal-F®, Serono, Geneva, Switzerland). Oocyte retrieval was performed 35 hours after the administration of recombinant human chorionic gonadotrophin (rhCG, Ovidrel™, Serono, Geneva, 135 Switzerland) through transvaginal ultrasonography.

### *Anesthetic Procedure*

All patients had fasted for at least eight hours. For general anaesthesia, the patients received anesthetic induction with fentanyl (1-3 µg/kg) and propofol (2 mg/kg). For maintenance, patients received sevoflurane and 100% oxygen. At the end of the procedure, the patients received ondansetron 4 milligrams as prophylaxis for nausea and vomiting, and dipirone (20-30 mg/kg) for postoperative analgesia.

### *Intracytoplasmic sperm injection and assessment of fertilization*

Oocytes were transferred into a micro-injection dish, prepared with 4 µL droplets of buffered medium (HEPES, Irvine Scientific, Santa Ana, USA), and covered with mineral oil on a heated stage at 37.0 ± 0.5°C of an inverted microscope. Approximately 16 hours after ICSI, fertilization was confirmed by the presence of two pronuclei and the extrusion of the second polar body.

### *Embryo quality and embryo transfer*

Embryos were kept in a 50µl drop of HTF medium supplemented with 10% HSA covered with mineral oil in a humidified atmosphere under 6% CO<sub>2</sub> at 37°C until transfer. Embryonic development was evaluated on days 2 and 3. The following parameters were recorded: (i) number of blastomeres, (ii) fragmentation percentage, (iii) variation in blastomere symmetry, (iv) presence of multinucleation and (v) defects in the zona pellucida and cytoplasm. High-quality embryos were defined as those having all of the following characteristics: eight to ten cells, less than 15% fragmentation, symmetric blastomeres, absence of multinucleation, colourless cytoplasm with moderate granulation and no inclusions, absence of perivitelline space granularity and absence of zona pellucida dysmorphism. Embryos lacking any of the above characteristics were considered to be of low quality. Embryo transfer was performed on day 3 of development. One to three embryos were transferred per couple.

### *Clinical Follow-up*

A pregnancy test was performed 12 days after embryo transfer; a positive pregnancy test was considered to define a biochemical pregnancy. All women with a positive test had a transvaginal ultrasound scan at 2 weeks after the positive test; a clinical pregnancy was diagnosed when fetal heartbeat was detected. To calculate the implantation rate, the number of gestational sacs was divided by the number of embryos transferred. Miscarriage was defined as spontaneous abortion before 20 weeks' gestation.

### *Statistical analysis*

Regression models were carried out to assess the influence of the mean period of anaesthesia per aspirated follicle ( $\Delta T$ ) on ICSI outcomes. The results are expressed as slopes and R-squared ( $R^2$ ) or odds ratios (OR), with their 95% of confidence intervals (CI) and p values. The results were considered to be significant at the 5% critical level ( $p < 0.05$ ). In a further analysis, the cycles were split into groups according to the  $\Delta T$ : Group  $\leq 2$ min, which included patients with  $\Delta T \leq 2$  minutes, and Group  $> 2$ min, which included patients with  $\Delta T > 2$  minutes. The ICSI outcomes were compared between the groups. The results are expressed as means  $\pm$  standard deviation (SD) for numeric variables and proportions (%) for categorical variables. The results are expressed as odds ratios (OR), confidence intervals (CI) and p-values and considered to be significant at the 5% critical level ( $p < 0.05$ ). Data analysis was carried out using the GraphPad Prism version 4.0 Statistical Program.

## RESULTS

In the first analysis, the cycles' general characteristics were as follows: female age = 30.7  $\pm$  3.1 y-old, total dose of FSH administered = 1985.6  $\pm$  631.1, oocyte yield = 71.8  $\pm$  17.8, number of embryos transferred = 2.4  $\pm$  0.9, and mean period of anaesthesia per aspirated follicle = 2.0  $\pm$  1.2 minutes. ICSI outcomes were as follows: fertilization rate = 74.3%, percentage of high-quality embryos = 51.2%, implantation rate = 24.1%, pregnancy rate = 44.6% and miscarriage rate = 12.1%. The regression analysis demonstrated a negative correlation between  $\Delta T$  and the percentage of high-quality embryos (Slope: -5.015,  $R^2$ : 4.4%,  $p < 0.001$ ). Moreover,  $\Delta T$  was determinant to the likelihood of pregnancy (OR: 0.77, CI: 0.64 - 0.93;  $p = 0.005$ ) and cycle cancellation (OR 0.17, CI: 0.06 - 0.48,  $p = 0.001$ ). No correlations were

observed between  $\Delta T$  and the fertilization (Slope: 20.111,  $R^2$ : 0.2%,  $p=0.322$ ), implantation (Slope: 44.291,  $R^2$ : 0.2%,  $p=0.155$ ), or miscarriage rate (OR: 0.87, CI: 0.51 – 1.48,  $p=0.604$ ).

In the second analysis, the cycles were split into groups according to  $\Delta T$ . A total of 261 ICSI cycles were included in Group  $\leq 2$  min. The remaining 183 cycles were included in Group  $> 2$  min. The cycles' general characteristics were equally distributed between the two groups. Similar female age ( $30.6 \pm 3.2$  vs.  $31.4 \pm 2.6$ ,  $p=0.1341$ ), total dose of FSH administered ( $1962.0 \pm 530.6$  vs.  $2143.0 \pm 662.1$ ,  $p=0.0534$ ), oocyte yield ( $71.2 \pm 16.5$  vs.  $70.4 \pm 22.3$ ,  $p=0.8515$ ), and number of embryos transferred ( $2.4 \pm 0.9$  vs.  $2.3 \pm 0.8$ ,  $p=0.4263$ ) were observed between Group  $\leq 2$  min and Group  $> 2$  min. The comparison of ICSI outcomes between the groups is shown in Table 1.

## DISCUSSION

Previous reports have suggested that halogenated agents have a negative impact on assisted reproduction outcomes (Critchlow et al., 1991; Fishel et al., 1987; Gonen et al., 1995). Our results suggest that the mean period of general anaesthesia per aspirated follicle, with the combination of sevoflurane, fentanyl and propofol, adversely affects ICSI outcome.

Anesthetic agents have been proposed to reach the follicular fluid within minutes after administration, and may have deleterious effects on IVF outcomes (Bailey-Pridham et al., 1990; Imoedemhe et al., 1992; Soussis et al., 1995; Wikland et al., 1990). Hammadeh et al. (Hammadeh et al., 1999) compared the effects of general anaesthesia (with propofol, remifentanyl and isoflurane) versus sedation (with midazolam, diazepam, or propofol) on fertilization rate, cleavage rate and pregnancy rate. The authors reported that despite the fact that general anaesthesia seemed to improve the success rate for oocyte retrieval—probably by the improved patient comfort during the transvaginal puncture—the higher number of retrieved oocytes had a lower fertilization rate. Nevertheless, no adverse effects were found in cleavage and pregnancy rates.

Conversely, Wilhelm et al. (Wilhelm et al., 2002) observed that pregnancy rates in women undergoing transvaginal oocyte retrieval for assisted reproductive technologies were significantly higher with a remifentanyl-based technique than with a general anesthetic technique. Another study observed similar embryo quality, but reduced pregnancy rates associated with general anaesthesia when compared with epidural or paracervical anaesthesia (Gonen et al., 1995).

Our study suggests that exposure to general anaesthesia is determinant to the likelihood of pregnancy in ICSI cycles. Indeed, general anaesthesia may suppress the secretion of gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins by the stimulation of prolactin release (Sarkar et al., 1976; Sherwood et al., 1980). It has been suggested that the reduction in gonadotrophin levels and the transient elevations of serum prolactin levels have a deleterious effect on the subsequent luteal phase, with the suppression of progesterone production by the corpus luteum (Lehtinen et al., 1987) and endometrial development (Hammadeh et al., 1999). However, in an attempt to evaluate the effect of prolactin levels on IVF, Forman et al. (Forman et al., 1985) observed that elevated plasma or follicular fluid prolactin concentrations have no effects on oocytes or embryo development. Nevertheless, although the difference was not significant, the incidence of pregnancy was highest in the group of patients with the lowest preanesthetic plasma prolactin levels.

**Table 1.** Comparison of ICSI outcomes between Group  $\leq 2$  min e Group  $> 2$  min

Variables	Group $\leq 2$ min	Group $> 2$ min	p value
Fertilization rate (%)	73.7	75.3	0.422
Top quality embryos rate (%)	55.6	44.2	0.001
Implantation rate (%)	27.9	19.4	0.103
Pregnancy rate (%)	58.2	41.8	0.045
Miscarriage rate (%)	12.1	12.8	0.833

Moreover, our results suggest that the higher the period of exposure to general anaesthesia, the lower the percentage of high-quality embryos. Additionally, in our study, exposure to general anaesthesia was determinant to the likelihood of cycle cancellation, given the non-availability of embryos to be transferred. Indeed, halogenated agents have been proposed to cause cytoplasmic cleavage alterations (Tsen, 2007). In animal and human studies, these compounds appear to compromise cell division by disrupting the spindle-forming apparatus, leading to multipolar spindles, unequal divisions, and chromosome lagging (Kusyk and Hsu, 1976; Sturrock and Nunn, 1975). Considering these findings, and considering that, due to our exclusion criteria, only cycles in which more than six follicles were produced were included in this study, we could hypothesize that general anaesthesia with sevoflurane has deleterious effects on embryo development.

To our knowledge, this is the first study to evaluate the effects of the combination of fentanyl, propofol and sevoflurane in ICSI outcomes. However, a weakness of this study is the combined use of propofol to induce general anaesthesia, which could create a confounding factor related to propofol's adverse effects in the analyzed cycles. Propofol is a 2,6 diisopropylphenol used as a short-acting intravenous anesthetic agent, suitable for induction and maintenance of anaesthesia, and its accumulation in follicular fluid has also been detected (Christiaens et al., 1999; Coetsier et al., 1992). Christiaens et al. (Christiaens et al., 1999) reported that the diffusion and accumulation of propofol in follicular fluid were time-dependent in relation to the dose of propofol administered.

Moreover, Alsalili et al. (Alsalili et al., 1997) reported a significant reduction in the ability of mouse oocytes, exposed to concentrations of 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of propofol for 30 minutes, to mature *in vitro*. However, no effects were observed in fertilization and cleavage rates compared with the controls. Another study addressed the potentially adverse effects of propofol on the ability of oocytes to fuse with spermatozoa (Tatone et al., 1998). The investigators showed that oocytes exposed to concentrations superior to 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  had a significant decrease in fusion rates.

Another study correlated the accumulation of propofol in follicular fluid with negative effects on early embryo development (Coetsier et al., 1992). However, although propofol concentrations in the follicular fluid are related to the amount administered and to the duration of administration, there is no evidence that propofol can have any significant adverse effect on pregnancy rates. Nevertheless, considering that the use of propofol is often associated with general anaesthesia through halogenated agents, it is difficult to isolate one from another and analyze their individual effects.

In a further analysis, this study divided ICSI cycles into two groups according to the mean period of anaesthesia

per aspirated follicle, in an attempt to suggest a cut-off point at which general anaesthesia can lead to ICSI cycle impairment. Our results found a negative influence of general anaesthesia on embryo development and pregnancy rate when the mean period of anaesthesia per aspirated follicle was greater than two minutes, suggesting that the timing of the exposure to anesthetic agents plays an important role in ICSI outcome.

The period of exposure to anesthetics has been assessed in a study performed by Boyers et al. (Boyers et al., 1987), which compared the in vitro fertilization rates of paired first- and last-recovered human oocytes that were retrieved under general anaesthesia. They observed that when the time of retrieval from the first to the last oocyte elapsed up to five minutes, the first- and last-recovered oocytes fertilized at comparable rates. When this period was greater than five minutes, the difference in fertilization rates between first and last oocytes was significant. However, the investigator found no significant differences in cleavage rates for first- and last-recovered oocytes that fertilized, regardless of the exposure interval.

Limited recent information is available about the optimal anesthetic technique for IVF. Many different drugs may be used, and it is difficult to assess whether a specific anesthetic carries more risks than another because many other factors, such as maternal age, semen quality, and endometrial receptivity, may influence the IVF success rate.

Our findings suggest that the period of exposure to general anaesthesia, with the combination of fentanyl, propofol and sevoflurane, has adverse effects on ICSI outcomes. It could be hypothesized that exposure to this anesthetic combination for periods longer than two minutes per follicle may have deleterious effects on oocyte competence, compromising embryo development and pregnancy potential in ICSI cycles. (Boyers et al., 1987)

#### Corresponding author:

Edson Borges Jr., M.D., Ph.D.

E-mail: edson@fertility.com.br

Address: Av. Brigadeiro Luis Antonio, 4545. Zip: 01401-002 São Paulo – SP, Brazil

Phone: (55 11) 3018-8181

#### REFERENCES

- Alsallili, M, Thornton, S, Fleming, S. The effect of the anaesthetic, Propofol, on in-vitro oocyte maturation, fertilization and cleavage in mice. *Hum Reprod.* 1997;12:1271-4.
- Bailey-Pridham, DD, Reshef, E, Drury, K, Cook, CL, Hurst, HE, Yussman, MA. Follicular fluid Lidocaine levels during transvaginal oocyte retrieval. *Fertil Steril.* 1990;53:171-3.
- Boyers, SP, Lavy, G, Russell, JB, DeCherney, AH. A paired analysis of in vitro fertilization and cleavage rates of first- versus last-recovered preovulatory human oocytes exposed to varying intervals of 100% CO<sub>2</sub> pneumoperitoneum and general anaesthesia. *Fertil Steril.* 1987;48:969-74.
- Christiaens, F, Janssenswillen, C, Verborgh, C, Moerman, I, Devroey, P, Van Steirteghem, A, Camu, F. Propofol concentrations in follicular fluid during general anaesthesia for transvaginal oocyte retrieval. *Hum Reprod.* 1999;14:345-8.
- Coetsier, T, Dhont, M, De Sutter, P, Merchiers, E, Versichelen, L, Rosseel, MT. Propofol anaesthesia for ultrasound guided oocyte retrieval: accumulation of the anaesthetic agent in follicular fluid. *Hum Reprod.* 1992;7:1422-4.
- Critchlow, BM, Ibrahim, Z, Pollard, BJ. General anaesthesia for gamete intra-fallopian transfer. *Eur J Anaesthesiol.* 1991;8:381-4.
- Fishel, S, Webster, J, Faratian, B, Jackson, P. General anaesthesia for intrauterine placement of human conceptuses after in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1987;4:260-4.
- Forman, R, Fishel, SB, Edwards, RG, Walters, E. The influence of transient hyperprolactinemia on in vitro fertilization in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985;60:517-22.
- Gonen, O, Shulman, A, Ghetler, Y, Shapiro, A, Judeiken, R, Beyth, Y, Ben-Nun, I. The impact of different types of anaesthesia on in vitro fertilization-embryo transfer treatment outcome. *J Assist Reprod Genet.* 1995;12:678-82.
- Hammadeh, ME, Wilhelm, W, Huppert, A, Rosenbaum, P, Schmidt, W. Effects of general anaesthesia vs. sedation on fertilization, cleavage and pregnancy rates in an IVF program. *Arch Gynecol Obstet.* 1999;263:56-9.
- Imoedemhe, DA, Sigue, AB, Abdul Ghani, I, Abozeid, MA, Abdel Halim, MS. An evaluation of the effect of the anaesthetic agent propofol (Diprivan) on the outcome of human in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet.* 1992;9:488-91.
- Kanazawa, M, Kinefuchi, Y, Suzuki, T, Fukuyama, H, Takiguchi, M. The use of sevoflurane anaesthesia during early pregnancy. *Tokai J Exp Clin Med.* 1999;24:53-5.
- Kusyk, CJ, Hsu, TC. Mitotic anomalies induced by three inhalation halogenated anaesthetics. *Environ Res.* 1976;12:366-70.
- Lehtinen, AM, Laatikainen, T, Koskimies, AI, Hovorka, J. Modifying effects of epidural analgesia or general anaesthesia on the stress hormone response to laparoscopy for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1987;4:23-9.
- Patel, SS, Goa, KL. Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs.* 1996;51:658-700.
- Sarkar, DK, Chiappa, SA, Fink, G, Sherwood, NM. Gonadotropin-releasing hormone surge in pro-oestrous rats. *Nature.* 1976;264:461-3.
- Sherwood, NM, Chiappa, SA, Sarkar, DK, Fink, G. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in pituitary stalk blood from proestrous rats: effects of anaesthetics and relationship between stored and released GnRH and luteinizing hormone. *Endocrinology.* 1980;107:1410-7.
- Soussis, I, Boyd, O, Paraschos, T, Duffy, S, Bower, S, Troughton, P, Lowe, J, Grounds, R. Follicular fluid levels of midazolam, fentanyl, and alfentanil during transvaginal oocyte retrieval. *Fertil Steril.* 1995;64:1003-7.
- Steptoe, PC, Edwards, RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2:366.
- Sturrock, JE, Nunn, JF. Mitosis in mammalian cells during exposure to anaesthetics. *Anesthesiology.* 1975;43:21-33.
- Tatone, C, Francione, A, Marinangeli, F, Lottan, M, Varrassi, G, Colonna, R. An evaluation of propofol toxicity on mouse oocytes and preimplantation embryos. *Hum Reprod.* 1998;13:430-5.
- Torri, G. Inhalation anaesthetics: a review. *Minerva Anesthesiol.* 76:215-28.
- Tsen, LC. Anaesthesia for assisted reproductive technologies. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45:99-113.
- Van de Velde, M, Van Schoubroeck, D, Lewi, LE, Marcus, MA, Jani, JC, Missant, C, Teunkens, A, Deprest, JA. Remifentanyl for fetal immobilization and maternal sedation during fetoscopic surgery: a randomized, double-blind comparison with diazepam. *Anesth Analg.* 2005;101:251-8, table of contents.
- Vlahos, NF, Giannakikou, I, Vlachos, A, Vitoratos, N. Analgesia and anaesthesia for assisted reproductive technologies. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;105:201-5.
- Wikland, M, Evers, H, Jakobsson, AH, Sandqvist, U, Sjoblom, P. The concentration of lidocaine in follicular fluid when used for paracervical block in a human IVF-ET programme. *Hum Reprod.* 1990;5:920-3.
- Wilhelm, W, Hammadeh, ME, White, PF, Georg, T, Fleiser, R, Biedler, A. General anaesthesia versus monitored anaesthesia care with remifentanyl for assisted reproductive technologies: effect on pregnancy rate. *J Clin Anesth.* 2002;14:1-5.

## Impacto atual do periódico JBRA *Assisted Reproduction* e indicadores futuros. Situação Brasil e avanço para a América Latina.

Larisse Caldas de Melo Mendes<sup>1</sup>, Maria do Carmo Borges de Souza<sup>2</sup>, Paulo Franco Taitson<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica e aluna de iniciação científica do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da PUC Minas

<sup>2</sup>Professora Adjunta Doutora -Instituto de Ginecologia da UFRJ. Diretora da *Red Latinoamericana de Reproducción Asistida*. Editora Chefe do JBRA *Assisted Reproduction*.

<sup>3</sup>Professor adjunto Doutor do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da PUC Minas. Editor-Adjunto do JBRA *Assisted Reproduction*.

### RESUMO

**Introdução-** O fator de impacto (FI) de um periódico reflete o número médio de citações de artigos publicados em determinada revista científica, avaliando a importância do mesmo em sua área, embora sujeito a críticas. Outra avaliação, por *indexadores*, surgiu com a criação da base LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências de Saúde) pela BIREME.

**Metodologia-** Buscamos as publicações do JBRA *assisted reproduction* no período de 2000-2010, analisando-se a influência científica de um artigo em uma revista, medida pelo número de referências bibliográficas citadas, o número total de referências bibliográficas corretas num período pesquisado, a relação entre o número de referências bibliográficas de revistas internacionais e o total de referências utilizadas na revista, a evolução do número de referências que contribuíram para publicações em periódicos durante 2, 3 e 4 anos anteriores e a relação de artigos produzidos com colaboração estrangeira.

**Resultados-** O número de referências no JBRA apresentou aumento progressivo principalmente nos de 2008 a 2010 e o valor da influência científica de um artigo medida pela SJR, cresceu principalmente no ano de 2009 para 2010. O número total de referências bibliográficas corretas recebidas de documentos publicados durante o período de 2004 a 2010 aumentou consideravelmente. De 2008-2010 houve aumento considerável nas referências totais utilizadas, inclusive internacionais. As contribuições internacionais aumentaram com a participação latinoamericana.

**Conclusão-** A coleção SCImago contempla hoje o JBRA *assisted reproduction*. Esperamos em breve ser incluídos na base SciELO.

### ABSTRACT

**Introduction-**The impact factor (IF) of a journal reflects the average number of citations of articles published in a given journal, evaluating the importance of it in its area, although subject to criticism. Another assessment by indexers, came up with the creation of base LILACS (Latin American and Caribbean Health Sciences) by BIREME. **Methods-**We sought publications JBRA *assisted Reproduction* in the period 2000-2010, analyzing the influence of a scientific article in a magazine, as measured by the

number of cited references, the total number of references in a proper period surveyed, the relationship between the number of references from international magazines and full of references used in the magazine, the evolution of the number of references that contributed to publications in journals for 2, 3 and 4 years earlier and a list of articles made with foreign collaboration. **Results-**The number of references in JBRA mainly increased from 2008 to 2010 and the value of scientific influence as an article by SJR grew in the years 2009 to 2010. The total number of references received the correct documents published during the period 2004 to 2010 increased considerably. From 2008-2010 there was considerable increase in total references used, including internationally. Increased international contributions have been achieved with Latin America participation. **Conclusion-**The SCImago collection today includes the JBRA *assisted reproduction* and the next point is to be included in the SciELO database.

### INTRODUÇÃO

O fator de impacto (FI) de um periódico é uma medida que reflete o número médio de citações de artigos científicos publicados em determinada revista científica. É empregado frequentemente para avaliar a importância de um dado periódico em sua área. O FI foi criado por Eugene Garfield, o fundador do Institute for Scientific Information (ISI), hoje parte da Thomson Reuters Corporation. Desde 1972 os FI são calculados anualmente para os periódicos indexados ao ISI e depois publicados no *Journal of Citation Reports* (JCR), também da Thomson Reuters. Em termos matemáticos, em um dado ano o FI de um periódico é calculado como o número médio de citações dos artigos que foram publicados durante o biênio anterior. Por exemplo, o FI de um dado periódico em 2011 pode ser calculado como se segue:

*sendo A* = o número de vezes em que os artigos publicados em 2009 e 2010 foram citados por periódicos indexados durante 2011

*sendo B* = o número total de "itens citáveis" publicados em 2009 e 2010 ("itens citáveis": geralmente artigos, revisões, resumos de congressos ou notas, não sendo computados editoriais ou cartas ao editor)

*então*, o fator de impacto de 2011 =  $A/B$

Aplicando-se a equação descrita acima, se no tal periódico foram publicados 92 artigos científicos no biênio 2009-2010, e se no ano seguinte estes receberam 190 citações, seu FI em 2011 será  $190/92 = 2,065$ . Os fatores de impacto de 2011 serão publicados em 2012 e, para tal, eles não podem ser calculados até que todas as publicações de 2011 tenham sido recebidas pela agência de indexação. Novos periódicos recebem seu respectivo FI apenas após dois anos de indexação. A contagem dos FI de anuários e publicações irregulares geralmente é afetada. O FI refere-se a um período específico de tempo; logo é possível calculá-lo para qualquer período desejado, sendo que o JCR inclui um FI de cinco anos. Também mostra uma listagem de periódicos por FI e, se desejado, por área ou disciplina.

O fator de impacto é usado para comparar diferentes periódicos de uma dada área. O sistema Web of Knowledge indexa mais de 9.800 periódicos de 70 países das áreas de ciências sociais e ciências biológicas e da saúde, sendo que os resultados estão todos disponíveis, porém nem sempre gratuitamente.

Várias críticas tem sido feitas com relação ao uso do FI. Além do debate sobre a real utilidade da métrica das citações, a maioria das críticas é relacionada com a própria validade do FI (inclui-se aqui a auto-citação), sua possível manipulação e seu uso inadequado. Outro aspecto criticado é o fato dos periódicos que publicam apenas artigos de revisão ou artigos originais e de revisão terem maior FI do que os periódicos que publicam apenas artigos originais. Finalmente, fatores como o número de periódicos por área de conhecimento, a variação do número de referências por artigo em cada área, ou o regionalismo de algumas áreas e periódicos devem ser discutidos. Logo, diversos fatores devem ser considerados ao se interpretar o valor do FI de um dado periódico e utilizá-lo em avaliações de cientistas e instituições.

A avaliação de periódicos certamente não é atividade recente. Desde sempre, quando um autor pondera, dentre várias revistas, para qual irá enviar seu mais novo "compuscrito"<sup>1</sup> (ou, antigamente, "manuscrito") está, implicitamente, realizando uma avaliação (se bem que esporádica, informal e quase sempre sem critérios objetivos). Igualmente, quando atua em bancas de concurso ou em julgamento de pedidos de auxílios e bolsas, e valoriza diferentemente os artigos publicados nos vários veículos, o pesquisador está avaliando esses veículos (a rigor, está transferindo ao artigo o conceito ou preconceito que tem da revista, mas esse é outro aspecto, que não se pretende abordar aqui).

Já há décadas, também pesquisadores-editores brasileiros vêm atuando na avaliação de periódicos para agências de fomento, relativamente à concessão de financiamento. As principais referências para a história dessa prática (Valerio, 1994; Krzyzanowski, Krieger & Duarte, 1991) somente tratam com algum detalhe as iniciativas mais *amplas e sistemáticas*: os programas de 1980 da FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos), de 1982 do CNPq (Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico),<sup>2</sup> e de 1985 da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo). Fazem, porém, alusões a concessões anteriores desses órgãos, que datariam, então, da década de 1970 e do início da de 1980, e que eram julgados pelos comitês das áreas de conhecimento.

É lícito supor que tais concessões decorressem da apresentação de projetos cuja análise envolvesse valiação das publicações solicitantes por pesquisadores. FAPESP e CNPq também lançam mão, em maior ou menor grau, de avaliações por especialistas da área de biblioteconomia e ciência da informação (Krzyzanowski & Ferreira, 1997). É também de 1982 uma segunda frente institucional de demanda de avaliação de periódicos científicos: a dos *indexadores*. Esse ano registra a criação da base LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências de Saúde) pela BIREME (Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde).

A LILACS é uma base cujas características e objetivos a fazem mais exaustiva do que seletiva (Castro, Ferreira & Vidili, 1996), o que coloca o foco principal da avaliação para ingresso e permanência em aspectos técnico-normativos. Ela não exige, portanto, um grande envolvimento de pesquisadores especialistas de cada área do conhecimento. No entanto, trata-se de uma avaliação diferenciada, visando a uma nova finalidade – indexação em lugar de financiamento. Quando o mesmo BIREME, em parceria com a FAPESP, cria a SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) em 1996, agora um indexador de características eminentemente *seletivas*, a participação de especialistas das áreas (*ad hoc*) nas avaliações passa a ter um peso mais significativo (SciELO, 2004).

## METODOLOGIA

Foram analisadas as publicações do periódico denominado atualmente JBRA *assisted reproduction* (ex-Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida) no período de 2000-2010, analisando-se: a) A influência científica de um artigo em uma revista, medida pelo número de referências bibliográficas citadas; b) pelo número total de referências bibliográficas corretas recebidos de documentos publicados durante um período pesquisado; c) relação entre o número de referências bibliográficas de revistas internacionais e o número total de referências utilizadas na revista; d) A evolução do número de referências bibliográficas que contribuíram para publicações em periódicos durante 2, 3 e 4 anos anteriores; e) A relação de artigos que foram produzidos com a colaboração de pesquisadores de outros países.

## RESULTADOS

O número de referências bibliográficas citadas entre os artigos do JBRA apresentou um aumento progressivo principalmente nos de 2008 a 2010, em relação aos anos de 2002 a 2004. De 2005-2007, esses valores medidos pelo indicador SJR continuaram caindo, em torno de 0,019 em relação a 2002-2004. Já no intervalo dos anos de 2008-2010, o valor da influência científica de um artigo medida pela SJR, cresceu principalmente no ano de 2009 para 2010.

O número total de referências bibliográficas corretas recebidas de documentos publicados durante o período de 2004 a 2010 aumentou consideravelmente. Tanto em 2002 quanto em 2004, o número de total de citações incorretas foi de 20, mas em 2003 houve uma queda. Em 2005, o valor se manteve e com a diferença de um ano esse valor se dividiu ao meio, passando para 10 referências incorretas. Já no período de 2008-2010, houve um aumento significativo desses valores. Em 2009 foram

observadas 06 citações inseguras e em 2010 esse valor caiu para 3, uma média de 3,66 referências bibliográficas por ano.

A relação entre o número de referências bibliográficas de revistas internacionais e o número total de referências utilizadas na revista também se constituiu em outro ponto de análise. A média observada de artigos internacionais utilizados é de 0,032 e do total de artigos de 0,051 nos anos de 2002-2004. De 2005-2007, a média de referências internacionais utilizadas foi de 0,012 e 0,035 no total de artigos. Já nos últimos 3 anos, de 2008-2010, houve um aumento considerável tanto no número de referências totais utilizadas como no número de referências internacionais. A média encontrada foi de 0,026 referências bibliográficas internacionais e 0,075 para o total de referências. Conclui-se que o número de referências nacionais por documentos ainda prevalece maior em relação ao número de referências bibliográficas internacionais.

Estudou-se ainda, a evolução do número de referências bibliográficas que contribuíram para publicações em periódicos durante 2, 3 e 4 anos anteriores. No ano de 2002, o número observado na linha de 2 anos é significativa. Mas logo após ano o número sofre uma queda e aumenta novamente com uma média de 0,038 artigo. No intervalo de 2005-2007, a linha de referências por documento na linha de 2 anos é menor em relação a linha de 3 e 4 anos, onde os valores médios encontrados foram 0,03 e 0,06, respectivamente. Nos anos de 2008 a 2010, os valores de referências bibliográficas utilizadas publicações durante 2, 3 e 4 anos anteriores, cresceram significativamente.

A média de citações por documento na linha de 2 anos foi de 0,086; 0,076 para a linha de 3 anos e 0,063 para a linha de 4 anos. Conclui-se que em 2010 houve um aumento maior em publicações que utilizaram referências dos 3 anos anteriores.

A cada ano desde 1992, o número de contribuições de autores internacionais tem aumentado a cada ano. Em agosto de 2009 o periódico passou a ser também o órgão oficial de divulgação da Rede Latinamericana de Reprodução Assistida, expandindo seu Conselho Editorial para eminentes especialistas de língua espanhola, assim como incluindo contribuidores americanos e europeus. Esta união de objetivos científicos busca o fortalecimento da expressão da pesquisa científica latinoamericana.

## DISCUSSÃO

Recentemente, Rocha e Silva, em 2010 propôs para debate a idéia de que o QUALIS 2010 era passível de aprimoramento por meio do conceito dos três erros (remover periódicos de revisão, reconhecer outras métricas de avaliação e reavaliar os periódicos brasileiros). Submetido ao debate por pares em novembro de 2010, por ocasião do II Seminário Satélite para Editores Plenos, organizado pela Associação Brasileira de Editores Científicos (ABEC), concluiu-se que idealmente dever-se-ia focalizar um único erro, a saber, o reconhecimento por parte da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), para 2013, das métricas de avaliação SCImago (*cites/document*) e SciELO (*impact factor*).

Está bem conhecido e divulgado na literatura, que o *impact factor* ISI-Thomson é a única métrica reconhecida pela CAPES, e está em boa consonância ao *cites/*

*document* da SCImago. A correlação geral por amostragem entre os dois índices é maior que 0,9 e o coeficiente angular e indistinguível da unidade. A divulgação da coleção 2009 do SCImago *Journal & Country Rank* junta-se aos já divulgados fatores de impacto *Journal of Citations Report* (JCR-ISI) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) para aquele ano e permite o cotejo em tempo real dos três índices delineados acima (SCImago, 2011). Salientamos que essa comparação não se aplica a qualquer tabela QUALIS, pois a tabela 2010 (relacionada ao triênio passado de avaliação da CAPES) já é história e a tabela de 2013 será decidida no futuro. Em outras palavras, o cotejamento que se segue, relativo ao ano de 2009, e oferecido como base argumentativa adequada para reivindicar a correção de curso relativa a exclusão dos índices SCImago e SciELO na tabela da CAPES. Existem importantes periódicos que participam de indexadores importantes, mas não estão no QUALIS DA CAPES. No cenário de 2009 como simulação, de uma hipotética tabela QUALIS: na versão 2009 do JCR-ISI, a representação brasileira saltou de 31 para 71 periódicos; já no SCImago *Journal Ranking* essa representação manteve-se constante em 235 periódicos (Taitson & Cruz, 2006; Rocha e Silva, 2010; Rocha e Silva 2011).

A Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA) foi criada em 1996 com o intuito de tornar-se uma sociedade fundamentada na valorização da atividade científica. Atualmente congrega mais de 500 sócios. Estão representados no seu corpo diretório e de sócios, membros da imensa maioria das mais de cento e setenta clínicas no Brasil, que se dedicam à reprodução, acadêmicos das principais universidades do país e do exterior, bem como militantes da causa reprodutiva. Completando quase 15 anos de atividade, consegue considerar cumpridos dois de seus principais objetivos. O primeiro, aquele de reunir profissionais de diversas áreas interessados em reprodução trocar suas experiências foi alcançado com sucesso nos congressos começando no Guarujá- 97, Ouro Preto - 98, Rio de Janeiro- 99, Ribeirão Preto-00, Campos do Jordão - 01 e São Paulo - 02, chegando ao de número quinze, este ano em Florianópolis.

O segundo, o de desenvolver um periódico que representasse o pensamento da comunidade científica brasileira que trabalha em reprodução assistida foi obtido com a criação do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida (JBRA). Entretanto, problemas existem como a dificuldade na manutenção da periodicidade do JBRA, principalmente com artigos originais, fato que somente poderá ser obtido pelo apoio dos colegas no envio da sua contribuição científica. Outro ponto pertinente é a recepção dos artigos somente em língua inglesa e este ponto tem sido trabalhado em todos os congressos da SBRA e da Rede Latinoamericana, sendo objetivo para o ano de 2012.

O periódico já atingiu importantes bases de dados como na *Scopus* (Holanda), *Compendex*, *EMBASE*, *Excerpta Médica*, *Geobase*, *PERIODICA* (México), *Plataforma SCImago Journal & Country Rank* e está no portal de PERIÓDICOS DA CAPES. Devemos ter em mente que, o JBRA *assisted reproduction* deve ser o foco de atenção para o profissional, funcionando como suporte para seu desenvolvimento científico e um livre espaço àqueles que desejam participar de uma estrutura onde a publicação científica será devidamente valorizada.

Existem 140 periódicos brasileiros com fator de impacto na SCImago acima de 0 e menor que 0,50, mas sem fator de impacto no JCR-ISI (ou seja, não foram listados neste indexador). Ressalte-se que não são periódicos de impacto nitidamente mais baixo que os da coleção do JCR-ISI. Outro ponto interessante ocorre entre SCImago e SciELO. De início, vale notar que existe extensa concordância: a coleção SCImago contém 235 títulos brasileiros e a coleção SciELO, 223. As inclusões não são 100% concordantes: a coleção SCImago contém 69 periódicos ausentes da coleção SciELO. Entre elas o JBRA assisted reproduction, estando atualmente com índice 0,10 no SCImago. Esperamos em breve ser incluídos na base SciELO.

## REFERÊNCIAS

- Garfield E. Validation of citation analysis. *Journal of the American Society for Information Science*. 1997;48:962-64.
- Garfield E. The use of journal impact factors and citation analysis for evaluation of science. *Cell Separation, Hematology and Journal Citation Analysis*. Mini Symposium in tribute to Arne Boyum. Rikshospitalet, Oslo April 17; 1998.
- Guimarães CA. Normas para manuscritos submetidos às revistas biomédicas: escrita e edição da publicação biomédica. *Rev Col Bras Cir*. 2008;35:425-41.
- Krzyzanowski RF, Ferreira MCG. Avaliação de periódicos científicos e técnicos correntes brasileiros (Relatório técnico preparado para CNPq e FINEP). Brasília/DF: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/ 1997.
- Pinto AC, de Andrade JB. Fator de impacto de revistas científicas: qual o significado deste parâmetro? *Quim. Nova*. 1999; 448-53.
- Rocha e Silva M. Qualis 2011-2013: os três erros. *Clinics*, 2010;65:935-6.
- Rocha e Silva M. Reflexões críticas sobre os três erros ou os periódicos brasileiros excluídos. *J Bras Patol Med Lab*. 2011;47:104-11.
- Scielo – Scientific Electronic Library Online. Critérios SciELO: critérios, política e procedimentos para a admissão e a permanência de periódicos científicos na coleção SciELO (online; nota técnica; versão de outubro de 2004; não paginado). SciELO, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.org/scielo\\_org\\_pt.htm](http://www.scielo.org/scielo_org_pt.htm)>. Acesso em: 1 nov. 2011.
- SCImago. SJR – SCImago Journal & Country Rank. Retrieved August 31, 2011. Disponível em: <<http://www.scimagojr.com>>.
- Taitson PF, Cruz RA. . Avaliação de parâmetros editoriais de algumas publicações brasileiras em Odontologia. *Revista da ABENO*. 2006;6:140-4.
- Trzesniak, P. As dimensões da qualidade dos periódicos científicos e sua presença em um instrumento da área da educação. *Revista Brasileira de Educação*. 2006;11:346-77.
- Valerio PM. *Espelho da ciência*. Brasília/DF: FINEP/ IBICT; 1994.

## Qualidade da redação científica no JBRA Assisted Reproduction

Bruno Ramalho de Carvalho<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Genesis – Centro de Assistência em Reprodução Humana, Brasília, Distrito Federal, Brasil

Transmitir em poucas páginas e com fidedignidade tudo o que se pensa, realiza e conclui em uma pesquisa científica é feito que tangencia a arte e desafia a técnica, mas que encontra pilares no desenvolvimento pelo treinamento, em curva contínua de aprendizado. Fazê-lo de forma transparente é condição *sine qua non* para a correta compreensão dos resultados por leitor qualquer, que permita reproduzi-los ou incorporá-los ao conhecimento explícito, de forma a traduzi-los em benefícios práticos.

A redação científica inadequada dificulta a avaliação dos resultados da pesquisa, impossibilita a avaliação de sua consistência e pode condenar o estudo à irreprodutibilidade, o que, na seara da ciência, sepulta sua credibilidade. Frente à inconsistência dos registros científicos em periódicos médicos gerais e especializados, frequentemente constatada, editores e pesquisadores em epidemiologia, estatística e metodologia têm se reunido nos últimos 15 anos para a elaboração de listas de verificação de itens importantes para a boa redação científica. Centenas de revistas internacionais já adotam tais recomendações em seus guias para autores.

O documento *Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT)*, desenvolvido em 1996 (Begg et al, 1996) e recentemente atualizado (Moher et al, 2010), foi o primeiro a estabelecer diretrizes para a melhoria da redação, com foco em ensaios clínicos randomizados, oferecendo ampla lista de verificação de itens essenciais ao registro adequado, assim como o fluxograma dos passos necessários para o julgamento *ad libitum* da confiança e validade dos resultados.

Também em 1996, a conferência para estabelecimento do *Quality of Reporting of Meta-analyses (QUOROM)* padronizou recomendações para melhorar a qualidade dos registros de meta-análises de ensaios clínicos aleatórios (Moher et al, 1999), documento que, revisito recentemente, incorporou as revisões sistemáticas à sigla e foi renomeado de *PRISMA - Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses* (Moher et al, 2009).

Em 1999, na tentativa de repetir os bons resultados das iniciativas antecessoras, pesquisadores reuniram-se em Roma, durante colóquio promovido pela *Cochrane Collaboration*, para tentar diminuir a baixa qualidade metodológica e a falta de padronização de registros avaliando testes diagnósticos, redigindo os *Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy - STARD Statement* (Bossuit et al, 2003).

Por fim, frente à comum ausência ou falta de clareza na exposição de informações importantes em estudos observacionais publicados em periódicos de diversas

especialidades (Pocock et al, 2004), nasceu a iniciativa *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE)*, que focou suas recomendações no que deve constar no registro de estudos observacionais de coorte, transversais ou de caso-controle (Vandenbroucke et al, 2007; von Elm et al, 2007).

É importante compreender que os documentos citados não visam formalizar a descrição de estudos ou limitar o uso de ferramentas estilísticas, que dão identidade aos estudos e os caracterizam como produtos de determinados grupos ou autores. Os itens de verificação listados não precisam, por exemplo, constar na ordem em que são apresentados nos *statements* e a distribuição das informações necessárias ao longo do texto cabe ao autor, permanecendo apenas o crivo do editor, a quem se faculta a imposição do estilo da revista pretendida.

Importa que o leitor compreenda os passos dados para realização do estudo, para que possa alinhar suas conclusões às conclusões do pesquisador e idealizar novos estudos para responder às lacunas deixadas. O processo de eleição, recrutamento e exclusão dos sujeitos, o cálculo do tamanho da amostra e poder que a justifique, os acertos e dificuldades técnicas identificados ao longo do trabalho, as inovações e o reconhecimento das limitações do estudo devem encontrar clarividência na sua redação.

O crescimento da atividade científica no Brasil é notório, assim como dos nossos veículos de divulgação, como o JBRA – Assisted Reproduction, que recentemente se tornou o principal veículo de divulgação da nossa especialidade na América Latina, a partir de sua eleição como documento oficial da *Red Latinoamericana de Reproducción Asistida*. É hora de pensarmos em aprimorar nossa redação, ainda que não como regra, aproximando nossas publicações científicas das recomendações contidas nas tantas diretrizes mencionadas. Dessa forma, aproximarmos-nos do reconhecimento pela comunidade internacional e, quem sabe, abriremos portas para participações dos encontros que discutirão diretrizes futuras.

### LEITURAS SUPLEMENTARES

Begg C, Cho M, Eastwood S, Horton R, Moher D, Olkin I, Pitkin R, Rennie D, Schulz KF, Simel D, Stroup DF. Improving the quality of reporting of randomized controlled trials. the CONSORT statement. *JAMA*. 1996; 276:637–9.

Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, Lijmer JG, Moher D, Rennie D, de Vet HC; Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *BMJ*. 2003;326(7379):41-4.

Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. *Lancet*.

1999;354(9193):1896-900.

Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group. *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement*. PLoS Med. 2009;6(7): e1000097.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, Elbourne D, Egger M, Altman DG; Consolidated Standards of Reporting Trials Group. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. J Clin Epidemiol. 2010;63(8):e1-37.

Pocock SJ, Collier TJ, Dandreo KJ, de Stavola BL, Goldman MB, Kalish LA, Kasten LE, McCormack VA. Issues in the reporting of epidemiological studies: a survey of recent practice. BMJ.

2004;329(7471):883.

Vandenbroucke JP, von Elm E, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, Poole C, Schlesselman JJ, Egger M; STROBE Initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. PLoS Med. 2007;4(10):e297.

Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vanderbroucke JP; STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies. PLoS Med. 2007;4(10):e296.

## *Chlamydia trachomatis*: conseqüências na saúde reprodutiva da mulher

### *Chlamydia trachomatis*: consequences to women reproductive health

Mônica Canêdo Silva Maia<sup>1</sup>, Mário Silva Approbato<sup>2</sup>, Rodopiano de Souza Florêncio<sup>3</sup>, Tatiana Moreira da Silva<sup>4</sup>, Fabiana Carmo Approbato<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás (UFG) e biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG) – Goiânia(GO) - Brasil.

<sup>2</sup> Professor Titular Doutor/Mestre da Faculdade de Medicina e do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Goiás – Goiânia (GO) - Brasil

<sup>3</sup> Professor Doutor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás – Goiânia (GO), Brasil.

<sup>4</sup> Mestranda do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás (UFG) e biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas – UFG – Goiânia(GO), Brasil

<sup>5</sup> Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás – Goiânia(GO), Brasil

#### **Instituição:**

Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

#### **RESUMO**

Infecções causadas por *Chlamydia trachomatis* são recentemente reconhecidas como as mais prevalentes e estão entre as mais prejudiciais doenças sexualmente transmissíveis no mundo. A ausência de sintomas dificulta o diagnóstico clínico das infecções clamidiais. A infecção por *Chlamydia trachomatis* é um grande problema de saúde pública e que não raramente tem como conseqüência a infertilidade. Um dos fatores de risco para a infecção é a prática sexual entre adolescentes. As complicações e seqüelas decorrentes de uma infecção clamidiana, quando determina doença inflamatória pélvica aguda, podem ocasionar obstrução tubária, aderências pélvicas, dor pélvica crônica, esterilidade permanente e gravidez ectópica. Em casais que buscam tratamento para infertilidade, a detecção de infecção por *Chlamydia* deveria ser levada em consideração como procedimento de rotina, antecedendo os métodos diagnósticos invasivos.

**Palavras-chave:** *Chlamydia trachomatis*, infecção, infertilidade.

#### **ABSTRACT**

Infections caused by *Chlamydia trachomatis* are now recognized as the most prevalent and are among the most damaging of all sexually transmitted diseases worldwide. Lack of symptoms makes clinical diagnosis of chlamydial infection difficult. The infection *Chlamydia trachomatis* is a major public health problem and not rarely as a result the infertility. One of the main risks of infection is the sexual practice among adolescents. The subsequent complications of a Chlamydia infection can reach great proportions when a Pelvic Inflammatory Disease occurs, causing blockage of the Fallopian tubes, pelvic adhesions, chronic pelvic pain, permanent sterility and ectopic pregnancy. In couples that search infertility treatment the detection of a *Chlamydia* infection should be taken in consideration as routine procedure, preceding invasive diagnostic methods.

**Keywords:** *Chlamydia trachomatis*, infection, infertility.

#### **1. INTRODUÇÃO**

A *Chlamydia trachomatis* foi primeiramente identificada em 1907 por Halberstaedter e Prowazec, mediante a identificação de inclusões citoplasmáticas em material proveniente da conjuntiva de orangotangos inoculados com tracoma humano (MS - CNDST/AIDS, 1999). Em 1911, essas inclusões citoplasmáticas foram associadas a uretrites não gonocócicas. Na década de 30, foram relacionadas ao linfogranuloma venéreo (MS – DST/AIDS, 1997). A partir da década de 1980, quando se estabeleceu o papel desses agentes na etiologia da salpingite aguda, houve notável incremento da importância atribuída a esses microorganismos, principalmente que desses estados infecciosos podem advir numerosas seqüelas (WHO, 2001).

Infecções causadas por *C. trachomatis* são recentemente reconhecidas como as mais prevalentes e estão entre as mais prejudiciais doenças sexualmente transmissíveis (DST) no mundo, constituindo-se na atualidade, importante problema de saúde pública, por causar grande impacto no sistema reprodutor das mulheres (Seadi et al., 2002). É responsável por aproximadamente 90 milhões de novos casos por ano no mundo, e está relacionada à esterilidade em número bastante significativo de mulheres (Giraldo & Simões, 2000). Mais de 70% das mulheres com lesão tubária apresentam anticorpos circulantes para clamídia (Glina, 1997).

A transmissão ocorre predominantemente por contato sexual e sua taxa de contágio é de 40% de homem para mulher e 32% da mulher para o homem. Associa-se a *Neisseria gonorrhoeae* em 20 a 40% dos casos de homens e 30 a 50% em mulheres (Farina et al., 2002; Duarte, 2004; Datta et al., 2007).

Nos serviços públicos, são raros os locais que oferecem sistematicamente a pesquisa deste patógeno e, nos serviços privados, normalmente se pesquisa *C. trachomatis* em casos sintomáticos ou quando um dos parceiros sexuais relata a presença da bactéria. Mesmo nessas situações, a pesquisa ainda não faz parte da rotina da

maioria dos ginecologistas, urologistas ou médicos que atendem DST (Miranda et al., 2003).

O objetivo desse trabalho é a revisão dos aspectos relevantes da epidemiologia, diagnóstico e tratamento das infecções por *C. trachomatis*, na tentativa de melhor controlar a cura e o ciclo de transmissão.

## 2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Em 1999, segundo a Organização Mundial de Saúde, a estimativa de novos casos de infecção em adultos era de 92 milhões, sendo que 9,5 milhões ocorreriam na América Latina e Caribe. Nos Estados Unidos, estima-se entre 3 e 4 milhões o número de casos novos a cada ano. No Brasil, a Coordenação do Programa Nacional de DST/A do Ministério da Saúde estima a ocorrência de 1.967.200 casos novos a cada ano, verificando-se uma incidência de 3,5% no sexo feminino e 2,32% no sexo masculino. As estimativas dos centros de controle de doenças (CDC), nos EUA, mostram que a infecção pela clamídia está tão amplamente disseminada que existem mais casos novos desta doença do que qualquer outra DST, como sífilis, gonorréia, HPV, herpes e AIDS (Passos et al., 2003). Nos EUA, desde 1990 vigora a lei de notificação compulsória de casos de infecção por *C. trachomatis*. No ano de 2002, foram reportados 834.555 casos (296,5 casos/100.000 habitantes). Se o aumento do número de casos reportados, ano após ano desde 1987 reflete, por um lado, a expansão dos programas de triagem e notificação naquele país e o desenvolvimento e o uso de testes diagnósticos mais sensíveis, verifica-se por um lado, que as taxas de infecção ainda permanecem elevadas (CDC, STD Surveillance, 2002).

No Brasil, dados estatísticos são escassos, provavelmente por não ser uma doença sexualmente transmissível de notificação compulsória. Os dados publicados na literatura representam estudos isolados, realizados em populações ou serviços específicos, porém mostram a importância dessa infecção no país. A grande variação pode estar associada com a utilização de diferentes testes no diagnóstico laboratorial e de populações com diferentes comportamentos de risco e características sócio-demográficas, sintomáticas ou não, o que dificulta a comparação dos resultados (MS – DST/AIDS, 2001).

As maiores taxas notificadas no ano de 2001 foram para adolescentes do sexo feminino (15 e 19 anos) e adultas jovens (20 e 24 anos). Os estudos internacionais de prevalência da infecção do trato genital inferior em mulheres grávidas mostram percentuais variáveis entre 4,7% a 18,8% (Andrews et al., 2000; Workowski et al., 2002; Kadzhaia et al., 2005; Shankar et al., 2006). A prevalência geral de infecção é em torno de 15%, podendo variar de 8 a 40% de acordo com a população estudada. As taxas mais altas estão relacionadas a grupos de risco (adolescência, promiscuidade, antecedentes de DST, parceiro com uretrite não gonocócica, presença de ectopia cervical e/ou cervicite mucopurulenta) (Michelon et al., 2005).

Kahn et al. (2005) realizou um estudo entre 1997 a 2002 nos Estados Unidos, demonstrando a prevalência de infecção por *C. trachomatis* em 15,6% das 33.619 mulheres e 5,9% dos 98.296 homens atendidos, sendo que 54,0% das mulheres e 51,0% dos homens estavam co-infectados por *N. gonorrhoeae*. Na cidade de Manaus, a prevalência estimada em 121 amostras de mulheres atendidas em um serviço de DST foi de 20,7% (Santos et al., 2003).

Ramos et al. (2003) realizaram um estudo de base populacional em mulheres residentes em uma vila popular, que revelou uma baixa prevalência, da ordem de 0,59%.

Pesquisando 79 pacientes masculinos de uma clínica de DST, deste mesmo grupo, observou-se uma positividade de 41,9% dos casos (Ramos et al., 2002). Outro estudo de base populacional realizado em Vitória (ES) em mulheres adolescentes sexualmente ativas evidenciou a prevalência de 12,2% neste grupo (Miranda et al., 2004). Na cidade de Goiânia (GO), Araújo et al. (2006) encontraram uma prevalência de 19,6% em mulheres jovens, frequentadoras de clínicas ginecológicas (Araújo et al., 2006).

## 3. FATORES DE RISCO

O início precoce da atividade sexual, a multiplicidade de parceiros sexuais, ter tido mais que um parceiro sexual nos últimos 90 dias, ser solteira, não uso do preservativo nas relações sexuais, uso de contraceptivos hormonais orais por mulheres jovens, nuliparidade, uso de ducha vaginal, presença de ectopia cervical, hábito de fumar, passado de DST e falta de conhecimento sobre as DST/Aids, são fatores comportamentais importantes que se associam à infecção por clamídia (Weir, 2004).

A pesquisa de base populacional intitulada "Conhecimentos, Atitudes e Práticas na População Brasileira", coordenada pelo Programa Nacional de DST e AIDS (PN-DST/AIDS), em 2004, mostrou que mais de 70% da população com idade entre 15 e 24 anos eram sexualmente ativos e que 36% tiveram iniciação sexual com menos de 15 anos. Cerca de 16% dos indivíduos dessa faixa etária relatou mais de dez parcerias sexuais na vida, identificando em quase 7% da amostra mais de cinco parcerias sexuais no último ano. Se for considerada a população pesquisada de 15 a 54 anos, cerca de 12% das mulheres nunca haviam sido submetidas a um exame ginecológico e 4% dos homens tiveram corrimento uretral, mas não receberam tratamento. Com relação ao uso de preservativos, somente 38,4% relataram o uso na última relação sexual, sendo a adesão maior entre os homens. Porém, quando indagados sobre o uso com parceria fixa, apenas um quarto das pessoas referiu regularidade. Mesmo com parceria eventual, apenas metade dos participantes relatou uso regular de preservativos, dados que demonstram a vulnerabilidade da população às DST e à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (MS – PNDST/AIDS, 2006).

De acordo com a literatura, o mais importante dos fatores de risco é a idade, principalmente a dos adolescentes (10-19 anos) e jovens (20-24 anos), que são os grupos mais afetados. A prevalência nestes grupos excede os 10,0% podendo atingir índices de 40,0% em clínicas de DST. Um dos fatores mais notórios para explicar estes resultados são as diferenças anatômicas na cérvix uterina de mulheres jovens, favorecendo a exposição ao agente etiológico (Black, 1997).

## 4. CONSEQÜÊNCIAS NA VIDA REPRODUTIVA DA MULHER

O maior impacto da infecção clamidial se dá no aparelho reprodutor feminino (Black, 1997). A ausência de sintomas dificulta o diagnóstico clínico das infecções clamidiais. As complicações e seqüelas decorrentes de uma infecção clamidiana, quando determina DIP (doença inflamatória pélvica), podem ocasionar obstrução tubária, aderências pélvicas, dor pélvica crônica, esterilidade permanente e gravidez ectópica. A DIP causada pela *C. trachomatis* é a causa evitável mais importante de infertilidade. Das mulheres com infecção geniturinária por clamídia, 20% desenvolverá DIP, 4% dor pélvica crônica, 3% infertilidade e 2% resultados gestacionais adversos. A imunopatogênese da infecção é um dos pontos focais principais das pesquisas atuais. As estratégias atuais de

controle das infecções dependendo de rastrear as pacientes sintomáticas, não teve êxito. O desenvolvimento da biologia molecular para o diagnóstico foi um importante avanço para os programas de rastreamento populacional (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999).

A associação entre anticorpos para *C. trachomatis* e obstrução tubária é conhecida desde 1979 (Punnonen et al., 1979). Mais de 50% das mulheres com oclusão tubária apresentam evidência sorológica de infecção prévia por *C. trachomatis* (Warford, 1999). A infecção tubária persistente é comum, mesmo após a antibioticoterapia. Fatores imunopatológicos do hospedeiro estariam associados à evolução para DIP (Mardh, 2004).

Os sintomas, quando ocorrem, são corrimento vaginal e disúria. Na vigência de DIP, os sintomas podem ser ausentes ou súbitos, caracterizados por dor uterina e ou pélvica. Os sinais clínicos são cervicite mucopurulenta, friabilidade cervical, piúria com cultura negativa e mais de dez leucócitos polimorfonucleares (PMNS) por esfregaço de Gram (Black, 1997). O sintoma predominante na vigência de peri-hepatite é a dor abdominal superior. Esta condição ocorre quase que exclusivamente em mulheres cujo agente infeccioso espalhou-se para a superfície do fígado a partir das trompas de falópio inflamadas (Warford, 1999).

Em gestantes, a infecção varia de 2 a 35% e estas apresentam risco aumentado de natimortos e de morte neonatal, assim como de DIP no pós-parto. Os períodos gestacionais são significativamente mais curtos na vigência de infecção. A infecção por *C. trachomatis* é a causa mais comum de conjuntivite neonatal e uma das causas de pneumonia na primeira infância (Black, 1997).

Infecções por *C. trachomatis* estão associadas ao risco aumentado de transmissão do vírus HIV. Isto se dá pela reação inflamatória causada pela infecção clamidial que promove o acesso de linfócitos CD4 ao local. A concomitância de infecção clamidial e HIV resultam em aumento da replicação viral (Mahony et al., 2003). De um modo geral, infecções do trato genital aumentam o risco de aquisição do HIV e outras DST em cerca de 10 vezes. Por outro lado, a prevenção e tratamento das DST podem reduzir a infecção pelo HIV em 40% (Black, 1997).

## 5. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

O diagnóstico da infecção pela *C. trachomatis* ainda é crítico, devido à frequência de infecções assintomáticas, podendo ser detectada por vários procedimentos, que incluem desde a cultura da bactéria até os testes mais atuais de amplificação de DNA. Todos eles apresentam vantagens e desvantagens. A escolha de um método para diagnóstico da infecção clamidial deve considerar a disponibilidade de um teste específico, os custos, o desempenho no laboratório e a prevalência da infecção clamidial na população estudada (Hammerschlag, 1999; Nelson & Helfand, 2001).

As clamídias são bactérias relativamente lábeis e a viabilidade destas podem ser mantidas conservando-se a amostra clínica refrigerada e minimizando-se o tempo entre coleta e o processamento no laboratório. A realização do cultivo celular de *C. trachomatis* é recomendada exclusivamente com amostras de sítios de infecção como a endocérvice, a uretra anterior masculina e a conjuntivite. Secreções abundantes e corrimentos devem ser retirados antes da coleta a fim de eliminarem-se agentes inibidores ou contaminantes. Para envio e conservação, a amostra é colocada em meios de transporte específicos (Black, 1997; Mahony et al., 2003).

As amostras inadequadas afetam as taxas de positividade, a sensibilidade e especificidade não só da cultura,

mas também dos ensaios imunoenzimáticos e da maioria dos testes de imunofluorescência. Mesmo as tecnologias mais sensíveis, como os testes de amplificação do DNA, que não requerem corpos elementares intactos, uma vez que poucas cópias de DNA são suficientes para um resultado positivo, são afetadas pela qualidade da amostra (Welsh et al., 1997).

Os testes mais recentes baseiam-se na amplificação de ácidos nucleicos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), a reação em cadeia da ligase (LCR), a amplificação mediada pela transcrição (TMA) e o "strand displacement assay" (SDA) (Stary, 2002). Estes testes baseiam-se na amplificação de seqüências alvo específicas de um único gene.

### 5.1. Cultura celular

A cultura da secreção endocervical ou uretral foi durante muitos anos considerados o "padrão ouro" para o diagnóstico da infecção clamidial, devido a sua especificidade de 100%. A partir da década de 80, novos testes foram desenvolvidos visando superar as limitações da cultura. Os primeiros testes foram os ensaios de detecção de antígenos, como a imunofluorescência direta (IFD) e os ensaios imunoenzimáticos (EIA) seguidos pelos ensaios de detecção de ácidos nucleicos (hibridização, captura híbrida) (Black, 1997; Stary, 1999).

A cultura é realizada pela inoculação do espécime em monocamadas de cultura celular. As linhagens celulares mais utilizadas são as de McCoy, BGMK e HeLa 299. O procedimento envolve a visualização, por imunofluorescência ou coloração com Giemsa ou iodo, das inclusões citoplasmáticas após 48 a 72 horas de incubação. O uso de anticorpos fluorescentes grupo-específicos permite uma caracterização morfológica e imunológica, constituindo-se no método de escolha para identificação de isolados de *C. trachomatis* (CDC, STD Surveillance, 2002).

A vantagem da cultura é a baixa probabilidade de contaminação e a preservação do microrganismo para estudos adicionais, como o teste de suscetibilidade à terapia antimicrobiana e genotipagem (Black, 1997). Devido à alta especificidade, até meados de 1998, era a única metodologia aceita para fins médico-legais em suspeita de estupro e abuso sexual, conforme recomendação do CDC. Se a cultura não for disponível, pode-se utilizar, para este fim, um teste de amplificação de ácido nucleico, desde que seja confirmado por outro teste de princípio diferente (CDC, 1998).

Como desvantagem é um procedimento dispendioso, demorado (3 a 7 dias) e requer pessoal técnico especializado, sendo atualmente restrito a laboratórios de referência (Black, 1997).

De acordo com o *Guia da Prática Clínica*, publicado pelo CDC, um diagnóstico é definitivo quando a cultura é positiva ou um teste não-cultural é confirmado por um segundo teste não-cultural (CDC, 1991). A associação de duas técnicas não-culturais positivas é aceita como padrão-ouro expandido.

### 5.2. Pesquisa de anticorpos específicos

Os métodos sorológicos mais comuns são: a fixação do complemento, a imunofluorescência indireta (IFI), que utiliza células infectadas com o sorotipo L2, e o ensaio imunoenzimático heterogêneo. Estes utilizam antígenos grupo-específicos e/ou espécie-específicos para detectar imunoglobulinas de classe IgG, IgA e IgM individualmente, ou classes de imunoglobulinas.

A presença de anticorpo IgM e/ou IgA e um aumento significativo (pelo menos dois títulos) de IgG entre uma amostra colhida na fase aguda e outra na convalescente evidenciam uma infecção recente (Warford, 1999).

O teste de MIF (microimunofluorescência) desenvolvido por Wang é o método de escolha para o diagnóstico de infecção clamidial. O princípio da técnica é o mesmo da IFI, mas difere nos antígenos, que são utilizados em quantidades mínimas, representando todas as espécies e sorotipos da clamídia (agrupados opcionalmente por afinidades). É considerada a mais sensível entre as técnicas sorológicas, porém é laboriosa e de alto custo (Warford et al., 1999).

Pesquisa realizada na Holanda, envolvendo 295 pacientes inférteis, compara o teste de anticorpos para clamídia com a histerossalpingografia (HSG) para a avaliação do fator tubário, mostrando iguais valores preditivos entre os dois métodos. O teste de anticorpos para clamídia causa mínimo desconforto à paciente em comparação com a HSG e oferece resultados semelhantes, servindo como meio de triagem para a indicação da laparoscopia (Veenemans, 2002).

Os métodos sorológicos, embora extensamente utilizados, não são recomendados para o diagnóstico de infecções urogenitais por causa da frequência de exposição aos sorotipos da *C. trachomatis* e pela ocorrência de reações cruzadas com outras espécies, especialmente a *C. pneumoniae*, tornando difícil valorizar determinações de anticorpo em uma única amostra (Grayston, 1992). Estes ensaios, no entanto, encontram aplicabilidade no diagnóstico de infecção clamidial em neonatos (detecção de IgM) (Numazaki, 1998) e na investigação de infecções sistêmicas como pneumonia, linfogranuloma venéreo, fator de infertilidade tubária e gravidez ectópica, quando seus títulos apresentam-se elevados (Mahony et al., 2003). Os métodos sorológicos encontram sua melhor aplicação em levantamentos epidemiológicos (Black, 1997; Warford et al., 1999).

### 5.3. Pesquisa de antígenos

Os testes de detecção antigênica apresentam sensibilidade que varia entre 55 a 96% para a imunofluorescência direta (IFD) e entre 44 a 92% para ensaio imunoenzimático (EIA). A técnica de IFD requer microscopista treinado capaz de distinguir entre partículas clamidiais e material não específico fluorescente (Black, 1997; Warford et al., 1999). A experiência na interpretação da imunofluorescência é fundamental, porque a ligação inespecífica do anticorpo a outros microrganismos pode ocorrer, levando a um resultado falso-positivo (Hall, 1997).

Além dos testes de detecção direta de antígenos usuais de *C. trachomatis* existem ainda, vários testes comerciais denominados testes rápidos, de baixo custo, adaptados para execução fora do laboratório e para liberação imediata do resultado a fim de instituir tratamento ao paciente ainda no momento da consulta. Esses testes apresentam sensibilidade variável de 60 a 70%, comparando às técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, e especificidade inferior a 100% (Mahony et al., 2003).

### 5.4. Técnicas moleculares

Devido à alta prevalência da infecção clamidial, o mercado crescente e a deficiência dos métodos tradicionais do diagnóstico deste agente etiológico, um grande número de testes comerciais, que envolvem a detecção de ácidos nucleicos, têm sido desenvolvidos.

O desenvolvimento de testes baseados na tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos foi o avanço mais importante no campo do diagnóstico clamidial desde o isolamento do organismo em cultura de células *in vitro*.

Cinco métodos comerciais de amplificação de ácidos nucleicos estão licenciados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para detecção de *C. trachomatis* a partir

de amostras clínicas: reação em cadeia da polimerase (PCR) (Amplicor *C. trachomatis* Assay – Roche Molecular Systems), a reação em cadeia da ligase (LCR) (LCX *C. trachomatis* Assay – Abbott Laboratories) e o amplificação mediada pela transcrição (TMA) AMP-CT e, APTIMA Combo 2 (Gen-Probe); e , amplificação por deslocamento da cadeia (SDA) Probe Tec (BD Diagnostics Systems) (Black, 1997; Mahony et al., 2003).

A técnica que está sendo utilizada há mais tempo é a PCR (Hallsworth et al., 1995). A especificidade e a sensibilidade da técnica de PCR dependem dos *primers* utilizados, da técnica de referência, do tipo de material, da população a ser analisada, da preparação da amostra e do método de detecção do produto amplificado, considerando-se a presença de inibidores (Toye et al., 1998). Os métodos moleculares trouxeram um incremento de 20-30% de eficiência na identificação de pacientes infectados com relação às outras metodologias (Black, 1997; Warford et al., 1999). Em decorrência, o teste “padrão-ouro”, que anteriormente era o cultivo celular, ganhou expansão. O padrão ouro atual para diagnóstico de infecção por *C. trachomatis* inclui um teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) juntamente com o cultivo celular a fim de detectar amostras que são negativas por NAAT devido à presença de inibidores (Black, 1997; Mahony et al., 2003).

## 6. PREVENÇÃO E TRATAMENTO

Como descrito por Jawetz et al. (1998) as clamídias possuem uma característica interessante de se manterem em equilíbrio entre o hospedeiro e o parasito, o que pode resultar na ocorrência prolongada da infecção. Normalmente, o agente infeccioso persiste na presença de títulos elevados de anticorpos. O tratamento com agentes microbianos, como tetraciclina, doxiciclina, amoxicilina e eritromicina durante longos períodos, e hoje em dia por azitromicina, que se mostram até mais eficazes e com menos efeitos adversos que os medicamentos com posologia longa, podem eliminar o microorganismo do hospedeiro infectado (Pitsouni et al., 2007). A chance de recorrência, utilizando a azitromicina, é de 5,0% a 13,0% em adolescentes tratadas (Martin et al., 1992).

Para prevenção e tratamento de infecções por *C. trachomatis*, também são necessárias mudanças comportamentais, que reduzem o risco de adquirir a infecção bem como outras doenças sexualmente transmissíveis; e a identificação e tratamento de parceiros com a infecção genital antes que eles possam transmitir o agente etiológico. Diversas mudanças comportamentais como o adiamento da primeira relação sexual, diminuição do número de parceiros sexuais e o uso de preservativos, são essenciais para evitar ou minimizar a infecção por *C. trachomatis*. O uso de microbicidas vaginais como esponjas vaginais contendo espermicida monoxynol 9 também são indicadas para a prevenção da infecção (Patton et al., 1992; Roddy et al., 1998). Lembrando que o tratamento do parceiro sexual é essencial para diminuir o risco de reinfecção do paciente (Paavonen & Krause, 1999).

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através desta revisão sobre o tema é possível perceber as principais repercussões clínicas e agravos à saúde causados pela *C. trachomatis*, sendo assim, imprescindível a qualificação de programas de controle e prevenção de DSTs e aplicação de medidas de prevenção em nível de atenção primária, as quais não exigem sofisticação tecnológica, podendo contribuir para uma redução deste importante problema de saúde pública.

Em casais que buscam tratamento para infertilidade, a

detecção de infecção por clamídia deveria ser levada em consideração como procedimento de rotina, antecedendo os métodos diagnósticos invasivos.

É possível que a existência de programas de educação e rastreamento sistemático de todas as mulheres após a primeira relação sexual possa modificar o quadro atual. Além disso, falhas na educação básica da população, a falta de conhecimento, a precariedade no sistema de saúde e a co-infecção com outras doenças sexualmente transmissíveis ainda estão relacionados aos altos índices de infecção por *C. trachomatis*. Desta forma, é necessária uma conscientização ainda maior por parte dos governos quanto ao processo de educação e informação para a saúde dos cidadãos.

#### Autor para correspondência:

Mônica Canêdo Silva Maia  
Rua C74 Q170 L23 Setor Sudoeste  
Goiânia – GO CEP 74303-040  
Contato: (0xx62) 9178-8716  
e-mail: monicalabrep@bol.com.br

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrews WW et al. The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 183(3): 662-68.
- Araújo RS, Guimarães EM, Alves MF, Sakurai E, Domingos LT, Fioravante FC, Machado AC. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* in adolescent females and young women in central Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006; 25(1): 397-400.
- Black MC. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(1): 160-84.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Sexually transmitted diseases clinical practice guidelines*. Atlanta Ga.: Centers for Disease Control and Prevention, 1991.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. *MMWR* 1998; 47(RR-1): 1-118.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance Department of Health and Human Services. Atlanta, GA: US, 2002.
- Datta SD, Sternberg M, Johnson RE, Berman S., Papp JR, McQuillan G, Weinstock H, et al. Gonorrhoeae and chlamydia in the United States among persons 14 to 39 years of age, 1999 to 2002. *Ann Intern Med*. 2007; 147(2): 89-6.
- Duarte G. Clamídiase genital. In: Diagnóstico e conduta nas infecções ginecológicas e obstétricas. Ribeirão Preto: FUNPEC; 2004.
- Farina C, Oravec R, Ven Poser B. Diagnóstico laboratorial da infecção por *Chlamydia trachomatis* e desvantagens das técnicas. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2002; 38: 125-33.
- Giraldo PC, Simões JA. Clamídia e micoplasmas. In: Halbe HW. Tratado de ginecologia. São Paulo: Roca; 2000.
- Glina S. Infecção e infertilidade masculina. In: Badalotti M, Teloken C, Petraco A. Fertilidade e infertilidade humana. Rio de Janeiro: Medsi; 1997.
- Grayston JT. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis*. 1992; 15: 757-63.
- Hall SG. Chlamydia trachomatis: update on laboratory diagnosis. Check sample. *Am Soc Clin Pathol*. 1997; 40(4): 49-61.
- Hallsworth GP et al. Comparison of antigen detection, polymerase chain reaction and culture for detection of *Chlamydia trachomatis* in genital infection. *Pathol*. 1995; 27: 168-71.
- Hammerschlag MR. New diagnostic methods for chlamydial infection in women. *Medscape Women's Health* 1999; 4: 3117-23.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA 1998. Clamídias. In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998. p. 231-7.
- Kadzhaia D, Merabishvili N. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in pregnant women. *Georgian Med News* 2005; 129(1): 33-6.
- Kahn RH, Mosure DJ, Blank S, Kent CK, et al. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae prevalence and coinfection in adolescents entering selected US Juvenile Detention Centers, 1997-2000. *Sex Transm Dis*. 2005; 32(4): 255-9.
- Maohny JB, Coombes BK, Chemesky MA. Chlamydia and Chlamydophila. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 63. 8 ed. Washington, D. C.: ASM Press; 2003. p. 991-1004.
- Mardh P. Tubal factor infertility, with special regard to chlamydial salpingitis. *Current Opinion in Infectious Disease*. 2004; 17: 49-52.
- Michelon J, Boeno A, Filho EV, et al. Diagnóstico da infecção urogenital por *Chlamydia trachomatis*. *Scientia Medica*, Porto Alegre: PUCRS; 2005. p. 97-102.
- Ministério da Saúde (MS), Brasil, Programa Nacional de DST/AIDS. Diagnóstico laboratorial de clamídia, 3ªed., Brasília, 1997. Disponível em: [http://bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd05\\_09.pdf](http://bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd05_09.pdf), 03/2010.
- Ministério da Saúde (MS), Brasil, SPC-CNDST/AIDS. Manual de Controle de DST, 3ªed., Brasília, 1999. Disponível em: [http://acemfc.org.br/modelo1/down/manual controle dst. pdf](http://acemfc.org.br/modelo1/down/manual%20controle%20dst.pdf), 06/2010.
- Ministério da Saúde – Coordenação Nacional de DST/AIDS, 2001. In: Editorial, Nosso Compromisso é a sua participação, J Bras Doenças Sex Transm. 2002; 14(3): 3.
- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Pesquisa de conhecimento, atitudes e práticas na população brasileira de 15 a 54 anos, 2004. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
- Miranda AE, Gadelha MJ, Passos RL. Impacto da infecção pela *Chlamydia trachomatis* na saúde reprodutiva. *DST J Bras Doenças Sex Transm*. 2003; 15(1): 53-8.
- Miranda AE, Szcwaecwald CL, Peres RL, Page-Schafer K et al. Prevalence and risk behaviors for chlamydial infection in a population-based study of female adolescents in Brazil. *Sex Transm Dis*. 2004; 31(9): 542-6.
- Nelson HD, Helfand M. Screening for chlamydial infection. *American Journal of Preventive Medicine* 2001; 20: 95-107.
- Numazaki K. Serological tests for *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11: 228-9.
- Passos MR, Varella RQ, Miranda AE. *Chlamydia trachomatis*: A epidemia silenciosa. Rio de Janeiro: Phoenix Produções Editoriais; 2003.
- Patton DL, Wang SK, Kuo CC. In vitro activity of monoxynol 9 on HeLa 299 cells and primary monkey cervical epithelial cells infected with *Chlamydia trachomatis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36(2): 1478-82.
- Paavonen J, Krause WE. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Europ Soc of Human Reprod and Embriol*. 1999; 5(5): 433-47.
- Pitsouni E, Iavazzo C, Athanasiou S, Falagas ME. Single-dose azithromycin versus erythromycin and amoxicillin for *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 30(3): 213-21.
- Punnonen R, Terho P, Nikkanen V, Meurman O. *Chlamydia* serology in infertile women by immunofluorescence. *Fertil Steril*. 1979; 31: 656-9.
- Ramos MC, Becker D, Perin MT. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine samples of men with urethritis in a public STD clinic in Porto Alegre, Brazil. *Int J STD and AIDS*. 2002; 13(1): 47.
- Ramos MC, Becker D, Germany C. Estudo populacional de prevalência de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* pela Reação em cadeia da Polimerase em amostras de urina de mulheres residentes em vila popular atendida por serviço de saúde comunitária em Porto Alegre, Brasil. *J Bras DST*. 2003; 15(2): 20-5.
- Roddy RE, Zekeng L, Ryan KA, Tamoufe U et al. A controlled trial of monoxynol 9 film to reduce male-to-female transmission of sexually transmitted diseases. *N Engl J Med*. 1998; 339(8): 504-10.
- Santos C, Teixeira F, Vicente A, Astolfi-Filho S, et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. *Braz Infect Dis*. 2003; 7(2): 91-5.

- Seadi CF, Oravec R, Poser BV et al. Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. *J Bras Patol Med Lab.* 2002; 38: 125-33.
- Shankar M, Dutta R, Gkaras A, Tan B, Kadir RA, Economides D et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and bacterial vaginosis in women presenting to the early pregnancy unit. *J Obstet Gynaecol.* 2006; 26(1): 15-9.
- Sary A. Correct samples for diagnostic tests in sexually transmitted diseases: wich sample for which test? *FEMS – Immunology and Medical Microbiology* 1999; 24: 455-9.
- Sary A. *Chlamydia trachomatis*: Screening programs and the nucleic acid amplification assays. *Clinics in Dermatology* 2002; 20: 164–9.
- Toye B et al. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(8): 2356-8.
- Veenemans L. *Chlamydia* test for infertility screening. *Hum Reprod.* 2002; 17: 695-8.
- Warford A et al. *Laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infection.* In: Cumitech. Washington, D.C.: ASM Press, 1999. p. 2-18.
- Weir E. Upsurge of genital *Chlamydia trachomatis* infection. *Canadian Medical Association Journal* 2004; 171(8): 855.
- Welsh LE, Quinn TC, Gaydos CA. Influence of endocervical specimen adequacy on PCR and direct fluorescent-antibody staining for detection of *Chlamydia trachomatis* infections. *J Clin Microbiol.* 1997; 35: 3078-81.
- Workowski KA, Levine WC, Wasserheit JN. Centers for Disease Control and Prevention guidelines for the treatment of sexually transmitted diseases: an opportunity to unify clinical and public health practice. *Ann Intern Med.* 2002; 137(4): 255-62.
- World Health Organization. Department of HIV/AIDS. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections. Geneva, World Health Organization, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/docstore/hiv/GRSTI/003.htm>, Jun/2010.

# Maturação Oocitária *In vitro*: A experiência francesa na preservação da fertilidade feminina de pacientes com câncer

## *In vitro* oocyte maturation: the French experience in the preservation of female fertility in cancer patients

Ana Karina Bartmann<sup>1,2</sup> e Michaël Grynberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Médicos do Serviço de Ginecologia, Obstetrícia e Medicina da Reprodução, Hospital Antoine Béclère, Universidade Paris-Sud; INSERM, U782, Clamart, F-92140

<sup>2</sup>Médica da Clínica Ana Bartmann, Ribeirão Preto, SP

Trabalho desenvolvido no Serviço de Ginecologia, Obstetrícia e Medicina da Reprodução, Hospital Antoine Béclère, Universidade Paris-Sud; INSERM, U782, Clamart, F-92140

### RESUMO

Embora a incidência de câncer esteja aumentando, os tratamentos da doença têm se tornado mais eficientes, resultando em um aumento no número de pacientes que sobrevivem à terapia. Os sobreviventes, no entanto, são submetidos às suas consequências de longo prazo. Um dos seus principais efeitos "colaterais" de muitos esquemas de quimioterapia, no caso de mulheres em idade reprodutiva, é a falência ovariana prematura. Assim, mulheres jovens submetidas à quimioterapia são nos países desenvolvidos orientadas sobre a possibilidade de se preservar sua fertilidade. Tradicionalmente, a criopreservação de oócitos e embriões realizada após estimulação ovariana é considerada melhor técnica, pois oferece melhores resultados. Entretanto, muitas pacientes não são candidatas à estimulação ovariana por limitação de tempo para início da quimioterapia ou por causa de doença subjacente estrogênio-dependente. Para essas pacientes, a técnica de maturação *in vitro* de oócitos (MIV) tem sido proposta, permitindo a captação imediata de oócitos, sem estimulação por gonadotrofinas exógenas, independentemente da fase do ciclo. Nesse artigo, discutimos a experiência francesa na criopreservação oocitária de pacientes com câncer.

### ABSTRACT

Although the incidence of cancer rises, treatments have become more efficient, resulting in an increase in the number of patients who survive the therapy. The survivors, however, are submitted to their long-term consequences. One of the main side-effects of many chemotherapy regimens, for women in reproductive age, is premature ovarian failure. Thus in developed countries, young women undergoing chemotherapy are oriented about the possibility of preserving their fertility. Traditionally, cryopreservation of oocytes and embryos performed after ovarian stimulation technique is considered the best option because it offers better results. However, many patients are not eligible for ovarian stimulation due to time limit for the beginning of chemotherapy or an underlying estrogen-dependent disease. For these patients, the *in vitro* maturation of oocytes technique (IVM) has been proposed, allowing the immediate capture of oocytes without stimulation by exogenous gonadotropins, regardless of cycle

phase. In this article, we discussed the French experience in oocyte cryopreservation for cancer patients.

**Palavras-Chave:** Maturação *In Vitro*, Preservação da Fertilidade, Câncer  
Introdução

Nos últimos anos, os avanços em tratamentos de câncer têm melhorado a sobrevivência de mulheres jovens que sofrem de doenças malignas (American Cancer Society, 2007). Apesar destes avanços, as terapias utilizadas ainda causam vários efeitos colaterais, que incluem comprometimento da função gonadal e infertilidade (Mackie *et al*, 1996). Esses efeitos podem, dependendo da sensibilidade do indivíduo ao tratamento gonadotóxico, ser transitórios ou permanentes. A gravidade do dano depende do tipo de quimioterapia e / ou intensidade da terapia de radiação, protocolos de tratamento e idade do paciente (Howell & Shalet, 1998). Assim, a questão da fertilidade futura deve ser parte das discussões sobre a qualidade de vida após o tratamento para o câncer. Devido à dificuldade de prever quais indivíduos evoluirão com infertilidade, parece necessário propor, antes de iniciar o tratamento gonadotóxico, o uso de técnicas de preservação da fertilidade. Ao contrário do homem para quem a autopreservação de espermatozoides é bem estabelecida, a preservação da fertilidade para as mulheres que serão submetidas a tratamentos gonadotóxicos ainda representa um desafio. Para esse fim, utilizamos nos serviços franceses a criopreservação de embriões para pacientes que possuem relações maritais, além do congelamento de oócitos maduros (pós-estimulação ou pós-MIV) e de fragmentos do córtex ovariano.

### 1) Criopreservação de ovócitos ou embriões após a estimulação ovariana

A criopreservação de embriões após a coleta de oócitos maduros pós-estimulação ovariana é considerada como padrão-ouro na preservação da fertilidade feminina. Desde a primeira gravidez e nascimento obtidos há mais de 25 anos depois do congelamento/descongelamento de embriões (Trounson & Mohr, 1983), esta técnica é utilizada rotineiramente em todos os centros de Procriação Medicamente Assistida da França. A sobrevivência do embrião após o descongelamento é de cerca de 70% com uma taxa de gravidez por transferência entre 10 e 50% (Center for Disease Control and Prevention, 2006). Na

França, a criopreservação de embriões pode ser utilizada, no entanto, apenas por mulheres casadas ou que vivem maritalmente com um parceiro há, pelo menos, dois anos (Lei de Bioética francesa de 29 de Julho de 1994, revista em 2004) e levanta uma série de questões éticas em relação à eventual morte de um dos membros do casal ou a sua dissolução por divórcio.

A técnica de criopreservação de oócitos pós-estimulação ovariana veio ao encontro destes problemas. Porcu *et al.* (1997) foram os primeiros a relatar a fecundação por ICSI de um oócito maduro humano congelado e descongelado, utilizando a técnica de congelamento lento (Porcu *et al.*, 1997). A partir de então, a técnica de criopreservação de oócitos passou a ser prática comum na preservação da fertilidade feminina. As principais desvantagens das técnicas de criopreservação de oócitos são representadas em parte pelo endurecimento da zona pelúcida por exocitose prematura dos grânulos corticais que pode impedir a penetração do espermatozóide (Porcu *et al.*, 1997), e também pela formação de cristais de gelo durante o congelamento ou descongelamento que, em última análise, podem causar danos ao fuso meiótico dos ovócitos maduros (Chen *et al.*, 2003). Recentemente, a técnica de vitrificação, utilizando o congelamento ultra-rápido com altas concentrações de crioprotetores (Kasai *et al.*, 1996) mostrou resultados promissores. Até o momento, mais de 1000 crianças já nasceram após criopreservação de oócitos (Noyes *et al.*, 2009).

Independentemente de se optar pela criopreservação de oócitos pós-estimulação ovariana ou pela criopreservação de embriões, a estimulação dos ovários pode causar vários inconvenientes no âmbito da preservação da fertilidade antes da administração de drogas gonadotóxicas. Na verdade, a estimulação ovariana por gonadotrofinas exógenas é viável apenas após a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal na puberdade. Além disso, a estimulação do folículo antral precoce, idealmente deve ser iniciado na fase folicular e requer um período de cerca de 15 dias para que um folículo maduro esteja pronto para a coleta do ponto de vista citoplasmático e nuclear. Finalmente, o hiperestrogenismo supra-fisiológico secundário à hiperestimulação ovariana controlada é contra-indicado em casos de doenças estrogênio-dependentes, como câncer de mama ou lúpus eritematoso sistêmico, o que torna impossível a utilização dessas técnicas. Vários protocolos de estimulação ovariana têm sido desenvolvidos para reduzir os níveis plasmáticos de estradiol, incluindo o uso de inibidores de aromatase. Tais protocolos oferecem a possibilidade da captura de oócitos maduros em mulheres com patologias hormônio-dependentes (Oktay *et al.*, 2006). No entanto, estas moléculas ainda não foram aprovadas na França para tal, assim sendo, nossa experiência é extremamente restrita.

## 2) Criopreservação de tecido ovariano

A criopreservação de fragmentos do córtex ovariano é uma alternativa para a criopreservação de embriões ou ovócitos. A remoção do tecido ovariano requer cirurgia, geralmente realizada por via laparoscópica. Assim, dependendo das circunstâncias, pode-se realizar uma ooforectomia parcial ou ooforectomia completa unilateral ou bilateral. O tecido ovariano após a cura será auto-transplantado, com a possibilidade de retomada de suas funções endócrinas e exócrinas. Além disso, os fragmentos autotransplantados podem ser uma fonte de folículos para a realização de um foliculogênese *in vitro*, quando a técnica for desenvolvida em seres humanos. A criopreservação do tecido ovariano apresenta uma série de benefícios em relação a outras técnicas, uma vez que

pode ser realizada sem demora, evitando atrasos no início do tratamento anticancerígeno e é considerada a técnica de escolha em meninas antes da puberdade na França. Apesar disso, é fundamental ter em mente que se trata ainda de técnica considerada experimental, com muito poucas gestações alcançadas em todo o mundo até hoje (Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2008). Além disso, a técnica apresenta também o risco potencial de reintroduzir eventuais células malignas com o transplante de tecido ovariano em uma paciente teoricamente curada.

## 3) Maturação *in vitro*

A maturação *in vitro* (MIV) consiste em coletar oócitos imaturos e em seguida proceder à sua maturação *in vitro*. Esta técnica foi originalmente desenvolvida para superar os efeitos adversos da estimulação ovariana por gonadotrofinas exógenas, incluindo a síndrome de hiperestimulação ovariana, cuja complicação pode ser potencialmente fatal. Os primeiros relatos de gestações pós-MIV ocorreram em 1994 em pacientes portadores da síndrome dos ovários policísticos, particularmente em risco de desenvolver síndrome de hiperestimulação ovariana (Trousseau *et al.*, 1994). Especialistas têm levantado a possibilidade de haver risco da ocorrência de doenças relacionadas ao *imprinting* genético nos filhos nascidos pós-MIV, porém até o momento, nenhuma evidência real disso foi evidenciada (Noyes *et al.*, 2009).

Recentemente, a MIV foi proposta como uma técnica para a preservação da fertilidade feminina em casos de diagnóstico de câncer, evitando-se assim a estimulação ovariana e, portanto, oferecendo a possibilidade de uma recuperação imediata de oócitos (Rao *et al.*, 2004).

## Técnica de MIV

A aspiração folicular é realizada em paciente sob leve sedação intravenosa, 36 horas após a injeção de hCG (Gonadotrofina Coriônica humana), 5000 UI por via intramuscular. A punção é guiada por ultra-sonografia transvaginal e realizada com baixa pressão de sucção (7,5 kPa). O líquido folicular aspirado contendo os complexos cumulo-oocitários é depositado em tubos contendo heparina líquida pré-aquecida. Os complexos cumulo-oocitários (COC) são então isolados sob estereomicroscópio e lavados em meio de cultura Medicult® (Medi Cult, Dinamarca), previamente aquecida a 37 ° C sob uma atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> a 5%. Após duas lavagens, os COCs são colocados em placas de cultura com soluções enriquecidas com hormônios (0,75 UI/ml FSH e 0,75 UI/ml LH - Menopur® / Ferring, Alemanha) e incubados a 37°C sob uma atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> a 5%. Após 24 horas de maturação, os COCs são decoronizados com auxílio de uma solução de hialuronidase (Syn Vitro Hyadase; Medi Cult). A maturação oocitária é avaliada em microscópio invertido: a presença do primeiro corpúsculo polar no espaço peri-vitelínico determina se houve ou não maturação. Os ovócitos maduros a seguir ou são congelados em um processo de congelamento lento ou fertilizados por ICSI. Os oócitos imaturos na fase de prófase I ou metafase I são re-cultivados por mais 24 horas e congelados caso apresentem sinais de maturação.

## O Interesse da MIV para a preservação da fertilidade feminina

A MIV é uma técnica bastante interessante do ponto de vista da preservação da fertilidade, pois possui duas propriedades fundamentais para a preservação da fertilidade: além de poder ser aplicada imediatamente no caso de pacientes que precisam ser submetidas à quimioterapia

em curto espaço de tempo, pode também ser realizada em pacientes com doenças estrogênio-dependentes e que não podem ser submetidas a estimulação ovariana com gonadotrofinas como é o caso do câncer de mama e do lúpus eritematoso.

#### **Técnica viável independentemente da fase do ciclo:**

Convencionalmente, os oócitos para MIV são coletados durante a fase folicular de ciclo natural após a administração de hCG. No entanto, estudos realizados na última década têm mostrado que oócitos coletados durante cesarianas, expostos a elevadas concentrações de progesterona podem ser maturados e fecundados *in vitro* (Hwang *et al*, 2000). Mais recentemente verificou-se em bovinos que o número de oócitos imaturos coletados na fase folicular precoce foi significativamente maior que o mesmo procedimento realizado na fase folicular tardia ou fase lútea (Chian, 2004). No entanto, não foram encontradas diferenças nas taxas de maturação, fertilização e clivagem de acordo com a fase do ciclo. Estes dados sugerem, portanto, que existe a possibilidade de se coletar oócitos imaturos tanto na fase folicular quanto na fase lútea do ciclo para a obtenção de embriões viáveis.

A explicação racional para isso está baseada no fato de que níveis elevados de LH e progesterona provavelmente não afetam folículos antrais iniciais contendo oócitos imaturos, ainda que a luteinização precoce dos folículos antes da coleta de oócitos maduros em ciclos de FIV convencional esteja associada com piores resultados (Bosch *et al*, 2003). De fato, as células da granulosa são desprovidas de receptores de LH na fase folicular precoce e eles aparecerão na fase folicular tardia (Yang *et al*, 2005). Além disso, até hoje não foi demonstrada a presença de receptores de LH ou de progesterona em oócitos no estágio de vesícula germinativa. Ainda assim, a administração de doses supra-fisiológicas de produtos com atividade LH (sob a forma de hCG) parece ter um impacto sobre folículo antral precoce por um mecanismo ainda indeterminado. De fato, foi demonstrado que um "priming" de hCG antes da coleta de oócitos melhora a taxa de maturação e fertilização, assim como as taxas de gravidez em pacientes com SOP (Chian *et al*, 2000). Assim, recorre-se à coleta de oócitos imaturos na fase lútea quando nenhuma outra alternativa viável existe.

#### **A combinação das técnicas de criopreservação de fragmentos do ovário cortical e MIV:**

Uma das principais vantagens da MIV é a possibilidade de associá-la à ooforectomia para a criopreservação de tecido ovariano. O objetivo de criopreservação de tecido ovariano é preservar folículos primordiais primários, que são responsáveis respectivamente por 70-90% e 10-30% dos folículos ovarianos (Gougeon, 1986). Essas duas classes de folículos têm como característica serem bastante resistentes ao processo de congelamento. Os folículos secundários e antrais não resistem ou resistem pouco ao congelamento (Gosden, 2002), provavelmente por causa de sua estrutura celular complexa que dificulta a penetração de crioprotetores, e por seu grande conteúdo de água que resulta na formação de cristais de gelo. A justificativa para a combinação das técnicas de MIV e criopreservação de tecido ovariano é, portanto, ter duas técnicas complementares para oferecer às pacientes jovens, que procuram a preservação urgente da sua fertilidade. Convencionalmente, a coleta de oócitos é realizada por punção vaginal antes da ovariectomia. Esta última, por sua vez, se mostra mais fácil do que se fosse realizada em um ovário previamente estimulado, maior e

mais ricamente vascularizado. Recentemente, Huang *et al*. relataram a possibilidade de coleta de oócitos imaturos ex-vivo no laboratório de biologia reprodutiva, após a ooforectomia (Huang *et al*, 2008). Assim, as quatro pacientes, nos quais esta técnica foi realizada, 3 oócitos foram obtidos em média, com taxas médias de maturação de 79%. Em nosso Serviço, esta técnica permitiu obter 7 e 6 oócitos imaturos em 2 pacientes nas quais foram realizados aspirados ex-vivo (dados não publicados). A principal desvantagem desta técnica é realizar a punção dos oócitos em tecido ovariano colocado em meio de cultura à temperatura de 4 ° C para a criopreservação do córtex ovariano. Se por um lado, esses oócitos tendem a ter bons índices de maturação, por outro, é impossível ignorar os riscos de distúrbios meióticos.

#### **Resultados da MIV:**

A MIV é uma técnica já bem estabelecida para o tratamento da infertilidade, principalmente entre mulheres com síndrome dos ovários policísticos (SOP) (Frantz *et al*, 2010), com várias centenas de crianças nascidas até o momento. Em nosso Serviço, a MIV foi criada em 2002, com taxas de gravidez de 26% até o momento, principalmente entre mulheres SOP (Le Du *et al*, 2005). Em casos selecionados, a taxa de gravidez pode chegar a 48% (Son *et al*, 2007), algo comparável aos resultados de FIV convencional em muitos centros (European IVF-monitoring programme for the European Society of Human Reproduction and Embryology, 2006).

Crianças nascidas após MIV não apresentaram aumento das taxas de anormalidade fetal ou neonatal, quando comparadas às crianças de FIV ou de gestações naturais (Buckett *et al*, 2007). O peso médio ligeiramente superior no grupo de crianças nascidas após a MIV é provavelmente devido a fatores maternos, incluindo a SOP, que predispõe ao diabetes gestacional e à macrosomia.

Embora resultados após vitrificação de oócitos maturados *in vitro* possam ser piores do que aqueles obtidos com a mesma técnica aplicada ao congelamento de oócitos maturados *in vivo* após a estimulação ovariana (Chian *et al*, 2009), a MIV mantém-se como alternativa interessante nos casos em que a estimulação ovariana não seja viável ou por falta de tempo ou por causa da estrogênio-dependência da patologia subjacente, que em nossa experiência, representa um número significativo de casos.

A criopreservação de oócitos imaturos ao fim da prófase I, em fase de vesícula germinativa (VG) também foi proposta recentemente (Mandelbaum *et al*, 1988). A lógica desta técnica está baseada na sensibilidade do fuso meiótico de oócitos maduros aos efeitos de resfriamento com possíveis riscos de aneuploidias após o congelamento de embriões (Mandelbaum *et al*, 2004). Ora, nos oócitos em estágio de VG, o fuso ainda não está formado e os cromossomos estão protegidos por um envelope nuclear, o que limita teoricamente os riscos suscitados. Dados da literatura sobre o congelamento de oócitos imaturos são recolhidos principalmente a partir de oócitos provenientes de estimulação ovariana para fertilização *in vitro*. Após o congelamento lento, as taxas de resistência variam de 13 a 73%, com uma capacidade fecundabilidade e desenvolvimento inferior aos observados com oócitos maduros (Mandelbaum *et al*, 2004; Toth *et al*, 1994; Park *et al*, 1997; Goud *et al*, 2000 e Boiso *et al*, 2002). Nos seres humanos, apenas um nascimento foi relatado após a criopreservação de oócitos imaturos (Goud *et al*, 2000). Nenhum nascimento foi até o momento relatado em publicações sobre congelamento de oócitos imaturos por vitrificação (Chung *et al*, 2000 e Wu *et al*, 2001).

Ainda assim, está bem documentado o efeito psicológi-

co da MIV em mulheres com câncer. Pacientes relatam maior vontade de superar a doença e de vivenciar o tratamento quando sabem que, no futuro, poderão possivelmente satisfazer o desejo de serem mães (Partridge *et al*, 2004). Assim, a recomendação nos serviços de Reprodução Assistida franceses para preservar a fertilidade feminina é, em caso de restrição de tempo e / ou contra-indicação para a estimulação ovariana, oferecer a coleta de oócitos imaturos em um ciclo natural, seguida da maturação de oócitos *in vitro* e congelamento com técnica de congelamento lento de oócitos e embriões humanos em função da presença ou ausência de um parceiro. Na ausência de uma emergência ou patologia hormônio-dependente, a estimulação ovariana é realizada, permitindo a recuperação de oócitos maduros. Contudo, dadas as contra-indicações para a gravidez de pacientes com câncer em um futuro próximo, estamos incapacitados de avaliar os resultados de criopreservação de oócitos maturados *in vitro* até que os embriões obtidos a partir desta técnica sejam transferidos. Infelizmente, pacientes jovens com câncer não terão uma segunda chance para pôr em prática medidas de preservação da fertilidade antes que a ciência determine qual a técnica mais apropriada para esta indicação.

## CONCLUSÃO

A maturação *in vitro* seguida de criopreservação de oócitos maduros ou de embriões é uma técnica valiosa na preservação da fertilidade feminina. De fato, a possibilidade de praticá-la em regime de emergência, independentemente da fase do ciclo, eventualmente em associação à criopreservação de tecido ovariano, e a falta de necessidade de estimulação ovariana faz com que seja considerada técnica de escolha para pacientes com doenças estrogênio-dependentes ou que precisam ser submetidas a tratamentogonadotóxicos.

Endereço do autor correspondente:

Clínica Ana Bartmann: Rua Altino Arantes, 529 – casa 22, CEP 14025-030, Ribeirão Preto, SP – Tel/FAX: 55 (16) 3941-5121 - e-mail: anabartmann@uol.com.br

## REFERÊNCIAS

American Cancer Society. Cancer facts and figures-2006. Atlanta, GA: American Cancer Society. Disponível em: <http://www.cancer.org/docroot/STT/STT-Oasp; 2006>. Acessado: 01/03/2007.

Boiso I, Marti M, Santalo J, Ponsa M, Barri PN, Veiga A. A confocal microscopy analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes cryopreserved at the germinal vesicle and metaphase II stage. *Hum Reprod.* 2002; 17:1885-91.

Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003; 80:1444-9.

Bucket WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol.* 2007; 110:885-91.

Center for Disease Control and Prevention 2006. 2004 Assisted reproductive technology success rates: national summary and fertility clinic reports. Disponível em: <http://www.cdc.gov/art/ART2004/index.htm>

Chen SU, Lien YR, Chao KH, Ho HN, Yang YS, Lee TY. Effects of cryopreservation on meiotic spindles of oocytes and its dynamics after thawing: clinical implications in oocyte freezing--a review article. *Mol Cell Endocrinol.* 2003; 202:101-7.

Chian RC, Gülekli B, Bucket WM, Tan SL. Priming with human chorionic gonadotropin before retrieval of immature oocytes in women with infertility due to the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 1999; 34:1624, 1626. Erratum in: *N Engl J Med* 2000 Jan 20; 342:224.

Chian RC, Huang JY, Gilbert L, Son WY, Holzer H, Cui SJ, Bucket WM, Tulandi T, Tan SL. Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes. *Fertil Steril.* 2009; 91:2391-8. Epub 2008 Jun 24.

Chian RC. In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS. *Reprod Biomed Online.* 2004; 8:547-52.

Chung HM, Hong SW, Lim JM, Lee SH, Cha WT, Ko JJ, Han SY, Choi DH, Cha KY. In vitro blastocyst formation of human oocytes obtained from unstimulated and stimulated cycles after vitrification at various maturational stages. *Fertil Steril.* 2000; 73:545-51.

European IVF-monitoring programme (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), Andersen AN, Gianaroli L, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2002. Resultados publicados pela ESHRE. *Hum Reprod.* 2006; 21:1680-97.

Frantz N, Ferreira M, Frantz G, Höher M, Oliveira N, Giacomet de Carvalho T, Bos-Mikich A. Maturação in vitro de oócitos em ciclos não estimulados para pacientes portadoras de ovários policísticos. *JBRA.* 2010; 14: 24-26.

Gosden RG. Gonadal tissue cryopreservation and transplantation. *Reprod Biomed Online.* 2002; 4 Suppl 1:64-7.

Goud A, Goud P, Qian C, Van der Elst J, Van Maele G, Dhont M. Cryopreservation of human germinal vesicle stage and in vitro matured M II oocytes: influence of cryopreservation media on the survival, fertilization, and early cleavage divisions. *Fertil Steril.* 2000; 74:487-94.

Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod.* 1986; 1:81-7.

Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998; 27:927-43.

Huang JY, Tulandi T, Holzer H, Tan SL, Chian RC. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertil Steril.* 2008; 89:567-72. Epub 2007 Jun 4.

Hwang JL, Lin YH, Tsai YL. In vitro maturation and fertilization of immature oocytes: a comparative study of fertilization techniques. *J Assist Reprod Genet.* 2000; 17:39-43.

Kasai M, Zhu SE, Pedro PB, Nakamura K, Sakurai T, Edashige K. Fracture damage of embryos and its prevention during vitrification and warming. *Cryobiology.* 1996; 33:459-64.

Le Du A, Kadoch IJ, Bourcigaux N, Doumerc S, Bourrier MC, Chevalier N, Fanchin R, Chian RC, Tachdjian G, Frydman R, Frydman N. In vitro oocyte maturation for the treatment of infertility associated with polycystic ovarian syndrome: the French experience. *Hum Reprod.* 2005; 20:420-4.

Mackie EJ, Radford M, Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for childhood Hodgkin's disease. *Med Pediatr Oncol.* 1996; 27:74-8.

Mandelbaum J, Anastasiou O, Lévy R, Guérrin JF, de Larouzière V, Antoine JM. Effects of cryopreservation on the meiotic spindle of human oocytes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 A; 113 Suppl 1:S17-23.

Mandelbaum J, Junca AM, Tibi C, Plachot M, Alnot MO, Rim H, Salat-Baroux J, Cohen J. Cryopreservation of immature and mature hamster and human oocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1988; 541:550-61.

Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online.* 2009; 18:769-76.

Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, Bang H. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91:3885-90.

Park SE, Son WY, Lee SH, Lee KA, Ko JJ, Cha KY. Chromosome and spindle configurations of human oocytes matured in vitro after cryopreservation at the germinal vesicle stage. *Fertil Steril.* 1997; 68:920-6.

Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J, Sampson E, Knudsen K, Laufer M, Rosenberg R, Przypyszny M, Rein A, Winer EP. Web-based survey of fertility issues in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2004; 22:4174-83.

Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril.* 1997; 68:724-6.

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine; Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation. *Fertil Steril.* 2008; 90:S241-6.

Rao GD, Chian RC, Son WS, Gilbert L, Tan SL. Fertility preservation in women undergoing cancer treatment. *Lancet.* 2004; 363:1829-30.

Son WY, Lee SY, Yoon SH, Lim JH. Pregnancies and deliveries after transfer of human blastocysts derived from in vitro matured oocytes in in vitro maturation cycles. *Fertil Steril.* 2007; 87:1491-3. Epub 2007 Feb 12.

Toth TL, Baka SG, Veeck LL, Jones HW Jr, Muasher S, Lanzendorf SE. Fertilization and in vitro development of cryopreserved human prophase I oocytes. *Fertil Steril.* 1994;61:891-4.

Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature.* 1983; 305:707-9.

Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril.* 1994; 62:353-62.

Wu J, Zhang L, Wang X. In vitro maturation, fertilization and embryo development after ultrarapid freezing of immature human oocytes. *Reproduction.* 2001;121:389-93.

Yang SH, Son WY, Yoon SH, Ko Y, Lim JH. Correlation between in vitro maturation and expression of LH receptor in cumulus cells of the oocytes collected from PCOS patients in HCG-primed IVF cycles. *Hum Reprod.* 2005; 20:2097-103. Epub 2005 May 5.

**2012****FEVEREIRO****04 de fevereiro**

Simpósio: Avanços na Medicina Reprodutiva-  
Interações da clínica com o laboratório  
Local: Hotel Windsor Barra - Rio de Janeiro - RJ  
Apoio: SGORJ E SBRA  
e-mail: ginecologista@cmb.com.br

**ABRIL****11 a 14 de abril**

V Congresso Mineiro de Ginecologia e Obstetrícia/  
XVII Congresso de Ginecologia e Obstetrícia da Região  
Sudeste/ III Colpominas  
Realização: SOGIMIG  
Local: Centro de Convenções Expominas – Belo  
Horizonte/MG  
Informações e inscrições : (31) 3291-9899  
www.cmgo2012.com.br

**21 a 24 de abril**

ASA 37th Annual Meeting - American  
Society of Andrology  
Hilton Tucson El Conquistador/ Tucson, Arizona  
www.asa.org

**MAIO****17 a 20 de maio**

The 2nd International Congress  
on Cardiac Problems in Pregnancy (CPP 2012)  
Local: Berlin - Germany  
www.cppcongress.com

**23 a 25 de maio**

38° Congresso Pernambucano  
de Ginecologia e Obstetrícia  
Local: Centro de Convenções - Olinda - PE  
Realização: SOGOPE  
secretaria@sogope.com.br  
http://www.sogope.com.br

**24 a 26 de maio**

VII Congresso Brasileiro de Climatério e Menopausa  
Realização: SOBRAC – Associação  
Brasileira de Climatério  
Local: São Paulo – SP (Centro de Convenções Frei  
Caneca)  
www.menopausa.org.br

**30 de maio a 01 de junho**

19° Congresso Espírito Santense  
de Ginecologia e Obstetrícia  
Realização: SOGOES  
www.sogoes.com.br

**JUNHO****07 a 09 de junho**

XXXVI Congresso de Ginecologia e Obstetrícia do Rio  
de Janeiro

Local: Centro de Convenções Sulamérica - Av. Paulo de  
Frontin, 1 - Cidade Nova - RJ  
Realização: SGORJ  
sgorj@sgorj.org.br

**13 a 16 de junho**

I Congresso Goiano de Ginecologia e Obstetrícia  
22° Congresso de Ginecologia e Obstetrícia do Brasil  
Central da FEBRASGO  
IV Congresso Internacional de Ginecologia e  
Obstetrícia de Goiás  
37ª Jornada Goiana de Ginecologia e Obstetrícia  
Local: Centro de Convenções de Goiânia-Goiás  
ginecologia@sggo.com.br

**27 a 29 de junho**

45° Congresso de Ginecologia e  
obstetrícia do Distrito Federal,  
6° Congresso Internacional de Ginecologia e  
Obstetrícia do DF e  
1° Congresso Internacional de Controvérsias em  
Ginecologia e Obstetrícia do DF  
Local: Centro de Convenções Ulysses Guimarães –  
Brasília – DF  
www.sgob.com.br

**28 a 30 de junho**

XII Congresso Brasileiro de Ginecologia e Obstetrícia  
da Infância e Adolescência  
Local: Maksoud Plaza Hotel, em São Paulo, SP  
http://www.sogorn.com.br

**JULHO****1 a 4 de julho**

28th Annual Meeting - ESHRE 2012 - Istanbul, Turkey.  
European Society of Human Reproduction and  
Embryology  
www.eshre.org

**18 a 21 de julho**

11° Congresso Brasileiro de Videocirurgia  
Local: Windsor Barra Hotel - Rio de Janeiro – RJ  
e-mail: congresso@sobracil.org.br  
www.sobracil.org.br/congresso

**26 a 28 de julho**

XI Congresso Sul Brasileiro de Urologia  
Hotel Infinity Blue – Recanto das Águas na cidade de  
Balneário Camboriú – SC.  
www.praxis.srv.br

**AGOSTO****15 a 18 de agosto de 2012**

XXII Congresso Brasileiro de Citopatologia  
Local: Mar Hotel - Recife - PE  
http://www.xxiicbc2012.com.br/

**22 a 25 de agosto**

XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida  
Sofitel Jequitimar Guarujá  
http://www.sbra2012.com.br/

## SETEMBRO

### 14 a 17 de setembro

63rd Annual Meeting of the German Society of Urology  
(DGU) Hamburg – Germany  
Organisation: INTERPLAN  
E-mail: 2011@dgu.de  
Website: [www.dgu-kongress.de/index.php?id=571](http://www.dgu-kongress.de/index.php?id=571)

## OUTUBRO

### 7 a 12 de outubro

XX FIGO WORLD CONGRESS OF GYNECOLOGY AND  
OBSTETRICS  
<http://www.figo2012.org/fellowship/>

### 10 a 14 de outubro

XIV Simpósio Brasileiro de Patologia do Trato Genital  
Inferior e Colposcopia e

### V COLPOVIX

Local: Centro de Convenções de Vitória – ES  
Realização: SOGOES  
<http://www.sogoes.com.br>

### 26 a 26 de outubro

84th Congress of the SIU – Rome – Italy  
E-mail: [info@siu.it](mailto:info@siu.it)  
Website: [www.siu.it](http://www.siu.it)

### 25 a 27 de outubro

19º Congresso Baiano de Obstetrícia e Ginecologia  
Local: Bahia Pestana Hotel  
Realização: SOGIBA  
<http://www.sogiba.com.br/>

### 28 a 31 de outubro

XVI Congresso Sul-Brasileiro de Ginecologia e  
Obstetrícia  
I Jornada Sul-Brasileira de Mastologia  
Costão do Santinho Resort - Florianópolis

*Veja a obra de arte que fizemos juntos.*



*Você. Nós. Somos os pais da fertilidade*

# Fertilidade.

**Merck Serono**

SAC Merck Serono: 0800.113320

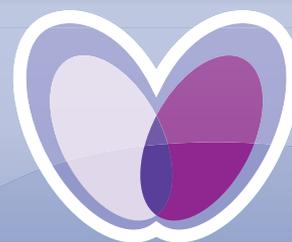
Anúncio veiculado em Maio de 2011.

Merck Serono é uma divisão da Merck.



# 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](http://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

