

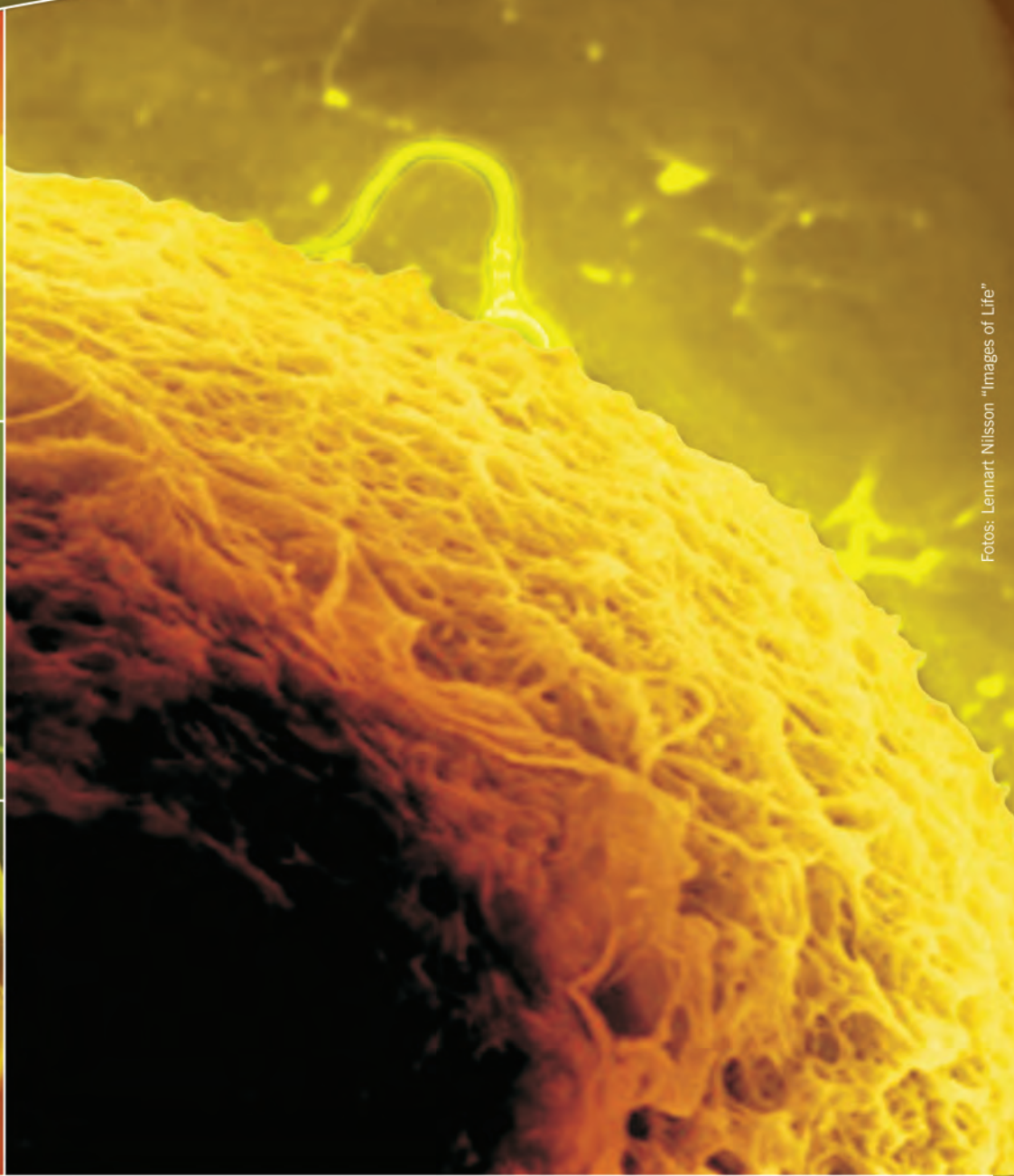
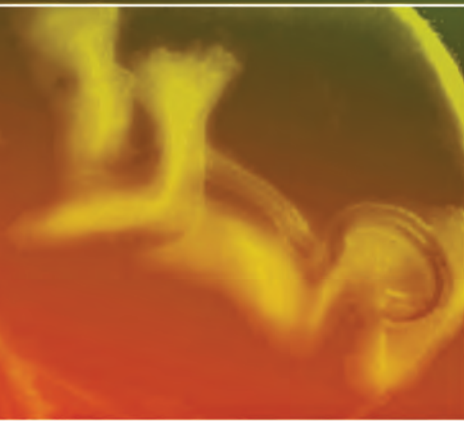
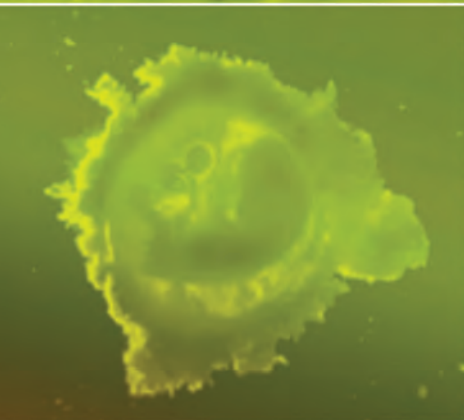
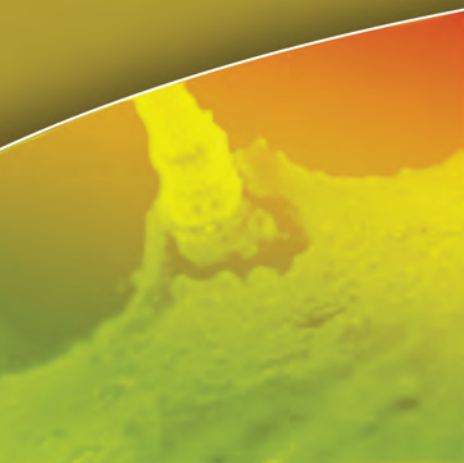
Volume 14  
Number 4  
Oct-Nov-Dec 2010  
ISSN 1517-5693

# JBRA

## Assisted Reproduction



JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA



Fotos: Lennart Nilsson "Images of Life"



*Veja a  
obra de arte  
que fizemos  
juntos.*

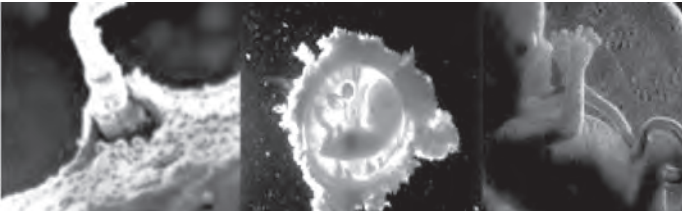


*Fertilidade.*

*Você. Nós. Somos os pais da fertilidade*

**0800.113320**  
Serviço de Atendimento ao Cliente

**MerckSerono**  
Living science, transforming lives



# JBRA

## Assisted Reproduction

---

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

ISSN: 1517-5693 - V. 14 | nº4 | October-November-December / 2010

---

**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 (IRH / PUC MG Brasil)

---

### Consultor Editorial - Editorial Consultant

José Gonçalves Franco Jr (CRH SP Brasil)

---

### Editores Associados – Associate Editors

Edson Borges Jr (Fertility / 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 DF Brasil)

Aguinaldo 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 (OHSB EUA)

Antonio Requena (IVI Madrid Espanha)

Aroldo Camargos (UFMG Brasil)

Bela Zausner (Gênese BA Brasil)

Bruno Scheffer (IBRRA MG Brasil)

Carlos André Henriques (G&O Barra RJ Brasil)

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 (Projeto Alfa SP Brasil)

Juan Manuel Montoya (Conceptum Colombia)

Ivan Valencia Madera (CEMEFES Ecuador)

Karen Sermon (VUB Bélgica)

Leila Montenegro S Farah (Fertility 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 RS Brasil)

Marilena Correa (IMS-UERJ Brasil)

Mario Cavagna (H Perola B/ CRH SP Brasil)

Marisa Decat de Moura (IBBRA/Mater Dei BH Brasil)

Newton Eduardo Busso (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 (Hosp Albert Einstein SP Brasil)

Silvana Chedid Chedid-Grieco (SP Brasil)

Sergio Reis Soares (IVI Lisboa Portugal)

Renato Fanchin (França)

---



*Veja a  
obra de arte  
que fizemos  
juntos.*



*Você. Nós. Somos os pais da fertilidade*

# Fertilidade.

0800.113320  
Serviço de Atendimento ao Cliente

**MerckSerono**  
Living science, transforming lives

**DIRETORIA DA SBRA - 2009/2010****PRESIDENTE**

Adelino Amaral Silva

www.sbra.com.br

**DEPARTAMENTO DE PUBLICAÇÕES****EDITORA**

Maria do Carmo Borges de Souza

**EDITOR ADJUNTO**

Paulo Franco Taitson

e-mail: jornalsbra@cmb.com.br

**PRESIDENTE**

Adelino Amaral Silva

**1º VICE PRESIDENTE**

Bela Zausner

**2º VICE PRESIDENTE**

Condesmar Marcondes de Oliveira

**1º SECRETÁRIO**

Newton Eduardo Busso

**2º SECRETÁRIO**

Lidio Jair Ribas Centa

**1º TESOUREIRO**

Hitomi Miura Nakagava

**2º TESOUREIRO**

Marcelo de Pontes Rocha

**Diretoria da REDLARA - 2009/2010****DIRETOR EXECUTIVO**

Dr. Ernesto Gallardo Lozano

México

E-mail: direjecutiva@redlara.com

www.redlara.com

**VICE DIRETORA EXECUTIVA**

Dra. Maria do Carmo Borges de Souza

Brasil

E-mail: mariadocarmo@cmb.com.br

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

Dr. Carlos Félix Arce

México

carfelar@infosel.net.mx

**REGIÃO:** Bolívia, Chile & Peru

Dr. Fabrizio Vizcarra Alosilla

Peru

favizcarraredlara@gmail.com

**REGIÃO:** Colômbia, Equador & Venezuela

Dra. María Teresa Urbina

Venezuela

E-mail: mturbina@hotmail.com

**REGIÃO:** Argentina, Paraguai & Uruguai

Dr. Gabriel Fiszbajn

Argentina

E-mail: fiszbajn@cegyr.com

**REGIÃO:** Brasil

Dr. 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 trimestral. 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 Journal. 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 confundidos com artigos de atualização. Devem ser compostos de: página de rosto, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, lista de referências, tabelas (se houver), legendas de figuras (se houver) e figuras (se houver).

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

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

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

## PREPARAÇÃO DOS ORIGINAIS

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

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

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

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

## PÁGINA DE ROSTO

A página de rosto deve conter:

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

## RESUMO E ABSTRACT

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

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

## AGRADECIMENTOS

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

## REFERÊNCIAS

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

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

### 1. Artigo de periódico

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

### 2. Livro

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

### 3. Capítulo de livro

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

### 4. Artigo de revista eletrônica

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

### 5. Artigo publicado na Internet:

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

### 6. Site

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

### 7. Software

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

## TABELAS E FIGURAS

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

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

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

Figuras podem ser submetidas eletronicamente, nas extensões .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi (para possibilitar uma impressão nitida), 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 quarterly 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 cuatrimestral. 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 sesiones Introducción, Descripción del caso y Discusión o equivalentes), listado de referencias, notas al pie de imágenes (si hay) e imágenes (si hay).

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

## PREPARO DE LOS ORIGINALES

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



de siglas debe ser evitado.

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

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

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

## HOJA FRONTAL

La hoja frontal debe contener:

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

## RESUMEN Y ABSTRACT

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

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

## AGRADECIMIENTOS

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

## REFERENCIAS

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

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

### 1. Artículo de periódico

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

### 2. Libro

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

### 3. Capítulo de libro

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

### 4. Artículo de revista electrónica

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

### 5. Artículo publicado en Internet:

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

### 6. Sitio web

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

### 7. Software

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

## Tablas y figuras

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

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

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

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

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

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

## ENVÍO DE ARTÍCULOS

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

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

---

**Editorial**

- Formacion del comité de educacion de la RED**  
Dr. Fabrizio Vizcarra Alosilla  
..... 14

---

**Artigo Original**

- Vitrificação de oócitos. Comparação entre duas técnicas.**  
Marília Ferigolo, Anita Mylius Pimentel, Miriam Alice Frantz.  
..... 15
- Intenções de revelar aos filhos sobre a Reprodução Assistida em uma amostra brasileira**  
Gisleine Verlang Lourenço, Pedro Vieira da Silva Magalhães, José Roberto Goldim, Luiz Eduardo T. Albuquerque, Ana Rosa Detilho Monaco, Eduardo Pandolfi Passos.  
..... 21
- Desafios da educação continuada em saúde reprodutiva: integração multiprofissional e inclusão tecnológica**  
Tonia Costa, Michele Pedrosa, Cláudia Waymberg. Goldman, Maria do Carmo Borges de Souza  
..... 24
- Motile sperm binding to egg yolk membrane is an easy and feasible function test for acrosome integrity**  
Criscuolo T, Rocha AM, Semaco E, Serzedelo T, Alegretti JR, Serafini P, Motta ELA  
..... 29

---

**A atenção reprodutiva na rede pública do Rio de Janeiro: um relato do Serviço Social na UFRJ**

- Fátima de Maria Masson, Egléubia Andrade de Oliveira  
..... 33

---

**Artigo de Revisão**

- Fatores Ambientais e Reprodução: Metais (chumbo e cádmio). Fundamentação da pesquisa**  
Maria do Carmo Borges de Souza, Ana Cristina Allemmand Mancebo, Haydee Castro Neves Santos, Ana Lucinda Rito da Costa, Paulo Franco Taitson, Maria de Fatima Ramos Moreira  
..... 38

---

**An overview of non-obstructive etiopathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility**

- Bruno Ramalho de Carvalho, Hitomi Miura Nakagava, Adelino Amaral Silva, Antônio César Paes Barbosa  
..... 43

---

**Relato de Caso**

- Reserva Ovária Disminuída associada a uma translocación críptica no balanceada**  
Coco R., García Estanga P., Ducatelli M.E., Mincman J., Coco I.  
..... 47

---

**Eventos**

- ..... 53

## Formacion del comité de educacion de la RED

A través de estos últimos años hemos ido solidificando nuestra organización con la progresiva creación de comités que aseguren una estable marcha, es así que todo empezó con el deseo de tener una data de la actividad de técnicas de reproducción asistida en América Latina, creándose el Registro, alrededor del que se comenzaron a presentar una serie de preguntas de necesaria evaluación en relación a la capacidad de los centros conformantes en tener esta data comparativa y real, como poder olvidar algunas acaloradas discusiones como la del Taller de Cartagena, así que de aquí nació la acreditación que lejos de realizar su titánico trabajo nos demostró las necesidades de entrenamiento y conocimientos en Latinoamérica, encontrando gente con tremendo potencial a quienes habría que ofrecerles un medio de educación adecuado a nuestra realiza económico-técnica, se formo el Programa de Educación Continua por internet (PEC on line), desde sus inicios los centros conformantes han tenido una variada actividad colaborativa, recibiendo profesionales con el solo contacto directo o a través de los Directores Regionales, hecho que en ocasiones ha movilizad a un gran grupo silente, del que no tenemos idea ni registro, pero importantísimo sobre todo hoy que la industria cuestiona, de manera inquisitiva, su inversión. Haciendo un análisis de la actividad académica en la región nos damos cuenta que realizamos un importante movimiento que debe ser centralizado, no solamente para tener bases explicatorias de la inversión económica en la organización sino y sobre todo optimizar nuestros recursos de diferentes maneras: canalizando los esfuerzos de los centros en formar activamente a sus profesionales , brindar soporte a la realización de los Talleres, actualizar y administrar el PEC on line, interactuar con el Registro y Comité de Acreditación en la necesaria oferta académica a centros integrantes, servir de soporte a los Directores Regionales para el ingreso y promoción de nuevos centros, etc. Con esta nueva incursión se cierra un círculo, por largo esperado en nuestra institución, la creación del comité de educación, es así que la RED, al momento se cimienta en cuatro pilares: 1. El Consejo, 2. El Registro, 3. El Comité de Acreditación y 4. El Comité de Educación.

El comité está integrado por: Fabrizio Vizcarra, Maria do Carmo Borges de Souza, David Vantman, Adriana Grabia, Roberto Coco, María Teresa Urbina, Soledad Sepúlveda y Ana Cristina Allemand Mancebo.

Durante el Taller de Rio, en este año, cada uno de estos estamentos se reunirá por separado y luego en conjunto para coordinar su actividad y sus necesidades, será una dinámica nueva que el Consejo está proponiendo y estoy seguro que la interacción colaborará en la búsqueda de nuestro primario interés: la excelencia.

La RED Latinoamericana de Reproducción Asistida es el más claro ejemplo de esta búsqueda que se representa de manera, aún más pura, por el ingreso "voluntario" de sus miembros, hecho que no solo nos diferencia de otras regiones mundiales sino que demarca nuestra mejor fortaleza, que asegura un sólido presente y marca promisorio y largo futuro.

Saludos a todos

**Dr. Fabrizio Vizcarra Alosilla**

Comité de Educación  
Director Regional



# Vitrificação de oócitos. Comparação entre duas técnicas.

## Vitrification of oocytes. Comparison between two techniques.

Marilia Ferigolo<sup>1,2</sup>, Anita Mylius Pimentel<sup>2</sup>, Miriam Alice Frantz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Citopatologia – Curso de Biomedicina - Universidade Feevale – RS - Brasil.

<sup>2</sup>Núcleo de Reprodução Humana Gerar – Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre –RS – Brasil.

Universidade Feevale

### RESUMO

**Objetivo:** Foram escolhidas para o estudo duas técnicas utilizadas no Brasil para a vitrificação de oócitos. Algumas discussões acerca de qual das duas técnicas apresenta melhores resultados na vitrificação fazem com que as clínicas tenham dúvida na escolha entre elas. O que justifica o estudo é o conhecimento comparado dessas técnicas e o melhor resultado na preservação de oócitos.

**Material e método:** A estratégia de busca incluiu pesquisas em banco de dados "on-line" (MEDLINE e PUBMED) de 1986 a até 2009. Todo estudo controlado publicado sobre características morfofisiológicas de oócitos, crioprotetores e métodos de vitrificação.

**Resultados e conclusão:** comparação entre duas técnicas de vitrificação. Vantagens e desvantagens. Não houve diferenças significativas quanto às taxas de sobrevivência, fertilização, clivagem, implantação e gestação de oócito/embrião quando comparados estudos com as duas técnicas. Os resultados foram satisfatórios mostrando semelhança no desempenho das duas técnicas. Em relação ao custo, não foram observadas diferenças de valores já que as técnicas usam iguais meios e soluções para a vitrificação. As técnicas se diferenciam pela capacidade de volume das palhetas e biossegurança (uma possui um sistema aberto e a outra um fechado). O sistema aberto pode levar a diferenças na qualidade e sobrevivência oocitária, devido ao maior risco de contaminação à célula vitrificada com algum agente patológico, porém, necessita menor volume de meio de criopreservação diminuindo a toxicidade do oócito.

**Palavras-chave:** vitrificação; oócitos; vantagem; desvantagem; palhetas.

### ABSTRACT

**Objective:** Two techniques used in Brazil for the oocyte cryopreservation were chosen for the study. Some discussions about which one achieves the best results in glazing arise a concept that clinics have to choose between them. What justifies the study is the comparative knowledge of these techniques and the best result in the preservation of oocytes.

**Material and method:** For the study the search strategy included searches in the database "online" (MEDLINE e PUBMED) from 1986 until 2009. We looked for every control studies on ovarian morphophysiology, cryoprotectants and vitrification.

**Results and conclusion:** There were no significant differences in survival rates, fertilization, cleavage,

implantation and pregnancy in oocyte/embryo studies when compared with the two techniques. The results were satisfactory showing similarity in the performance of two techniques. Regarding the cost, there were no differences in values since the technique uses the same means and solutions for vitrification techniques differ in the volume capacity of the blades and security (one has an open system and the other a closed one). The open system can be differences in quality and oocyte survival due to increased risk of contamination to the cell glazed with some pathological agent. However, it has less need of smaller volumes of culture medium, which reduces the toxicity of the oocyte.

**Keywords:** cryopreservation, oocytes, advantage, disadvantage; straws.

### INTRODUÇÃO

Em contraste com o rápido desenvolvimento dos processos de criopresevação de células nos anos oitenta e início dos anos noventa, novos avanços com profundas consequências na prática só recentemente foram alcançados (Vajta & Kuwayama, 2006). Nota-se atualmente um significativo ressurgimento do interesse nos potenciais benefícios dos protocolos e técnicas de vitrificação de reprodução assistida (Liebermann, 2002).

A criopreservação de embriões segue como a principal escolha dos casais em tratamento de fertilização *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), porém, a vitrificação de oócitos aparece como uma tendência promissora entre os casais. Provavelmente, à medida que a técnica de congelamento de oócitos apresentar eficácia e segurança sobreponíveis ao congelamento embrionário, esta opção será crescente, apresentando-se como possível resolução para o problema ético, emocional e legal inerente ao congelamento embrionário (Badalotti et al., 2003).

A capacidade de criopreservação de oócitos pode ser uma ferramenta valiosa em técnicas de reprodução humana assistida, representando uma opção para pacientes que sofrem de alguma doença degenerativa ou câncer, tendo seus oócitos coletados antes do início da quimioterapia ou radioterapia com a expectativa de fecundá-los após a recuperação do tratamento (Kuwayama et al., 2005a). O banco de oócitos também proporcionaria às mulheres a opção de adiar e planejar a sua gravidez, além de contornar as preocupações éticas associadas com a preservação do embrião (Lucena et al., 2006). Um dos principais motivos apontados para o adiamento da maternidade é

a exigência profissional. Se o congelamento ultra-rápido (vitrificação) de oócitos for eficiente, estes podem ser recolhidos quando a mulher é jovem e, preservados até que ela decida ter um filho. Além disso, homens que tratam a infertilidade, podem aproveitar-se desta tecnologia (Kuwayama et al., 2005a).

Diferente do congelamento de embriões, muito discutido nos dias de hoje por envolver questões éticas, religiosas, legais e filosóficas, o método de congelamento de oócitos não alimenta polémica. Congelado sozinho, o óvulo é apenas uma célula reprodutora e não uma vida como no caso do embrião. Outra preocupação é o fato dos embriões serem legais e eticamente considerados seres vivos e, por isto, em nenhuma hipótese podem ser descartados (Castellotti & Cambiaghi, 2008; Vajta & Kuwayama, 2006). Para avaliar o conhecimento atual dos resultados médicos para FIV/ICSI, foram revistos os dados de crianças nascidas após a criopreservação, congelamento lento e vitrificação de embriões estágio de clivagem, blastocistos e oócitos. Estima-se que 3,5 milhões de crianças nasceram até 2008 usando tecnologias de reprodução assistida (Wennerholm et al., 2009). Como resultado de um desenvolvimento longo e controverso, um grupo de métodos alternativos de vitrificação provou a sua eficiência e praticidade nos últimos anos, porém o método ideal ainda necessita de pesquisas na tentativa de estabelecer o melhor protocolo. Pesquisadores como Vajta & Kuwayama (2006) acreditam firmemente que o futuro do oócito de mamíferos e criopreservação de embriões será baseado principalmente na vitrificação, e a taxa de progressão será determinada pela taxa de embriologistas que quiseram aprender e reconhecer esta nova abordagem.

O objetivo deste estudo é de comparar duas técnicas de vitrificação utilizadas no Brasil em relação aos resultados obtidos na vitrificação e descongelamento de oócitos e seu custo benefício.

## MATERIAL E MÉTODO

Critérios para a inclusão de estudos: todo estudo controlado publicado sobre características morfofisiológicas de oócitos, crioprotetores e métodos de vitrificação.

Resultado avaliado: comparação entre duas técnicas de vitrificação. Vantagens e desvantagens.

Identificação de estudos: A estratégia de busca incluiu pesquisa em banco de dados "online" (MEDLINE e PUBMED) de 1986 a 2009. Não houve nenhuma restrição quanto ao idioma. As seguintes palavras foram utilizadas para a procura: oocytes, vitrification, cryopreservation, advantage, disadvantage, techniques of vitrification.

## RESULTADOS

### Oócitos

A biologia do oócito oferece muitos desafios para a criopreservação por congelamento ou vitrificação. Só com uma maior atenção às necessidades fundamentais do oócito é que será possível facilitar e direcionar o curso aos esforços para a melhoria das técnicas de vitrificação. (Fahy, 2007).

Sabe-se que quanto melhor a qualidade do oócito, melhor é a sua taxa de sobrevivência. Segundo Veeck (1998) o aspecto normal "ideal" do oócito fértil deveria ser representado pelos seguintes parâmetros: citoplasma claro com granulação moderada, espaço perivitelino pequeno e uma zona pelúcida clara e incolor. Contudo, nem sempre nos deparamos apenas com esses oócitos "ideais" em nossa rotina laboratorial diária.

O oócito humano maduro é uma das maiores células dos mamíferos. Como características distintivas de um oócito maduro, temos: a alta relação superfície x volume,

baixa permeabilidade à água e uma vida curta, se não for fecundado. Para a fertilização, o oócito deve manter a sua estrutura íntegra que é vulnerável às mudanças fisiológicas. Tem sido bem documentado que oócitos sofrem danos reversíveis e irreversíveis durante a criopreservação. Isso inclui alterações como o endurecimento da zona pelúcida (o efeito negativo causado por liberação de grânulos corticais durante a criopreservação) (Palermo et al., 1992; Porcu et al., 1997; Würfel et al., 1999) e da membrana citoplasmática, despolimerização dos microtúbulos e desalinhamento dos cromossomos, além do citoplasma muito granuloso (Wennerholm et al., 2009; Vajta & Zsolt, 2006). Kuwayama (2005a) e Wennerholm (2009) mostraram que oócitos de ratos têm menor permeabilidade aos aditivos crioprotetores, em comparação com zigotos e embriões e que a criopreservação induz o endurecimento da zona pelúcida e liberação prematura do conteúdo de grânulos corticais inibindo assim a penetração do espermatozóide e fecundação.

A partir do estudo de Chen (1986), que obteve a primeira gravidez de oócitos congelados, os resultados oriundos dos estudos mostraram uma alta variabilidade de achados. Gook et al. (1993) relataram taxas de sobrevivência de oócitos, de clivagem embrionária, e de gravidez decrescentes (76%, 60%, e 28,5%, respectivamente), indicando que a técnica de congelamento lento provocava alterações importantes na sobrevivência, fertilização, clivagem, implantação, fecundação e viabilização da gravidez.

Outro relato de nascimento a partir de um oócito congelado foi em 1997, utilizando a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Com este estudo foi possível verificar um aumento na taxa de fertilização e gravidez, mas sem diferenças na taxa de sobrevivência dos oócitos (Porcu et al., 1997). Em outro estudo, Polak et al. (1998) obtiveram uma taxa de sobrevivência de 30%, uma taxa de fertilização de 66,6%, e uma gravidez de um total de 10 óvulos congelados.

Existem relatos controversos a respeito da relação entre a morfologia do oócito e o estímulo ovariano, idade da paciente, diferentes patologias, taxas de fertilização, qualidade dos pré-embriões formados e taxas de gestação. Mas a idade da mulher parece ser um fator relevante, pois a incidência de aneuploidia em oócitos de pacientes com idade superior a 35 anos é de cerca de 38% e, em pacientes mais jovens, 24%. Considerando-se que a idade tenha um efeito sobre o material genético do oócito, é possível especular uma extensão desse efeito sobre a qualidade do oócito como um todo. Contudo, poucos estudos correlacionaram a idade da paciente à morfologia oocitária (Perin et al., 2004).

Recentemente um grande avanço foi atingido quando oócitos vitrificados obtiveram desenvolvimento embrionário após a ICSI, onde de um total de 29 transferências de embriões, 12 gestações foram obtidas, resultando no nascimento de 10 bebês saudáveis. O sucesso pode ser atribuído ao resfriamento extremamente rápido e com taxas muito elevadas, pelo volume mínimo de crioprotetor em altas concentrações e pelo sistema de transporte pequeno (palheta de congelamento), bem como pelos parâmetros de incubação cuidadosamente selecionados que minimizam os efeitos tóxicos e osmóticos, proporcionando proteção ao oócito como um todo (Kuwayama et al., 2005a).

### Crioprotetores

São meios utilizados no processo de vitrificação com a finalidade de tornar o oócito vítreo no menor tempo possível, pois são muito tóxicos o que pode ocasionar a morte celular.

A vitrificação tem se tornado comum para a criopreservação de oócitos. A viabilidade, a importância dos tempos de incubação específicos para a recuperação do oócito, a sobrevivência e clivagem tem sido estudadas (Kartberg, 2008). Em geral, a vitrificação é realizada principalmente com o uso de crioprotetores, os mesmos que são aplicados em métodos de congelamento lento. No entanto, a escolha da adequada composição é diferente nos diversos protocolos. Como consequência das altas concentrações requeridas de crioprotetores, as pesquisas têm o objetivo de diminuir os danos tóxicos e osmóticos causados nas células (Vajta & Zsolt, 2006).

Congelamento e descongelamento de suspensões celulares são, na maioria das circunstâncias, relevantes para a obtenção de resultados satisfatórios na técnica como um todo. Acredita-se que os danos resultem dos efeitos indiretos da formação de gelo e não de efeitos diretos, como nas células germinativas enrugadas ou adesão ao gelo (Fahy, 2007).

Uma desvantagem percebida é o uso de altas concentrações de crioprotetores, levando a desidratação intensa e encolhimento da célula (Kartberg, 2008). Várias abordagens foram utilizadas, como encontrar o crioprotetor menos tóxico e muito permeável. Uma abordagem bem sucedida foi a utilização da combinação de dois ou mais crioprotetores para diminuir a toxicidade individual das células. Pelo menos um dos crioprotetores deve ser permeável e um ou dois impermeáveis (Kuwayama et al., 2005b; Vajta & Zsolt, 2006).

Componentes permeáveis a células como etileno glicol, propileno glicol, acetamida, glicerol e dimetilsulfóxido (DMSO), foram testados em várias combinações (de la Pena et al., 2001; Kasai & Mukaida, 2004), eventualmente a mistura de etileno-glicol e DMSO parece ser a escolha mais reconhecida (Ishimori et al., 1992a, b, 1993). Segundo algumas investigações, a permeabilidade da mistura é maior do que quando os componentes individuais são usados (Vicente & Garcia, 1994).

Dos crioprotetores não-permeáveis, os mono e dissacarídeos, incluindo a sacarose, trealose, glicose e galactose são os principais. Recentemente, a sacarose tornou-se quase como um componente padrão de vitrificação adicionada de etileno glicol, embora tenha sido, por um longo tempo, contestada em favor da trealose. A sacarose, como outros açúcares, pode não ter qualquer efeito tóxico em baixas temperaturas, mas pode comprometer a sobrevivência do embrião, quando aplicada para compensar o inchaço de embriões após descongelamento (Kasai, 1986; Kasai et al., 1992; Vajta et al., 1997). Em uma abordagem recente, a injeção de trealose em citoplasma de oócitos, resultou em melhora da sobrevivência após a criopreservação (Eroglu et al., 2002). A trealose é rapidamente eliminada do citoplasma e não parece comprometer o desenvolvimento (Eroglu et al., 2005).

Durante o processo de congelamento, pode ocorrer fratura da zona pelúcida e da membrana citoplasmática. Os fusos meióticos são altamente sensíveis a mudanças de temperatura, especialmente ao resfriamento, as fraturas podem levar à interrupção dos fusos meióticos, a dispersão dos cromossomos e, possivelmente, ao aumento do risco de aneuploidia (Perin et al., 2004). Estudos anteriores e atuais demonstraram o efeito benéfico do DMSO na polimerização do eixo, portanto, o uso de DMSO para a criopreservação de oócitos parece ter um efeito protetor (Wennerholm et al., 2009). Ele protege as células da formação de gelo intracelular, é relativamente polar e tem uma estrutura pequena e compacta, que lhe permite penetrar em tecidos vivos rapidamente, sem causar danos significativos.

## Vitrificação

É um processo de congelamento mais rápido que o convencional congelamento lento. Por ser rápida, a técnica de vitrificação favorece a integridade do oócito que fica menos exposto aos crioprotetores usados. Mergulham-se as palhetas contendo os oócitos diretamente em nitrogênio líquido, sem precisar controlar taxas de congelamento como na criopreservação lenta. São utilizadas taxas ultra-rápidas de congelamento e aquecimento que variam para o congelamento de -15,000 a -30,000 °C/min e para o aquecimento de +20,000 a +24,000 °C/min. Como vantagens da técnica temos: procedimento simples, barato (não requer aparelhos caros e sofisticados para o processo) e rápido, resultando em maiores taxas de sobrevivência e de desenvolvimento que podem ser obtidas com métodos alternativos (Vajta, & Zsolt, 2006).

A vitrificação, por ser um método ultra-rápido de congelamento, que vitrifica sem a formação de cristais de gelo em torno das células tornou-se uma alternativa e, recentemente, seu sucesso tem aumentado as expectativas em diversas áreas de conhecimento envolvidas com a preservação de gametas e embriões. Uma das desvantagens da técnica de criopreservação lenta é a formação de cristais de gelo que podem provocar injúrias tóxicas e alterações morfológicas que prejudicam o desenvolvimento das células, tanto em oócitos como embriões e outros tecidos (Assaf, 2003). Os autores não encontraram qualquer circunstância em criopreservação de oócitos ou embriões por congelamento lento oferecendo vantagens consideráveis em comparação com a vitrificação. Na esmagadora maioria das publicações os dados comprovam que os métodos mais recentes de congelamento ultra rápido são mais eficientes e confiáveis do que qualquer versão de congelamento lento. Recentemente resultados alcançados usando congelamento ultra-rápido parecem convencer mais, e mais profissionais, sobre as vantagens da técnica, refletido pelo número crescente de publicações e também pelo número de Kits comerciais introduzidos para a vitrificação (Vajta & Zsolt, 2006).

A disponibilidade da rotina utilizando nitrogênio líquido tem facilitado o uso de técnicas de criopreservação em uma ampla gama de aplicação. O nitrogênio é fácil de lidar e seguro quando usado com cuidado apropriado, porém as condições de biossegurança e os cuidados com infecção cruzada precisam ser mantidos (Fuller & Paynter, 2004). Uma série de preocupações tem sido levantada sobre o risco potencial de oócitos e embriões humanos a partir da exposição aos contaminantes que já estão presentes no nitrogênio líquido no momento da vitrificação, ou potencialmente introduzido nos mesmos durante o armazenamento em recipientes abertos (Kuwayama et al., 2005b). Mesmo em condições experimentais existem estudos demonstrando absorção involuntária de agente patogênico durante vitrificação ou armazenamento pelo embrião ou oócito (Bielanski et al., 2000).

Há um risco de contaminação quando os oócitos são colocados em contato direto com nitrogênio líquido. Tedder et al. (1995) relataram que amostras de medula óssea foram contaminadas com o vírus da hepatite B durante o armazenamento. Procedimentos que evitem o risco de infecção devem ser desenvolvidos antes da criopreservação de oócitos (Wu et al, 2001).

## As Técnicas

As primeiras tentativas de vitrificação utilizando palhetas de 0,25 ml, as mesmas utilizadas em congelamento lento de embriões, não obtiveram sucesso. A primeira gravidez obtida por Kuleshova et al. (1999) pela vitrificação utilizou uma palheta plástica (sistema aberto)



puxada até ficar bem fina (Open Pulled Straw - OPS), técnica utilizada anteriormente por Vajta et al. (1998) em embriões bovinos. Atualmente, os princípios da OPS são usados em muitas versões, superfina OPS (Isachenko et al., 2000), micropipetas de vidro (Kong et al., 2000), pipetas de desnudação flexíveis (Liebermann et al., 2002), micropipetas plásticas de diâmetro fino (Cremades et al., 2004, Hredzak et al., 2005), entre outras. As versões mais recentes da OPS não conseguem reproduzir bons resultados devido à dificuldade de manipulação da palheta, principalmente durante o aquecimento.

Existem vários protocolos para vitrificação de oócitos, no Brasil, duas técnicas são muito utilizadas nas clínicas de reprodução assistida, a Cryotip® (método americano) e a Vitri-Ingá® (método brasileiro).

Para o congelamento, os oócitos são transferidos para uma solução de equilíbrio que contém 7,5% de etilenoglicol e 7,5% de (DMSO), 20% de soro sintético bovino (SSS) em HTF-HEPES (*Human Tubal Fluid* modificado com sistema tampão). Os oócitos são equilibrados nessa solução por 5-15 minutos. Após este tempo, os oócitos são passados em quatro gotas de solução de vitrificação permanecendo por 5 a 15 segundos em cada gota. O tempo que os oócitos permanecem nesta última solução, até a imersão em nitrogênio, não pode exceder de 90 segundos (Almodin et al., 2010; Cryopreservation Protocols, 2006).

A solução de vitrificação é constituída de 15% de etilenoglicol, 15% de DMSO, sacarose 0,5M e 20% de soro sintético bovino (SSS) em HTF-HEPES.

Quando descongelados, os oócitos são transferidos para a solução de aquecimento que contém sacarose 1.0M, 20% (de SSS) em HTF-HEPES. Após um minuto os oócitos são transferidos para solução diluente contendo sacarose 0,5M, 20% (de SSS) em HTF-HEPES por 2 minutos à temperatura ambiente. São então lavados em HTF-HEPES com 20% de SSS por 3 vezes, 2 minutos cada.

A concentração dos meios e soluções para vitrificação e descongelamento tanto no método americano quanto no brasileiro são semelhantes; os tempos e volumes que diferem. Após o aquecimento dos oócitos, a avaliação da sobrevivência é realizada através do critério morfológico. A sobrevivência dos oócitos é definida pela re-expansão do mesmo, tendo mantido membrana celular intacta, citoplasma normal e zona pelúcida, bem como o espaço perivitelinico de tamanho normal (Almodin et al., 2009; Cryopreservation Protocols, 2006).

Na técnica Vitri-Ingá os oócitos são colocados na palheta de vitrificação, que consiste em uma haste de polipropileno com uma extremidade muito fina (0.7 mm de espessura) conectada a outra extremidade mais grossa. Os oócitos são depositados na haste, com o mínimo volume de solução de vitrificação, e então imediatamente imersos em nitrogênio líquido (Fachini et al., 2008).

O Vitri-Ingá® utiliza um pouco do princípio de uma outra abordagem, "o Cryoloop®", que consiste em uma pequena alça de nylon preso a um suporte e equipado com um protetor. O filme de solução que se forma em torno do orifício da alça é forte o suficiente para manter o oócito ou embrião e com esse volume mínimo de solução as taxas de resfriamento podem ser extremamente maiores (Isachenko et al., 2003).

No método brasileiro há um pequeno orifício onde o oócito ou embrião fica suspenso com um volume muito pequeno de líquido. O aparato usado é importante principalmente durante o aquecimento (Fachini et al., 2008).

O método de vitrificação proposto e estudado parece ser uma boa opção devido às altas taxas de sobrevivência e fertilização após ICSI. Em um estudo publicado recentemente

te os oócitos excedentes de punções foram vitrificados e somaram um total de 258 oócitos. Dos oócitos aquecidos, 215 sobreviveram (83%) e destes 214 foram submetidos a ICSI. Um oócito não teve qualidade suficiente para ser injetado. Dos oócitos injetados, 164 fertilizaram (76,6%) e desenvolveram embriões. Treze pacientes tornaram-se grávidas após a transferência embrionária (24,5%) e não houve nenhum caso de aborto (Fachini et al., 2008).

Já a Cryotip® é uma palheta fechada com diâmetro interno de aproximadamente 200 µm, possui maior volume, aproximadamente 1 µL. É um sistema fechado seguro e é selado em ambas extremidades. Apresenta design de canudo plástico com pontas ultrafinas e uma capa protetora de metal, garantindo que as amostras não entrem em contato direto com o nitrogênio líquido ou outras potenciais fontes de contaminação (Irvine Scientific - Spetrun, 2009; Kuwayama et al., 2005b).

De acordo com o manual da Irvine Scientific - Spetrun (2009), resultados obtidos com a técnica Cryotip® em uma clínica de Tóquio no Japão em 2004 demonstram 37 e 88 embriões vitrificados em estágio de clivagem e blastocisto respectivamente. Sobrevivência de 100 (37) e 93,2% (82), embriões transferidos de 29 e 82%. As taxas de gravidez foram de 48,3% (14) e 51,2 (42), respectivamente. As taxas de aborto foram de 14,3% (2) e 7,1% (3) e as taxas de nascimento de 41,4% (12/29) e 47,6% (82). Kuwayama et al. (2005b) compararam que nos sistemas de vitrificação fechados e abertos não há diferença no que diz respeito a sobrevivência de blastocistos, encontrando 93 e 97% para CryoTip® e Cryotop® (sistema aberto), respectivamente. Para gravidez, 51 e 59%, respectivamente e nas transferências, 48 e 51% respectivamente. A vitrificação é um método simples, eficiente e melhora as taxas de gravidez acumulada por ciclo. O uso do sistema fechado CryoTip® elimina o potencial de contaminação do oócito/embrião durante a criopreservação e armazenamento, sem comprometer a sobrevivência e as taxas de desenvolvimento *in vitro* e *in vivo*.

Para aumentar a velocidade do resfriamento tenta-se diminuir o volume de solução de congelamento a qual os oócitos ou embriões seriam vitrificados utilizando-se vários tipos de palhetas. O ponto principal na obtenção de bons resultados com a vitrificação é o aparato usado, que deve permitir a possibilidade de vitrificar o embrião em um volume de líquido muito pequeno e permitir também que o procedimento seja realizado com bastante rapidez (Kuwayama et al., 2005a).

A utilização da palheta aberta (Vitri-Ingá®) levanta o problema quanto à possível contaminação com o nitrogênio líquido, que é provavelmente um argumento contra o seu uso em humanos. Para minimizar o risco de contaminação tem-se utilizado nitrogênio "virgem" nos procedimentos de vitrificação, entretanto, outra opção, na tentativa de eliminar o risco de transmissão de doenças seria o uso de nitrogênio filtrado com filtro de 0,22 µm (Fuller & Paynter, 2004; Kuwayama et al., 2005b; Fachini et al., 2008).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta e reforça a grande importância que a vitrificação tem no cenário de pesquisa na área de reprodução humana. A técnica garante qualidade ao oócito que está sendo criopreservado, oferecendo boas condições morfológicas após o descongelamento, obtendo assim, um embrião saudável depois das técnicas de ICSI. A vitrificação de oócitos não gera problemas éticos e legais, oferece boas oportunidades reprodutivas a seus pacientes, porém a mesma tem um alto custo, tanto para quem oferece e para quem necessita desta técnica.

Na comparação do uso das palhetas diferentes em cada

técnica, não foram observadas diferenças significativas quanto às taxas de sobrevivência, fertilização, clivagem, implantação e gestação de oócito/embrião. Os resultados dos estudos analisados foram satisfatórios para as duas técnicas.

A maior diferença entre as técnicas está no volume das palhetas. CryoTip® possui capacidade interna maior, ou seja, maior quantidade de meio utilizado para a vitrificação, que acaba expondo os oócitos a maiores taxas de toxicidade. Esta palheta também possui um custo bastante elevado, principalmente por ser produzida no exterior. A haste brasileira utiliza uma pequena gota de meio e seu excesso na palheta ainda pode ser retirado. Utilizando uma menor quantidade de meio, se tem menos toxicidade e maiores chances de sobrevivência da célula. Esta sobrevivência das células também se dá pela garantia de qualidade, pureza, ausência de contaminantes e procedência dos meios de cultivo. Outra diferença é em relação a biossegurança. A haste brasileira é um sistema aberto que pode expor o oócito a agentes patogênicos, porque é colocada diretamente no nitrogênio líquido e em seguida é fechada, mas não selada. A CryoTip® é selada antes da exposição ao nitrogênio, garantindo assim o isolamento da célula.

Concluímos que os dois métodos são eficientes e geram taxas semelhantes de sobrevivência, fertilização, clivagem e gestação. A escolha do método deve-se dar pela habilidade de próprio embriologista com cada técnica.

#### Endereço para Correspondência:

Marília Ferigolo. Pinheiro Machado 133/201. Independência. CEP: 90035-180. Porto Alegre - RS - BR. (55) xxx (51) 9604 3373. miaferigolo@yahoo.com.br.

#### REFERÊNCIAS

Almodin, CG; Câmara, VCM; Paixão, CL; Pereira, PC. Embryo development and gestation using fresh and vitrified oocytes. *Human Reproduction*. 2010; 00(0): 1-7.

Assaf, SS; Rodrigues, JL. Vitrificação de embriões *Mus domestica* contidos em volumes diferentes de 9,0 M de etileno glicol. 2003. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, na área de concentração em reprodução animal) - Faculdade de veterinária, Universidade do Rio grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

Badalotti, M; Farinati, D; Arent; Petracco, R; Petracco, A. Destino dos Oócitos Excedentes nos Programas de Fertilização Assistida. *Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida*. Pôster. 2003; 7 (2).

Bielanski, A; Nadin-Davis, S; Sapp, T; Lutze-Wallace, C. Viral contamination of embryos cryopreserved in liquid nitrogen. *Cryobiology*. 2000; 110-116.

Castellotti, DS; Cambiaghi, AS. Preservação da fertilidade em pacientes com câncer. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo. 2008; 30 (5): 406-410.

Chen, C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*. 1986; 884 - 886

Cremades, N; Sousa, M; Silva, J; Viana, P; Sousa, S; Oliveira, C; Teixeira da Silva, J; Barros, A. Experimental vitrification of human compacted morulae and early blastocysts using fine diameter plastic micropipettes. *Human Reproduction*. 2004; 19(2): 300-305.

Cryopreservation Protocols. In: *In-vitro Fertilization Procedural Manual*. Irvine Scientific - Spetrun. California. 2006; 1-20.

De la Pena, EC; Takahashi, Y; Atabay, EC; Katagiri, S; Nagano, M. Vitrification of mouse oocytes in ethylene glycol-*raffinose* solution: effects of preexposure to ethylene glycol or *raffinose* on oocyte viability. *Cryobiology*. 2001; 42: 103-111.

Eroglu, A; Toner, M; Toth, TL. Beneficial effect of microinjected trehalose on the cryosurvival of human oocytes. *Fertility and*

*Sterility*. 2002; 77: 152-158.

Eroglu, A; Elliott, G; Wright, DL; Toner, M; Toth, TL. Progressive elimination of microinjected trehalose during mouse embryonic development. *Reproductive Biomedicine Online*. 2005; 10: 503-510.

Fachini, FC; Almodin, CG; Câmara, VCM; Moron, AF; Nakano, R; Shimabukuru, L. et al. Vitri-Ingá: Um Novo Protocolo De Vitrificação. *Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida*. 2008; 12 (4): 16-19.

Fahy, GM. Theoretical considerations for oocyte cryopreservation by freezing. *Reproductive Biomedicine Online*. 2007; 14 (6) 709-714

Fuller, B; Paynter, S. Fundamentals of cryobiology in reproductive medicine. *Reproductive Biomedicine Online*. Reino Unido. 2004; 9 (6): 680-689.

Gook, D; Osborn, S; Johnston W. Cryopreservation of mouse and human oocytes using 1,2 propanediol and the configuration of the meiotic spindle. *Human Reproduction*. 1993; 8:1101- 09.

Hredzák, R; Ostró, A; Zdilová, V; Toporcerová, S; Kacmárik, J. Clinical experience with a modified method of human embryo vitrification. *Ceska Gynekol*. 2005; 70 (2): 99-103.

Irvine Scientific - SPETRUM. Workshop de Vitrificação. 2009. CD-ROOM.

Isachenko, VV; Alabart, JL; Isachenko, EF; Bezugly, ND; Michelmann, HW. Ultra-rapid freezing and storage of rat embryos in an electric refrigerator at -130°C degree without liquid cryo-agents, with ultra-short exposure in the freezing medium and direct rehydration after thawing. *Cryo Letters*. 2000; 21 (1): 13-18.

Isachenko, E; Isachenko, V; Katkov, II; Dessole, S; Nawroth, F. et al. Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past partial difficulties to present success. *Reproductive Biomedicine Online*. 2003; 6: 191-200.

Ishimori, H; Takahashi, Y; Kanagawa, H. Viability of vitrified mouse embryos using various cryoprotectant mixtures. *Theriogenology*. 1992a; 37: 481-487.

Ishimori, H; Takahashi, Y; Kanagawa H. Factors affecting survival of mouse blastocysts vitrified by a mixture of ethylene glycol and dimethylsulfoxide. *Theriogenology*. 1992b; 38: 1175-1185.

Ishimori, H; Saeki, K; Inai, M; Nagao, Y; Itasaka, J; Miki, Y. et al. Vitrification of bovine embryos in a mixture of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide. *Theriogenology*. 1993; 40: 427-433.

Kartberg, AJ; Hambiliki, F; Arvidsson, T; Stavreus-Evers, A; Svalander, P. Vitrification with DMSO protects embryo membrane integrity better than solutions without DMSO. *Reproductive Biomedicine Online*. 2008; 17 (3): 378-384.

Kasai, M. Nonfreezing technique for short-term storage of mouse embryos. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*. 1986; 3: 10-14.

Kasai, M; Nishimori, M; Zhu, SE; Sakurai, T; Machida, T. Survival of mouse morulae vitrified in an ethylene glycol-based solution after exposure to the solution at various temperatures. *Biology of Reproduction*. 1992; 47: 1134-1139.

Kasai, M; Mukaida, T. Cryopreservation of animal and human embryos by vitrification. *Reproductive Biomedicine Online*. 2004; 9: 164-170.

Kong, IK; Lee, SI; Cho, SG; Cho, SK; Park, CS. Comparison of open pulled straw (OPS) vs glass micropipette (GMP) vitrification in mouse blastocysts. *Theriogenology*. 2000; 53 (9): 1817-26.

Kuleshova, LL; Gianaroli, L; Magli, C; Trouson, A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes. *Human Reproduction*. 1999; 14:3077-3079.

Kuwayama, M; Vajta, G; Kato, O; Leibo, SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reproductive Biomedicine Online*. 2005a; 11 (3) 300-308.

Kuwayama, M; Vajta, G; Ieda, S; Kato, O. Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the

- elimination of potential contamination. *Reproductive Biomedicine Online*. 2005b 11(5): 608-614.
- Liebermann, J; Tucker, MJ; Graham, JR; Han, T; Davis, A; Levy, MJ. Blastocyst development after vitrification of multipronuclear zygotes using the Flexipet denuding pipette. *Reproductive Biomedicine Online*. 2002; 4 (2): 146-50.
- Lucena, E; Bernal, DP; Lucena, C; Rojas, A; Moran, A; Lucena, A. Successful ongoing pregnancies after vitrification of oocytes. *Fertility and Sterility*. 2006; 85 (1); 108-111.
- Palermo, G; Joris, H; Devroey, P; Van Steirterghem A. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoa. *Lancet*. 1992; 340 (8810): 17-18.
- Perin, P; Mancebo, AC; Alegretti, JR. O óocito. In: Wonchockier, Roberta. I Consenso Brasileiro de Embriologia em Medicina Reprodutiva. São Paulo: Constantino K. Riemma; 2004. 2: p.11-26.
- Polak de Fried, E; Notrica, J; Rubinstein, M; Marazzi, A; Gómez, MG. Pregnancy after human donor oocyte cryopreservation and thawing in association with intracytoplasmic sperm injection in a patient with ovarian failure. *Fertility and Sterility*. 1998; 69: 555-557.
- 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. *Fertility and Sterility*. 1997; 68: 724-726.
- Tedder, RS; Zuckerman, MA; Goldstone, AH; Hawkins, AE; Fielding, A; Briggs, EM; Irwin, D; Blair, S; Gorman, AM; Patterson, KG. et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. *Lancet*. 1995; 346: 137-140
- Vajta, G; Holm, P; Greve, T; Callesen, H. Survival and development of bovine blastocysts produced in vitro after assisted hatching, vitrification and in-straw direct rehydration. *Journal of Reproduction and Infertility*. 1997; 111: 65-70.
- Vajta, G; Holm, P; Kuwayama, M; Booth, PJ; Jacobsen, H; Greve, T. et al. Open Pulled Straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Molecular Reproduction and Development*. 1998; 51(1): 53-8.
- Vajta, G; Zsolt, PN. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. *Reproductive Biomedicine Online*. 2006; 12 (6): 779-796.
- Vajta, G; Kuwayama, M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology*. 2006; 65: 236-244.
- Veeck, LL. Oocyte assessment and biological performance. *Ann N Y Acad Sci*. 1998; 541: 259-274.
- Vicente, JS; Garcia, FX. Osmotic and cryoprotective effects of a mixture of DMSO and ethylene glycol on rabbit morulae. *Theriogenology*. 1994; 42: 1205-1215.
- Wennerholm, UB; Soderstrom-Anttila, V; Bergh, C; Aittomaki, K; Hazekamp, J; Nygren, KG; Selbing, A; Loft, A. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Human Reproduction*. 2009; 24 (9): 2158-2172.
- Wu, J; Zhang, L; Wang, X. In vitro maturation, fertilization and embryo development after ultrarapid freezing of immature human oocytes. *Journal of Reproduction and Infertility*. 2001; 121: 389-393.
- Wüfel, W; Schleyer, M; Krüsmann, G; Hertwig, IV; Fiedler, K. Fertilization of cryopreserved and thawed human oocytes by injection of spermatozoa (ICSI) – medical management of sterility and case report of a twin pregnancy. *Zentralblatt für Gynakologie*. 1999; 121: 444-448.

# Intenções de revelar aos filhos sobre a Reprodução Assistida em uma amostra brasileira

Intent to disclose the use of an assisted reproduction method in a Brazilian sample

Gisleine Verlang Lourenço<sup>1</sup>, Pedro Vieira da Silva Magalhães<sup>2</sup>, José Roberto Goldim<sup>3</sup>, Luiz Eduardo T. Albuquerque<sup>4</sup>, Ana Rosa Detilio Monaco<sup>5</sup>, Eduardo Pandolfi Passos<sup>5</sup>.

Mestre em Ciências Médicas (UFRGS). Hospital de Clínicas de POA.

<sup>2</sup>Mestre em Epidemiologia (UFPEL). Hospital de Clínicas de POA;

<sup>3</sup>Doutor em Ciências Médicas. Hospital de Clínicas de POA.

<sup>4</sup>Mestre em Ginecologia. FERTIVITRO: Centro de Reprodução Humana. SP

<sup>5</sup>Livre Docente. SEGIR: Serviço de Ecografia Genética e Reprodução Humana e Hospital de Clínicas de POA.

Instituições Envolvidas na pesquisa: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Clínica (SEGIR) Serviço de Ecografia, Genética e Reprodução Humana em Porto Alegre e Centro de Reprodução Humana (FERTIVITRO) em São Paulo

## RESUMO

**Objetivo:** Trata-se de estudo inédito em amostra brasileira que avalia se pais brasileiros que utilizaram alguma técnica de Reprodução Assistida tem a intenção de revelar ao filho (a) a forma de concepção utilizada.

**Método:** Estudo transversal multicêntrico. Aceitaram participar voluntariamente do estudo 37 mães e 28 pais que responderam a um questionário semi-estruturado de cinco perguntas que questionavam o interesse de contar ou não ao filho, parentes, amigos e sobre a concordância entre o casal acerca deste assunto.

**Resultados:** Das 65 pessoas entrevistadas, 63 manifestaram claro interesse em revelar ao(s) filho(a)(s) o método de concepção utilizado, ou seja, 96,8% da amostra.

**Conclusão:** tanto as mães quanto os pais, independente do grau de instrução, classe econômica, tipo de técnica de Reprodução Assistida adotada, preferem relatar aos filhos sobre a forma de concepção quando eles crescerem. Isto está em claro contraste com amostras internacionais.

**Palavras Chaves:** Técnicas Reprodutivas Assistidas

## ABSTRACT

**Objective:** this is the first study in a Brazilian sample evaluating whether parents using assisted reproduction have the intention to reveal to their offspring how the conception took place.

**Method:** cross-sectional multicentric study. Thirty seven mothers and 28 fathers completed a questionnaire consisting of five items asking whether they intended to reveal the method of conception to their son/daughter, relatives and friends and the agreement of the couple on the issue.

**Results:** sixty-one out of the 65 persons (96.8%) interviewed had the intention of revealing the method of conception used.

**Conclusion:** both mothers and fathers, independently of

*years of education, social class and assisted reproduction technique demonstrated the intention to reveal the method of conception, This is in clear contrast to international samples.*

**Keywords:** Reproductive Techniques, Assisted

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de técnicas de Reprodução Assistida tem permitido que casais consigam alcançar a gravidez. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a infertilidade é um problema vivido por 8% a 15% dos casais. No Brasil, estima-se que mais de 278 mil casais tenham dificuldade de gerar um filho em algum momento de sua idade fértil (Ministério da Saúde). A inseminação artificial (IA), a transferência intratubária de gametas (GIFT), a transferência intratubária de zigotos (ZIFT) e a fertilização *in vitro* seguida de transferência de embriões (FIVETE) são as técnicas mais utilizadas atualmente. Qualquer dessas técnicas pode ser utilizada de forma homóloga ou heteróloga conforme a proveniência do material biológico utilizado. A inseminação é homóloga quando realizada com o sêmen do próprio companheiro e heteróloga, quando feita com sêmen originário de terceira pessoa (Passos, Freitas et al, 2003). Ainda assim, a Reprodução Assistida carrega uma série de fatores de estresse. A trajetória do casal que busca auxílio para a resolução de seu problema procriativo é, muitas vezes, longa e dolorosa. Alguns exames são de caráter invasivo, associados à fantasia de riscos e complicações; os insucessos dos procedimentos geram abalo na auto-estima; a internação hospitalar para exame diagnóstico ou ato cirúrgico é cercada de carga estressante, podendo interferir no resultado do tratamento (Freitas, 2008). Amostras de outros países revelaram que não há uma intenção e mesmo uma clara convicção em manifestar a criança ou parentes que a gravidez foi conquistada por método não natural. Não há estudos em amostras brasi-



leiras sobre os padrões de relato dos pais, a qualidade de relacionamento com seus filhos e as implicações na adequação sócio-emocional.

## OBJETIVOS

Diante do ineditismo do tema em solo brasileiro o presente estudo deseja verificar como pais brasileiros se posicionam frente à temática que está situada em relação ao contar ou não aos filhos sobre o método utilizado.

## MÉTODO

Estudo transversal, desenvolvido em quatro locais: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Clínica (SEGIR) Serviço de Ecografia, Genética e Reprodução Humana, em Porto Alegre particular e Centro de Reprodução Humana (FERTIVITRO) em São Paulo. Este estudo incluiu somente famílias homólogas. De um total de 65 pessoas contatadas aceitaram participar voluntariamente do estudo 37 mães e 28 pais (83.3%). Em todas as famílias que o pai aceitou participar, também aceitou a mãe. Eles responderam a um questionário semi-estruturado de cinco perguntas que questionavam o interesse de contar ou não ao filho, parentes, amigos e sobre a concordância entre o casal acerca deste assunto.

As entrevistas foram feitas por duas pesquisadoras, uma em Porto Alegre e a outra de São Paulo. O questionário foi auto-administrado e o tempo de duração de cada entrevista variou entre 15 a 20 min.

## RESULTADOS

A Tabela mostra as características demográficas das mães e pais incluídos. Das 65 pessoas entrevistadas, apenas 2 manifestaram afirmaram que não revelariam ao(s) filho(a)(s) o método de concepção utilizado. Entre um total de 37 mães, 34 responderam que sim, uma respondeu que não e duas não pensaram a respeito. Em relação à mesma pergunta, 24 de um total de 28 pais que aceitaram participar do estudo responderam que sim, um respondeu que não e três que não pensaram a respeito.

A idade preferida para contar aos filhos (as) teve uma pequena variabilidade. Destes, 62% (39 pais) tem intenção de contar apenas quando perguntados ou quando a criança demonstrar entendimento do assunto; 13 % (8 pais) preferem contar entre os 8 e 12 anos; 8% (5 pais) não pensaram no assunto; e 17% não mencionaram a idade.

A maioria dos pais (93,8%) revelou para outras pessoas sobre a forma de concepção do filho (a). Em relação à concordância entre o pai e a mãe em contar ou não à criança sobre a forma de concepção encontramos que 95,4% dos casais concordam entre si.

## DISCUSSÃO

Trata-se do primeiro estudo em uma amostra brasileira que avalia se pais que utilizam técnicas de Reprodução Assistida têm intenção de revelar aos filhos acerca do método de reprodução utilizada. O resultado mostrou que tanto as mães quanto os pais, independente do grau de instrução, classe econômica, tipo de técnica de Reprodução Assistida adotada, preferem relatar aos filhos sobre a forma de concepção quando eles crescerem.

Nesta amostra foi contundente a diferença acerca da abordagem deste assunto em relação aos achados de amostras de outros países. Em um deles 46 famílias com filhos com idade entre quatro e oito anos, concebidos

**Tabela.** Características demográficas das famílias incluídas no estudo

Característica	
Mãe e pai participaram do estudo	76%
Idade do casal em anos (média ± DP)	
Mãe	36 ± 5
Pai	41 ± 6
Usuários do Serviço público	46 %
Grau superior completo	57%
Tentativas prévias de Reprodução Assistida	
Uma ou duas	60%
Mais de duas	40%
Número de filhos (média ± DP)	1.4 ± 0.6
Idade da criança nascida por Reprodução Assistida (em meses) (média ± DP)	26 ± 27
Terapia de Reprodução Assistida	
Inseminação artificial	13.5%
Fertilização in vitro	64.9%
Injeção intracitoplasmática de espermatozoides	27%

através de inseminação, foram entrevistados a respeito de sua decisão, razão e preocupação com relação à revelação para a criança. Houve uma grande inclinação por parte deles pelo não contar (61%). Dentre as principais razões alegadas houve a menção de que não havia um motivo para contar a verdade além do desejo de proteger os membros da família. Por outro lado as duas principais razões a favor de contar foram evitar descobertas acidentais e o desejo de serem honestos. O estudo relata que os filhos que foram informados reagiram tanto com curiosidade ou com desinteresse e que seus pais descreveram a experiência como sendo positiva (Lycett et al.,2005).

Outro estudo comparou a qualidade do relacionamento familiar e a adequação sócio-emocional dos filhos em famílias criadas através de inseminação. As conclusões foram que as diferenças identificadas indicaram relacionamentos mais positivos entre pais e filhos de famílias que revelaram a origem do nascimento em relação às famílias que não revelaram. Entretanto isso não representou um relacionamento disfuncional nas famílias que não revelaram, mas sim reflete um resultado particularmente positivo no grupo que revelou. (Lycett et al., 2004)

Numa amostra australiana foram estudadas 276 famílias que tiveram ao todo 420 filhos por inseminação. Nesta amostra somente 22 das 420 crianças tinham sido informadas sobre sua origem. O estudo mostra que 71% das famílias contou a outras pessoas, mas 94% delas não contaram para o filho. Dos 29% de famílias que não contaram a outras pessoas sobre a origem do filho, nenhuma contou ao filho. À medida que o filho foi crescendo, mais pais decidiram contar a ele sobre sua origem (Durna et al.,1997).

Estudos longitudinais internacionais compararam a intenção e a efetiva comunicação dos pais em contar e constataram que o padrão de intenção de não contar se manteve na maioria dos casos (Greenfeld et al., 1997; Olivennes et al.,1997)

Algumas limitações de nosso estudo estão em termos de diferença de amostra. A literatura internacional baseia-se predominantemente sobre os relacionamentos familiares ao longo do tempo quando as crianças foram concebidas com gametas doados e/ou uma mãe substituta foi utilizada. Nosso estudo inclui somente famílias homólogas. Portanto, não temos informações sobre as famílias heterólogas. Nosso estudo, diferente dos estudos internacionais é de caráter transversal.

## CONCLUSÃO

Em termos propositivos, nossa pesquisa revela uma diferença, como já destacamos, das amostras internacionais. Isto exige novas investigações que possam aferir que fatores poderiam estar envolvidas nesta diferença, além da realização de estudos idênticos aos internacionais, para avaliar as repercussões ou quais seriam as repercussões levando em consideração estas diferenças amostrais, além de avaliar aspectos culturais e implicações na qualidade do relacionamento de famílias brasileiras, especialmente a partir de estudos longitudinais.

## AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial, in memoriam, ao Dr. Vilmon de Freitas (UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo. SP), pelo apoio pessoal e institucional a este trabalho.

### Endereço para Correspondência

Gisleine Verlang Lourenço.

Rua: Costa . 444/401 – Bairro Menino Deus – Porto Alegre - RS  
CEP: 90110-270

email: [gisleinelourenco@yahoo.com.br](mailto:gisleinelourenco@yahoo.com.br)

Fone: 51 99853879

## Referências

Durna EM, Bebe J, Steigrad SJ, Leader LR, Garrett DG. Donor insemination: attitudes of parents towards disclosure. *Med J Aust.* 1997; 1;167(5):256-9.

Freitas M, Siqueira AF, Segre Conceição AM. Avanços em Reprodução Assistida. *Rev Bras Cres Des Hum.* 2008;18(1):93-97.

Greenfeld DA, Ort SI, Greenfeld DG, Jones EE, Olive DL. Attitudes of IVF parents regarding the IVF experience and their children. *J Assist Reprod Genet.* 1996;13(3):266-74.

Lycett E, Daniels K, Curson R, Golombok S. School-aged children of donor insemination: a study of parents' disclosure patterns. *Hum Reprod.* 2005;20(3):810-19.

Lycett E, Daniels K, Curson R, Golombok S. Offspring created as a result of donor insemination: a study of family relationships, child adjustment, and disclosure. *Fertil Steril.* 2004;82(1):172-9.

Ministério da Saúde. Brasil. Disponível em:

[http://portal.saude.gov.br/portal/sas/mac/area.cfm?id\\_area=832](http://portal.saude.gov.br/portal/sas/mac/area.cfm?id_area=832)

Olivennes F, Kerbrat V, Rufat P, Blanchet V, Fanchin R, Hazout A, Glissant M, Fernandez H, Frydman R. *Contracept Fertil Sex.* 1997 2005;18(4):347-53.

Passos EP, Freitas F, Sabino J. Rotinas em Infertilidade e Contracepção. *São Paulo: Artmed, 2003*

# Desafios da educação continuada em saúde reprodutiva: integração multiprofissional e inclusão tecnológica

## Challenges of continuing education in reproductive health: multiprofessional integration and technology inclusion

Tonia Costa<sup>1</sup>, Michele Pedrosa<sup>2</sup>, Cláudia Waymberg. Goldman<sup>3</sup>, Maria do Carmo Borges de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutora em Ciências. UFRJ - Brasil

<sup>2</sup>Doutora em Saúde Pública. UFRJ - Brasil

<sup>3</sup>Graduada em Psicologia. UFRJ - Brasil

<sup>4</sup> Doutora em Medicina. UFRJ - Brasil

Instituição onde foi realizado o trabalho; Divisão de Reprodução Humana, Instituto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Brasil.

### RESUMO

Os desafios da educação continuada em saúde são claramente percebidos em áreas em que amplo processo de medicalização é mantido e em que avanços tecnológicos são continuamente desenvolvidos. Revelam-se de forma mais patente quando permeadas por mitos e crenças socialmente difundidas e mantidas, como na área de reprodução assistida. **Objetivo:** discutir o caráter inclusivo da educação continuada oportunizada pela vivência integrada em três níveis de atuação (ensino, pesquisa e extensão) num hospital universitário, referência no estado e na cidade do Rio de Janeiro. **Métodos:** as atividades subjacentes ao mesmo tempo iniciam a formação profissional em saúde reprodutiva – 120 alunos de Graduação em **Medicina/ ano** e também em cursos como Biologia, Serviço Social, Psicologia, Enfermagem, e proporcionam rodízio de Residentes em Ginecologia e Obstetrícia (10/ ano), além de Aperfeiçoamento em Reprodução Assistida (2 alunos/ ano, carga horária de 360h). A aproximação com a extensão universitária se dá por meio de acompanhamento de grupos de acolhimento multiprofissional previstos para 30 pacientes em início de tratamento/ mês por parte de alunos de Graduação e Pós. **Resultados:** as trocas de conhecimento viabilizam o desenvolvimento/ aprimoramento de requisitos técnicos imprescindíveis – o olhar e a escuta mais sensíveis, **além de incluir os alunos no questionamento crítico da necessidade deste atendimento em rede pública.** Além de **levar a uma formação** mais adequada/ específica, permitem ampliar o acesso a tecnologias, num processo de justiça e igualdade social em saúde reprodutiva.

**Palavras-chaves:** saúde reprodutiva, formação continuada, integração multiprofissional, inclusão tecnológica.

### ABSTRACT

The challenges of continuing education on health are clearly seen in areas where extensive process of medicalization is maintained and that technological advances

are continually being developed. They are more apparent when permeated by widespread myths and beliefs socially maintained, as in the area of assisted reproduction. **Objective:** To discuss the inclusiveness of continuing education nurtured by the experience built on three levels of performance (teaching, research and extension) in a university hospital, reference in the state and the city of Rio de Janeiro. **Methods:** The activities begin training in reproductive health - 120 medical undergraduate students per year and also in courses such as Biology, Social Work, Psychology, Nursing, and provide rotation of Residents in Obstetrics and Gynecology (10 / years), besides improvement in Assisted Reproduction (2 lato sensu students per year, hours of 360h). The approach to university extension is done through monitoring well-come groups provided to 30 patients starting treatment per month by students graduate and post. **Results:** the exchange of knowledge enable the development / improvement of technical requirements essential - look and listen more sensitive, and includes students in critical questioning of the need of this care in the public network. Besides leading to a better specific training, it allows broader access to technology, in a process of social justice and equality in reproductive health

**Keywords:** reproductive health, continuing education, multidisciplinary integration, technological inclusion.

### INTRODUÇÃO

Os desafios da educação continuada em saúde são claramente percebidos em áreas em que amplo processo de medicalização é mantido e em que avanços tecnológicos são continuamente desenvolvidos. Ainda se revelam de forma mais patente quando permeadas por mitos e crenças socialmente difundidas e mantidas, como ocorre na área de reprodução assistida.

A infertilidade, hoje, é um problema de saúde pública. Seu enfrentamento exige a democratização do acesso à informação e à tecnologia para efetivação da igualdade

de direitos à reprodução assistida integrada ao planejamento familiar. Aliado a isto, a qualificação técnica específica de recursos humanos na área de saúde, por meio de formação profissional, seja inicial ou continuada.

Em acréscimo, as práticas em saúde nem sempre podem contemplar toda a complexidade imanente à saúde reprodutiva. Baseado no modelo biomédico, o discurso do risco vem dirigindo condutas e decorre de uma interação médico-paciente prescritiva. Ampliar a dimensão da saúde reprodutiva pressupõe ampliar a escuta aos usuários dos serviços, expandir a orientação da formação em saúde e embasar politicamente a luta pelo direito reprodutivo (Souza, 2008).

É premente que a Universidade, como instituição pública, demarque espaços na discussão de temas considerados tabus como contribuição social. Destarte, há que se considerar que a temática da reprodução humana traz em si imbricados aspectos de diferentes domínios – biológico, social, cultural –, como esclarece Corrêa (2008):

Trata-se, também, de dar voz a indivíduos e grupos, de escutá-los, para além do universo acadêmico, pois afinal, os fatos da reprodução e da produção da vida (formação de famílias, número de filhos, formas de educação e de socialização) ultrapassam o universo científico, não importando a área considerada. (Correa, 2008)

A anatomia e a fisiologia do corpo só se tornam significativas a partir de regras e códigos de grupos. Cria-se, assim, uma dependência entre representações sociais específicas acerca do corpo, saúde e doença e o contexto social em que se inserem. Deste modo, as representações de doença estão diretamente relacionadas com os usos sociais do corpo em seu estado normal. Alterações neste estado compreendem estar doente.

A discussão sobre o corpo, sua anatomia e fisiologia demanda, neste serviço (especificamente pela tecnologia reprodutiva empregada), um processo de educação em saúde mais efetivo. Por meio de um processo de construção compartilhada do conhecimento (entre equipe multiprofissional e usuários do serviço) é possível oportunizar a discussão acerca de diagnósticos, métodos, técnicas, possibilidades e limitações do tratamento e do(s) serviço(s) em reprodução humana assistida.

Em relação ao serviço, o Instituto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IG/UFRJ) possui tradição na assistência à Infertilidade desde 1942, com inúmeros estudos, pesquisas e projetos desenvolvidos no âmbito da Graduação e da Pós-graduação. Tornou-se, ao longo do tempo, instituição de referência – na cidade e no estado do Rio de Janeiro nas questões relativas à saúde reprodutiva e, especificamente, à infertilidade. Além disso, compreende um dos poucos serviços públicos (gratuitos) de qualidade disponível e, analogamente, um pólo de formação de profissionais na área de reprodução humana (Costa et al, 2009).

A atual estrutura da UFRJ apóia-se na tríade ensino-pesquisa-extensão. O IG, por meio da Divisão de Reprodução Humana e, mais especificamente, do Ambulatório de Infertilidade, vem atuando na formação de profissionais que contemplam uma perspectiva “para além da assistência”, agregando ações nas três dimensões e ainda entre a Graduação e a Pós-graduação. Configura-se em uma perspectiva interdisciplinar, a partir da participação

de profissionais de Unidades diversas da UFRJ, a saber: IG/UFRJ, por meio do Ambulatório de Infertilidade (Divisão de Reprodução Humana), Escola de Enfermagem Ana Nery, Escola de Serviço Social e a Faculdade de Educação (Departamento de Fundamentos da Educação – setor de Biologia), além de parcerias com outras instituições acadêmicas do estado do Rio de Janeiro.

Em acréscimo, a oportunidade do questionamento de que o planejamento familiar está associado exclusivamente à contracepção, sobretudo em classes populares, conforme pode ser visualizado por meio de títulos veiculados na mídia. Como exemplos: “Gravidez entre negras é mais freqüente”, “Aumento da fecundidade agrava pobreza no Rio”, “Aborto legalizado diminuiria crime no Brasil”.

Reforçando este paradigma é mister ressaltar a carência de estudos acerca das dificuldades e, sobretudo, desigualdades de direitos que pessoas de diversos estratos sócio-econômicos vivenciam na busca por assistência à concepção. Contudo, o perfil das mães brasileiras, com base no Censo de 2000, demonstra a profunda desigualdade da realidade brasileira no que diz respeito à saúde reprodutiva (IBGE).

O planejamento familiar integra as ações de atendimento global e integral à saúde, obrigando-se o Sistema Único de Saúde (SUS), em todos os níveis, a garantir programa que inclua, por exemplo, “a assistência à concepção e contracepção”. Assim, para o exercício do planejamento familiar devem ser oferecidos “todos os métodos e técnicas de concepção e contracepção cientificamente aceitos e que não coloquem em risco a vida e a saúde das pessoas, garantida a liberdade de opção” (art. 3º, parágrafo único, I e 9º). Neste sentido, o Ministério da Saúde baixou a Portaria nº 426/ instituindo, no âmbito do SUS, a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida e dá outras providências.

As questões e especificidades relacionadas à área da reprodução humana devem ser incorporadas aos serviços e aos processos de formação dos profissionais. O acelerado desenvolvimento científico e tecnológico vem desencadeando transformações constantes nos espaços de trabalho, o que demanda profissionais com perfil mais aberto, com ampla capacidade de adaptação a mudanças e motivação para continuar aprendendo.

Struchiner e Gianella (2006) ressaltam que a formação dos profissionais e a própria geração de conhecimentos na área de saúde ainda são consideradas atividades isoladas, i.é., a educação formal e a continuada ainda são vistas como setores distintos e muitas vezes com pouca ou nenhuma interseção:

As práticas educativas raramente privilegiam um enfoque que possibilite aos grupos de estudantes e profissionais a oportunidade de vivenciar ativamente a aprendizagem como construção de conhecimento, por intermédio da reflexão sobre suas próprias experiências e a participação ativa em estudos, investigações e foros de debate. (Struchiner Gianella, 2006).

Aliado a isso, o longo tempo de defasagem entre a produção, difusão e integração de novos conhecimentos científicos à prática dos serviços de saúde. Além disso, a (ex) pressão midiática sobre as tecnologias reprodutivas incita as pessoas a acreditarem na efetividade de resolução dos problemas relativos à infertilidade.



No domínio de um serviço público de referência, o desafio não se resume a tarefa de construção compartilhada de conhecimentos científicos e de capacitar profissionais em serviço, mas extrapola a formação geral e prevê a indissociabilidade ensino-pesquisa-extensão.

## OBJETIVO

É, pois, discutir o caráter inclusivo da educação continuada oportunizada pela vivência integrada em três níveis de atuação – ensino, pesquisa e **extensão** – no Instituto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, hospital universitário, referência no estado e na cidade do Rio de Janeiro.

## MÉTODOS

Pesquisa qualitativa de cunho exploratório, de abordagem crítica (Alves-Mazzotti; Gewandsznajder, 2004). Configura-se como relato de Estudo de caso (Gil, 1999), no qual foi utilizada a Pesquisa participante (Brandão e Streck 2006; Gil, 1999).

A pesquisa participante é um importante instrumento de trabalho na construção do conhecimento. Tem como objetivo compreender, intervir e transformar a realidade. O pressuposto é simples: todo ser humano é em si mesmo e por si mesmo uma fonte original e insubstituível de saber. Neste sentido, ela oferece um repertório de experiências destinadas a superar a oposição sujeito/objeto, pesquisador/pesquisado, conhecedor/conhecido no interior dos processos de produção coletiva do saber, visando ações transformadoras. (Brandão e Streck 2006; Gil, 2006)

Assim, há o envolvimento dos pesquisadores e pesquisados no processo de pesquisa. Responde especialmente às necessidades das classes mais carentes nas estruturas sociais contemporâneas, procurando incentivar o desenvolvimento autônomo. A restituição sistemática é o grande diferencial da pesquisa participante em relação à pesquisa tradicional. Esta restituição se dá através de uma comunicação diferenciada, em níveis diferentes de complexidade de acordo com o grau de consciência do grupo que participa da pesquisa e dos subgrupos que o compõem. Deve ser feita numa linguagem acessível a todos e provocar a auto-investigação e o controle no grupo, de forma a articular o conhecimento concreto com o geral, o regional com o nacional, e assim por diante. O Estudo de caso no IG/UFRJ inclui as atividades desenvolvidas no âmbito da integração ensino-pesquisa-extensão. Como instrumentos, além da observação participante, utiliza-se um questionário construído para pré-consulta e o prontuário médico, que permitiram a criação e alimentação de banco de dados dos casais, requisito para desdobramentos futuros.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades subjacentes ao Instituto de Ginecologia da UFRJ apóiam-se na indissociabilidade ensino-pesquisa-extensão (Souza, 2008). Ao mesmo tempo iniciam a formação profissional em saúde reprodutiva – 120 alunos de Graduação em **Medicina/ ano** e também em cursos tais como Biologia, Serviço Social, Psicologia, Enfermagem – e proporcionam rodízio de Residentes em Ginecologia e Obstetrícia (10/ ano), além de Aperfeiçoamento

em Reprodução Assistida (2 alunos/ ano, carga horária de 360h).

A formação inicial proporcionada pelos cursos de Graduação e Residência Médica é baseada na elaboração do conhecimento técnico, mas também na sensibilização à temática da infertilidade aliada ao cuidado. No dizer de Pasche (2009), pressupõe uma nova forma de gestão, que se afasta da “coisificação” das pessoas pela medicalização. Neste sentido, o cuidado não é apenas o “pronto atendimento”, o que compreenderia redução das pessoas ao fator biológico. Ao contrário, é uma relação que reconhece o usuário, suas emoções e intersubjetividades. Para Madel Luz (2009), o cuidado supõe relação de proximidade e de preocupação com o outro. A autora ainda refere a necessidade de construção de rede de diálogos entre planos de ação, planejamento e serviços, o que, na prática, reverte na reformulação das formas tradicionais de ensino e formação em saúde.

De fato, a atuação do IG/UFRJ considera a formação de novos atores e um espaço que amplia a integração e a experiência democrática. Assim, se afasta da noção utilitarista da medicalização, na qual o sujeito é objeto passivo das relações sociais e tecnológicas e a visão do cuidado se baseia unicamente na narração da condição humana biológica como terapêutica (Martins, 2009).

Martins (2009) enfatiza o papel de destaque dos espaços de construção de saberes. Para tal, equipe multidisciplinar composta por médicos, psicólogos, enfermeiros, assistentes sociais, biólogos e educadores se mantém associada ao serviço. Como objetivo, desenvolver o olhar e a escuta mais sensíveis, como requisitos da atuação médica, ampliando a noção de cuidado. Além disso, considerar o conceito de equidade numa perspectiva de gênero transversal.

Para Souza (2008), trabalhar pelo bem estar social, tolerância, cooperação e multiculturalismo é uma das formas possíveis de instalação do real direito reprodutivo previsto na legislação. Outro aspecto refere-se à **inclusão dos alunos no questionamento crítico da necessidade do atendimento na área de reprodução humana em rede pública**, bem como da premência de padronizar algumas rotinas e de estabelecer redes de referência e contra-referência para o atendimento dos usuários.

A formação continuada se dá por meio do programa de atualização Treinamento Profissional em Reprodução Humana, vinculado à Pós-Graduação. O curso destina-se a médicos ginecologistas e objetiva aprofundar o conhecimento em reprodução humana, nas questões relacionadas à infertilidade. Consiste, assim, no treinamento teórico-prático em propedêutica básica da infertilidade e protocolos de indução ovulatória.

Na mesma perspectiva do cuidado integral, consiste basicamente no estudo clínico dos fatores de infertilidade, abarcando aspectos emocionais e riscos ocupacionais e ambientais. Embora a matrícula no Instituto de Ginecologia seja da mulher, o tratamento da infertilidade requer o acompanhamento do casal e, portanto, a propedêutica refere-se a este.

Inclui a interpretação de exames e o planejamento da terapia. Esta pressupõe protocolos de estímulo da ovulação, monitorização ultra-sonográfica e indicação de procedimentos endoscópicos e cirúrgicos. Extrapola a dimensão técnica, na medida em que considera o atendimento para além do caráter biomédico e inclui as condi-

ções de vida da população que procura o serviço – em sua maioria proveniente de classes populares.

A formação com treinamento em serviço é considerada diferencial na UFRJ. Especificamente no Treinamento Profissional em Reprodução Humana, a discussão acerca de baixa e alta complexidade e sua disponibilidade em serviços públicos no Brasil possui destaque, uma vez que há restrições ao acesso na rede pública.

Desde dezembro de 2007, o programa de atualização recebe dois alunos que se integram à rotina do ambulatório de Reprodução Humana. Assim, dedicam-se à propedêutica da infertilidade por meio do aprimoramento da anamnese e da discussão dos métodos diagnósticos, estabelecendo a conduta terapêutica apropriada. Implica na convivência do aluno de Pós-graduação com os usuários nas rotinas de atendimento e na discussão de casos clínicos com a equipe multiprofissional do serviço e os alunos de Graduação.

Como prática integradora, todos participam da discussão de artigos científicos especializados na área. É um momento de trocas e de construção de conhecimento privilegiado, uma vez que diversas temáticas podem ser consideradas, tais como aspectos emocionais relativos à infertilidade, mitos e tabus associados à reprodução assistida, fatores de risco ambiental e ocupacional, além de técnicas e procedimentos diagnósticos e terapêuticos.

A inserção de profissionais atuantes possibilita implementar uma outra dinâmica ao serviço, pois é o encontro do profissional já formado (e há muitos anos, às vezes), com o aluno em início de formação e com o usuário que busca especificamente solução para infertilidade.

A aproximação com a extensão universitária se dá por meio de acompanhamento de grupos de acolhimento multiprofissional previstos para 30 pacientes em início de tratamento/ mês, também com envolvimento de alunos de Graduação e Pós. As atividades de acolhimento são embasadas na pedagogia da problematização.

Primeiramente, a apresentação do serviço e da equipe a 30 pessoas, visando discutir expectativas de cuidados e rotinas de tratamento. Posteriormente, grupos de pré-consulta para caracterizar o perfil dos casais em início de tratamento (Costa et al, 2009).

Os principais blocos temáticos discutidos envolvem questões referentes ao tratamento propriamente dito, ao acesso e ao serviço/ técnicas disponíveis. Sobre o tratamento, dúvidas sobre procedimentos médicos (inseminação, fertilização, capacitação espermática) e questões relativas ao custo e tempo necessário para obter resultados. Quanto ao acesso, considerações acerca do longo período de espera para ingressar na instituição (Oliveira et al, 2009).

Em relação ao serviço e às técnicas disponíveis, o questionamento central em torno da necessidade de encaminhamento para outros estados, em caso de Fertilização *in vitro*, pois este procedimento não é disponibilizado pela rede pública do Rio de Janeiro.

Os esclarecimentos versam sobre a eficácia das técnicas e do serviço e a inviabilidade de responder satisfatoriamente a 100% dos casos. Esta discussão é de suma importância, pois os usuários apresentam altos níveis de expectativa ao chegar ao serviço (Lopes, 2007; Costa, 2008). Ademais, a explicitação de como

é configurada a lista de espera nos serviços em outros estados e do que vem sendo feito para ampliar o acesso à alta complexidade junto ao Sistema Único de Saúde do Brasil.

Em suma, o grupo de acolhimento possibilita o olhar e a escuta à fala dos próprios usuários em relação aos seus anseios e dúvidas e consolida mais um espaço de construção compartilhada de saberes.

## CONCLUSÃO

A formação mais plural na área de saúde vem sendo objeto de discussão (Salles, 2009). As trocas de conhecimento viabilizam o desenvolvimento/ aprimoramento de requisitos técnicos imprescindíveis – o olhar e a escuta mais sensíveis, **além de incluir os alunos de Graduação e Pós-graduação no questionamento crítico da necessidade do atendimento na área de reprodução humana em rede pública.**

É premente articular concretamente a relação serviço, trabalho e formação, apostando na perspectiva solidária desses conceitos (Pinheiro, 2009). Para tal, faz-se mister a interação ensino-pesquisa-extensão, palco da formação profissional no IG/UFRJ. O caráter inclusivo da educação continuada oportunizada pela vivência integrada nestes três níveis de atuação permite trocas e construção do conhecimento mais efetiva. Estas, ao mesmo tempo em que **levam a uma formação** mais adequada/ específica, permitem ampliação do acesso a tecnologias, num processo de justiça e igualdade social em saúde reprodutiva.

Dentre os desdobramentos previstos, a elaboração de materiais educativos sobre direitos reprodutivos, escolhas e perspectivas em reprodução assistida, por meio da participação conjunta de usuários, alunos e equipe multiprofissional do IG/UFRJ. Além disso, padronizar procedimentos e instaurar rede de referência e contra-referência visando a otimização de recursos públicos e, sobretudo, o melhor atendimento da população.

## Endereço para Correspondência:

Tonia Costa  
Rua Moncorvo Filho 90, Centro. Rio de Janeiro, Brasil  
e-mail- tonia.costa@gmail.com

## Referências

- Alves-Mazzotti AJ, Gewandszajder F. O método nas ciências naturais e sociais: pesquisa quantitativa e qualitativa. São Paulo: Pioneira Thompson, 2004.
- Brandão CR.; Streck, D (Orgs.). Pesquisa participante: o saber da partilha. Aparecida: Idéias & Letras, 2006.
- Citeli MT. Prefácio. In: Monteiro S, Vargas E. Educação, comunicação e tecnologia educacional: interfaces com o campo da saúde. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2006.
- Corrêa M. Um saber sem verdade e um saber não sem verdade: aspectos sociais da Reprodução Assistida. In: Souza MCB, Moura MD, Grynspan D, eds. Vivências em tempo de reprodução assistida: o dito e o não-dito. Rio de Janeiro: Revinter, 2008.p.103-108.
- Costa T. Infertilidade e reprodução humana: um estudo sobre a percepção social dos riscos. Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz (Fundação Oswaldo Cruz), Ensino em Biociências e Saúde, 2008.
- Costa T, Stotz EN, Luiz R, Souza MCB.. América Latina e busca por reprodução assistida: perfil da paciente em um serviço público de referência no Rio de Janeiro (Brasil). J Bras Rep Assist. 2009;13:21-25.

Costa T, Oliveira EA, Dias RPS, Dias JRS, Souza MCB. Acolhimento no âmbito da Divisão de Reprodução Humana do Instituto de Ginecologia/Ufrj. 6º Congresso de Extensão da UFRJ. Outubro 2009.

Gil AC. Métodos e Técnicas de Pesquisa Social. 5ªed., São Paulo: Atlas, 1999.

Lopes HP. Questões e desafios do trabalho psicoterapêutico com os casais num hospital público. J Bras Reprod Assist.2007;11: 9 – 11.

Luz MT. Conferência de Abertura com Madel T. Luz: "Sem ética, não há cuidado". In: BoletIn Integralidade em Saúde - Lappis, de 03/12/2009.

Martins H. Medicalização da saúde: como a indústria da informação farmacêutica, as urgências, as políticas públicas e a sociologia vêem essa questão. In: BoletIn Integralidade em Saúde - Lappis, de 03/12/2009.

Oliveira EA, Costa T, Pedrosa M, Goldman, CW, Souza MCB. Educação em serviço de infertilidade como subsídio para ampliação do acesso e desmistificação da efetividade das tecnologias. Encontro de Extensão do Centro de Ciências da Saúde da UFRJ. Outubro de 2009.

Paeche D. Medicalização da saúde: como a indústria da informação farmacêutica, as urgências, as políticas públicas e a socio-

logia vêem essa questão. In: BoletIn Integralidade em Saúde - Lappis, de 03/12/2009.

Pinheiro R. Abertura do IX Seminário propõe reflexões sobre formação, serviços e trabalho. In: BoletIn Integralidade em Saúde - Lappis, de 03/12/2009.

Salles A. A importância do intercâmbio na Faculdade de Medicina. Olhar Virtual nº 197. Disponível em [www.olharvirtual.ufrj.br](http://www.olharvirtual.ufrj.br). Acesso em 12 novembro de 2009.

Souza, MCB. Current Practice of management of infertility in low-resource settings: a Brazilian perspective. Apresentado no "Assisted Reproductive Technologies: Common Terminology and Management in Low-Resource Settings". World Health Organization WHO/ ICMART/ LIVFF – Geneve: 2008.

Souza MCB. Infertilidade e reprodução assistida. Este "tal desejo de ter um filho". In: Souza MCB, Moura MD, Grynspan D, eds. Vivências em tempo de reprodução assistida: o dito e o não- dito. Rio de Janeiro: Revinter, 2008. p.1-6.

Struchiner M, Gianella TR. Novas tecnologias de informação e comunicação na formação de recursos humanos em saúde. In: Monteiro, S, Vargas E, eds. Educação, comunicação e tecnologia educacional: interfaces com o campo da saúde. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2006.

# Motile sperm binding to egg yolk membrane is an easy and feasible function test for acrosome integrity

Ligação de espermatozoides à membrana vitelínica de ovos de galinha: teste funcional simples e fácil para verificação da integridade acrossomal.

Criscuolo T<sup>1\*</sup>, Rocha AM<sup>1</sup>, Semaco E<sup>1</sup>, Serzedelo T<sup>1</sup>, Alegretti JR<sup>1,2</sup>, Serafini P<sup>1,3</sup>, Motta ELA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Ginecologia da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup>Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

This investigation was performed at Huntington Medicina Reprodutiva.

## RESUMO

**Objetivo:** A integridade funcional do acrossoma é necessária para a ligação espermático-ocitária e para a fertilização. A avaliação da sua integridade funcional é uma ferramenta importante na avaliação da fertilidade masculina antes do tratamento de infertilidade. Nosso objetivo foi validar o teste de ligação de espermatozoide à membrana perivitelínica de ovo. **Métodos:** As membranas perivitelínicas foram lavadas em PBS três vezes para remover o vitelo e cortadas em quadrados de um centímetro. O teste foi realizado pela incubação de 1 mL de espermatozoides (10<sup>5</sup>sptz/mL) com as membranas perivitelínicas por 2 horas a 37°C e posterior lavagem em PBS. As membranas foram montadas entre lamina e laminula e a motilidade avaliada em microscópio óptico (200x) em três campos diferentes. A integridade acrossomal também foi avaliada em esfregaços corados por meio do método *fast green/Bengal rose* para cálculo do coeficiente de correlação de Pearson com o teste em questão. A validação foi realizada por meio de regressão linear entre a porcentagem de espermatozoides móveis em amostras frescas diluídas com amostras contendo apenas espermatozoides mortos obtidas após 5 mergulhos/descongelamentos em N<sub>2</sub>L nas seguintes proporções: 0:1;1:4;1:1;3:4;1:0.

**Resultados:** A porcentagem de espermatozoides móveis ligados foi correlacionada com a integridade acrossomal avaliada por *fast green: bengal rose* ( $r=0,65;p=0,04$ ) e com a taxa de diluição com espermatozoides móveis (0,927; $p<0,001$ ). Foi observada uma relação linear significativa (% de espermatozoides ligados= $0,09 + 0,7730$  diluição;  $p < 0,001$ ) entre o teste de ligação de espermatozoide à membrana perivitelínica de ovo e a taxa de diluição com os espermatozoides móveis.

**Conclusões:** O teste de ligação de espermatozoide à membrana perivitelínica de ovo é um teste funcional de integridade acrossomal fácil, exequível e barato.

**Palavras-chave:** acrossoma, análise do sêmen, reação acrossômica.

## ABSTRACT

**Objective:** Acrosomal integrity is a feature necessary to the correct interaction of the spermatozoon to the oocyte. The assessment of functional integrity of the acrosome is a useful tool for evaluation of male fertility before assisted reproduction treatments. We aimed to validate a

perivitelinic binding test(PBT) for human sperm. **Methods:** Perivitelinic membranes were washed in PBS for yolk removal and squares of 1cm<sup>2</sup> were obtained for the incubation of 1mL of Hepes diluted sperm (10<sup>5</sup>sptz/mL) for 2 hours at 37°C. Membranes were washed in PBS for the removal of unbound sperm and they were mounted onto glass slides for count of motile sperm bound(MSB) to the membrane. Acrosome integrity was also assessed in smear smears stained with fast green/Bengal rose for computation of Pearson's correlation coefficient to MSB. Validation of PBT comprised linear regression of percent of MSB in fresh sperm samples diluted with dead sperm samples (semen plunged into N<sub>2</sub>L and thawed five times) at the dilution rate of 0:1; 1:4; 1:1; 3:4; 1:0. Pearson's correlation coefficient between MSB and intact acrosome of fresh samples was calculated. Significance was attained at 0.05. **Results:** Percent of MSB was correlated with acrosome integrity ( $r=0.65;p=0.04$ ). Furthermore, MSB was also correlated to the dilution rate( $r=0.927;p<0.001$ ) and they featured a significant linear relationship (%MSB= $0.09 + 0.7730$  dilution rate;  $p$ -value  $<0.001$ ). **Conclusions:** Motile sperm binding to egg yolk membrane is an easy and feasible test for the assessment of functional integrity of acrosome. This is a low cost tool for evaluation of semen before IUI and IVF.

**Keywords:** acrosome, semen analysis, acrosome reaction.

## INTRODUCTION

Traditional sperm analysis according to the criteria established by the World Health Organization (WHO) is part of the investigation of infertile couples, and it aims to recognize potentially fertile conditions (WHO, 2010). If the analysis does not reach the normal criteria, assisted reproduction techniques could be used to overcome the male deficiency using their sperm or irreversible conditions that might indicate the use of donor's sperm (WHO, 2006). The parameters defining a normal ejaculate were initially published by WHO in 1980 (Lewis, 2007) and they have been subjected to several changes in the past 30 years with five updates (Joffe, 2010). However, all editions are still based on spermatozoa parameters such as sperm concentration, motility and morphology as the core of the evaluation. Functional tests are still grouped as experimental tests and have not indicated for basic workup (Eliasson, 2010; Lamb, 2010).

The definition of normal semen parameters was based



after sperm analysis of men who fathered pregnancies that took 12 months or less to conceive; notwithstanding, ejaculate volume, sperm concentration, motility and morphology are not able to predict the time to pregnancy, the ability to conceive and, more importantly, neither to distinguish fertile and infertile males (Joffe, 2010; Lamb, 2010). The crucial question is to determine the semen capable to contain adequate amounts of spermatozoa and undergoes a series of cellular and biochemical changes, allowing to deliver the male genome inside the oocyte. These subtle spermatozoal changes could be better assessed by sperm function tests. In last two decades, several methods were developed trying to measure normal and abnormal sperm function.

The ability of spermatozoa to interact with the zona pellucida is a crucial step during *in vivo* fertilization process and might be a predictor to determine the standard *in vitro* fertilization treatment. The sperm-zona interaction occurs through the binding of the spermatozoa with the zona pellucida 3 protein (ZP<sub>3</sub>) accomplished by a receptor located at acrosome (Yanagimachi, 1994). This interaction can be evaluated through hemizona assay (Coddington et al., 1991; Lanzendorf et al., 1992; Oehninger et al., 1992; Yogev et al., 1995; Janssen et al., 1997; Oehninger et al., 1997); however, human zona pellucida is a rare and difficult material to be routinely spent on sperm function tests.

Poultry perivitelline membrane has a considerable homology to ZP<sub>3</sub> (Waclawek et al., 1998) and allows the sperm binding in several mammalian species (Barbato et al., 1998; Amann et al., 1999a). In fact, commercial tests employing protein extract from egg yolk membrane were already validated to human sperm populations (Amann et al., 1999b). Assessment of sperm binding to poultry perivitelline membrane can be prepared in house and might consist in a cheap, easy and feasible function test to assess male fertility. The aim of this work was to validate an in house sperm binding to perivitelline binding test (PBT).

## MATERIALS AND METHODS

### *Preparation of perivitelline membranes*

Fresh chicken eggs were washed with neutral detergent and sanitized with 70% ethylic alcohol for 5 minutes. Egg shells were gently opened and albumen was drained. Vitelline sac was opened with scissor and the yolk was dumped for isolation of the perivitelline membrane. Each perivitelline membrane was subjected to 4 washes in 7 mL of PBS for 5 minutes under mild agitation for complete removal of yolk. Membranes were transferred to 60mm dishes and they were spread to allow the section of squares of 1cm<sup>2</sup>. Membranes were kept in PBS until use.

### *Perivitelline binding test (PBT)*

Freshly ejaculated samples from 5 donors were liquefied for 30 minutes at 37°C and they were submitted to regular sperm analysis following WHO's criteria. Samples were diluted in HEPES to obtain the test concentration of 10<sup>5</sup> spz/mL (Barbato et al., 1998).

Squares of perivitelline membranes were spread on the bottom of a two well dish and covered with the sperm solution. Incubation was carried out for 2 hours at 37°C and it was followed by 2 washes in PBS to remove unbound sperm. Membranes were mounted between glass slide and coverslips for submission to light microscope under 200X magnification. Sperm counts were performed in 3 different fields and the result was expressed by the percent of motile sperm bound (Barbato et al., 1998).

Validation of PBT and statistical analysis

Validation of PBT comprised two steps: i) calculation of

Pearson's correlation coefficient; and ii) determination of linear regression between percent of motile bound sperm and percent of dead sperm dilute in the sample.

i) Aliquots of freshly ejaculated samples were also prepared by fast-green/Bengal rose method for the assessment of acrosome integrity and comparison with the percent of motile bound sperm. Briefly, 5µL of semen and 5µL of a fast-green/Bengal rose solution were merged onto a glass slide, smeared and let to dry. Preparations were submitted to light microscopy under 1000X magnification for the identification of sperm with intact acrosome (stained in purple). Percent of sperm with intact acrosome in fresh samples was determined after the observation of 200 cells and Pearson's correlation coefficient with percent of motile sperm bound to the perivitelline membrane was computed (Pope et al., 1991).

ii) Subsets of the freshly ejaculate samples were submitted to 5 cycles of snap freezing in liquid nitrogen and thaw at 37°C without addition of cryoprotectants. Samples for validation were prepared by the dilution of dead sperm into fresh samples according to the following dilution rates: 0:1(live:dead;0% live); 1:4(25%live); 2:4(50%live); 3:4(75%live); 1:0(100%live). Stepwise regression between the percent of motile sperm bound to the membrane and percent of dead sperm added to the sample was calculated.

Additionally we performed a power analysis for Pearson's correlation and linear regression to determine if the sample size yielded reliable results. Significance was attained at p<0.05 for all statistical tests.

## RESULTS

Ejaculates from 5 donors were submitted to standard sperm assessment and the results were demonstrated according to the WHO laboratory manual for semen analysis (Table 1).

Fresh samples submitted to fast green/Bengal rose staining showed 72.8±7.8 % of acrosome integrity. Furthermore, determinations of acrosome integrity with fast green/Bengal rose were positively correlated to the percent of motile sperm bound to the perivitelline membrane (Table 2; r=0.65; p=0.04).

Five cycles of snap freezing in liquid nitrogen and thaw at 37°C without addition of cryoprotectants were enough to virtually vanish motile sperm in all semen samples. The percent of motile sperm bound to the perivitelline membrane in samples prepared for validation was significantly correlated to the expected rate of live sperm (0.927; p<0.001). Additionally, there was a linear relationship between the observed percent of motile sperm bound (MSB) and the dilution rate (Table 3; Figure 1) (%MSB=0.09 + 0.7730 dilution rate; p-value <0.001).

The observed MSB was also correlated to the percent of motile sperm observed in each diluted sample (r=0.97; p=0.004) (Table 4). There was a linear relationship between the observed percent of motile sperm bound (MSB) and the percent of motile sperm observed in each diluted sample (%MSB = 6,24 + 1,48 percent of motile sperm observed in each diluted sample; p=0.004).

## DISCUSSION

To produce the fertilization, mammalian sperm has to interact with the zona pellucida, initiating a series of morphological and biochemical changes which will culminate with sperm penetration into the oocyte. Consequently, the loss sperm ability to interact to the zona pellucida might exert a deleterious impact on male fertility. Infections of the accessory glands, varicocele among others are recognized factors impairing male fertility through

**Table 1.** Ejaculate volume, and sperm concentration, motility and morphology of semen samples used for validation process of PBT.

Donor	Ejaculate volume (mL)	Sperm concentration (10 <sup>6</sup> /mL)	Motility (A+B) (%)	Strict Morphology (%)
1	2.0	77	50	4
2	4.0	76	46	2
3	2.3	94	64	9
4	2.5	27	57	6
5	2.3	75	63	8
Mean±SD	2.62±0.8	69.8±25.1	56±7.9	6.8±2.8

**Table 2.** Percent of spermatozoon with intact acrosome according to fast green/Bengal rose method and respective percent of motile bound sperm(% MBS) in perivitelline binding test (PBT).

Donor	% intact acrosome	% MSB
1	63	64.9
2	76	85.8
3	83	88
4	67	76
5	75	78
mean±SD	72.8±7.8	78.5±9.15
Pearson's correlation coefficient		0.65
p-value	0.04	

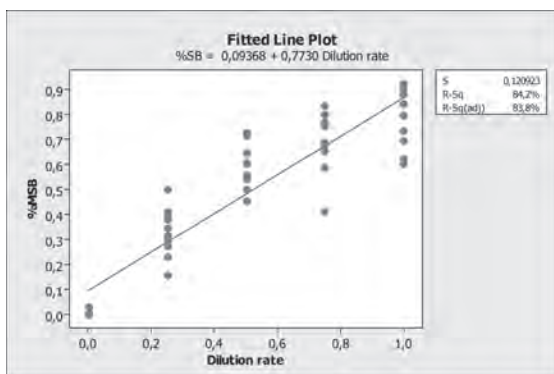
**Table 3.** Dilution rate (live: dead), percent of motile sperm bound (MSB) and Pearson's correlation coefficient between these variables.

Dilution rate (live: dead)	%MSB
0:1(0% live)	0.3
1:4(25% live)	32.9
2:4(50% live)	58.5
3:4(75% live)	69.3
1:0(100% live)	78.8
Pearson's correlation coefficient	0.927
p-value	<0.001

**Table 4.** Sperm motility in samples diluted (live: dead) with different proportions of live cells, percent of motile sperm bound (MSB) and Pearson's correlation coefficient between these variables.

Dilution rate (live: dead)	Motility of diluted sample(%)	%MSB
0:1(0% live)	0	0.3
1:4(25% live)	17	32.9
2:4(50% live)	29	58.5
3:4(75% live)	41	69.3
1:0(100% live)	54	78.8
Pearson's correlation coefficient		0.97
p-value	0.004	

## Figures



the diminishment of the competence of the sperm to bind to the zona pellucida and fuse with the oolema (Comhaire et al., 1999; Villanueva-Diaz et al., 1999).

Although the interaction between the gametes seems to be a crucial determination, the "gold-standard" in the evaluation of the male factor continue to be the semen analyses. The sperm-zona interaction might be elucidated through human hemizona binding assay, test developed during the late 1980's. Several prospective tests recognized that hemizona binding assay has a positive predictive result for intrauterine insemination and *in vitro* fertilization treatments (Franken et al., 1989a; Franken et al., 1989b; Oehninger et al., 1989; Oehninger et al., 1992; Franken et al., 1993; Oehninger et al., 1997; Arslan et al., 2006; Franken/Oehninger, 2006). However, the obtainment of zona pellucida relies on the efforts to isolate material from immature oocyte retrieved during *in vitro* fertilization procedures or even from ovarian tissues (Arslan et al., 2006). Unfortunately, the test depends on a scarce and rare material. Alternative materials, providing similar results were developed to assess sperm function evaluation and among then chicken's perivitelline membrane were indicated.

Barbato et al. (1998) demonstrated the ability of several mammalian sperms to bind to perivitelline membrane of chicken's egg and proposed its use to detect subfertile males in several species including humans. Additionally, Amann et al.(1999b) showed that proteins of the perivitelline membrane of chicken's egg adsorbed to plastic dishes are suitable in the identification of sperm with acrosome function preserved after cryopreservation.

In our study, we choose to validate the use of minimally processed perivitelline membranes by several reasons: it is timeless and low material consuming; it might be easily included in semen evaluation workup, could differentiate the male factor to predict the choice to *in vivo* to *in vitro* procedures.

Staining of semen samples with fast green/Bengal rose for production of smears provides useful information on acrosome integrity (Pope et al., 1991; Valle et al., 2008). The percent of sperm with intact acrosome detected by this staining was positively correlated with the percent of MSB. Preparation and reading of PBT is longer than staining semen samples with fast green/Bengal rose (Pope et al., 1991; Barbato et al., 1998), but has an additional gain in providing information on the sperm motility status as well as, the intact acrosome. This simple correlation between these two evaluations could be considered enough for validation; nevertheless, we decided to assess if the proportion of MSB would be kept in different concentrations of dead sperm.

Cycles of snap freezing/thawing without cryoprotectants provided samples rich of dead sperm that were diluted to our fresh samples to produce decreasing concentrations of live sperm. Our results indicated that the percent of MSB are highly correlated to the proportion of live sperm contained in a sample and they presented a linear relationship; moreover, MSB was correlated to the percent of motile sperm in each sample with different proportions of live cells. Thus, PBT can be considered sensible and specific for the detection of MSB, even for samples with low proportion of motile sperm able to bind to PM.

Taken together, the correlations of MSB with the results of fast green/Bengal rose, the proportion of live sperm and percent of motile sperm contained in samples were enough to validate PBT and its ability to faithfully identify sperm with acrosome intact whilst indicate the proportion of cells with preserved motility.

In summary, PBT seems to be a validated, cheap, easy and feasible test for the assessment of sperm function; moreover, this test indicates the ability of motile sperm to

interact to the zona pellucida. This is low cost tool might benefit patients undergoing fertility screening before intrauterine insemination and standard *in vitro* fertilization; however, clinical data to validate the extensiveness of these benefits should be the objective of future studies.

**\*Corresponding author's address:**

Huntington Medicina Reprodutiva  
Av. República do Líbano, 529, Ibirapuera, São Paulo, SP, Brasil.  
Postal code: 04501-000.  
Phone/Fax: (5511)30596100.  
e-mail: tcriscuolo@huntington.com.br

**References**

Amann RP, Shabanowitz RB, Huszar G and Broder SJ. In vitro sperm-binding assay to distinguish differences in populations of human sperm or damage to sperm resulting from cryopreservation. *J Androl.* 1999b;20:648-54.

Amann RP, Shabanowitz RB, Huszar G and Broder SJ. Increased in vitro binding of fresh and frozen-thawed human sperm exposed to a synthetic peptide. *J Androl.* 1999a;20:655-60.

Arslan M, Morshedi M, Arslan EO, Taylor S, Kanik A, Duran HE and Oehninger S. Predictive value of the hemizona assay for pregnancy outcome in patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination. *Fertil Steril.* 2006;85:1697-707.

Barbato GF, Cramer PG and Hammerstedt RH. A practical in vitro sperm-egg binding assay that detects subfertile males. *Biol Reprod.* 1998;58:686-99.

Coddington CC, Franken DR, Burkman LJ, Oosthuizen WT, Kruger T and Hodgen GD. Functional aspects of human sperm binding to the zona pellucida using the hemizona assay. *J Androl.* 1991;12:1-8.

Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA and Christophe AB. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod Update.* 1999;5:393-8.

Eliasson R. Semen analysis with regard to sperm number, sperm morphology and functional aspects. *Asian J Androl.* 2010;12:26-32.

Franken DR and Oehninger S. The clinical significance of sperm-zona pellucida binding: 17 years later. *Front Biosci.* 2006;11:1227-33.

Franken DR, Burkman LJ, Oehninger SC, Coddington CC, Veeck LL, Kruger TF, Rosenwaks Z and Hodgen GD. Hemizona assay using salt-stored human oocytes: evaluation of zona pellucida capacity for binding human spermatozoa. *Gamete Res.* 1989a;22:15-26.

Franken DR, Kruger TF, Oehninger S, Coddington CC, Lombard C, Smith K and Hodgen GD. The ability of the hemizona assay to predict human fertilization in different and consecutive in-vitro fertilization cycles. *Hum Reprod.* 1993;8:1240-4.

Franken DR, Oehninger S, Burkman LJ, Coddington CC, Kruger TF, Rosenwaks Z, Acosta AA and Hodgen GD. The hemizona assay (HZA): a predictor of human sperm fertilizing potential in in vitro fertilization (IVF) treatment. *J In Vitro Fert Embryo*

*Transf.* 1989b;6:44-50.

Janssen M, Ombelet W, Cox A, Pollet H, Franken DR and Bosmans E. The hemizona assay: a simplified technique. *Arch Androl.* 1997;38:127-31.

Joffe M. Semen quality analysis and the idea of normal fertility. *Asian J Androl.* 2010;12:79-82.

Lamb DJ. Semen analysis in 21st century medicine: the need for sperm function testing. *Asian J Androl.* 2010;12:64-70.

Lanzendorf SE, Holmgren WJ and Jeyendran RS. The effect of egg yolk medium on human sperm binding in the hemizona assay. *Fertil Steril.* 1992;58:547-50.

Lewis SE. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? *Reproduction.* 2007;134:31-40.

Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association (AUA) and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM). Report on optimal evaluation of the infertile male. *Fertil Steril.* 2006;86:S202-9.

Oehninger S, Coddington CC, Scott R, Franken DA, Burkman LJ, Acosta AA and Hodgen GD. Hemizona assay: assessment of sperm dysfunction and prediction of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 1989;51:665-70.

Oehninger S, Franken D, Alexander N and Hodgen GD. Hemizona assay and its impact on the identification and treatment of human sperm dysfunctions. *Andrologia.* 1992;24:307-21.

Oehninger S, Mahony M, Ozgur K, Kolm P, Kruger T and Franken D. Clinical significance of human sperm-zona pellucida binding. *Fertil Steril.* 1997;67:1121-7.

Pope CE, Zhang YZ and Dresser BL. A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* 1991;22:87-95.

Valle RR, Valle CM, Nichi M, Muniz JA, Nayudu PL and Guimaraes MA. Validation of non-fluorescent methods to reliably detect acrosomal and plasma membrane integrity of common marmoset (*Callithrix jacchus*) sperm. *Theriogenology.* 2008;70:115-20.

Villanueva-Diaz CA, Vega-Hernandez EA, Diaz-Perez MA, Echavarría-Sánchez M and Karchmer-Krivitsky S. Sperm dysfunction in subfertile patients with varicocele and marginal semen analysis. *Andrologia.* 1999;31:263-7.

Waclawek M, Foisner R, Nimpf J and Schneider WJ. The chicken homologue of zona pellucida protein-3 is synthesized by granulosa cells. *Biol Reprod.* 1998;59:1230-9.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 4<sup>th</sup> edition. Geneva. 2006.

World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5<sup>th</sup> edition. Geneva. 2010.

Yanagimachi R. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote.* 1994;2:371-2.

Yogev L, Homonnai ZT, Gamzu R, Amit A, Lessing JB, Paz G and Yavetz H. The use of hemizona assay in the evaluation of the optimal sperm preparation technique. *Hum Reprod.* 1995;10:851-4.

# A atenção reprodutiva na rede pública do Rio de Janeiro: um relato do Serviço Social na UFRJ

The reproductive care in a public health unit in Rio de Janeiro: a report of social work at UFRJ

Fátima de Maria Masson<sup>1</sup>, Egléubia Andrade de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistente Social, Doutora em Serviço Social - ESS/UFRJ

<sup>2</sup>Assistente Social, Doutora em Saúde Pública – ENSP/Fiocruz  
Instituição- Instituto de Ginecologia da UFRJ-Brasil

## RESUMO

**Objetivo:** A infertilidade constitui uma questão de saúde pública. Este estudo procura trazer para o debate uma experiência que trata do acesso às terapêuticas em Reprodução Assistida – RA, no município do Rio de Janeiro, a partir do relato da ação do Serviço Social de um serviço público universitário. Argumentamos que a baixa cobertura no atendimento desta demanda pelo setor público de saúde reforça a desigualdade social no acesso às tecnologias de ponta em RA, a perda de horizontes para pesquisa sobre a causalidade social da infertilidade e dificulta a reversão da atual tendência de queda da fertilidade. **Métodos:** Aqui são apresentadas as respostas encaminhadas pelos assistentes sociais, entre 2006 e 2008, que mobilizaram usuários e profissionais da saúde com o objetivo de dar visibilidade ao aspecto coletivo desta demanda, em contraponto as reivindicações individuais encaminhadas judicialmente. Orientamos nossa intervenção para a defesa do estabelecimento de um programa público em RA. **Resultados:** Com base na legislação, nos dados sócio-demográficos, epidemiológicos e nos relatos desta demanda; decidimos pela mobilização e debate, simultâneos, com usuários e profissionais de saúde da rede pública no sentido de democratizar o acesso à atenção integral, a partir da interação interinstitucional e interdisciplinar, caminho para a construção de uma rede integrada em atenção reprodutiva no sistema público brasileiro de saúde (SUS).

**Palavras chave:** reprodução humana, acessibilidade a saúde, direitos civis.

## ABSTRACT

**Objective:** Infertility is a public health issue. This paper intends to debate an experience that addresses the issue of access to therapies in assisted reproduction - ART, in the municipality of Rio de Janeiro, from the report of the action of the Social Service in a public unit. We argue that the low coverage to satisfy this by public health reinforces the social inequality in access to technologies in ART, the loss of horizons for research on the social causation of infertility and the difficulties to reverse the current downward trend in fertility. **Methods:** Here are presented the answers forwarded by the social service, between 2006 and 2008, which mobilized health professionals and users in order to give visibility to the collective aspect of this demand, as opposed to individual claims referred judicially. Our intervention targets the establishment of a public program in ART in

Rio de Janeiro. Based on legislation, social-demographic, epidemiological and reports of this demand, we decided to mobilize and to debate simultaneously with users and health public professionals. **Results:** the debates produced an understanding of the strong necessity of the democratization of access and of comprehensive care through institutional interaction and interdisciplinary efforts to build an integrated network reproductive care in the Brazilian public health system (SUS).

**Key words:** human reproduction, health services accessibility, civil rights.

## INTRODUÇÃO

Dados da Pesquisa Nacional de Amostras por Domicílio (PNAD- 2006), a partir de entrevistas com 15.575 mulheres com idade entre 15 e 49 anos confirmaram a tendência de queda da fecundidade; em 2006 tivemos 1,8 filhos por mulher em comparação com 2,5 filhos em 1996. Na mesma direção, o relatório da OPAS e da OMS “Saúde nas Américas” (2007-vol.1) sinalizou a queda das taxas de fecundidade na América Latina.

As causas deste quadro e os fatores históricos associados a esta tendência merecem reflexão. A ver os estudos que apontam a relação entre a entrada das mulheres como força de trabalho no sistema produtivo, conseqüentemente, a demanda por recursos contraceptivos e a criação dos programas de Planejamento Familiar (PF) mesmo com todos os seus limites e contradições<sup>1</sup>. Outros fatores como o aumento do índice de aborto e a identificação das determinações específicas para a infertilidade, tais como: baixa prevenção da saúde sexual associada às reincidências de infecções no trato ginecológico, exposição aos fatores nocivos à fertilidade; condições de traba-

<sup>1</sup> Não é nosso objeto trazer a baila a trajetória das respostas políticas neste campo, mas devemos apenas lembrar que o país sofreu fortes pressões das agências internacionais, como as Nações Unidas e o Banco Mundial, que veicularam os interesses dos países capitalistas centrais na ingerência para formulação de políticas de populações. Nos referimos ao período conhecido pela hegemonia das teses neomalthusianas; como exemplo: a expansão e intervenção da Associação de Bem Estar Familiar do Brasil (Benfam) na saúde das mulheres das classes trabalhadoras. Em contraponto, a emergência de estudiosos nas universidades e centros de estudos públicos brasileiros que resistiram e impulsionaram, de modo crítico, introduzindo demografia brasileira (Carvalho e Brito, 2005; Paiva e Wajzman, 2005)



lho e presença de cádmio e chumbo na água consumida pela população (Paiva & Wajzman, 2005, Souza, 2005)<sup>2</sup>, são demonstrativos da relação existente entre condições para a fertilidade e fecundidade e as determinações sociais (Souza, 2008; Correa, 2001; 2008; Carvalho & Brito, 2005).

Do ponto de vista da legislação brasileira podemos acrescentar além dos princípios constitucionais que asseguram o acesso universal aos cuidados com a saúde, as posições assumidas pelo governo brasileiro. Signatário da Conferência Internacional sobre População e Desenvolvimento (CIPD), Cairo, 1994 e da IV Conferência Internacional sobre a Mulher, em Beijing, 1995, o Brasil estabeleceu novas referências de direitos sexuais e reprodutivos que extrapolam as posições conservadoras que tributam relações de dependência entre desenvolvimento social e incremento ou redução da dinâmica populacional (Berquó & Cavenaghi, 2006; Carvalho & Brito, 2005). Nesta direção temos a Portaria GM/MS nº 426 de 22 de março de 2005, que institui a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida e determina nos Art. 1º e 2º que:

" no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS, a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida, a ser implantada em todas as unidades federadas, respeitadas as competências das três esferas de gestão".  
 "... a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida seja implantada de forma articulada entre o Ministério da Saúde, as Secretarias de Estado de Saúde e as Secretarias Municipais de Saúde (Brasil, 2005)

Na seqüência, a Portaria nº 388 de 06 de julho de 2005 prescreve a organização, hierarquia, atribuição e protocolos para os diferentes níveis de responsabilidade e competência da assistência em reprodução assistida que, nos seus Arts 4º e 5º, estabelece, respectivamente:

"...que os serviços de atenção em reprodução humana assistida na Média e na Alta Complexidade devem ser de ensino públicos/filantrópicos certificados pelo Ministério da Saúde, designados pela Comissão Inatergestores Bipartite ..."

"... que as Secretarias dos Estados e Distrito Federal em conjunto como os Municípios, ao constituírem as suas redes estaduais de atenção em reprodução humana assistida, estabeleçam os fluxos e mecanismos de referência e contra-referência" (Brasil, 2005)

E ainda, em 2007, pesquisadores, estudantes, gestores e profissionais, realizaram em seminário no Instituto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IG-UFRJ) quando assinaram a "Carta do Rio de Janeiro pelos direitos sexuais e reprodutivos, pela equidade de gênero e em defesa do Estado laico". Neste documento reafirmam, no âmbito do SUS, a necessidade de assegurar o tratamento da infertilidade a homens e mulheres. Apesar destes avanços, a oferta de assistência integral

em saúde reprodutiva, na cidade do Rio de Janeiro, especialmente na atenção de alta complexidade continua restrita. E isto limita não só o acesso dos usuários a um direito garantido pela legislação, mas principalmente a visibilidade que as necessidades sociais de assistência devem ter nas decisões das prioridades das políticas e programas para a saúde pública.

## MÉTODOS

A rede pública de Assistência à saúde reprodutiva no estado do Rio de Janeiro

A rede pública de saúde do estado oferece atenção básica e de média complexidade no campo da saúde reprodutiva através das técnicas de inseminação intra-uterina – indução folicular e outros procedimentos, enquanto que os de alta complexidade, como a Fertilização *in Vitro* (FIV), ainda não são disponibilizados<sup>3</sup>.

A partir de 2005 o Serviço Social do IG/UFRJ observou um expressivo aumento da procura de casais para obtenção de acesso ao *Ambulatório de Reprodução Assistida* e de avaliações médicas com indicação para FIV. Quadro agravado pela espera de consulta de primeira vez que ficava em torno de 12 meses entre a marcação na triagem do Instituto e a realização da primeira consulta.

Diante deste limite na cobertura assistencial, o Hospital Estadual Pérola Byington, na cidade de São Paulo, constituiu a principal referência para os casais com indicação para FIV. Acontece que o acesso a este serviço envolve enormes transtornos na vida destes casais, tanto do ponto de vista da saúde quanto do trabalho, na medida em que eles se deparam com a única alternativa, qual seja; realizar o tratamento fora do seu estado e sem qualquer garantia de acompanhamento pelo setor público no Rio de Janeiro.

Para responder a estas demandas, o Serviço Social iniciou um levantamento de referências institucionais na rede pública para a realização de exames complementares, dos serviços que realizam técnicas fertilização *in vitro* - FIV e injeção intracitoplasmática de espermatozoides - ICSI. Paralelamente traçou, através de atendimentos individuais e em grupo, o perfil dos principais problemas existentes na relação entre esta demanda, seus direitos e o atendimento da rede pública de saúde. Esta iniciativa gerou novas alternativas.

Foi possível abrir espaços institucionais de mobilização e debate, tanto com os usuários quanto com os profissionais de saúde da rede pública do Rio de Janeiro. Tendo em vista que, assim como os usuários, os profissionais de saúde lidam com as contradições e limites da cobertura do SUS, conseqüência da ausência da implementação da Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida. E é sobre esta experiência que nos deteremos.

## Mobilização dos casais com indicação para FIV

Nos últimos anos, encaminhamento médico de casais com indicação para FIV é a principal demanda de atendimento para o Serviço Social – IG/UFRJ. Entre outubro de 2002 a janeiro de 2003, observamos, numa amostra de 186 dos 500 boletins de atendimento da triagem do Instituto, que 37% das mulheres buscavam assistência

2 "Segundo a agencia do governo da Califórnia, Brasil e outros países do terceiro mundo recebem lixo eletrônico, que tem como componentes tóxicos como chumbo e mercúrio" (Folha de São Paulo 04/02/2009). Esta matéria pontua um tema muito caro para a saúde pública, a relação entre a pressão do mercado para renovação dos equipamentos eletrônicos e os interesses da acumulação de capital.

3 Os serviços na cidade do Rio de Janeiro compreendem: o IG/UFRJ, o Hospital do Andaraí, Hospital Geral de Bonsucesso, Instituto Fernandes Figueira – IFF/FIOCRUZ, Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade Estadual do Rio de Janeiro/UERJ e o Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense – UFF.

em saúde reprodutiva<sup>4</sup>. Um outro estudo sobre o perfil das usuárias em atendimento no ambulatório, examinou 327 (20%) dos prontuários de primeira vez, no período de 2003 a 2005, e demonstrou que: 73% das mulheres apresentavam infertilidade primária e 65,8% delas tinha um histórico de 3 a 8 anos de busca por atenção especializada. Nesta amostra, o diagnóstico predominante encontrado foi o fator tubo peritoneal 37,6% (incluindo laqueadura tubária), que muitas vezes constitui seqüela de infecções e/ou doenças sexualmente transmissíveis (Costa, 2005).

Entre janeiro e outubro de 2005, 48 casais com indicação médica para realização de FIV foram encaminhados, através do Programa de Tratamento Fora de Domicílio (TFD) da Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio de Janeiro. A partir dos dados de pesquisas e da escuta nos atendimentos individuais e em grupo, o Serviço Social pode perceber que as condições destas mulheres e de seus parceiros eram preocupantes. São casais de baixa renda, mulheres, em sua maioria, trabalhadoras do mercado informal, o que limita a possibilidade de realizar viagens sucessivas para ter acesso a FIV.

De outro modo, as dificuldades de acesso à atenção especializada, ainda nos níveis básicos de complexidade da assistência na rede pública do Rio de Janeiro, tornam o ingresso à terapia de FIV ainda mais dramático. Imediatamente, os relatos destes atendimentos e os estudos mostraram que os diagnósticos tardios, aliados à baixa cobertura da atenção preventiva, colaboram para o aumento da indicação para FIV, além de contribuir para a redução das possibilidades de sucesso nas diferentes terapias de fertilização. A disputa pelo acesso ao atendimento é simultânea à corrida contra o tempo; idades elevadas reduzem as chances de sucesso das terapias reprodutivas.

A rotina dos que foram encaminhados para a rede pública de São Paulo pode ser resumida na seqüência:

- A Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro (SES/RJ) responde esta demanda através de ajuda de custo para viagens dos casais a São Paulo através do Programa de Tratamento Fora do Domicílio (TFD). O valor do auxílio é fixo, e corresponde aos gastos com passagem de ônibus e diária. Mas, para obter estes recursos os casais têm a responsabilidade de marcar a 1ª consulta e apresentar, junto ao TFD, os comprovantes desta marcação e o encaminhamento médico para a terapia de FIV da unidade pública de origem. Note-se, a participação da SES/RJ é restrita a ajuda de custo, não há interlocução com as unidades de São Paulo, nem acompanhamento de saúde ou avaliação da assistência e seus resultados. Todo o esforço de inserção nas unidades de São Paulo fica por conta das mulheres e seus parceiros. Trata-se de uma rotina excludente, que exige sacrifícios e contradiz as diretrizes do SUS que priorizam a atenção integral e integrada à saúde.

Neste quadro, percebemos que era preciso responder esta demanda e ressaltar a sua particularidade e urgência. A decisão de ouvi-los coletivamente possibilitou a abertura para um debate democrático capaz de identificar as contradições na assistência prestada e na organização dos serviços públicos. Os debates em grupo foram conduzidos na seguinte direção.

Informar e refletir sobre os direitos sociais, a política nacional de atenção à saúde reprodutiva e a importância da participação dos usuários nos diferentes espa-

ços e momentos da vida institucional. Sua participação e a escuta das suas demandas foi fundamental, não só porque se trata de um direito prescrito na legislação, mas porque estes relatos constituem material para as equipes de saúde e pesquisadores planejarem as suas ações. Com isso, objetivamente, procuramos criar um espaço favorável à consciência crítica para uma mobilização coletiva pelos seus direitos, no lugar das iniciativas individuais para o acesso aos bens de saúde. Isto possibilitou explicitar a função do Serviço Social na rede pública de saúde, qual seja, a sua participação na identificação das necessidades de saúde dos usuários e seus condicionantes sociais, sistematizando e encaminhando aos gestores das unidades e programas de saúde.

## RESULTADOS

Dentre as principais dificuldades relatadas nos atendimentos em grupo destacamos:

- A dificuldade dos casais para marcar a primeira consulta em São Paulo.

- Iniciado o tratamento, há dificuldade para fazer uso do medicamento nos dez dias da prescrição médica. A única unidade que fornece medicamento, o Hospital Pérola Bygthon, exige a permanência na cidade durante todo o seu uso. Mesmo sendo desejável receber os medicamentos, por outro lado, ficar em São Paulo envolve custo pessoal, na medida em que o programa de Tratamento Fora do Domicílio, fornece valor único por viagem independente do tempo de permanência. Isto implica maior tempo de afastamento do trabalho, por vezes contribuindo para perda de emprego.

- Nos hospitais que não são plenamente integrados ao SUS, muitos casais chegam a fazer empréstimo para arcar com o alto custo dos medicamentos. Nestes casos, não há necessidade de ficar em São Paulo. Se assim fazer uso do medicamento no domicílio é favorável, não implicando mudanças na vida cotidiana, por outro lado supõe situações de risco devido às possibilidades de intercorrências. Episódios que podem ser agravadas pela ausência de unidade de saúde pública de referência no Rio de Janeiro para atendimento de emergência.

- O sucesso do tratamento depende da boa condição psicológica e material do casal. A rotina para acesso ao tratamento e o deslocamento para São Paulo geram muito estresse. E a pouca informação sobre o tratamento, suas reais chances de sucesso e riscos contribuem para um quadro de ansiedade.

A reflexão sobre estas condições de acesso aos serviços público e aos direitos sociais na saúde possibilitou a decisão de elaborar documentos que foram encaminhados para o Conselho Estadual de Saúde e para o Ministério Público do Rio de Janeiro sob a forma de abaixo assinado, com os seguintes pontos:

### 1- Dificuldades encontradas pelos casais durante o tratamento

- Inexistência do programa de "Fertilização *in vitro*" (FIV) na rede pública do Estado do Rio de Janeiro.
- Dificuldades para deslocamento das pacientes para "possíveis tratamentos" em outros estados. O estresse provocado pelo deslocamento geográfico, pela ansiedade e pela falta de recursos interfere diretamente na saúde das pacientes.

### 2-Propostas apresentadas pelos usuários

- Análise individualizada da "idade limite" feminina para qualificação e elegibilidade para tratamentos de reprodução assistida terciária

4 "O acesso aos serviços do Instituto de Ginecologia da UFRJ" – Relatório da Triagem. Fatima de Maria Masson (Assistente social) e Roberto Pichinisk ( Médico residente). Janeiro de 2003.

- Fornecimento da medicação gratuita para realização dos tratamentos
- Criação de equipe “interdisciplinar”: Médicos, Psicólogos e Assistentes Sociais visando assistência integral à paciente
- Democratização de acesso a mecanismos de Reprodução assistida aos casais que apresentarem problemas de fertilidade
- A integração técnica dos serviços de reprodução assistida para acompanhamento da progressão dos futuros tratamentos e da evolução da futura gestação das pacientes que obtiverem êxito em seus tratamentos
- Implantação do projeto definido pelo Instituto de Ginecologia da UFRJ de mudanças físicas e materiais que possibilitaria a criação do futuro laboratório de reprodução assistida terciária

## DISCUSSÃO

### Mobilização dos profissionais de saúde da reprodução assistida

Partindo do entendimento de que a infertilidade é questão de saúde pública<sup>5</sup>, o Serviço Social procurou meios de mobilizar não só os usuários, mas também os profissionais de saúde da rede pública do município do Rio de Janeiro, com vistas a refletir coletivamente sobre a urgência de alternativas para ampliação da cobertura da atenção. Seguimos na mesma direção trabalhada com os usuários; orientados pelos princípios e diretrizes do SUS, pelos dados sócio-demográficas/epidemiológicos e, fundamentalmente, compreendendo que tanto os profissionais da saúde quanto os usuários sofrem as consequências das limitadas condições da assistência e do sub-financiamento da saúde pública. Então, mobilizar os profissionais de saúde foi um caminho para veicular e compartilhar as demandas dos usuários e, ao mesmo tempo, construir espaço de debate. E assim, encaminhar propostas para a ampliação e qualificação da atenção da assistência aos casais com problemas de infertilidade com vistas a implementação da Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida.

Deste modo, o Serviço Social encaminhou ofícios aos gestores dos programas de atenção à saúde da mulher das secretarias do estado e do município do Rio de Janeiro. Estes documentos apresentavam duas ordens de questões: de uma parte, foi exposto um resumo das principais dificuldades de acesso destes usuários a FIV, particularmente, os riscos e sofrimentos que a rotina de encaminhamento para São Paulo provocava na vida deste grupo. De outra, proposta de reuniões institucionais para avaliar ações de curto e médio prazo, como exemplo: 1) estabelecer protocolo de integração institucional entre as unidades da rede do SUS de São Paulo, o IG/UFRJ e a Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, de modo que a marcação da primeira consulta e o acompanhamento fosse realizada institucionalmente; 2) implementar a atenção terciária em reprodução assistida no IG/UFRJ, unidade universitária pública, pioneira na atenção à infertilidade no Brasil e localizado próximo ao centro do Rio de Janeiro, local onde convergem a malha ferroviária (Central do Brasil) e o principal Terminal Rodoviário do estado.

Como efeito destes ofícios, o Serviço Social realizou várias

reuniões, no IG/UFRJ, com a participação de gestores, profissionais de saúde representantes das equipes dos ambulatórios de reprodução assistida dos hospitais públicos do município do Rio de Janeiro, representantes dos usuários do IG/UFRJ, pesquisadores, docentes e alunos da UFRJ. O conteúdo destas reuniões pode ser sintetizado através dos seguintes tópicos:

- A equipe do Programa de Tratamento Fora de Domicílio da secretaria estadual de saúde do Rio de Janeiro mostrou que a procura pela FIV em São Paulo representava a segunda maior procura para terapia fora de domicílio. Dado que confirma a urgência de reavaliação e implementação de um novo fluxo para TFD, integrado entre os serviços e o programa, a partir da celebração de protocolo entre Rio de Janeiro e São Paulo, até a implementação do serviço de atenção terciária em reprodução assistida (FIV) do SUS no Rio de Janeiro. Que compreenda os três pontos: 1) elaboração de nota técnica sobre os riscos e custo humano e material desta rotina 2) o Sistema de Regulação (SISREG) ficaria responsável pelas marcações e pelo sistema de referência para cobertura dos casais durante o tratamento de FIV em São Paulo. 3) elaboração conjunta, pelos profissionais de saúde de um cartão de identificação das mulheres/casais que incluía o registro do seu fluxo no acesso à atenção reprodutiva, em todos os níveis. A informação contida no cartão, de porte da mulher/casal, facilitaria o atendimento, principalmente, no caso de intercorrências clínicas relacionadas ao processo terapêutico.

- Identificar alternativas para garantir não só o acesso da população à atenção integral em reprodução assistida, mas aos exames, medicamentos e participação dos usuários na avaliação e planejamento dos serviços.

- Mapear a demanda descoberta e dos recursos institucionais, bem como as condições de trabalho dos profissionais de saúde.

- Estruturação e definição de pólos de referência em reprodução assistida, nos três níveis de complexidade de rede na perspectiva da atenção integral em saúde e discernimento das questões relativas a bioética. Neste aspecto, o indicativo é de constituição de uma câmara técnica, conforme prescreve legislação específica (Portaria GM/MS 426 de 22 de março de 2006 e Portaria 388 de 6 de junho de 2005)

- Criação de referência institucional com as maternidades públicas para: assistência, estudos e acompanhamento do pré-natal ao nascimento e desenvolvimento das crianças. Integração e ampliação de estudos sobre as determinações sociais da infertilidade entre homens e mulheres.

- Definição de conteúdo programático interdisciplinar para capacitação e aperfeiçoamento dos profissionais da rede básica dos pólos de reprodução assistida estabelecidos. Os recursos públicos poderão ser captados através da UFRJ, UERJ e das secretarias de saúde.

- Criação de espaço de integração entre os hospitais universitários da UERJ e UFRJ e das Secretarias Estadual/Municipal de Saúde. Integração que promova estudos sobre as alternativas de qualificação e ampliação da capacidade de resposta do SUS às demandas da infertilidade e, também, crie condições para intercâmbio de informação, pesquisas e debates que contribuam para estruturação de uma rede em assistência reprodutiva no SUS e universidades públicas. Uma ação integrada capaz de responder às necessidades de saúde deste segmento, contribuindo com indicadores para diminuição da infertilidade, numa perspectiva da atenção preventiva, integral, como indica os princípios e diretrizes do SUS.

5 A Organização Mundial da Saúde – OMS considera que 8% a 15% dos casais têm algum problema de infertilidade durante sua vida fértil. E define que a infertilidade pela ausência de gravidez após 12 (doze) meses de relações sexuais regulares, sem uso de contraceção.

### Perspectivas para materialização das propostas

Os tópicos arrolados tanto pelos usuários, quanto pelos profissionais de saúde, oferecem um material rico, que transita desde aspectos técnico-operativos às indicações relativas à pesquisa, a ética, a construção de indicadores em saúde reprodutiva e formação profissional. Por outro lado, colocam em evidência o protagonismo do Estado e da universidade pública. Refletem também a necessidade de estruturação de um programa público em conformidade com as determinações da Portaria GM/MS 426 e 388.

Tratamos aqui de dar voz a um segmento da população que não tem acesso a tecnologias inovadoras que deveriam ser disponibilizadas de forma democrática.

Esta experiência teve como fundamento, não só as bases legais que ancoram a defesa de um programa público em reprodução integral assistida à saúde dos casais, mas congregou de forma singular, ações de mobilização e participação dos usuários e dos profissionais de saúde num debate interdisciplinar e interinstitucional, vetores que correspondem aos princípios do SUS e à função social da universidade pública na sua particularidade de ensino, pesquisa e extensão.

### CONCLUSÃO

Questionamos as práticas de encaminhamento institucional desta demanda para São Paulo porque entendemos que compete a Secretaria de saúde do Estado do Rio de Janeiro, responder a esta demanda. Na atualidade, há um paradoxo: O estado do Rio de Janeiro possui uma rede de assistência significativa que, para além da atenção básica, conta com hospitais públicos universitários e equipes especializadas e, mesmo assim, não oferece cobertura integrada e plena nos três níveis da atenção em assistência reprodutiva. Sabemos que isto se deve ao subfinanciamento público da saúde causado pelas políticas econômicas neoliberais, pois não faltam equipes qualificadas nos hospitais públicos, tanto de ensino quanto de assistência.

Mas, a falta da atenção a esta demanda só reforça a desigualdade social no acesso às novas tecnologias e contribui para a sua judicialização, individualizando uma necessidade de atenção que é coletiva. Ainda que não seja possível aferir o nível de adesão ao tratamento, é significativo o número de mulheres que desistem do projeto da maternidade pela impossibilidade de arcar com os custos de um tratamento. Até o momento, o acesso à reprodução assistida no setor público, exige sucessivos deslocamentos a outros, o que muitas vezes, como afirmamos, coloca em risco o trabalho dos casais. Este processo de mobilização, debate e participação com usuários e profissionais da saúde merece ser retomado e ampliado. Nesta direção, a articulação interinstitucional permitirá conhecermos as condições sócio-institucionais, as reais demandas de saúde e, principalmente, respostas integradas que atendam e ampliem os direitos dos casais no estado do Rio de Janeiro, conforme a Política Nacional de Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida. Entendemos ser este mais um desafio da saúde pública brasileira.

**Endereço para correspondência:**  
Instituto de Ginecologia da UFRJ

Rua Moncorvo Filho, 90, Centro  
Rio de Janeiro-RJ-cep-20211-340

### Referências bibliográficas

Alves, JED. As Políticas Populacionais e o Planejamento familiar na América latina e no Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Escola Nacional de Ciências Estatísticas. Textos para discussão. Número 21. Rio de Janeiro, 2006.

Berquó, E. & S. Cavenaghi. Breve nota sobre a redução do número de filhos por mulher no Brasil. *Novos Estudos*, 74, março 2006.

BRASIL, Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 33, de 17 de fevereiro de 2006. Aprova o Regulamento técnico para o funcionamento dos bancos de células e tecidos germinativos. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 20 de fevereiro de 2006.

BRASIL, 2005 Portaria GM/MS no 426 de 22 de março de 2005, que institui a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida.

BRASIL, 2005. Portaria no 388 de 06 de julho de 2005, que prescreve a organização, hierarquia, atribuição e protocolos para os diferentes níveis de responsabilidade e competência da assistência em reprodução assistida

BRASIL. Ministério de Ciência e Tecnologia. Populações e políticas sociais no Brasil: os desafios da transição demográfica e das migrações internacionais. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2008.

<http://www.redlara.com/home1.asp>. acesso em janeiro 2010

Carvalho, JAM e Brito, F. A demografia brasileira e o declínio da fecundidade no Brasil: contribuições, equívocos e silêncios. *Revista Brasileira de Estudos Populacionais*. São Paulo, v.22, n. 2, p. 351-369, jul./dez. 2005.

Corrêa, MCDV. Novas tecnologias reprodutivas. Limites da Biologia ou biologia sem limites. Rio de Janeiro. Ed. UERJ, 2001.

Costa, T. Infertilidade e reprodução humana: um estudo sobre a percepção social dos riscos. Tese de Doutorado. Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2008.

Masson, F. A "Terceira Via" na Reforma da Saúde Pública. *Temporaliis*. Revista da Associação de Ensino e Pesquisa em Serviço Social – ABEPSS. Ano VII, n 13, (jan/jun ) pp. 39-65, 2007.

Masson F & Pichnisk R. O acesso aos serviços do Instituto de Ginecologia/UFRJ – Triagem do Instituto, Janeiro de 2003. Relatório Técnico. Instituto de Ginecologia – UFRJ, Janeiro, Mimeo. 2003.

Paiva, PTA. & Wanjman, S. Das Causas às conseqüências econômicas da transição geográfica no Brasil. *Rev. Brás. Est. Pop.* São Paulo. 2005; 22 p. 303-22.

UFRJ. Fórum de Ciência e Cultura da UFRJ. Seminário Saúde direitos sexuais e reprodutivos: Subsídios para políticas públicas. Carta do Rio de Janeiro pelos direitos sexuais e reprodutivos pela equidade de gênero e em defesa do Estado laico. Rio de Janeiro, 24 de agosto de 2007.

Souza, MCB; Vitorino, RL. A abordagem em infertilidade. *Femina*. 2008; 36, p. 603-09, 2008.

Souza MCB, Mancebo, ACA. *Saúde Ambiental*. J Bras Rep Assist. 2005; 9, p. 6.

Vasconcelos M. A Prática do Serviço Social. Cotidiano, formação e alternativas na área da saúde. São Paulo. Cortez, 2002.

Wong, LLR, Carvalho, JA. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. *Rev Bras Estudos Populacionais*. 2006; 23.p. 5-26.



# Fatores Ambientais e Reprodução: Metais (chumbo e cádmio). Fundamentação da pesquisa

## Environmental Factors and Reproduction: metals (lead and cadmium). Rationale for research

Maria do Carmo Borges de Souza PhD<sup>1</sup>, Ana Cristina Allemand Mancebo MSc<sup>1</sup>, Haydee Castro Neves Santos MD<sup>1</sup>, Ana Lucinda Rito da Costa<sup>1</sup>, Paulo Franco Taitson PhD<sup>2</sup>, Maria de Fatima Ramos Moreira PhD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra, Reprodução Humana – RJ

<sup>2</sup>Pontifícia Universidade Católica - MG

<sup>3</sup>Fundação Oswaldo Cruz / Escola Nacional de Saúde Pública / Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana / Laboratório de Toxicologia / Setor de Metais- Brasil

Este trabalho foi financiado parcialmente pela FAPERJ, Processo E-26-171214 -2005.

### RESUMO

A condição especial de acesso ao sangue e fluidos humanos (folicular e seminal) dos casais nas clínicas de reprodução assistida provê portanto a oportunidade ideal para se observar "in vitro" os gametas, a qualidade embrionária e tentar a identificação de potenciais efeitos dos contaminantes ambientais como chumbo e cádmio na reprodução humana.. Esta é a base do nosso projeto de estudo ambiental, dentro de um Grupo de Estudos Multidisciplinar de Saúde Reprodutiva, que tem se desenvolvido a partir de 2005. A visão crítica de uma informação científica proveniente de áreas multi e interdisciplinares certamente irá melhorar a saúde reprodutiva. A plausibilidade do efeito ambiental, se possível de comprovação, estabelece outro paradoxo, o dos casais que podem daí necessitar uma técnica de reprodução assistida que introduz novos riscos ambientais para gametas e embriões.

**Palavras-chave:** ambiente, chumbo e cádmio, reprodução humana

### ABSTRACT

A special condition of access to blood and human fluids (follicular and seminal) of couples in assisted reproduction clinics therefore provides an ideal opportunity to observe in vitro the gametes, embryo quality and try to identify potential effects of environmental contaminants as lead and cadmium in human reproduction . This is the basis of our environmental study within a Multidisciplinary Study Group for Reproductive Health, which has been developed since 2005. A critical view of scientific information from multi-and interdisciplinary areas will certainly improve reproductive health . The plausibility of the environmental effect, if possible to be demonstrated, provides another paradox, the couples who may then need an assisted reproduction technique, that also involve environmental potential problems to gametes and embryos.

**Key words:** environment, lead and cadmium, human reproduction

### INTRODUÇÃO

A população humana vem crescendo em todo o planeta. Os efeitos desta situação preocupam vários especialistas, resultando numa nova ciência, a Ecologia Humana Repro-

ductiva, que estuda as decisões humanas procriativas, a fecundidade e a fertilidade, relacionadas às condições bióticas (relações com outros seres) e abióticas (ligadas a fatores físico-químicos) que cercam os seres humanos (Souza et al., 2003).

Carson em 1962, em seu livro *Silent Spring* propôs que havia correlação direta entre as modificações introduzidas no meio ambiente, principalmente pela utilização de substâncias químicas em larga escala na agricultura, e a incidência de câncer na espécie humana. Até hoje não há comprovação de que esta correlação exista ou tenha existido. No entanto, a partir de então, passou-se a prestar mais atenção entre a questão da contaminação ambiental e seus possíveis efeitos na saúde humana. Hawkins em 1994, revendo o livro de Carson chama a atenção de que a autora indiscutivelmente apresentou uma nova premissa na relação entre humanos e a utilização de substâncias químicas e a consequência ambiental. A preocupação com a exposição a metais e os efeitos em humanos têm sido mostrada em estudos da saúde ocupacional (Anntilla & Sallmen, 1995; Claman, 2004). Entretanto, poucos deles têm sido desenvolvidos com o objetivo de correlacionar a exposição ambiental a esses metais e a saúde reprodutiva. A exposição prolongada durante a vida adulta, e mesmo no período pré-natal, a metais tais como chumbo, mercúrio, cádmio, urânio e manganês têm sido correlacionados a efeitos adversos na reprodução, em várias espécies (Andrew et al., 1994; Ratcliffe et al., 1996). Entre estes efeitos podemos relacionar o aborto espontâneo, a morte fetal intra-útero e o parto prematuro. Estudos "in vitro", utilizando camundongos, mostram que a exposição breve aos metais pode ser prejudicial para o desenvolvimento embrionário, sabidamente o chumbo, o lítio e o cádmio. Hanna e colaboradores em 1997 mostraram que o mercúrio, o chumbo e o cádmio, entre outros, são embriotóxicos mesmo em concentrações relativamente baixas (Wide, 1978; Fernandez & Izquierdo, 1983; De et al., 1993).

Muitos especialistas em reprodução, acreditam que oócitos e embriões potencialmente estão expostos "in vivo" aos vários fatores ambientais durante as etapas de maturação e desenvolvimento. Nos oócitos humanos, em estágio de prófase I por muitos anos, este lapso de tempo até a maturação resulta em alta possibilidade da célula sofrer influências de fatores ambientais que alterem o seu metabolismo. Por outro lado, mesmo os embriões

podem sofrer influências ambientais. Durante a migração pelas tubas até a chegada ao útero ocorre a ativação do genoma embrionário e, nesta etapa, o embrião é muito susceptível a influências externas. Os metais "pesados" são aqueles situados entre o cobre e o chumbo na tabela periódica, quimicamente caracterizados por serem altamente reativos e bioacumuláveis, ou seja, os organismos não são capazes de eliminá-los e eles também não tem qualquer função no organismo, determinando muitas doenças já descritas a partir desta acumulação.

A condição especial de acesso ao sangue e fluidos humanos (folicular e seminal) dos casais numa clínica de reprodução provê portanto a oportunidade ideal para se observar "in vitro" os gametas, a qualidade embrionária e tentar a identificação de potenciais efeitos dos contaminantes ambientais na reprodução humana. Esta foi a base do nosso projeto de estudo ambiental, dentro de um Grupo de Estudos Multidisciplinar de Saúde Reprodutiva, que tem se desenvolvido a partir de 2005 (Benoff et al., 2003; Souza et al., 2006).

### **Chumbo (Pb)**

É um dos poluentes ambientais mais comuns, tóxico para homens e animais, sem qualquer função fisiológica conhecida no organismo, e que se acumula durante toda a vida. Entra no corpo principalmente por inalação ou ingestão e 90% do chumbo corpóreo se armazena nos ossos. A distribuição do chumbo segue modelo de três compartimentos- sangue, tecidos moles (rins, medula óssea, fígado e cérebro) e tecidos mineralizados (ossos e dentes), com meias-vidas neles de 36 dias, 40 dias e 27 anos. No sangue a concentração é menor que 2% do total corpóreo, mas cerca de 5% da concentração plasmática representa a fração lábil e biologicamente ativa, capaz de cruzar as membranas celulares e causar seus efeitos tóxicos (Moreira & Moreira, 2004a).

A exposição ambiental ao chumbo está associada a múltiplas fontes tais como tintas, soldas de latas de alimentos e encanamentos de água potável. Este metal encontra-se principalmente no ar, poeira doméstica, no lixo das ruas, solo, água e alimentos. As plantas e animais podem absorver o chumbo, tornando-se também fontes de contaminação.

São inúmeras as atividades industriais que podem ocasionar contaminação ambiental pelo chumbo. Atualmente, as fábricas e reformadoras de baterias, reparadores de radiadores, fundições secundárias, incluindo refino de metais constituem as principais fontes de contaminação ambiental e ocupacional ao chumbo nos países em desenvolvimento (Quiterio et al., 2001).

A concentração de chumbo no sangue é aceita como um indicador válido de exposição total ao chumbo e, conseqüentemente, de risco à saúde. Entretanto, reflete exposição ambiental recente, enquanto que o conteúdo de chumbo no osso (Pb-O) reflete exposição acumulada. O Pb-O tem uma relação mais direta com os níveis de chumbo plasmático do que no sangue total, o que significa que Pb-S pode não representar adequadamente os teores deste elemento no plasma (Moreira & Moreira, 2004b).

Os metais pesados podem danificar qualquer atividade biológica, e a toxicidade resulta, principalmente, da capacidade do chumbo em inibir ou imitar a ação do cálcio e interagir com proteínas. O chumbo interfere no funcionamento das membranas celulares, formando complexos estáveis com ligantes contendo enxofre, fósforo, nitrogênio ou oxigênio, que funcionam como doadores de elétrons.

A legislação brasileira não estabelece níveis biológicos máximos aceitáveis nos sedimentos e solos, enquanto determina um índice biológico máximo permitido (IBMP) de exposição, de 60 µg dL<sup>-1</sup> segundo a NR7-1994 (Brasil,

1994). Este dado deveria ser reavaliado, desde que mesmo os níveis de 30 µg , redefinidos pela *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) em 1998, já estão defasados Haber & Maier, 2002).

Ao mesmo tempo que hoje se entende a necessidade de esforços no sentido de localizar populações de risco para exposição ao chumbo e a utilização de medidas preventivas como a remoção de aditivos, tintas, vasilhas de alimentos, cosméticos, programas de combate à desnutrição ( que mobiliza o chumbo desde o osso), melhores locais de trabalho, fiscalização mais cuidadosa, pesquisas devem buscar esclarecer mecanismos ainda obscuros.

A relação entre exposição e efeitos é dinâmica, grandes exposições agudas não precisam ocorrer para resultar num envenenamento por chumbo. Pequenas exposições, por pouco tempo, podem ficar acumuladas, sendo liberadas lenta e continuamente, determinando efeitos.

### **Chumbo e fertilidade**

Os efeitos reprodutivos masculinos secundários decorrentes da exposição ao chumbo sempre foram motivo de polêmica em estudos mais antigos. Isto se deve ao fato de existirem dificuldades metodológicas e de interpretação de resultados nesse tipo de investigação, tendo em vista as inúmeras variáveis que confundem e a dificuldade em se estabelecer valores de referência para determinadas variáveis estudadas. Mais recentemente, alguns trabalhos epidemiológicos, bem desenhados e conduzidos, têm demonstrado relação entre índices de infertilidade masculina, avaliada a partir de contagem de espermatozoides e aumento de formas anormais dos mesmos, e exposição ocupacional a chumbo em concentrações dentro dos limites de tolerância. Apesar desses resultados, o tema continua polêmico em função dos inúmeros fatores causais envolvidos (dieta, hábitos de fumar e beber, uso crônico de medicamentos, exposições ambientais inadvertidas, fatores genéticos, entre outros) que se sobrepõem na definição de fertilidade humana (Azevedo & Chasin, 2003).

Os efeitos do chumbo sobre o sistema reprodutor masculino em humanos não foram bem caracterizados. Os dados disponíveis apoiam uma conclusão experimental de que os efeitos sobre os testículos, incluindo contagem reduzida de espermatozoides e redução na motilidade, podem resultar de exposição crônica com níveis de Pb-S de 40 a 50 µg.dL<sup>-1</sup>. Bonde e colaboradores em 2002, concluíram que são improváveis os efeitos adversos do chumbo sobre a função testicular em concentrações abaixo de 45 µg.dL<sup>-1</sup>. De acordo com Marchlewicz em 1994, o chumbo é encontrado somente no citoplasma dos macrófagos no tecido intersticial, e atravessa a barreira hemato-epididimica. Gandley e colaboradores em 1999, estudaram o efeito da exposição a níveis relativamente baixos de acetato de chumbo (25 e 250 ppm) sobre a fertilidade e viabilidade de descendência em ratos machos. Esses autores concluíram que a fertilidade foi reduzida com níveis de Pb-S na faixa de 27 a 60 µg.dL<sup>-1</sup> e que a expressão genômica inicial foi afetada nos embriões cujos pais apresentavam concentrações de Pb-S entre 15 e 23 µg.dL<sup>-1</sup>. Apesar de o polimorfismo genético do ácido delta-aminolevulínico desidratase parecer modificar a associação entre o Pb-S e zinco protoporfirina, não foram encontradas alterações para coproporfirina urinária e contagem ou concentração de esperma em empregados de uma fundição de zinco-chumbo (Alexander et AL., 1998).

Um estudo investigou o conteúdo de chumbo no fluido ovariano folicular de 23 mulheres. Além disso, o efeito direto do chumbo sobre a morfologia e produção de

progesterona por cultura de células granulosas de seis mulheres foi investigado num experimento *in vitro*. O grupo concluiu que os níveis de chumbo no fluido ovariano folicular pareciam não representar risco com respeito à secreção de progesterona pelo ovário (Paksy et al., 2001). Há evidências qualitativas suficientes para apoiar a conclusão de que níveis elevados de exposição ao chumbo causam efeitos adversos significativos sobre a reprodução humana. Entretanto, os dados não permitem estimar que níveis de Pb-S causariam danos em mulheres; em homens, essa definição é apenas especulativa (Moreira & Moreira, 2004a).

O grande desafio na saúde reprodutiva, como nos processos biológicos em geral, é esta percepção do risco, associada à necessidade de identificar a ocorrência de um elemento em diferentes formas, com labilidade que pode comprometer a identificação de concentrações baixas e mesmo assim que poderiam ter importância biológica. No Brasil, os artigos originais sobre os níveis de chumbo no fluido folicular e líquido seminal e seus efeitos na fertilidade são inexistentes. Assim sendo, faz-se necessária a realização de estudos nas populações brasileiras férteis e inférteis. A informação paralela das condições dos indivíduos estudados, incluindo hábitos diários e estilo de vida, trabalho, lazer, poderia contribuir para montar este entendimento. Também, seria importante se estabelecer técnicas adequadas de análise de especiação, ou seja, que pudessem identificar diferentes espécies químicas em uma amostra, com detectores extremamente sensíveis e seletivos. Estes foram os objetivos iniciais de nossos estudos, que já resultaram em algumas publicações (Taitson & Souza, 2008; Moreira et al., 2008; Costa et al., 2009; Silva et al., 2009).

#### **Cádmio (Cd)**

É um metal branco-azulado, à temperatura ambiente apresenta-se estável e em estado sólido. É relativamente pouco abundante e dos mais tóxicos, apesar de ser um elemento químico essencial, necessário em quantidades muito pequena. Sua função biológica não é muito clara. Normalmente encontrado em minas de zinco, ao qual está frequentemente associado, na forma de sulfeto, sendo frequentemente um sub-produto do refino do zinco. Oxida-se lentamente ao ar, com a umidade. Em contato com ácidos, como os orgânicos alimentares, resulta em sais com toxicidade. Aquecido a temperaturas elevadas, emite vapores amarelo-avermelhados de óxido de cádmio (Moreira, 1993).

O Cd tem sido utilizado industrialmente nos últimos vinte e cinco anos, por exemplo no revestimento eletrolítico dos metais, na preparação de ligas para soldaduras, em células fotoelétricas e, principalmente, nos eletrodos das baterias recarregáveis de telefones, calculadoras, etc. São fontes de contaminação os alimentos e bebidas, mais concentrado em mariscos, ostras e peixes de água salgada, alguns tipos de chá, a fumaça do cigarro e até mesmo alguns fitoterápicos. As plantas absorvem mais rapidamente o Cd do solo do que outros metais, como o chumbo pois é facilmente absorvido pelo sistema radicular. A utilização crescente das pilhas e baterias, assim como seu descarte desordenado levam a grandes potenciais de contaminação (Alloway, 1990).

Os alimentos se constituem na maior fonte de exposição ao cádmio para populações de regiões não poluídas e para indivíduos não fumantes, uma vez que esse metal entra na cadeia alimentar humana através das plantas e produtos alimentícios de origem animal. Fumantes podem absorver quantidades comparáveis à ingestão diária (uma ingestão de 0,1 a 0,2 µg de cádmio por cigarro, com 50% de absorção) e, assim, formar um grupo

especial nas investigações sobre exposição ao cádmio (Tsaley & Zaprianov, 1985).

O cádmio entra no organismo, principalmente, por inalação e ingestão. Os pulmões absorvem de 10 a 40% do cádmio inalado, enquanto que o cádmio ingerido através dos alimentos e da água é pouco absorvido pelo trato gastrointestinal (5-7%), sendo a maior parte eliminado pelas fezes. Porém, deficiências de cálcio, ferro e proteínas aumentam a taxa de absorção do cádmio ingerido, como é o caso da população brasileira que tem hábitos alimentares comprometidos e fumantes (boa parte da população) que podem absorver quantidades comparáveis à ingestão diária. O grau de absorção gastrointestinal é dependente da forma química, da dose ingerida de cádmio e de características individuais, tais como gênero e idade (Queiroz & Waissmann, 2006).

O principal mecanismo de absorção, distribuição e excreção do cádmio se dá através da sua interação com a proteína metalotioneína, que é encontrada em todos os tecidos, inclusive nos rins, fígado, coração, cérebro, pele, músculos e pulmões. O cádmio absorvido por via pulmonar é transportado pelo sangue para vários tecidos e órgãos, sendo acumulado principalmente nos rins e fígado. O cádmio absorvido é eliminado lentamente, a maior parte pela urina. A córtex renal (camada mais externa) pode reter 33% da carga total de cádmio, o fígado 14%, os pulmões 2% e o pâncreas, menos de 1%. Os 50% restantes são distribuídos entre os outros tecidos, tais como pulmões, aorta, coração e músculos, em ordem decrescente (ATSDR, 1998).

A meia vida biológica é muito longa, cerca de 30 anos, e aparentemente não há mecanismos de controle da excreção. A exposição aguda, via pulmonar, pode resultar em edema e irritação respiratória, enquanto a inalação crônica leva a prejuízos renais. Os níveis de absorção de Cd considerados como "seguros" pela OMS (Organização Mundial de Saúde) correspondem a 500µg-semana. Em áreas não poluídas a maior fonte é o cigarro, estimando-se uma ingestão de 0,2 a 1 µg por cigarro fumado. Esta ingestão chega a 10-30 µg-dia em alguns países europeus com maior quantidade de mariscos e arroz nas suas refeições. Estima-se que um americano-a média tenha cerca de 30mg de Cd acumulada em seu organismo (Wu et al., 2008).

A toxicidade depende dos níveis orgânicos dos íons protetores zinco, cobre, ferro e cálcio. O cádmio especificamente inibe enzimas que contem os grupos sulfidrilas. Também apresenta afinidade com outros ligantes e estas ações de inibição enzimática são as responsáveis pela toxicidade. O cádmio no sangue reflete exposição recente, uma vez que aumenta durante os primeiros 4 a 6 meses de exposição e depois sua concentração é proporcional à intensidade de exposição, enquanto que o cádmio na urina reflete o conteúdo corporal quando o nível de exposição é baixo, isto é, quando o nível crítico no córtex renal não é atingido. No caso de níveis altos de exposição, a concentração de cádmio nos rins se aproxima do nível crítico (há saturação dos sítios ativos) e o Cd-U passa a refletir exposição recente. O Cd-U é, pois, um indicador para exposição, quando ainda não há disfunção renal. No caso de danos aos rins, induzidos pelo cádmio, o Cd-U não está quantitativamente correlacionado à exposição.

#### **Cádmio e fertilidade**

Os efeitos do cádmio no aparelho reprodutivo foram relatados em estudos realizados em animais de experimentação. Muitos trabalhos tem sugerido efeitos do Cd nas células germinativas masculinas. Nestes, o cádmio mostrou induzir necrose em testículos, resultando em infertilidade irreversível; diminuição da mobilidade de espermatozoides e espermogênese; decréscimo dos teores de testosterona



na<sup>(21,36)</sup> e alterações do ciclo reprodutivo nas fêmeas. Até os dias de hoje, ainda são escassos os estudos realizados em fluido folicular e líquido seminal para investigação da relação do cádmio com a infertilidade na população brasileira (Azevedo & Chasin, 2003; Wu et al., 2008).

#### Observações iniciais e desdobramentos futuros

A partir da busca da literatura especializada, verificamos uma grande dificuldade na metodologia da quantificação dos metais nos fluidos biológicos do sistema reprodutivo humano. Os efeitos potenciais na reprodução permanecem controversos, provavelmente também devido às dificuldades metodológicas e sua interpretação, desde que múltiplas variáveis incluindo os procedimentos analíticos dificultam o estabelecimento dos valores de referência. Tornou-se então um ponto capital se estabelecer uma metodologia própria, confiável, adequada para utilização nos laboratórios clínicos.

Moreira e colaboradores em 2010, em trabalho recentemente submetido a publicação, expôs a metodologia desenvolvida e testada, que foi executada em nosso estudo clínico piloto, que está sendo finalizado, comparando-se casais inférteis submetidos a reprodução assistida versus casais que gestaram sem dificuldades e que já pararam de amamentar por pelos menos 12 meses.

A visão crítica de uma informação científica proveniente de áreas multi e interdisciplinares certamente irá melhorar a saúde reprodutiva. Torna-se impossível progredir nesta área sem a participação e discussão frequente dos vários olhares sobre o tema. Este foi inclusive o objetivo do periódico *Summit*, chamando a atenção da extrema importância dos estudos colaborativos (Woodruff et al., 2008). São questões pertinentes, por exemplo, a interrogação sobre a possibilidade de efeitos transgerações, genéticos ou epigenéticos na origem, assim como diferenças de concentrações em pequenos folículos como possíveis marcadores de exposição crônica (Silberstein et al., 2006). A plausibilidade do efeito ambiental sendo possível, novamente estabelece-se outro paradoxo, o dos casais que podem daí necessitar uma técnica de RA, que por sua vez também gera potencialmente vários aspectos de contaminação instrumental, química e física. Prevemos então novamente uma sequência mais ampla, com o aumento da informação às populações envolvidas direta ou indiretamente, no contexto da infertilidade, ocupacionalmente ou no contexto ambiental, sem acesso às técnicas de RA. Tudo contribuirá para uma finalidade maior, ou seja, o desenvolvimento de políticas públicas com a determinação de avaliações locais, níveis nacionais e regulamentações clara, maiores recursos para as pesquisas, participação do meio científico nas decisões e, principalmente, enumerando novamente conceitos advindos como justiça ambiental e justiça reprodutiva.

#### Endereço para Correspondência:

Maria do Carmo Borges de Souza  
G&O Barra RJ- Reprodução Humana  
Av das Américas 4666 salas 312-313 - Rio de Janeiro RJ Brasil  
Cep 226490-900  
E-mail- mariadocarmo@cmb.com.br

#### Referências

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1998.

Alexander BH, Checkoway H, Costa-Mallen P, Faustman EM, Woods JS, Kelsey KT, et al. Interaction of blood lead and d-aminolevulinic acid dehydratase genotype on markers of heme synthesis and sperm production in lead smelter. *Environ Health Perspect*. 1998;106:213-6.

Alloway BJ. Heavy metals in soils. New York; John Wiley Inc; 1990.

Andrew KW, Savitz DA, Hertz-Picciotto L. Prenatal lead exposure in relation to gestational age and birth weight: a review of epidemiologic studies. *Am J Ind Med*. 1994;26:13-32.

Anttila A, Sallmen M. Effects and parental occupational exposure to lead and other metals on spontaneous abortion. *J. Occup Environ Med*. 1995;27:915-21.

Azevedo FA, Chasin AAM. Metais: Gerenciamento da Toxicidade. São Paulo: Editora Atheneu; 2003.

Benoff S, Hurley IR, Millan MAC, Napolitano B, Centola GM. Seminal lead concentrations negatively affect outcomes of artificial insemination. *Fertility and Sterility*, 2003;80:517-25.

Bonde JP, Joffe M, Apostoli P, Dale A, Kiss P, Spano M, et al. Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occup Environ Med*, 2002; 59:234-42.

BRASIL. Portaria n.º 24, de 29 dezembro de 1994. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, n.248,30 dez. 1994. Seção 1(NR 7)

Carson R. Silent Spring Grove: Houghton Mifflin; 1962.

Claman P. Men at risk: occupation and male infertility. *Sexuality, Reproduction & Menopause*, 2004;2:19-26.

Costa T, Stotsz EN, Luiz, R, Souza MCB. América Latina e a busca por reprodução assistida: perfil da paciente em um serviço público de referência no Rio de Janeiro, Brasil. In: 9º Taller General de la Redlara- Acceso a la evolución, 2009, Cancún. 9º Taller General de la Redlara- Acceso a la evolución. Cancún : Cult Mkt e Design, 2009; 1;10-4.

De, SK, Paria, BC, Dey, SK, Andrews, GK. Stage-specific effects of cadmium on preimplantation embryo development and implantation in the mouse. *Toxicology*, 1993;80: 13-25.

Fernandez MS, Izquierdo L. Effects of LiCL on differentiation of mouse embryo beyond the blastocyst stage. *Arch. Biol. Med. Exp*, 1983;16, 51-4.

Gandley R, Anderson L, Silbergeld EK. Lead: male-mediated effects on reproduction and development in the rat. *Environ Res*, 1999; 80:355-63.

Haber LT, Maier A. Regulation. *Toxicol Pharm*, 2002;36:262.

Hanna LA, Peters JM, Wiley LM, et al Comparative effects on essential and non essential metals on preimplantation mouse embryo development in vitro. *Toxicology*, 1997;116, 123-31.

Jacquet P, Leonard A, Gerber GBN. Action of lead on early division of the mouse embryo. *Toxicology*, 1976;6 129-32.

Marchlewicz M. Effectiveness of blood-testis and blood-epididymis barriers for lead. *Ann Acad Med Stetin*, 1994;40:37-51.

Moreira FR, Mancebo AC, Souza MCB. Quantification of lead and cadmium content in biological fluids of the human reproductive system. *Clin Biochemistry*. 2010. *Submitted*.

Moreira FR, Moreira JC. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2004; 9:167-81.

Moreira FR. Determinação direta de cádmio em sangue total e urina por espectrometria de absorção atômica no forno de grafite. Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Química, PUC-Rio; 1993.

Moreira FR, Moreira JC. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Rev Panam Salud Publica*, 2004;15:119-29.

Moreira MFR, Martins AC, Alvim BF, Mancebo ACA, Souza MCB. The determination of lead and cadmium content in biological fluids of the human reproductive system. In: 10th Symposium on Atomic Spectrophotometry, Salvador. 10th Symposium on Atomic Spectrophotometry; 2008.

Paksy K, Gati I, Naray M, Rajczy K. Lead accumulation in human ovarian follicular fluid, and in vitro effect of lead on progesterone production by cultured human ovarian granulosa cells. *J Toxicol Environ Health*, 2001; 62:359-66.

Queiroz EKR, Waissmann W. Occupational exposure and effects on the male reproductive system. *Cad Saúde Pública*, 2006;22: 485-93.

Quiterio SL, Silva CRS, Vaitzman DS, Martinhon PT, Moreira MFR, Araújo UC, Mattos RCOC, Santos LSC. Uso da poeira e do ar como indicadores de contaminação ambiental em áreas circunvizinhas a uma fonte de emissão estacionária de chumbo. *Cadernos de Saúde Pública*, 2001; 17:501-8.



- Ratcliffe HE, Swanson GM, Fisher LJ. Human exposure to mercury: a critical assesment of the evidence of adverse health effects. *J Toxicol Environ Health*, 1996;49:221-70.
- Silberstein T, Saphier O, Paz-Tal O, Trimarchi JR, Gonzalez L, Keefe DL. Lead concentrations in ovarian follicles compromises pregnancy. *J Trace Elem Med Biol*, 2006;20: 205-7.
- Silva WJJ, Henriques T, Costa T, Souza MCB. Saúde Reprodutiva e Ambiente. Exposição ocupacional e estilo de vida. In: XIII Congresso Brasileiro de Rep Assistida, 2009, Curitiba. *J Bras Rep Assist- XIII Cong Bras RA*, 2009;13:31.
- Souza MCB, Grynszpan D, Mancebo ACA. Ecologia humana reprodutiva uma questão a considerar. *J Bras Rep Assist*. 2003;6:7-9.
- Souza MCB, Mancebo ACA, Bastos AM, Henriques CA, Rocha C, Maia C, Pritsivelis C, Grynszpan D, Cardoso F, Silva L, Barbi N. Meio Ambiente e Saúde Reprodutiva. In: Silva Filho JF, Previato JO, França I. (eds). *Profissão e Ética na Saúde*. UFRJ, Rio de Janeiro;2006.
- Storeng R , Jonsen, J.(1980) Effects of nickel chloride and cadmium acetate on the development of preimplantation mouse embryos in vitro. *Toxicology*, 17: 183- 187.
- Taitson P, Souza MCB. Incidence of male infertility by occupational factors in Minas Gerais. *J Bras Rep Assist*, 2008;12:14-8.
- Trapp M, Baukloh V, Bohnet H, Heenschen W. Pollutants in human follicular fluid. *Fertil. Steril*, 1984;42: 146-8.
- Tslev DL, Zaprianov ZK. *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice*, 2. ed. USA: CRC Press1985.
- Wide M. Effect of inorganic lead on the mouse blastocist in vitro. *Teratology*, 1978;17:165-9.
- Woodruff TJ, Carlson A, Schwartz JM, Giudice LC. Proceedings of the Summit on Environmental Challenges to Reproductive Health and Fertility- executive summary. *Fertil Steril*, 2008;89:281-95.
- Wu HM, Lin-Tan DT, Wang ML, Huang HY, Wang HS, Soong YK, Lin JL. (2008) Cadmium level in seminal plasma may affect the pregnancy rates for patients undergoing infertility evaluation and treatment. *Reprod Toxicol* 25: 481-484.

# An overview of non-obstructive etiopathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility

## Uma visão geral dos mecanismos etiopatogênicos não-obstrutivos da infertilidade relacionada à endometriose

Bruno Ramalho de Carvalho, Hitomi Miura Nakagava, Adelino Amaral Silva, Antônio César Paes Barbosa

Genesis – Centre for Assistance in Human Reproduction, Brasília, Distrito Federal, Brazil.

### ABSTRACT

Although up to 60% of women with endometriosis complain of infertility, knowledge on the etiopathogeny of such an association is still limited. Mechanical obstruction to reproductive processes is the most accepted phenomenon to explain infertility in women with endometriosis, but the diverse phenotypes of the disease and notorious biochemical changes in the pelvic-peritoneal micro-environment lead us to a complex multifactorial net of possibly connected mechanisms. In this article, we revised classic and recently proposed non-obstructive etiopathogenic theories on endometriosis-related infertility, providing background to counseling and follow up of those patients in reproductive medicine clinics.

**Keywords:** Endometriosis, Human Reproduction, Infertility

### RESUMO

Embora a infertilidade seja uma queixa de até 60% das mulheres portadoras de endometriose, o conhecimento sobre a etiopatogenia dessa associação ainda é limitado. A obstrução mecânica aos processos reprodutivos é o fenômeno mais aceito para explicar a infertilidade associada à endometriose, mas os diversos fenótipos da doença e as mudanças bioquímicas observadas no microambiente pélvico-peritoneal remetem a uma complexa rede de mecanismos possivelmente interligados. Neste artigo, revisamos teorias etiopatogênicas não-obstrutivas clássicas e as recentemente propostas para a infertilidade associada à endometriose, fornecendo subsídios para o aconselhamento e o acompanhamento em serviços de medicina reprodutiva.

**Palavras-chave:** Endometriose, Reprodução Humana, Infertilidade.

### INTRODUCTION

Endometriosis is an estrogen-dependent disease which affects up to 10% of women in reproductive ages. Infertility is a complaint in approximately 60% of those women (Moura et al., 1999; Littman et al., 2005) and studies have postulated that more than a half of unexplained infertility cases would be associated with the disease in an eventual laparoscopy (Strathy, 1982; Hill, 1992). Obstruction to reproductive steps is the most accepted phenomenon to explain infertility in women with endometriosis. Progressive inflammatory process and consequent peritoneal and tubal fibrosis lead to the formation of mechanical barriers due to pelvic adhesions and anatomical distortions. Mainly in moderate and severe stages of disease, oocytes' extrusion and/or capture by tubal

*fimbriae* may be impaired, and obstructions may either block oocytes' progression along uterine tubes (Schenken et al., 1984). Ovarian endometriotic cysts, which are present in almost 45% of women with the disease (Busacca & Vignali, 2003), should either exert obstructive influence on reproductive physiology, especially because of the mass effect over healthy adjacent ovarian tissue. As a result of such a compression to gonadal blood supply, tissular ischemia occurs, with a probable significant and progressive depletion of follicles (Pabuccu et al., 2004). As a matter of fact, physiopathology of endometriosis-related infertility shall involve much more complex connections, including molecular changes in pelvic-peritoneal and ovarian microenvironments, with negative influences on ovulation (Toya et al., 2000), fertilization, embryogenesis (Pellicer et al., 1995; Garrido et al., 2000; Lebovic et al., 2001) and embryo implantation (Lessey et al., 1994; Kao et al., 2003). Curiously, a twofold risk of preterm birth and small-for-gestational-age baby is reported for infertile women with ovarian endometriomas in comparison with community birth records (Fernando et al., 2009).

The aim of this review is to briefly describe non-obstructive etiopathogenic theories to explain endometriosis-related infertility and provide background to the elaboration of adequate counseling and therapeutic strategies in such a complex scenario.

### OVARIAN RESERVE DEPLETION

A recent Brazilian study evaluated infertile women with minimal and mild endometriosis and pointed to the occurrence of significant reduction in serum levels of anti-müllerian hormone (AMH) in women with the disease, when compared with disease-free controls (Lemos et al., 2008). Since AMH has been associated with the real gonadal reserve of primordial follicles, the authors hypothesized that endometriosis should diminish the proper ovarian reserve. As a matter of fact, we recently found that basal levels of the follicle stimulating hormone (FSH) were significantly elevated among infertile women with endometriosis, when compared to exclusive male factor, but no interference of disease was observed on AMH levels (Carvalho et al., 2010). Since controversy has been raised, more studies are requested to determine or deny the speculated negative interference of endometriosis on the proper ovarian reserve.

### DISRUPTION OF FOLLICULOGENESIS AND OOCYTE MATURATION

Endometriosis has been associated with folliculogenesis' disruption, with the possibility of precocious luteinization (Schenken et al., 1984) and other dysfunctions. Some studies have suggested that impaired biological behavior of follicles and oocytes in women with endometriosis

disrupts the reproductive process, but results regarding its interference with follicular function are still controversial. While some authors did not detect differences in basal levels of FSH between women with endometriosis and women with tubal factor, or between patients with different degrees of the disease (Lima *et al.*, 2006), Hock *et al.* reported a significant increase in these levels among women with advanced endometriosis, supporting the idea of a progressive loss of the functional apparatus of the ovaries with the advance of the disease (Hock *et al.*, 2001). We have recently studied infertile patients with endometriosis at the Service of Human Reproduction of the Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, and found that basal FSH levels were significantly elevated among them, when compared to exclusive male factor; we, then, definitely believe that endometriosis shall negatively influence follicular responsiveness to natural and/or exogenous gonadotropins (Carvalho *et al.*, 2010).

Also, IVF cycles in patients with minimum/mild endometriosis have been demonstrated to present with longer and insufficient follicular growth (Kao *et al.*, 2003; ASRM, 2006), and hypothetical changes in granulosa cells' kinetics shall be the cause of such a developmental alteration (Hull *et al.*, 1987; Hughes *et al.*, 1993). As a matter of fact, low quality oocytes and embryos (Jansen, 1986; Igarashi *et al.*, 2005; Fedele *et al.*, 1992a; Fedele *et al.*, 1992b), low fertilization and implantation rates (Kao *et al.*, 2003), and insufficient luteal function (Genbacev *et al.*, 2003) are frequently found among infertile women with endometriosis. Barcelos *et al.* have recently suggested that maturation of oocytes in patients with endometriosis shall be inadequate and maturity may be falsely indicated by normal morphological criteria. The authors found a greater proportion of oocytes in telophase I among those considered to be morphologically in metaphase II after *in vitro* maturation for patients with endometriosis (Barcelos *et al.*, 2008).

#### COMPROMISED STEROIDOGENESIS

A negative effect on progesterone release by granulosa-lutein cells was even suggested by Gomes *et al.* as a consequence of chemical changes in peritoneal fluid of women with endometriosis; those authors hypothesized that such a compromise on ovarian steroidogenesis should be related to reproductive dysfunction in women with the disease (Gomes *et al.*, 2008), agreeing with the theory previously defended by de Abreu *et al.*, who showed reduced aromatase activity and insufficient basal production of estradiol in *in vitro* cultured granulosa cells of women with endometriosis submitted to ART (Abreu *et al.*, 2006).

#### IMMUNOLOGICAL DISTURBANCES

They are probably a cornerstone in a complex process of interactions that results in reduced fertility in women with endometriosis. In these patients, excessive concentrations of cytokines produced by ovarian and immune cells may cause enzymatic changes and affect normal production of sexual steroids, androgen-to-estrogen physiologic aromatization, and follicular expression of estradiol and progesterone (Abae *et al.*, 1994; Pellicer *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2004; Ulukus *et al.*, 2006).

Populations of lymphocytes, natural killers and macrophages have been demonstrated to be augmented in follicular fluid (FF) of women with endometriosis (Lachapelle *et al.*, 1996), as well as interleukins (i.e. IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factors) and decreased vascular endothelial growth factor (VEGF) were either found in FF of women with the disease (Pellicer *et al.*, 1998; Garrido *et al.*, 2000; Wunder *et al.*, 2006).

Increased cytokines in FF also seem to be highly concentrated in peritoneal fluid (PF) of women with endometriosis,

which may be associated with macrophage abnormal activation, inflammatory distress and excessive neoangiogenesis (Wu & Ho, 2003). High concentrations of IL-6 and IL-8 in PF have been cited as responsible for low embryo quality (Gomez-Torres *et al.*, 2002) and the increase of IL-6 have been related with decreased implantation rates (Pellicer *et al.*, 1999).

Activated macrophages' excessive migration and elevated concentrations of immunomodulators (i.e. prostaglandins, interleukins, TNF, proteases and VEGF) are either found in PF and serum of women with endometriosis, and are probably responsible for the development of low vascularized follicles (Lucena & Cubillos, 1999), reduced embryo quality, low implantation rates (Pellicer *et al.*, 2000) and abnormalities in granulosa cells cycles (Saito *et al.*, 2002). Even the existence of an inhibitor of fibriac-cumulus interaction, with negative interference on tubal function, has been suspected (Lebovic *et al.*, 2001).

Leptin's increased levels in PF of endometriosis patients shall play an important role in the immunopathogenesis of endometriosis and related infertility (Barcz *et al.*, 2008). It probably affects local immune reactions in a proinflammatory way, especially by the infiltration of CD3+ pan-T helper cells and CD4+ T helper cells (Milewski *et al.*, 2008), stimulating neoangiogenesis. Unfortunately, controversies have been raised once leptin was negatively correlated with levels of IL-1 $\beta$  (Wertel *et al.*, 2005; Bedaiwy *et al.*, 2006).

Finally, IgG and IgA secretion seem to be highly elevated in the endometrial environment of women with endometriosis, and may be associated with a reduced receptivity to embryos. In the same way, auto-antibodies against endometrial antigens have been demonstrated to be over expressed in those patients (Lebovic *et al.*, 2001).

#### EMBRYO IMPLANTATION FAILURE

Hypothetical functional disorders of the endometrium of women with endometriosis have been raised by literature during the last years; several studies suggested that such disorders should definitely contribute to diminished fecundity rates (Lessey *et al.*, 1994) and embryo implantation (Lessey *et al.*, 1994; Kao *et al.*, 2003), and impaired trophoblastic development (Genbacev *et al.*, 2003; Kao *et al.*, 2003).

Recent studies related genetic mutations of endometrial progesterone receptors key physiopathological events in endometriosis-related infertility, leading to significantly low proportions of isoforms A and B, and responding for progesterone resistance and endometrial dysfunction (Attia *et al.*, 2000; Igarashi *et al.*, 2005; Bulun *et al.*, 2006). Fazleabas has recently reported decreased responsiveness of the progesterone receptor and correspondent immunophilins, as well as epigenetic deregulation of progesterone genes in baboons, which reinforced such a mechanism for endometriosis-related infertility (Fazleabas, 2010). Furthermore, it is noticeable that progesterone resistance promotes elevation of estrogens levels (Bulun *et al.*, 2006) and increased expression of metalloproteinases facilitating progression of endometriosis (Gaetje *et al.*, 2007; Gilabert-Estellés *et al.*, 2007). The association of those mutations with the ingestion of contaminated food by dioxins (pollutants derived from the incineration of general garbage and metals) is currently cited in literature.

Miller *et al.* have recently demonstrated clear differences in secretory phase glycosylation between patients with advanced endometriosis and healthy women, which should lead to abnormal epithelial differentiation and may be directly involved with embryo implantation failure (Miller *et al.*, 2010), since a perfect interaction between

the blastocyst and the endometrial glycocalyx is expected during embryo-maternal recognition and the establishment of a health pregnancy (Jones & Aplin, 2009).

#### MICRO-RNAS UNBALANCE OF GENE EXPRESSION

In a recently published systematic review, Teague et al suggested that microRNAs may play putative influence on the development of endometriotic lesions, controlling tissue damage (hypoxia, inflammation), cellular growth, proliferation and death, extracellular matrix remodeling and angiogenesis process (Teague et al, 2010). Literature has shown the function of microRNAs in post-transcriptional regulation of gene expression and control of normal and abnormal cellular functions (Kloosterman & Plasterk, 2006), and different expression of their target microRNAs in patients with endometriosis and other disorders of the reproductive system (Teague et al, 2009).

#### OXIDATIVE STRESS

It seems to enhance immune response in affected sites and the oxidative proinflammatory state of the PF and is believed to be an important mediator of endometriosis' progression. Studies have pointed to the generation of reactive oxygen species (ROS) by inflammatory cells (i.e. eosinophils, neutrophils and macrophages) at endometriotic sites, by stimulating the development of the disease focuses and acting as an endometrial cell growth-promoter (Augoulea et al., 2009). Furthermore, highly concentrated serum ROS in patients with the disease probably induce oocyte degeneration and cause injuries to meiotic spindles and excessive embryo fragmentation (Guzick et al., 1999). Elevated concentrations of ROS derived from aggression to DNA and lipid peroxidation in granulosa cells have also been demonstrated in infertile women with endometriosis (Bayer et al., 1988); ROS may be augmented as a consequence of excessive production by apoptotic cells from endometriotic lesions, and by the over expression of pro-oxidative stress enzymes (i.e. xantine-oxidase) (Hull et al., 1987; Al Inany et al., 2000). Although controversial data have shown similar levels of lipid peroxidation between infertile women with endometriosis and disease-free controls (Amaral et al., 2005), Campos Petean et al. prospectively evaluated infertile women with endometriosis submitted to assisted reproduction techniques and found increased lipid peroxidation in their FF and serum, reinforcing the possible link with compromised quality of their oocytes (Campos Petean et al., 2008).

#### FINAL CONSIDERATIONS

Neither medical nor surgical approaches have been proven to significantly ameliorate fecundity rates among women with endometriosis, and even expectations on assisted reproduction techniques are controversial in literature; this should be explained in part by inconsistency of knowledge on the etiopathogeny of endometriosis-related infertility and its probable confounding net of non-obstructive mechanisms.

Literature have demonstrated that commonly used drugs, like progestins, danazol and GnRH analogues, may not be effective to improve fecundity rates among women with minimum to mild endometriosis (Bayer et al., 1988; Fedele et al., 1992) and several studies have suggested a similar efficacy between expectant and medical approaches to elevate reproductive potential, especially for young women with short duration of complaints (Thomas & Cooke, 1987; Hull et al., 1987; Huges et al., 1993; Bayer et al., 1988; Telimaa, 1988; Fedele et al., 1992).

Albeit they are just in a speculative scenario, new treatment schemes are being investigated, including aromatase inhibitors, anti-estrogens, progesterone receptors' modulators, statins and GnRH antagonists, which have

been demonstrated to significantly reduce endometriotic lesions. In the same way, researches on proteogenomic pathways direct laboratories to develop drugs with specific targets in the endometriotic tissue.

In a brief future, inhibition of angiogenesis and matrix metalloprotease, and efficacious immune modulation are expected to be disposable; knowledge on microRNAs is, finally, expected to raise new propaedeutic and therapeutic approaches. At present it is the broad view of the negative influence of endometriosis over reproductive function that provides subsidies to counseling and follow up of those patients in services of reproductive medicine.

#### Correspondence:

Bruno Ramalho de Carvalho

Genesis - Centro de Assistência em Reprodução Humana  
SHLS 716, Bloco "L", Salas "L" 328/331, Centro Clínico Sul - Ala Leste

Brasília, Distrito Federal, CEP: 70.390-907

Telefax: + 55 61 3345-8030

E-mail: bruno@genesis.med.br

#### References

- Abae M, Glassberg M, Majercik MH, Yoshida H, Vestal R, Puett D. Immunoreactive endothelin-1 concentrations in follicular fluid of women with and without endometriosis undergoing in vitro fertilization embryo transfer. *Fertil Steril*. 1994; 61: 1083-7.
- Abreu LG, Romão GS, Reis RM, Ferriani RA, Sá MFS, Moura MD. Reduced aromatase activity in granulosa cells of women with endometriosis undergoing assisted reproduction techniques. *Gynecol Endocrinol*. 2006;22:432-6.
- Al-Inany HG, Crosignani PG, Vercellini P. Evidence may change with more trials: concepts to be kept in mind [letters]. *Hum Reprod* 2000, 15, 2447-8.
- Amaral VF, Bydłowski SP, Peranovich TC, Navarro PA, Subbiah MT, Ferriani RA. Lipid peroxidation in the peritoneal fluid of infertile women with peritoneal endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005; 119: 72-5.
- American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and Infertility. *Fertil Steril*. 2006; 86: S156-60.
- Arici A, Oral E, Bukulmez O, Duleba A, Olive DL, Jones EE. The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil Steril*. 1996; 65:603-7.
- Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr BR, Bulun SE. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85:2897-902.
- Barcelos ID, Vieira RC, Ferreira EM, Martins WP, Ferriani RA, Navarro PA. Comparative analysis of the spindle and chromosome configurations of in vitro-matured oocytes from patients with endometriosis and from control subjects: a pilot study. *Fertil Steril*. 2009; 92:1749-52.
- Barcz E, Milewski L, Radomski D, Dziunycz P, Kaminski P, Roszkowski PI, Malejczyk J. A relationship between increased peritoneal leptin levels and infertility in endometriosis. *Gynecol Endocrinol*. 2008; 24: 526-30.
- Bayer SR, Seibel MM, Saffan DS, Berger MJ, Taymor ML. Efficacy of danazol treatment for minimal endometriosis in infertile women. A prospective randomized study. *J Reprod Med*. 1988;33:179-83.
- Bedaivy MA, Falcone T, Goldberg JM, Sharma RK, Nelson DR, Agarwal A. Peritoneal fluid leptin is associated with chronic pelvic pain but not infertility in endometriosis patients. *Hum Reprod*. 2006; 21: 788-91.
- Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomyia H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol*. 2006; 248:94-103.
- Busacca M, Vignali M. Ovarian endometriosis: from pathogenesis to surgical treatment. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003; 15: 321-26.
- Campos Petean C, Ferriani RA, dos Reis RM, de Moura MD, Jordão AA Jr, Navarro PA. Lipid peroxidation and vitamin E in serum and follicular fluid of infertile women with peritoneal endometriosis submitted to controlled ovarian hyperstimulation: a pilot study.



- Fertil Steril. 2008;90:2080-5.
- Carvalho BR, Rosa e Silva ACJS, Rosa e Silva JC, Reis RM, Ferriani RA, Silva de Sá MF. Increased basal FSH levels as predictors of low-quality follicles in infertile women with endometriosis. *Int J Gynecol Obst.* 2010; doi:10.1016/j.ijgo.2010.03.033.
- Fazleabas AT. Progesterone resistance in a baboon model of endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2010; 28: 75-80.
- Fedele L, Bianchi S, Marchini M, Villa L, Brioschi D, Parazzini F. Superovulation with human menopausal gonadotropins in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis: a controlled randomized study. *Fertil Steril.* 1992a; 58: 28-31.
- Fedele L, Parazzini F, Radici E, Bocciolone L, Bianchi S, Bianchi C, et al. Buserelin acetate versus expectant management in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis: a randomized clinical trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1992b; 166: 1345-50.
- Fernando S, Breheny S, Jaques AM, Halliday JL, Baker G, Healy D. Preterm birth, ovarian endometriomata, and assisted reproduction technologies. *Fertil Steril.* 2009; 91: 325-30.
- Gaetje R, Holtrich U, Engels K, Kourtis K, Cikrit E, Kissler S, Rody A, Karn T, Kaufmann M. Expression of membrane-type 5 matrix metalloproteinase in human endometrium and endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 2007; 23: 567-73.
- Garrido N, Navarro J, Remohí J, Simón C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2000;6:67-74.
- Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, et al. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science.* 2003;299:405-8.
- Gilbert-Estelles J, Ramon LA, Espana F, Gilbert J, Vila V, Reganon E, Castello R, Chirivella M, Estelles A. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Hum Reprod.* 2007; 22: 2120-7.
- Gomes FM, Navarro PA, de Abreu LG, Ferriani RA, dos Reis RM, de Moura MD. Effect of peritoneal fluid from patients with minimal/mild endometriosis on progesterone release by human granulosa-lutein cells obtained from infertile patients without endometriosis: a pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;138:60-5.
- Gomez-Torres MJ, Acien P, Campos A, Velasco I. Embryotoxicity of peritoneal fluid in women with endometriosis. Its relation with cytokines and lymphocyte populations. *Hum Reprod.* 2002; 17:777-81.
- Guzick DS, Carson SA, Coutifaris C, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Steinkampf MP, et al. Efficacy of superovulation and intrauterine insemination in the treatment of infertility. *N Engl J Med.* 1999;340:177-83.
- Hughes EG, Fedorkow DM, Collins JA. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril.* 1993; 59: 963-70.
- Hull ME, Moghissi KS, Magyar DF, Hayes MF. Comparison of different treatment modalities of endometriosis in infertile women. *Fertil Steril.* 1987;47:40-4.
- Igarashi TM, Bruner-Tran KL, Yeaman GR, Lessey BA, Edwards DP, Eisenberg E, Oesteen KG. Reduced expression of progesterone receptor-B in the endometrium of women with endometriosis and in cocultures of endometrial cells exposed to 2,3,7,8-tetra-chloro-dibenzo-p-dioxin. *Fertil Steril.* 2005;84:67-74.
- Jansen RP. Minimal endometriosis and reduced fecundability: prospective evidence from an artificial insemination by donor program. *Fertil Steril.* 1986;46:141-3.
- Jones CJP, Aplin JD. Glycosylation at the fetomaternal interface: does the glycode play a critical role in implantation? *Glycoconj J.* 2009; 26: 359-66.
- Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology.* 2003;144:2870-81.
- Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell.* 2006; 11: 441-50.
- Lachapelle MH, Hemmings R, Roy DC, Falcone T, Miron P. Flow cytometric evaluation of leukocyte subpopulations in the follicular fluids of infertile patients. *Fertil Steril.* 1996; 65: 1135-40.
- Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2001;75:1-10.
- Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:643-9.
- Lucena E, Cubillos J. Immune abnormalities in endometriosis compromising fertility in IVF-ET patients. *J Reprod Med* 1999, 44, 458-64.
- Milewski L, Barcz E, Dziunycz P, Radomski D, Kaminski P, Roszkowski PI, Korczak-Kowalska G, Malejczyk J. Association of leptin with inflammatory cytokines and lymphocyte subpopulations in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *J Reprod Immunol.* 2008;79:111-7.
- Miller DL, Jones CJ, Aplin JD, Nardo LG. Altered glycosylation in peri-implantation phase endometrium in women with stages III and IV endometriosis. *Hum Reprod.* 2010; 25: 406-11.
- Moura MD, Pereira TN, Nogueira AA, Ferriani RA, de Sala MM, Reis RM. Avaliação do Tratamento Clínico da Endometriose. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 1999; 21: 85-90.
- Pabuccu R, Onalan G, Goktolga U et al. Aspiration of ovarian endometriomas before intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2004; 82: 705-11.
- Pellicer A, Albert C, Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J Reprod Fertil Suppl.* 2000; 55: 109-19.
- Pellicer A, Garrido N, Albert C, Navarro J, Remohi J, Simon C. Cytokines in older patients undergoing in vitro fertilization: the relationship to the response to controlled ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet.* 1999; 16: 247-52.
- Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohf J, Simón C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum Reprod.* 1995;10:91-7.
- Pellicer A, Valbuena D, Bauset C, Albert C, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The follicular endocrine environment in stimulated cycles of women with endometriosis: steroid levels and embryo quality. *Fertil Steril.* 1998;69:1135-41.
- Saito H, Seino T, Kaneko T, Nakahara K, Toya M, Kurachi H. Endometriosis and oocyte quality. *Gynecol Obstet Invest.* 2002; 53 (Suppl 1): 46-51.
- Schenken RS, Asch RH, Williams RF, Hodgen GD. Etiology of infertility in monkeys with endometriosis: luteinized unruptured follicles, luteal phase defects, pelvic adhesions and spontaneous abortions. *Fertil Steril.* 1984;41:122-30.
- Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton LJ 3rd. Endometriosis and infertility: a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil Steril.* 1982;38:667-72.
- Strzempko Butt F, Chesla C. Relational patterns of couples living with chronic pelvic pain from endometriosis. *Qual Health Res.* 2007;17:571-85.
- Teague EMCO, Print CG, Hull ML. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions. *Hum Reprod.* 2010; 16: 142-65.
- Teague EMCO, Van der Hoek KH, Van der Hoek MB, Perry N, Wagaaarachchi P, Robertson SA, Print CG, Hull ML. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis. *Mol Endocrinol.* 2009; 23:265-75.
- Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000;73:344-50.
- Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. *J Soc Gynecol Investig.* 2006; 13: 467-76.
- Wertel I, Gogacz M, Polak G, Jakowicki J, Kotarski J. Leptin is not involved in the pathophysiology of endometriosis-related infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 119: 206-9.
- Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2003;49:285-96.
- Wunder DM, Mueller MD, Birkhauser MH, Bersinger NA. Increased ENA-78 in the follicular fluid of patients with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006; 85: 336-42.
- Yoshida S, Harada T, Iwabe T, Taniguchi F, Mitsunari M, Yamauchi N, et al. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod.* 2004; 19: 1821-5.

## Reserva Ovárica Disminuida asociada a una translocación críptica no balanceada

Der(X)t(X;18)(q27.2;q22.1)

Coco R., García Estanga P., Ducatelli M.E., Mincman J., Coco I.

Fecunditas- Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la Universidad de Buenos Aires, Argentina.  
fecunditas@fecunditas.com.ar

### RESUMEN

Documentamos por primera vez un rearrreglo cromosómico críptico no balanceado 46,X,der(X)t(X;18)(q27.2;q22.1) en una mujer fenotípicamente normal pero con la reserva ovárica disminuida. El cariotipo con bandeado de alta resolución no evidenció deleción Xqter ni duplicación 18qter. El estudio del triplete CGG del gen FMR1 (Fra-X) señaló un solo alelo, sugiriendo una deleción en Xq27.3. El FISH con sonda telomérica Xq mostró una sola señal. La realización de un microarray-CGH evidenció además de una deleción, desde Xq27.2 hasta Xqter, una trisomía parcial desde 18q22.1 hasta 18qter. El FISH con sondas de pintado de los cromosomas X y 18 y sonda telomérica 18q corroboró la translocación no recíproca. La QF-PCR de los STRs que mapean en la región Xq27 a Xq28 (DXS1205, DXS8091, DXS8069, DXS1684 y DXS15) permitió corroborar la deleción Xq. La propósito es la primer hija de una hermandad de cuatro. Se estudiaron a la hermana, dos hermanos gemelos, madre y abuela de la misma. Se realizó estudio de la inactivación preferencial del X y en las tres portadoras del rearrreglo, el cromosoma preferencialmente inactivado fue el der(X). Está bien reconocido el estudio del gen FMR1 por su asociación con falla ovárica. La existencia de un solo alelo del triplete es indicativo de deleción Xqter, región donde mapean los genes POF1. Se discute el diferente comportamiento de la misma anomalía cromosómica en tres mujeres portadoras de la misma alteración y se señala la importancia del estudio genético en las mujeres con reserva ovárica disminuida con cariotipo aparentemente normal.

### ABSTRACT

We documented for the first time a cryptic unbalanced chromosomal rearrangement 46, X, der (X) t (X; 18) (q27.2, q22.1) in a phenotypically normal woman. The karyotype with high resolution banding showed a normal karyotype. The study of the triplet CGG of the FMR1 gene (Fra-X) showed an only one allele, suggesting a deletion in the distal portion of Xqter. The FISH study with Tel Xq probe showed a single signal. The microarray-CGH also showed a deletion from Xq27.2 to Xqter, and a partial trisomy from 18q22.1 to 18qter. The FISH study with whole painting probes of chromosomes X and 18 and telomeric 18q probe confirmed the non-reciprocal translocation X;18. The QF-PCR with STRs linked to distal part of Xqter (DXS1205, DXS8091, DXS8069, DXS1684 and DXS15) also corroborated the Xq deletion. The proband is the first child of a brotherhood of four. We studied the sister, the twins brothers, mother and grandmother. The preferential X inactivation was performed. The three carriers of the der (X) had preferentially inactivated the der (X).

It is well recognized that the study of the premutation Fra-X and its association with ovarian failure. The finding of a single allele of the CGG triplet is indicative of Xqter deletion, region where also map POF1 genes. We discuss the different behavior of the same chromosome abnormality in three women carrier and remark the importance of genetic testing in women with diminished ovarian reserve with apparently normal karyotype for a proper genetic counseling.

### RESUMO

Documentamos pela primeira vez um rearranjo cromossômico críptico, não-balanceado 46, X, der (X) t (X; 18) (q27.2, q22.1), em mulher fenotípicamente normal. O cariótipo com banda de alta resolução mostrou-se normal. Estudo de CGH tripla do gen FMR1 (Fra-X) mostrou apenas alelo único, sugerindo delecção da porção distal do Xqter. O FISH com a sonda Tel Xq mostrou sinal único. O microarray-CGH também evidenciou delecção do Xq27.2 para Xqter, e trissomia parcial do 18q22.1 para 18qter. O FISH com sondas dos cromossomos X e 18 sonda telomérica 18q confirmou a translocação não-recíproca X;18. O QF-PCR com STRs ligados à parte distal do Xqter (DXS1205, DXS8091, DXS8069, DXS1684 e DXS15) também corroboraram a delecção Xq. A paciente propósito é a primeira de uma prole de quatro. Estudamos a irmã, os irmãos gêmeos, a mãe e a avó. Ocorreu a inativação preferencial do X. Os três portadores da der (X) inativaram preferencialmente o der (X). Está bem estabelecido o estudo da pré-mutação Fra-X e a associação com falência ovariana. O achado de um alelo único no CGH tripla é indicativo de delecção Xqter, local onde estão também os gens POF1. Discutimos o comportamento diferente da mesma anomalia cromossômica em três mulheres portadoras, ressaltando a importância do teste genético e consequente aconselhamento naquelas mulheres com reserva ovariana diminuída e cariótipo aparentemente normal.

### INTRODUCCIÓN

La reserva ovárica disminuida (DOR) es una condición de subfertilidad debido a un bajo número de ovocitos disponibles en los ovarios. Generalmente el diagnóstico se establece con el conteo de los folículos antrales y el volumen de los ovarios (Broekmans et al, 2007). Puede ser el resultado de varios factores, tales como la edad, desordenes genéticos, autoinmunes, hormonales, o consecuencia de cirugías pélvicas o de tratamientos con rayos o citostáticos. Kuo et al (2004) comunicaron una alta prevalencia de mosaicismos del X en mujeres con DOR. Una condición emparentada es la falla ovárica prematura (POF) definida como la aparición de la meno-

pausia antes de los 40 años con gonadotropinas elevadas a menudo asociada a rearrreglos cromosómicos del X tales como deleciones y translocaciones X-Autosomas Balanceadas (Coulman et al, 1986).

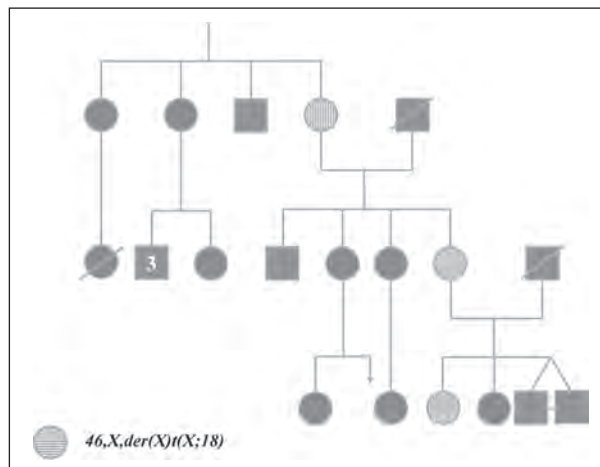
Existen dos loci independientes en Xq involucrados en la función ovárica, POF1 localizado en Xq26—q28 y POF2 en Xq13.3. En el locus POF2 existen tres genes relacionados a la disfunción ovárica: DIAPH2, DACH2 y POF1B. En el locus POF1 no se ha detectado genes asociados a enfermedades, excepto la premutación del gen FMR1 que actúa como factor de riesgo para POF (Therman et al, 1990).

Una explicación para la disgenesia ovárica presente en DOR y POF asociadas a aneuploidías del X es la atresia ovocitaria por meiosis aberrante y el daño acumulado durante el curso de la vida de la mujer (Speed, 1988).

En el presente trabajo se documenta como una combinación de estudios citogenéticos clásicos, cito-moleculares y moleculares nos permitieron detectar a una novel translocación criptica no balanceada en una mujer joven con disminución de la reserva ovárica transmitida por su abuela materna. Al contrario de la hipótesis, tanto la madre como la abuela fueron fértiles. Se señala la importancia de este tipo de estudios en la mujer con reserva ovárica disminuida, y su diferente expresión en miembros de la misma familia.

### COMUNICACIÓN DEL CASO

La propósito es una mujer de 32 años, primera hija de una hermandad de cuatro de una pareja sana, joven y no consanguínea. No presenta anomalías fenotípicas ni fenotipo de Turner. Talla 155 cm. Peso 42 kg. Consulta por esterilidad primaria de 4 años. Menarca a los 14 años. Ciclos regulares de 26-27 días. Perfil hormonal del eje hipófisis-gónada normal. Volumen ovárico disminuido y bajo recuento de folículos antrales. Tiene antecedentes de dos ciclos de inseminaciones y tres de FIV todos con baja respuesta a la estimulación. La madre tuvo su menarca a los 13 años y su menopausia a los 47 años. La edad materna para sus hijos fue 21, 24 y 29 años. La abuela tuvo su menarca a los 13 años y su menopausia a los 52 años. La edad materna de la abuela para sus cuatro hijos fue 28, 32, 34 y 38 años. Una tía tuvo una hija a los 33 años y la menopausia a los 43 años. La tía menor tuvo una hija y actualmente está embarazada (ver árbol genealógico). La hermana y hermanos gemelos de la propósito al examen físico igualmente fueron normales como la propósito.



Árbol genealógico de la propósito

Estudios Genéticos realizados en la propósito, madre, abuela materna y hermanos

**a) Cariotipo con G-Bandas:** realizado en sangre periférica de acuerdo con las técnicas habituales.

**b) Estudio Molecular del gen FMR1 por QF-PCR:** determinación de los alelos del triplete CGG del gen FMR1 y posterior análisis de los fragmentos amplificados por electroforesis capilar fluorescente en un ABI prism TM 310 Genetic Analyser de Applied Biosystems®, con el software GeneScan.

**c) FISH con sonda telomérica Xq:** realizado en las preparaciones de cultivo de linfocitos con sonda Tel Xq de Abbott-Vysis®

**d) Hibridación genómica comparativa aCGH:** realizado con el Kit de microarray 44B (Agilent Technologies®, Palo Alto, CA, USA).

**e) FISH con sonda telomérica 18q:** realizado sobre las preparaciones cromosómicas con el kit de Abbott-Vysis®

**f) FISH con sonda de pintado de los cromosomas X y 18:** realizado sobre las preparaciones cromosómicas con el kit de Abbott-Vysis®

**g) QF-PCR con STRs ligados a la región Xq27—Xq28:** en el ADN genómico se amplificaron los siguientes microsatélites:

**DXS1205** ( Xq27.2; 137,9 Mb)

**DXS8091** ( Xq28; 147,2 Mb)

**DXS8069** ( Xq28; 149,2 Mb)

**DXS1684** ( Xq28; 149,6 Mb)

**DXS15** ( Xq28; 151,9 Mb)

**h) Repeticiones del triplete CAG e Inactivación del X por QF-PCR:** se estudiaron los tripletes CAG previo y post digestión con la enzima HpaII la cual digiere segmentos no metilados, o sea el X activo.

### RESULTADOS

El cariotipo con bandeado G convencional y alta resolución resultó 46,XX normal (fig. 1).

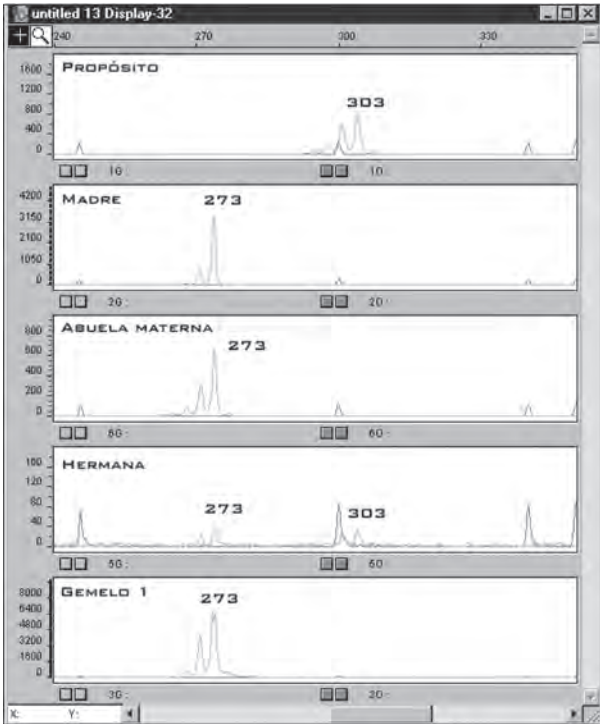


**Fig 1:** metafase G-Bandeada donde se ven a los cromosomas involucrados normales

El estudio del triplete CGG del gen FMR1 evidenció un solo alelo de: 303pb en la propósito, 273 pb en la madre

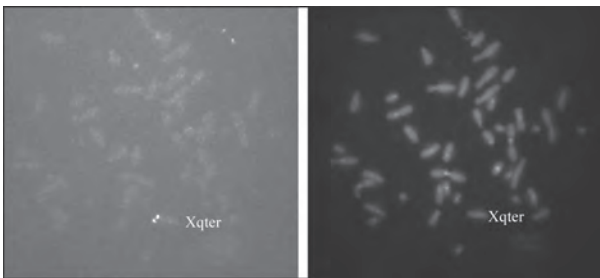


y 273 pb en la abuela materna. La hermana evidenció dos alelos (273 y 303 pb) y los hermanos gemelos el alelo normal de 273 pb de la madre (Fig. 2).



**Fig.2: Electroferogramas del triplete (CGG)n del gen FMR1.** En la propósito se observa un solo alelo ( el del padre ), en la madre y en la abuela el mismo alelo, en la hermana el alelo de la madre y el padre y en los hermanos el único alelo posible de la madre.

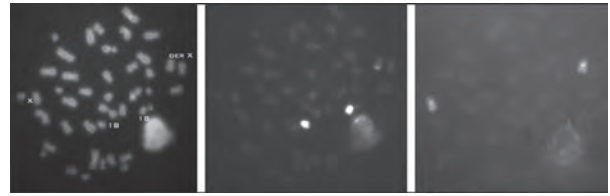
El estudio por FISH con sonda telomérica Xq evidenció una sola señal en las metafases (*ish(TelXqx1)*) y en los núcleos en interfase (*nuc ish(TelXqx1)*) de la propósito, madre y abuela materna, significando que las mismas son deficientes en la porción distal Xqter ( Fig. 3)



**Fig. 3: metafase FISH con sonda Tel Xq.** En la foto de la izquierda está señala la única señal fluorescente y en la derecha la metafase contrañeada con DAPI

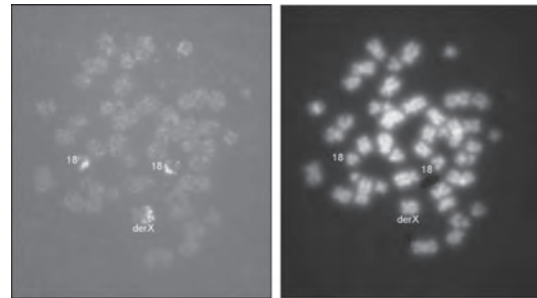
El aCGH señaló una delección en Xqter y una duplicación del 18qter: 46,XX, ish cg h enh(18)(q22.1—qter), dim(X) (q27.2—qter)

El estudio por FISH con sonda de pintado de los cromosomas X y 18 mostró que uno de los cromosomas X en su porción distal del brazo largo tiene translocado un segmento distal de brazo largo del 18, significando que la propósito, madre y abuela tienen una trisomía parcial de la porción distal del 18q. (Fig. 4).



**Fig. 4: metafase FISH con sondas WCPX y WCP18.** En la foto de la izquierda se ven a todos los cromosomas teñidos con DAPI, en la del medio las tres señales de pintado de 18 y en la de la derecha las señales de pintado: (46,X,der(X)t(X;18) (q27.2;q22.1).ish t(X;18)(wcpXx2, wcp18x3)

El estudio por FISH con sonda 18qter también mostró que uno de los cromosomas X en su porción distal del brazo largo tenía translocado un segmento distal de brazo largo del 18, significando que la propósito, madre y abuela tienen una trisomía de la porción telomérica 18q (*ish (Tel18qx3)*) ( Fig. 5)



**Fig.5: metafase FISH con sonda Tel(18q).** En la foto de la izquierda se observan las tres señales de 18qter y en la derecha a todos los cromosomas contrañeados con DAPI.

Los resultados de los STRs ligados al X figuran en la tabla I y la interpretación de los cromosomas transmitidos de acuerdo a los microsatélites en la tabla II

**Tabla Ia:** Microsatélites ligados al X.

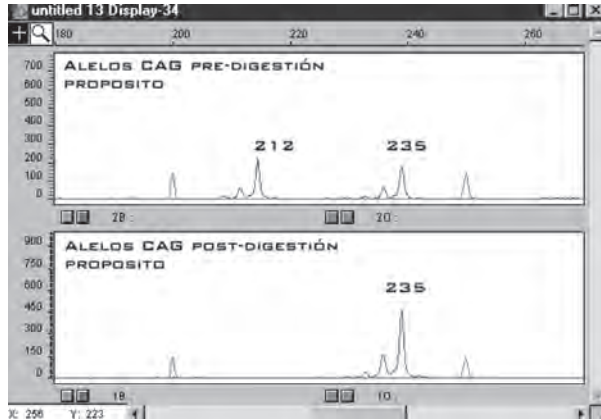
STRs	madre	propósito	hermana	hermano	hermano	Abuela
Fra_X	273	303	273/303	273	273	273
DXS1205 (Xq27.2)	190	190/181	190/181	190	190	183/190
DXS8091 (Xq28)	105	87	87/105	105	105	99
DXS8069 (Xq28)	171	171	171	171	171	173
DXS15 (Xq28)	151	151	151	151	151	157
DXS1684 (Xq28)	137	143	137/143	137	137	139
Triplete ( CAG)n	212/235	235/212	212/212	212	212	235/220
X Inactivado	235	235				235

**TablaII:** Cada columna representa a los cromosomas X. Si la propósito, madre y abuela materna no hubiesen tenido la delección deberían haber tenido dos alelos como la hermana. Los varones tienen un solo alelo porque heredaron el X normal de la madre. Los alelos correspondientes al padre fallecido de la propósito se infirieron de acuerdo a lo heredado por las hermanas. Propósito, madre y abuela materna tienen un mismo cromosoma X deleccionado molecularmente en los loci correspondientes a FMR1, DXS8091, DXS8069, DXS1684 y DXS15. En cambio, la hermana y los hermanos gemelos heredaron el X normal de la madre.

Estudio	Propósito		Madre		Abuela		Hermana		Hno. 1	Hno. 2
DXS1205	190	181	190	190	185	190	190	181	190	190
(CGG)n FMR1	303	273			273		273	303	273	273
DXS8091	87	105			99		105	87	105	105
DXS8069	171	171			173		171	171	171	171
DXS1684	143	137			139		137	143	137	137
DXS15	151	151			157		151	151	151	151
(CAG)n	235	212	212	235	220	235	212	212	212	212
X-Inactivado 100%	235			235	235					



El estudio del patrón de Inactivación del X evidenció que la propósito, madre y abuela tienen 100% inactivado el cromosoma der(X). El estudio en la hermana no fue informativo debido a que los dos alelos CAG fueron homocigotos (Fig. 6).



**Fig.6: Electroferograma del triplete (CAG) del gen AR.** En la parte superior se ven los dos picos de la propósito previo a la digestión enzimática y en la parte inferior un solo pico. Si la inactivación hubiese sido al azar se hubiesen observado los dos picos. Por lo tanto, la inactivación del der X fue inactivado 100%.

## DISCUSIÓN

La reserva ovárica es definida como la juventud o salud de los ovarios y de los ovocitos que los mismos contienen. Está bien aceptado que la misma comienza a disminuir a partir de los 30 años y se acentúa alrededor de los cuarenta. Como en la actualidad las mujeres planifican su maternidad en edad más avanzada, la disminución de la reserva ovárica ha tomado más relevancia. Se desconoce su incidencia, pero en los pacientes que requieren reproducción asistida no es nada infrecuente. La propósito es una mujer de 32 años que está detrás del embarazo hace cuatro años. La paciente nos relató que de acuerdo a los estudios realizados se le había diagnosticado una esterilidad inexplicable y que había pasado por dos inseminaciones y tres ciclos de FIV todos fallidos debido a la poca cantidad y calidad de sus ovocitos. Es referida a nosotros para acceder al programa de ovodonación debido a que un estudio de las repeticiones del gen FMR1 había inferido un solo alelo. Completamos los estudios con el array de CGH y FISH. Al hallar que era portadora de una translocación no balanceada entre el X y 18 extendimos los estudios a varios miembros de su familia. Se lograron estudiar a: su hermana, dos hermanos gemelos, su mamá (el papá estaba fallecido) y su abuela materna. Tanto la propósito como su madre y abuela son portadoras de la misma translocación no recíproca:  $46,X,der(X)t(X;18)(q27.2;q22.1)$  significando que las tres tienen deficiencia de la porción distal del cromosoma X desde Xq27.2 hasta Xqter y trisomía parcial del cromosoma 18 desde 18q22.1 hasta Xqter. Se trata de una translocación no balanceada con fenotipo normal en las tres, excepto la infertilidad en la propósito. Está documentado que en las translocaciones no balanceadas X-Autosomas se inactiva preferencialmente el X anómalo extendiendo la inactivación al segmento translocado. Como las tres tienen fenotipo normal sin retardo mental y en las tres el X inactivado 100% es el der(X), lo más probable que esta inactivación preferencial sea la responsable de que los fenotipos sean normales.

La participación del cromosoma X en la falla ovárica prematura, expresión más severa de la reserva ovárica disminuida, ha sido documentada por la existencia de translocaciones balanceadas X-Autosomas que afectan a "la región crítica" Xq para el normal desarrollo ovárico, que abarca desde Xq13.3 hasta Xq27, la cual habitualmente se divide en dos porciones, desde Xq13 hasta Xq21 y Xq23 hasta Xq27. Una posible explicación del por qué estas translocaciones producen disgenesia ovárica es la disrupción de genes ligados al X que tienen que ver con el desarrollo ovárico por "efecto de posición" como así también por regiones "asinapsadas" de reconocido valor en los "checkpoints meióticos" que controlan la maduración folicular, favoreciendo la apoptosis de las células meióticas y la subsiguiente reducción del número de folículos ováricos que caracteriza a la gónada disgénica (Toniolo, 2006).

La investigación de genes interrumpidos por los puntos de rotura involucrados en más de 40 translocaciones balanceadas X-Autosomas permitió identificar a cinco genes: el DIAPH2, XPNPEP2, POF1B, DACH2 y CHM (Bione et al.1998; Prueitt et al,2002; Bione, 2004, Van Bokhoven et al, 1994). Para Rizzolio et al, 2006 estudiando otros 25 casos de rearrreglos en Xq demuestran una distinción funcional entre la región crítica 1 (Xq21) y la región crítica 2, más distal e infieren que el fenotipo en las translocaciones balanceadas X-Autosomas se debe a un efecto de posición en Xq21 de los genes autosómicos translocados en el X. Por lo tanto, cabría esperar otros genes ovario-específicos en determinadas regiones de los cromosomas autosómicos.

Según nuestro conocimiento luego de la búsqueda bibliográfica disponible es la primera vez que se describe una translocación críptica no balanceada transmisible en tres generaciones sin malformaciones ni retardo mental y asociada a reserva ovárica disminuida en una de ellas. La paciente en estos momentos está entre la disyuntiva de acceder a la ovodonación o seguir intentando con sus propios óvulos. La respuesta del por qué la paciente tiene disgenesia ovárica y la madre y abuela no la tuvieron no lo sabemos. Sin embargo, se nos hace muy difícil admitir que sea fortuito el hallazgo de esta translocación. Probablemente la sinapsis meiótica en la etapa fetal de los cromosomas involucrados haya sido diferente en las tres mujeres, habiendo ocurrido normalmente en la madre y abuela y más dificultosa en la hija. Cabe señalar además que es la primera vez que se describe la duplicación del segmento 18q22.1 hasta 18qter sin fenotipo alterado. En general los rearrreglos crípticos que involucran a los telómeros autosómicos se acompañan de retardo mental y dismorfias y/o malformaciones congénitas. Probablemente la porción trisómica 18qter translocada al X se haya inactivado, ya que la trisomía parcial 18 qter, desde q22.1 hasta qter expresa la mayoría de los signos de la trisomía 18 y las tres portadoras fenotípicamente son normales (Turleau et al, 1977). Se señala que los ovocitos que no abortaron su meiosis tienen mayor riesgo para producir óvulos con desbalances, siendo la mayoría de los fecundados anormales letales de acuerdo a como está señalado en la fig. 7. Por lo tanto se le informó a la pareja sobre la posibilidad del diagnóstico prenatal convencional en caso de embarazarse sin ayuda médica y del diagnóstico preimplantatorio en caso de acceder a una fecundación in Vitro.

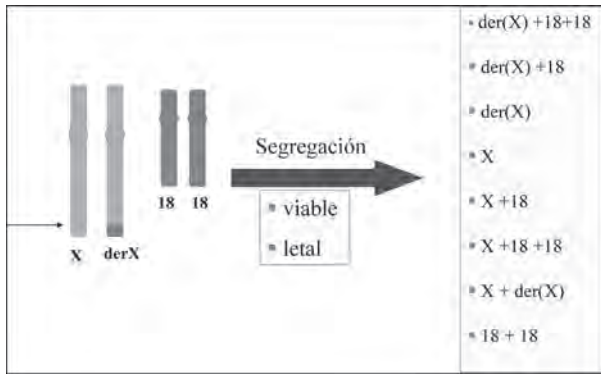


Fig. 7: Posibilidades teóricas de segregación del multivalente meiótico

## Referencias

Bione et al. Am J Hum Genet 1998, 62(3): 533-541

Bione S, Sala C, Manzini C, Arrigo G, Zuffardi O, Banfi S, Borsani G, Jonveaux P, Philippe C, Zuccotti M, Ballabio A, Toniolo D: A human homologue of the *Drosophila melanogaster* diaphanous gene is disrupted in a patient with premature ovarian failure:

evidence for conserved function in oogenesis and implications for human sterility. Hum Reprod. 2004; 19: 2750-2766

Broekmans FJ, Knauff EA, Te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. Female reproductive aging: current knowledge and future trends. et al. Trends Endocrinol Metab. 2007; 18:58-65

Coulman C, Adamson S, Annegers J. Incidence of premature ovarian failure. Obstet Gynecol. 1986; 67:604-606

Kuo PL, Guo HR. Mechanism of recurrent spontaneous abortions in women with mosaicism of X-chromosome aneuploidies. Fertil Steril. 2004; 82: 1594-1601

Prueitt et al. Cytogenet Genome Res 2002, 97: 32-38

Rizzolio F, Bione S, Sala C, Goegan M, Gentile M, Gregato G, Rossi E, Pramparo T, Zuffardi O, Toniolo D. Chromosomal rearrangement in Xq and premature ovarian failure: mapping of 25 new cases and review of the literature. Hum Reprod. 2006; 21: 1477-1483.

Speed RM. The possible role of meiotic pairing anomalies in the atresia of human fetal oocytes. Hum Genet. 1988; 78:260-266

Therman E, Laxova B, Susman B. The critical region on the human Xq. Hum Genet. 1990; 85: 455-461

Turleau C, Grouchy J de. Trisomy 18qter and trisomy mapping of chromosome 18. Clin. Genet 1977; 12: 361-371.

Van Bokhoven H, Schwartz M, Andreasson S, van der Hurk JA, Bogerd L, Jay M, Ruther K, Jay B, Pawlowitzki IH, Sankila EM et al. Mutation spectrum in the CHM gene of Danish and Swedish choroideremia patients. Hum Mol Genet 1994; 3: 1047-1051.



CONGRESSO BRASILEIRO DE  
**XV** REPRODUÇÃO  
ASSISTIDA

24 A 27 DE AGOSTO DE 2011 - COSTÃO DO SANTINHO - FLORIANÓPOLIS/SC



24 a 27

Agosto 2011

[WWW.REPRODUCAOASSISTIDA2011.COM.BR](http://WWW.REPRODUCAOASSISTIDA2011.COM.BR)



Costão do Santinho

Florianópolis/SC



MOTIVOS DE SOBRA PARA VOCÊ PARTICIPAR.

PROMOÇÃO

APOIO

AGÊNCIA OFICIAL DE TURISMO

INSCRIÇÕES E INFORMAÇÕES

**SBR**  
SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
REPRODUÇÃO ASSISTIDA

  
FLORIANÓPOLIS e REGIÃO  
Convention & Visitors Bureau

  
AÇORIANA  
TURISMO

**Praxis**  
FEIRAS E CONGRESSOS

48 3028.5154 - [www.praxis.srv.br](http://www.praxis.srv.br)



## MARCH

### 2011 Annual Meeting on Women's Cancer

**Sponsor:** Society of Gynecologic Oncologists  
**Dates:** March 6-9, 2011  
**Location:** Hilton Orlando Bonnet Creek & Waldorf Astoria, Orlando, FL, USA  
**For More Information:** <http://www.sgo.org>

### 2011 CREOG and APGO Annual Meeting

**Dates:** March 9-12, 2011  
**Location:** JW Marriott San Antonio Hill Country, San Antonio, TX, USA  
**For More Information:** <http://www.apgo.org>

### SGI 2011 Annual Meeting

**Sponsor:** Society for Gynecologic Investigation  
**Dates:** March 16-19, 2011  
**Location:** Fontainebleau Hotel, Miami Beach, FL, USA  
**For More Information:** <http://www.sgonline.org>

### 26th Annual Congress of the European Association of Urology (EAU)

**Dates:** March 18-22, 2011  
**Location:** Vienna, AUSTRIA  
**For More Information:** <http://www.eauvienna2011.org>

### 2nd International Congress of the Society of Cross-Border Reproductive Care

**Dates:** March 24-27, 2011  
**Location:** Florence, ITALY  
**For More Information:** <http://www.icgrt.com>

### 36th Annual Meeting of the Society for Sex Therapy and Research

**Dates:** March 31-April 3, 2011  
**Location:** Four Seasons Resort, Palm Beach, FL, USA  
**For More Information:** <http://www.sstarnet.org>

## APRIL

### ASA 36th Annual Meeting

**Sponsor:** American Society of Andrology  
**Dates:** April 2-5, 2011  
**Location:** Hyatt Regency Montreal, Montreal, CANADA  
**For More Information:** <http://www.andrology.society.com>

### AACE 20th Annual Meeting and Clinical Congress

**Sponsor:** American Association of Clinical Endocrinologists  
**Dates:** April 13-17, 2011  
**Location:** Manchester Grand Hyatt and San Diego Convention Center, San Diego, CA, USA  
**For More Information:** [www.aace.com](http://www.aace.com)

### 2011 PCRS

**Sponsor:** Pacific Coast Reproductive Society  
**Dates:** April 13-17, 2011  
**Location:** Rancho Las Palmas, Rancho Mirage, CA, USA  
**For More Information:** <http://www.pcrsonline.org>

### 2011 NEFS Annual Meeting

**Sponsor:** New England Fertility Society  
**Dates:** April 29-30, 2011  
**Location:** Water's Edge, Westbrook, CT, USA  
**For More Information:** <http://www.nefs.org>

### 2011 ACOG Annual Clinical Meeting

**Dates:** April 30 - May 4, 2011  
**Location:** Washington, DC, USA  
**For More Information:** <http://www.acog.org/>

## MAY

### 2011 Frontiers in Reproduction (FIR)

**Dates:** May 1 - June 11, 2011  
**Location:** Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA  
**Application Deadline:** January 18, 2011  
**For More Information:** <http://fir.mbl.edu>

### 10º Congresso Geral da REDLARA

**Data:** 19-22 de maio, 2011  
**Localização:** Rio de Janeiro, Brasil  
**Informações:** [http://www.redlara.com/congresso\\_rio/programa.asp](http://www.redlara.com/congresso_rio/programa.asp)



## JUNE

### 2011 OSSD Fifth Annual Meeting

**Description:** Organization for the Study of Sex Differences  
**Dates:** June 2-4, 2011  
**Place:** Oklahoma City, OK, USA  
**For More Information:** <http://www.ossdweb.org>

### 13th World Congress on Menopause

**Sponsor:** International Menopause Society  
**Dates:** June 8-11, 2011  
**Location:** Rome, ITALY  
**For More Information:** <http://www.imsociety.org>

### ISSCR 9th Annual Meeting

**Sponsor:** International Society for Stem Cell Research  
**Dates:** June 15-18, 2011  
**Location:** Metro Toronto Convention Centre, Toronto, Ontario, CANADA  
**For More Information:** <http://www.isscr.org>

### 2011 AMA Annual Assembly Meeting

**Dates:** June 18-22, 2011  
**Location:** Chicago, IL, USA  
**For More Information:** <http://www.ama-assn.org>

## JULY

### ESHRE 2011

**Description:** 27th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology  
**Dates:** July 3-6, 2011  
**Location:** Stockholm, SWEDEN  
**For More Information:** <http://www.eshre.eu>

## AUGUST

### XV CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

**Data:** 24 a 27 de agosto, 2011  
**Local:** Costão do Santinho - Florianópolis/SC.  
**Informações:** [www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br)

## SEPTEMBER

### 6th Congress of the Asia Pacific Society for the Study of Aging Male (APSSAM)

**Dates:** September 1-4, 2011  
**Location:** Busan, KOREA  
**For More Information:** <http://www.apssam2011.org>

### 2011 World Endometriosis Congress

**Dates:** September 4-11, 2011  
**Location:** Montpellier, FRANCE  
**For More Information:** <http://www.wce2011.com>

### 11th Congress of the Latin American Society for Sexual Medicine (SLAMS)

**Dates:** September 8-11, 2011  
**Location:** Buenos Aires, ARGENTINA  
**For More Information:** <http://www.slams2011.org>

## OCTOBER

### ASRM 2011

**Description:** 67th Annual Meeting of the ASRM  
**Dates:** October 15-19, 2011  
**Place:** Orange County Convention Center, Orlando, Florida, USA  
**For More Information:** view the ASRM Annual Meeting page

## NOVEMBER

### XXXIII Congresso Brasileiro de Urologia

**Dias:** 22/11 a 26/11/2011  
**Localização:** Florianópolis – SC  
**Informações:** <http://www.sbu2011.com.br/>

### 14th World Congress on Human Reproduction

**Dates:** November 30-December 3, 2011  
**Location:** Melbourne, AUSTRALIA  
**For More Information:** <http://www.humanreproduction2011.com>



# **SBRA**

**SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

# **A**

## **Venha para a SBRA! Para ser sócio da SBRA:**

**1- Link na pagina [www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br), novos sócios,  
seguida de emissão de boleto bancário**

**2- depósito direto na conta da sociedade:  
R\$ 190,00:0 depósito identificado em conta corrente –  
Banco do Brasil Ag 3478-9 conta 24886-X  
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA.  
Neste caso, notificar a Secretaria virtual pelo site,  
preenchendo o re-cadastramento.**

## **Benefícios aos Associados:**

**Recebimento do Jornal SBRA  
Desconto na Inscrição para  
as reuniões anuais da SBRA**



# UTROGESTAN<sup>®</sup>

progesterona natural  
micronizada

Quando a fertilidade se transforma em maternidade

## Fertilidade

- Indução da ovulação.<sup>(1)</sup>
- Insuficiência lútea.<sup>(2)</sup>
- Inseminação intrauterina.<sup>(1)</sup>
- FIV e ICSI.<sup>(1)</sup>

## Gestação

- Ameaça de aborto.<sup>(3)</sup>
- Abortamento habitual.<sup>(4)</sup>

**Contraindicação:** este medicamento é contraindicado em doenças graves do fígado.

**Interação medicamentosa:** o uso crônico de barbitúricos pode diminuir a eficácia de UTROGESTAN<sup>®</sup>.

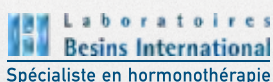
Referências: (1) Posaci C, et al. Progesterone for the luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options. Human Reprod. 2000; 15 (Suppl. 1): 129-148. (2) Röman E, et al. Analysis of the bleeding pattern in assisted reproduction cycles with luteal phase supplementation using vaginal micronized progesterone. Human Reprod. 2000; 15: 1435-1439. (3) Smitz J, et al. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement. Human Reprod 1992; 7: 168-175. (4) Daya S. Efficacy of progesterone support for pregnancy in women with recurrent miscarriage. A meta-analysis of controlled trials. Br J Obstet Gynecol 1989; 96: 275-80.

**Utrogestan<sup>®</sup>** (progesterona). **Forma farmacêutica e apresentação:** Cápsulas com 100mg - Embalagem contendo 30 cápsulas, e cápsulas com 200mg - Embalagem contendo 14 cápsulas. **Indicações:** Utrogestan<sup>®</sup> é indicado nos distúrbios da ovulação relacionados à deficiência de progesterona, como alterações do ciclo menstrual e amenorreia secundária (ausência de menstruação), na insuficiência lútea, na deficiência de progesterona, na pré-menopausa e na reposição hormonal da menopausa (como complemento à terapia com estrogênio). Por via vaginal, Utrogestan<sup>®</sup> é indicado também na implantação do embrião e manutenção da gravidez durante o primeiro trimestre. **Contraindicações:** Utrogestan<sup>®</sup> não deve ser administrado em casos de neoplasia maligna de mama ou dos órgãos genitais, sangramento genital não diagnosticado, acidente vascular cerebral, doenças do fígado, aborto incompleto, neoplasia maligna do fígado, doenças tromboembólicas, tromboflebite, porfiria, e hipersensibilidade e/ou alergia a qualquer um dos componentes da fórmula. **Advertências:** Utrogestan<sup>®</sup> não trata todas as causas de aborto espontâneo precoce e, particularmente, não tem ação sobre abortos provenientes de defeitos genéticos. Pacientes que apresentem alguma das condições que possam ser agravadas pela retenção de líquidos (distúrbios cardíacos ou renais), epilepsia, depressão, diabetes, cisto ovariano, disfunção hepática, asma brônquica, intolerância à glicose ou enxaqueca devem ser avaliadas quanto ao risco/benefício. Não é recomendável dirigir ou operar máquinas após a administração deste medicamento. **Interações medicamentosas:** O efeito da progesterona pode ser diminuído pelo uso concomitante de barbitúricos, carbamazepina, hidantoína ou rifampicina. Utrogestan<sup>®</sup> pode aumentar os efeitos dos betabloqueadores, teofilina ou ciclosporina. **Reações adversas:** As reações mais comumente observadas, na administração oral, são distensão abdominal, sonolência, cefaleia, alterações de apetite (diminuição ou perda), aumento ou perda de peso, metrorragia, período menstrual irregular, edema e fadiga. Para a administração vaginal, estudos clínicos não relataram a ocorrência de intolerâncias locais. **Posologia:** Via oral - Na insuficiência de progesterona, a dosagem média é de 200 a 300mg de progesterona micronizada por dia. Na insuficiência lútea, o regime de tratamento usual é de 10 dias por ciclo, habitualmente do 16º dia ao 25º dia, devendo ser usados 200 a 300mg por dia do seguinte modo: 200mg em dose única, antes de dormir; 300mg divididos em duas doses, 100mg duas horas após o jejum e 200mg à noite, ao deitar. Em terapia de reposição hormonal para menopausa, a terapia estrogênica isolada não é recomendada (maior risco de hiperplasia endometrial). Consequentemente, a progesterona é combinada em dose de 100 a 200mg por dia, da seguinte forma: dose única de 100mg à noite antes de dormir, de 25 a 30 dias por mês (neste caso, a maioria das pacientes pode não apresentar sangramento) ou, divididos em duas doses de 100mg, 12 a 14 dias por mês, ou nas últimas duas semanas de cada seqüência do tratamento ou, dose única de 200mg à noite antes de dormir, de 12 a 14 dias por mês, ou nas últimas duas semanas de cada seqüência do tratamento. Na dose de 200mg, é comum observar um sangramento de privação após o uso da progesterona. Em todas as indicações, a via vaginal pode ser utilizada, nas mesmas dosagens da via oral, em casos de efeitos colaterais pelo uso da progesterona (sonolência após absorção oral). Via vaginal - Cada cápsula gelatinosa deve ser introduzida profundamente na vagina. Suporte de progesterona durante a insuficiência ovariana ou carência ovariana completa de mulheres com diminuição da função ovariana (doação de óocitos): 200mg de progesterona micronizada do 15º ao 25º dia do ciclo, em uma dose ou divididos em duas doses de 100mg e, em seguida; do 26º dia do ciclo ou no caso de gravidez, esta dose pode ser elevada para o máximo de 600mg por dia, divididos em três doses. Esta dosagem será continuada até o 60º dia e, portanto, não deve ser administrada após a 12ª semana de gravidez. Suplementação da fase lútea durante ciclos de fertilização *in vitro* ou ICSI: A dosagem recomendada é de 600 a 800mg por dia, divididos em três ou quatro doses (6/6 ou 8/8 horas), iniciados no dia da captação ou no dia da transferência, até a 12ª semana de gravidez. Suplementação da fase lútea durante ciclos espontâneos ou induzidos, em caso de subfertilidade, ou infertilidade primária ou secundária, particularmente devido à anovulação: a dosagem recomendada é de 200 a 300mg por dia, divididos em duas doses, a partir do 16º dia do ciclo, durante 10 dias. O tratamento será rapidamente reiniciado se a menstruação não ocorrer novamente e sendo diagnosticada uma gravidez, até a 12ª semana desta. Ameaça de aborto precoce ou prevenção de aborto devido à insuficiência lútea: a dosagem recomendada é de 200 a 400mg por dia, divididos em duas doses, até a 12ª semana de gravidez. MS: 1.0390.0167. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAC 08000-250110. Para ver o texto de bula na íntegra, acesse o site [www.fqm.com.br](http://www.fqm.com.br)

Material destinado exclusivamente à classe médica.

junho/2010

SE PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.







## FAZENDO SONHOS ACONTECEREM

A gravidez sempre é um sonho para os casais. Hoje, existe tecnologia disponível para realizar esse sonho, quando ele não acontece naturalmente.

A **Ferring** contribui para tornar o sonho da gravidez possível a todos os casais através de seus medicamentos para Reprodução Humana.

Saiba mais: [www.ferring.com.br](http://www.ferring.com.br)

I/0032/Jan10

reprodução  
Humana

FERRING



FALE FERRING  
0800 772 4656

Laboratórios Ferring - Brasil  
Pça. São Marcos, 624 - 1º andar  
05455-050 - São Paulo - Brasil  
PABX - 55 11 3024.7500

FERRING  
PHARMACEUTICALS